

Aus der Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie der
Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. med. Detlef Zillikens

**Prädiktive Faktoren in der Therapie des
metastasierten Merkelzellkarzinoms mit
Immuneckpoint-Blockade**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Sektion Medizin-

Vorgelegt von
Annalena Mohr
aus Wedel

Lübeck 2021

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Patrick Terheyden

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Florian Bär

Tag der mündlichen Prüfung: 22.12.2021

zum Druck genehmigt. Lübeck, den 22.12.2021

-Promotionskommission der Sektion Medizin-

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	7
Tabellenverzeichnis	7
1. Einleitung	1
1.1 Definition	1
1.2 Epidemiologie.....	1
1.3 Ätiologie	2
1.4 Diagnostik und klinisches Bild.....	3
1.5 Klassifikation und Stadieneinteilung.....	4
1.6 Therapie des metastasierten Merkelzellkarzinoms	5
1.6.1 Behandlungsleitlinie	5
1.6.2 Operative Therapie	5
1.6.3 Systemische Therapie.....	6
1.7 Aktuelle Studienlage	7
1.8 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	10
2. Material und Methoden	12
2.1 Patientenkollektiv	12
2.2 Erhobene Daten	12
2.2.1 Allgemeine prognostische Faktoren.....	12
2.2.2. MCC-spezifische Variablen.....	13
2.2.3. Laborwerte vor Therapiebeginn	13
2.2.4. Immunhistochemische Parameter.....	14
2.3 Immunhistochemische Auswertung	15
2.4 Statistische Auswertung.....	16
3. Ergebnisse	18
3.1 Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs	18
3.1.1 Patientencharakteristika.....	18
3.1.1.1 Primarius.....	19
3.1.1.2 Laborwerte	19
3.1.1.3. Tumorstadium nach TNM.....	20
3.1.1.4. Fernmetastasen	20
3.1.1.5. Erstlinientherapie	20
3.1.1.6. PD-L1-Expression	21
3.1.1.7. MCPyV-Status.....	21
3.1.1.8. CD8+-Infiltration	21
3.1.2. Ansprechen, progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben	26
3.1.2.1. Bestes Ansprechen.....	26
3.1.2.2. Progressionsfreies Überleben.....	28

3.2.3. Gesamtüberleben.....	29
3.3. Univariate Analyse	30
3.3.1. Progressionsfreies Überleben.....	30
3.3.2. Gesamtüberleben.....	36
4. Diskussion.....	42
4.1 Selbstkritische Aspekte	48
4.2 Schlussfolgerung und Ausblick	48
5. Zusammenfassung.....	50
6. Literatur	52
7. Anhänge.....	62
7.1 Kasuistik.....	65
8. Danksagung.....	69

Abkürzungsverzeichnis

AJCC	American Joint Committee on Cancer
BMI	Body Mass Index
CK	Cytokeratin
CR	Complete Remission (komplette Remission)
CRP	C-reaktives Protein
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECOG-PS	Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status
ED	Erstdiagnose
Gy	Gray
G1	Gap 1
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IHC	Immunhistochemie
KI	Konfidenzintervall
LDH	Lactatdehydrogenase
LSD1	Lysin-spezifische-Histon-Demethylase 1A
m-TOR	mechanistic Target of Rapamycin
MCC	Merkelzellkarzinom
MCPyV	Merkelzell-Polyomavirus
MR	Mixed Response (gemischtes Ansprechen)
NR	not reached (nicht erreicht)
OR	Odds Ratio
ORR	Objective Response Rate (objective Ansprechrage)
OS	Overall Survival (Gesamtüberleben)
PD	Progressive Disease (progressive Erkrankung)
PD-1	Programmed Death 1
PD-L1	Programmed Death Ligand 1
PFS	Progression-free Survival (progressionsfreies Überleben)
PR	Partial Response (partiellies Ansprechen)
pRb	Retinoblastom-Protein
RECIST	Response evaluation criteria in solid tumors
SD	Stable Disease (stabile Erkrankung)

TLR	Toll-like receptor
UICC	Union internationale contre le cancer
ULN	Upper limit of normal (obere Normwertgrenze)
ÜLW	Überlebenswahrscheinlichkeit

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Altersverteilung der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung	18
Abb. 2: LK-Metastase mit PD-L1 positiven Stroma- und negativen Tumorzellen (400x)	23
Abb. 3: Metastase des Zökums mit PD-L1 positiven Tumorzellen (400x)	23
Abb. 4: Hautrezidiv mit MCPyV-negativen Tumorzellen (400x)	23
Abb. 5: Hautrezidiv mit MCPyV-positiven Tumorzellen (400x)	23
Abb. 6: LK-Metastase mit hoher CD8+-Zelldichte peripher (grün) sowie im Zentrum (rot) (10x)	24
Abb. 7: Balkendiagramm des Ansprechens aller Patienten.	26
Abb. 8: Kaplan-Meier Kurve des PFS aller Patienten	28
Abb. 9: Kaplan-Meier Kurve des OS aller Patienten	29
Abb. 10: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des LDH-Wertes auf das PFS	30
Abb. 11: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des CRP-Wertes auf das PFS	31
Abb. 12: Kaplan Meier Kurve zum Einfluss eines Tumorleidens in der Vorgeschichte auf das PFS	33
Abb. 13: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss der CD8+ -Infiltration im Hotspot auf das PFS	34
Abb. 14: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des LDH-Wertes auf das OS	36
Abb. 15: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des CRP-Wertes auf das OS	37
Abb. 16: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss der CD8+ - Infiltration im Hotspot auf das OS	39
Abb. 17: Lebermetastasierung vor Avelumab-Therapie	67
Abb. 18: CK20, 20x	67
Abb. 19: PR 6 Wochen nach Erstgabe	67
Abb. 20: MR 12 Wochen nach Erstgabe: neue hepatische Rundherde	67
Abb. 21: CR 12 Monate nach Erstgabe	67

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung des MCC nach TNM gemäß der AJCC	4
Tabelle 2: LDH und CRP vor Immuntherapie.	19
Tabelle 3: Ergebnisse der immunhistochemischen Auswertungen	22
Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung der einzelnen Patientenfälle	25
Tabelle 5: Einfluss einzelner Variablen auf das Ansprechen	27
Tabelle 6: Einfluss einzelner Variablen auf das PFS	35
Tabelle 7: Einfluss einzelner Variablen auf das OS	40
Tabelle 8: Vergleich Patientencharakteristika größerer Kohorten	44
Tabelle 9: Deskriptive Statistik der Variablen	62

1. Einleitung

1.1 Definition

Das Merkelzellkarzinom ist ein seltener neuroendokriner Tumor der Haut, der mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von etwa 50% als hoch aggressiv gilt (Lemos et al., 2010). Zuerst beschrieben wurde es im Jahre 1972 von Toker, der es als trabekuläres Karzinom der Haut bezeichnet. Im Jahre 1980 wies man im Zytoplasma der Tumorzelle elektronendichte neurosekretorische Granula nach, wie man es bisher nur bei Merkelzellen der Epidermis gesehen hatte, sodass man aufgrund der phänotypischen Parallelen diese als Ursprung des Tumors annahm und ihm den entsprechenden Namen gab (De Wolf-Peeters et al., 1979).

In neueren Veröffentlichungen wird diese Theorie jedoch stark angezweifelt, unter anderem, weil der Merkelzelle als postmitotischer Zelle proliferative Kapazität fehlt, sodass man heutzutage eine Tumorentstehung aus epidermalen und dermalen Stammzellen als wahrscheinlichste Theorie betrachtet (Tilling & Moll, 2012). Die Frage nach dem Ursprung des MCC ist jedoch weiterhin nicht geklärt und wird in der Wissenschaft bis heute kontrovers diskutiert.

1.2 Epidemiologie

Aktuellen US-amerikanischen Daten zufolge ist die Inzidenz des MCC zwischen den Jahren 2000 und 2013 um 95% gestiegen (Paulson et al., 2018), was vor allem auf neue pathologische Techniken (u.a. CK20-Färbung), die die Diagnostik erleichtern, zurückzuführen ist (Lemos et al., 2010). Analog dazu ist in anderen Ländern ein Anstieg der Inzidenzen verzeichnet worden (Eisemann et al., 2014; Stang et al., 2018; Youlden et al., 2014). In den USA beträgt die Inzidenzrate derzeit 0,7/100.000 Einwohner (Paulson et al., 2018), in Australien ist sie mit 1,6/100.000 am höchsten (Youlden et al., 2014); in Deutschland beträgt sie 0,3/100.000 (Eisemann et al., 2014). Das MCC tritt grundsätzlich häufiger beim männlichen Geschlecht auf als beim weiblichen, etwa 2/3 der MCC werden bei Männern diagnostiziert. Der Tumor ist zudem eine Erkrankung des älteren Menschen: das mediane Erkrankungsalter liegt zwischen 75 und 79 Jahren, 84% der Patienten waren bei Erstdiagnose älter als 65 Jahre (Paulson et al., 2018).

Es gibt nur einzelne Falldarstellungen, in denen von einem Auftreten der Erkrankung im Kindes- und Jugendalter berichtet wird (Marzban et al., 2011; Schmid et al., 1992).

1.3 Ätiologie

Die genauen Mechanismen der Tumorgenese sind noch nicht vollständig geklärt. Es werden vor allem zwei Ansätze diskutiert.

Der auffallend hohe Anteil an Immunsupprimierten unter den MCC-Patienten legte die Vermutung einer infektiologischen Ätiologie des Tumors nahe (Nicolaidou et al., 2012). Feng et al. untersuchten im Jahre 2008 MCC-Gewebeproben und entdeckten darin eine bisher unbekannt Art des Polyomavirus, den sie Merkelzell-Polyomavirus (MCPyV) nannten. In dieser Kohorte sowie in denen diverser darauffolgenden internationalen Studien waren etwa 80% der getesteten MCC-Gewebeproben positiv für MCPyV (Amber, McLeod, & Nouri, 2013; Feng, Shuda, Chang, & Moore, 2008). Das MCPyV ist eines von 13 bereits entdeckten humanen Polyomaviren, jedoch das bisher einzige, das direkt mit der Entstehung eines Karzinoms in Verbindung gebracht werden konnte (Chang & Moore, 2012).

Durch Expression eines kleinen und großen T-Antigens (Amber et al., 2013) greift das Virus nach Insertion und Replikation seiner DNA so in den Zellzyklus ein, dass durch G1-Checkpointblockade die Apoptose der Tumorzelle verhindert wird (Demetriou et al., 2012). Erreicht wird dies unter anderem durch ein Binden der TAntigene an die Tumorsuppressorproteine pRb und p53 (Borchert et al., 2014) sowie durch Eingreifen in den mTOR-Signalweg (Shuda et al., 2011).

Auch kumulative UV-Strahlung scheint in der Tumorgenese eine Rolle zu spielen. So findet sich die große Mehrheit der Primärtumore an Körperteilen, die häufig UVStrahlung ausgesetzt sind (Liang et al., 2015; van Veenendaal et al., 2018). Außerdem korreliert die Inzidenz der MCCs mit dem UV-Index der jeweiligen geographischen Region: in Australien ist sie mit Abstand am höchsten (Stang et al., 2018; Youlden et al., 2014). Auffällig ist hier auch der verhältnismäßig kleine Anteil an MCPyV-positiven Tumoren: während diese in Europa und den USA im Durchschnitt rund 80% der MCCs ausmachen, sind es in Australien nur etwa 25% (Paik et al., 2011). Laut einer Studie von 2015 zeigen MCPyV-positive Tumore eine sehr geringe Mutationslast, während Virus-negative Tumore, am wahrscheinlichsten wegen der

UV-induzierten DNA-Schäden, erheblich höhere Mutationsraten aufweisen (Wong et al., 2015).

1.4 Diagnostik und klinisches Bild

Die Tumore imponieren meist auf Hautarealen, die einer erhöhten UV-Belastung ausgesetzt sind. So finden sich über 50% der Primärtumore im Kopf- und Halsbereich, die zweithäufigste Lokalisation sind die oberen Extremitäten, gefolgt von den unteren mit jeweils 22-24% und 11-14%. Primärtumore am Rumpf und den Genitalien sind sehr selten. Bei etwa 15% der Patienten kann kein Primärtumor gefunden werden (Asgari et al., 2014; P. W. Harms et al., 2018; Liang et al., 2015). Das Erkennen des MCC ist für Kliniker aufgrund seiner Heterogenität häufig schwierig. Im Jahre 2008 etablierten Heath et al. die AEIOU-Eigenschaften (asymptomatic, expanding rapidly, immune suppressed, age>50 years, UV exposed) des MCC, um Klinikern eine frühe Erkennung zu ermöglichen. 89% der Patienten, die sich mit einem primär kutanen MCC vorstellen, erfüllen drei oder mehr der fünf Kriterien. Ulzerationen kommen selten vor. Der Durchmesser der Primärläsion beträgt in über 60% der Fälle weniger als 2 cm (Heath et al., 2008).

In der histopathologischen Untersuchung zeigt sich das MCC als Tumor mit blauen, ovalen Zellen mit hyperchromatischen Nuklei bei feinem Chromatin und nur wenig Zytoplasma. Mitosen sind häufig und der apoptotische Index ist hoch (Pectasides, 2006).

Zur Sicherung der Diagnose bedarf es nicht nur einer histopathologischen lichtmikroskopischen Untersuchung, sondern auch einer immunhistochemischen Färbung und/oder einer Untersuchung mittels Elektronenmikroskop, um ein Verwechseln mit anderen Tumorarten oder Metastasen (Lymphom, kleinzelliges Lungenkarzinom, Melanom) zu vermeiden (Becker et al., 2019).

Das MCC exprimiert üblicherweise neuroendokrine Marker wie Chromogranin A, Synaptophysin und Neuron-spezifische Enolase. Spezifischer für MCCs ist allerdings die CK-20 Expression, welche sich als paranukleäre Punkte darstellt, sowie die S100-Negativität. MCCs sind CK-7 sowie TTF-1 negativ, wodurch sie sich vom z.B. metastasierten kleinzelligen Lungenkarzinom unterscheiden (Agoff et al., 2000; Pectasides, 2006).

1.5 Klassifikation und Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung des Merkelzellkarzinoms erfolgt nach TNM gemäß der 8. Ausgabe AJCC (American Joint Committee on Cancer) (Becker et al., 2019).

Stadium		Primärtumor	Regionäre Lymphknoten	Fernmetastasen
0		in situ	unauffällige Lymphknoten	keine
I	pathologisch ¹	≤2 cm maximaler Tumordurchmesser	in der pathologischen Untersuchung unauffällige Lymphknoten	keine
I	klinisch ²	≤2 cm maximaler Tumordurchmesser	klinisch unauffällige Lymphknoten (keine pathologische Untersuchung)	keine
IIA	pathologisch	>2 cm maximaler Tumordurchmesser	in der pathologischen Untersuchung unauffällige Lymphknoten	keine
IIA	klinisch	>2 cm maximaler Tumordurchmesser	klinisch unauffällige Lymphknoten (keine pathologische Untersuchung)	keine
IIB	pathologisch	Infiltration von Faszien, Muskeln, Knorpel oder Knochen	in der pathologischen Untersuchung unauffällige Lymphknoten	keine
IIB	klinisch	Infiltration von Faszien, Muskeln, Knorpel oder Knochen	klinisch unauffällige Lymphknoten (keine pathologische Untersuchung)	keine
IIIA		unabhängig von Tumordurchmesser oder Infiltration	pathologisch detektierte Lymphknotenmetastasen ohne vorherigen klinischen Verdacht	keine
		kein Primärtumor (unknown primary)	klinischer Verdacht auf und pathologisch bestätigte Lymphknotenmetastasen oder <i>in transit</i> Metastasen	keine
IIIB		unabhängig von Tumordurchmesser oder Infiltration	klinischer Verdacht auf und pathologisch bestätigte Lymphknotenmetastasen oder <i>in transit</i> Metastasen ³	keine
IV	klinisch	unabhängig von Tumordurchmesser oder Infiltration	unabhängig vom Lymphknotenstatus	klinischer Verdacht auf Fernmetastasen
IV	pathologisch	unabhängig von Tumordurchmesser oder Infiltration	unabhängig vom Lymphknotenstatus	pathologisch bestätigte Fernmetastasen

¹Mikrometastasen wurden nach einer Schildwächterlymphknotenbiopsie oder nach elektiver Lymphadenektomie histopathologisch ausgeschlossen

²Der Befund basiert rein auf einer klinischen bzw. bildgebenden Untersuchungen; diese kann Inspektion, Palpation und/oder Bildgebung beinhalten

³*in transit* Metastasen sind von ihrer Lokalisation her definiert als: (1) zwischen Primärtumor und regionalem Lymphabflussgebiet; oder (2) distal des Primärtumors gelegen

Tabelle 1: Stadieneinteilung des MCC nach TNM gemäß der AJCC

1.6 Therapie des metastasierten Merkelzellkarzinoms

1.6.1 Behandlungsleitlinie

Im Jahre 2018 erschien die überarbeitete Version der S2k-Leitlinie der Arbeitsgemeinschaft der medizinischen und wissenschaftlichen Fachgesellschaften (AMWF) von Becker et al.. Darin werden Empfehlungen sowohl zur Diagnostik als auch zur Therapie der Erkrankung formuliert, um eine Vereinheitlichung der Behandlung der Patienten zu gewährleisten.

1.6.2 Operative Therapie

Primärtumor

Bei fehlenden Hinweisen auf das Vorliegen von Organmetastasen wird, auch bei nur klinischem Verdacht, eine chirurgische Exzision des Primärtumors anstelle einer Biopsie empfohlen (Haymerle et al., 2016). Das National Comprehensive Cancer Network (NCCN) empfiehlt dabei, unabhängig vom Tumorstadium, eine komplette Resektion mit einem Sicherheitsabstand von 1-2cm (Perez et al., 2018). Eine adjuvante postoperative Radiatio wird unabhängig vom Sicherheitsabstand empfohlen (Frohm et al., 2016).

Lymphknoten

Bei Patienten, bei denen klinisch und in der Bildgebung ein unauffälliger Lymphknotenstatus (N0) erhoben werden konnte, wird wegen der hohen lymphogenen Metastasierungsrate eine Schildwächterlymphknotenbiopsie empfohlen (Lemos et al., 2010; Pectasides, 2006). Bei Primärtumoren im Kopf/Halsbereich kann stattdessen auch eine funktionelle neck dissection erwogen werden, da die Lymphabflusswege in diesem Bereich unvorhersehbar und die Schildwächterlymphknoten häufig nicht auffindbar sind (Ricard et al., 2015).

Lokalrezidive und Fernmetastasen

Laut aktueller deutscher Behandlungsleitlinie sollten Rezidive, wenn möglich, vollständig chirurgisch reseziert werden. Für In-transit- sowie Fernmetastasen wird bei solitären Metastasen die chirurgische Resektion empfohlen; bei multiplen Metastasen sollte mittels multimodaler Therapiekonzepte neben der chirurgischen Resektion eine systemische Therapie durch Chemo- oder Immuntherapie erfolgen (Becker et al., 2019).

In mehreren Studien konnte die ausgeprägte Strahlensensitivität des MCC nachgewiesen werden (Ashby et al., 1989; Decker & Wilson, 2006). Ob sie als adjuvante Therapie nach Resektion des Primärtumors im Tumorbett angewendet werden sollte, wird kontrovers diskutiert und hängt vom Stadium und der Lokalisation ab (Becker et al., 2019). Eine Umfrage US-amerikanischer Strahlentherapeuten ergab eine einheitliche Empfehlung bei Patienten in Stadium II; bei Patienten in Stadium I sprachen nur die Hälfte der Strahlentherapeuten ihre Empfehlung zur postoperativen Bestrahlung aus (Tseng et al., 2017).

Ist bei klinisch unauffälligem Lymphknotenstatus eine SNLB aufgrund der Lokalisation des Primärtumors nicht möglich, kann stattdessen eine primäre Radiatio der Lymphabflusswege in Erwägung gezogen werden (Jouary et al., 2012). Auch bei pathologisch unauffälligem Lymphknotenstatus nach SNLB kann eine Radiatio aufgrund der hohen Rate der falsch negativen Befunde das Risiko der Metastasierung und Rezidive senken; nach erfolgter radikaler Lymphadenektomie ist sie ebenfalls indiziert. Zudem können in der palliativen Situation nicht operable Metastasen primär bestrahlt werden (Becker et al., 2019).

1.6.3 Systemische Therapie

1.6.3.1. Immuntherapie

Die Wirkung der Therapie mittels Immuncheckpointblockade durch gegen PD-1 und PD-L1 gerichtete Antikörper konnte in prospektiven Studien bewiesen werden (objektive Ansprechrate: 32-61%). Diese neuen Therapiemöglichkeiten scheinen einer Chemotherapie sowohl in Dauer des Ansprechens, als auch in ihrer Toxizität

überlegen (D'Angelo et al., 2018; Kaufman et al., 2016a). So wurde Avelumab als PD-L1-Inhibitor 2017 als erste Immuntherapie für das fortgeschrittene MCC von der Europäischen Arzneimittel-Agentur (EMA) und der Food and Drug Administration (FDA) zugelassen. Ob Immuntherapien auch im adjuvanten Setting in Frage kommen, wird derzeit untersucht (Becker et al., 2019).

1.6.3.2. Chemotherapie

Dem MCC wurde in Studien eine Chemosensitivität nachgewiesen, allerdings konnte eine partielle oder komplette Remission nur in 23-61% der Fälle beobachtet werden und die Ansprechdauer lag wegen der schnellen Resistenzbildung bei unter 8 Monaten (P. Nghiem et al., 2017).

Die chemotherapeutischen Behandlungskonzepte sind angelehnt an die anderer neuroendokriner Tumore, v.a. das kleinzellige Bronchialkarzinom, da es für das MCC bisher keine eigenen Therapieschemata gibt. Wegen teilweiser hoher Toxizität der Chemotherapeutika muss bei älteren Patienten eine individuelle Therapieentscheidung getroffen werden (Becker et al., 2019).

1.7 Aktuelle Studienlage

Demographische Variablen

Alter

Studien zufolge ist ein hohes Alter mit einer ungünstigen Prognose verbunden (Asgari et al., 2014; Youlden et al., 2014). Die Untersuchung einer der größten Kohorten ergab ein 10-Jahres Überleben bei Patienten im Alter von 0-49 Jahren von 59% und von 50-69 Jahren von 60%. Patienten, die 70 Jahre und älter waren, zeigten mit 53% das schlechteste Überleben (Albores-Saavedra et al., 2010).

Geschlecht

Männliche Patienten zeigen erhöhte Risiken für das Auftreten von Fernmetastasen, eine geringeres Gesamtüberleben sowie eine erhöhte tumorspezifische Mortalität (Asgari et al., 2014). Eine niederländische Studie identifizierte das männliche

Geschlecht in ihrer Kohorte als stärksten prognostischen Faktor in Bezug auf das tumorspezifische Überleben (van Veenendaal et al., 2018).

Auch das Risiko des Wiederauftretens von Lymphknoten- oder Fernmetastasen ist bei männlichem Geschlecht erhöht (Samini et al., 2012). Zudem liegt das 10Jahresüberleben bei Frauen bei rund 65%, während es bei Männern mit 51% signifikant niedriger ausfällt (Albores-Saadvedra et al., 2009).

Immunsuppression

Ein bekannter negativer prognostischer Marker ist die Immunsuppression z.B. in Form einer chronisch lymphatischen Leukämie (CLL), HIV oder aber als medikamentös induzierter Immunsuppression bei Autoimmunerkrankungen oder vorausgegangener Organtransplantation. Studien belegen ein schlechteres MCCspezifisches Überleben bei Vorliegen einer Immunsuppression: Paulson et al. zeigten im Jahre 2013, dass das MCC-spezifische 3-Jahresüberleben in der Kohorte von nicht immunsupprimierten Patienten fast doppelt so hoch war wie in der Gruppe der Immunsupprimierten.

Diagnostische Variablen

Lokalisation Primarius

Verschiedene Studien kamen zu dem Ergebnis, dass die häufigste Lokalisation des MCC-Primarius der Kopf-/Halsbereich gefolgt von den Extremitäten ist (Asgari et al., 2014; Liang et al., 2015; van Veenendaal et al., 2018), wobei Patienten mit Primärtumoren an den Extremitäten ein signifikant besseres OS zeigten als Patienten mit Läsionen im Kopf-/Halsbereich. Smith et al. fanden heraus, dass bei Patienten mit Primärtumoren im Kopf- und Halsbereich diejenigen, die ihren Primarius an der Lippe hatten, das kürzeste OS zeigten (Smith et al., 2012)

Regression Primarius

Studien zufolge stellen sich bis zu 15% der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose mit Lymphknotenmetastasen bei unbekanntem kutanen Primarius vor. (Harms et al., 2018). Diese Patienten haben ein signifikant verbessertes tumorspezifisches und progressionsfreies Überleben. Das 2-Jahresüberleben in Stadium IIIB betrug beispielsweise bei Patienten mit unbekanntem Primarius 80%, während es bei denen mit bekanntem Primärtumor nur 45% war (Vandeven et al., 2018). Weitere

Unterschiede zwischen beiden Gruppen waren der MCPyV-Antikörper-Titer bei MCPyV-positiven Tumoren sowie die Tumormutationslast bei vor allem MCPyV-negativen Tumoren; beide Parameter fielen in der Patientenkohorte mit unbekanntem Primarius deutlich höher aus als in der Vergleichsgruppe und könnten so zu der Erklärung für die bessere Prognose dieser Patientengruppe beitragen. Die genauen Gründe dafür sind allerdings noch unklar (Vandeven et al., 2018).

In der aktuellsten Version des AJCC-Klassifikationssystems wurde für mikroskopisch gesicherte, klinisch detektierte Lymphknotenmetastasen (N1b) bei unbekanntem Primärtumor (T0) das Tumorstadium IIIA eingeführt (K. L. Harms et al., 2016).

Merkelzell-Polyomavirus-Status

Studien, die den MCPyV-Status als möglichen Einflussfaktor hinsichtlich Ansprechen, PFS und OS untersuchten, kamen in der Vergangenheit zu unterschiedlichen Ergebnissen: Moshiri et al beschreiben in ihrer Studie den Polyomavirus-negativen Subtyp als sehr viel aggressivere Form und raten Klinikern bei betroffene Patienten zu kürzeren Nachsorgeintervallen (Moshiri et al., 2017).

Andere Autoren heben allerdings hervor, dass auch bei MCPyV-positiven Patienten die Prognose stark abhängig von der Intensität der antiviralen Immunantwort ist. Immunsupprimierte Patienten hätten trotz positivem viralen Status eine ungünstige Prognose (Paulson et al., 2013).

In einer Studie aus dem Jahre 2020 wurden hingegen bessere Ansprechraten beobachtet für Patienten mit negativem MCPyV-Status verglichen mit MCPyV-positiven Tumoren (ORR 35,5% bzw. 28,3%) (D'Angelo et al., 2020).

PD-L1-Expression

Einige Studien, die die Expression des PD-L1 beim MCC untersuchten, konnten eine hohe Expression desselben als prognostisch günstigen Faktor identifizieren. Lipson et al beschreiben einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen starker PD-L1-Expression und dem OS. Außerdem fanden sie heraus, dass alle MCPyV-negativen Tumore ihrer Kohorten gleichzeitig PD-L1 negativ waren, und somit die MCC mit negativem viralen Status ein signifikant schlechteres OS hatten (Lipson et al., 2013). Eine Studie mit n=88, in der die Patienten nach Behandlung mit Avelumab (anti-PD-L1) über 3 Jahre nachbeobachtet wurden, zeigte für Patienten mit positivem PD-L1

Status im Vergleich zu PD-L1 negativen Tumoren ebenfalls ein Ansprechen (ORR 36,8% bzw. 18,8%) (D'Angelo et al., 2020).

Immunzelldichte

Mehrere Studien identifizierten eine CD8⁺- und CD3⁺-Zelldichte oberhalb des Medians in der Tumorperipherie sowie in Hotspots als prognostisch günstig; sowohl das Risiko für Metastasen, als auch das Überleben werden positiv beeinflusst. Bei positivem MCPyV-Status ist eine hohe T-Zelldichte mit einem besonders stark verbesserten OS assoziiert, für MCPyV-negative MCCs trifft dies nicht zu (Feldmeyer et al., 2016). Paulson et al erkannten zudem eine Überexpression von Genen, die mit zytotoxischen CD8⁺-Zellen assoziiert sind, in Tumoren von Patienten mit guter Prognose (Paulson et al., 2011).

Therapielinie

Kaufman et al. konnten 2016 zeigen, dass Patienten im metastasierten Stadium eine höhere Wahrscheinlichkeit auf ein Therapieansprechen zeigten, wenn die Anzahl der systemischen Vortherapien gering war. In ihrer Kohorte von n=88 konnte für Patienten, bei denen die Immuntherapie die Zweitlinientherapie nach Chemotherapie darstellte, in 40% (n=21) ein objektives Ansprechen beobachtet werden; bei zwei und mehr Vortherapien sprachen lediglich 19% (n=7) der Patienten auf Avelumab an (Kaufman et al., 2016b).

1.8 Fragestellung und Ziel der Arbeit

Obwohl in den letzten Jahren intensiv an der Erkrankung geforscht und die Therapie revolutioniert werden konnte, haben Patienten mit fortgeschrittenem MCC trotz allem eine schlechte Prognose. Die Immuntherapie mit Immuncheckpointinhibitoren, welche seit wenigen Jahren für das metastasierte MCC zugelassen ist, ist die Standardtherapie. Um die Prognose einzelner Patienten unter Immuntherapie besser einschätzen zu können und frühzeitig zu erkennen, welche Patienten von der Therapie profitieren können, ist es für Kliniker wichtig, prädiktive Faktoren zu kennen.

So kann Patienten, bei denen ein Ansprechen unter Immuntherapie unwahrscheinlich ist, außerdem frühzeitig ein anderes Therapiekonzept wie eine Chemotherapie angeboten werden.

Einleitung

Obwohl das metastasierte MCC in den letzten Jahren verstärkt erforscht wurde, sind bisher wenige solcher prädiktiven Parameter bekannt.

Ziel der vorliegenden Arbeit soll es sein, bekannte prädiktive und prognostische Faktoren für die Immuntherapie des MCC anhand unserer Kohorte zu überprüfen und ggf. neue Parameter zu erkennen. Die genauen Fragestellungen lauten wie folgt:

1. Welche Faktoren beeinflussen das Ansprechen/ das PFS/ das OS?
2. Lassen sich, je nach Ausprägung der einzelnen Merkmale, Therapieempfehlungen ableiten?

2. Material und Methoden

Die Erhebung der Patientendaten fand mithilfe des Programms Orbis, welches vom UKSH, Campus Lübeck, verwendet wird, statt.

Die Daten wurden daraufhin anonymisiert in eine Excel-Tabelle übertragen. Ein positives Votum der Ethikkommission Lübeck liegt vor (s. Anhang).

2.1 Patientenkollektiv

In die Studie eingeschlossen wurden 13 Patienten mit MCC, die an der dermatologischen Uniklinik Lübeck mit PD1/PD-L1-Inhibitoren (Nivolumab, Pembrolizumab, Avelumab) im Zeitraum von März 2015 bis Februar 2019 behandelt wurden.

Sie wurden retrospektiv auf einerseits bereits bekannte prädiktive Faktoren, andererseits auf weitere klinisch erfassbare Parameter, die einen Einfluss auf das Ansprechen der Immuncheckpoint-Therapie haben und somit von prognostischer Relevanz sein könnten, untersucht.

2.2 Erhobene Daten

2.2.1 Allgemeine prognostische Faktoren

allgemeine, klinische Variablen:

Geschlecht

Männlich/ weiblich

Alter der Patienten bei Erstdiagnose

kontinuierlich, <75/≥75 Jahre

BMI

kontinuierlich, Normalgewicht (BMI <25)/ Übergewicht (BMI ≥25)

ECOG-PS-Status

0/ \geq 1

2.2.2. MCC-spezifische Variablen

Lokalisation Primärtumor

bekannt/unbekannt, Kopf-/Halsbereich, Stamm, Extremitäten

Tumorstadium bei Therapiebeginn

I-IV

Vorausgegangene Radiatio

ja/ nein

Anzahl systemischer Vortherapien

kontinuierlich

2.2.3. Laborwerte vor Therapiebeginn

LDH in U/l

kontinuierlich, \leq/\geq 250

CRP in mg/dl

kontinuierlich, \leq/\geq 10

Leukozyten/ μ l

kontinuierlich, erhöht/erniedrigt/normwertig (3.6-10.5 Tausend/ μ l)

Lymphozyten/ μ l

kontinuierlich, erniedrigt/normwertig (1.1-4.0 Tausend/ μ l)

Neutrophile/ μ l

kontinuierlich, erhöht/normwertig (1.5-7.7 Tausend/ μ l)

Eosinophile Granulozyten/ μ l

kontinuierlich, erniedrigt/normwertig (20-500/ μ l)

Thrombozyten/ μ l

kontinuierlich, erhöht/normwertig (160-370 Tausend/ μ l)

2.2.4. Immunhistochemische Parameter

PD-L1 Expression

positiv ($\geq 1\%$) /negativ

MCPyV-Status

positiv/negativ

CD-8+-Infiltration

Für Zentrum, Peripherie und Hotspot: $</\geq$ Median

Die genannten Parameter wurden teils gruppiert und als kategoriale Variablen, wenn möglich aber, der Genauigkeit halber, als kontinuierliche Variablen gewertet.

Für die Laborwerte, bei denen eine Gruppierung in normwertig/erhöht vorgenommen wurde, wurden folgende Normwerte angenommen: LDH ≤ 250 U/l, CRP ≤ 10 mg/dl. Vom regulären Normwert von ≤ 5 mg/l für das CRP wurde, angelehnt an eine Arbeit zum malignen Melanom von Fang et al., abgewichen, um den Einfluss deutlich erhöhter Werte auf die festgelegten Endpunkte zu zeigen (Fang et al., 2015). Für den BMI wurde, um die Anzahl der Subkategorien gering zu halten, statt einer Einteilung gemäß der deutschen Adipositas Gesellschaft in Normalgewicht, Präadipositas und Adipositas lediglich eine Unterteilung in Normal- (BMI <25) und Übergewicht (BMI ≥ 25) vorgenommen.

Zielgrößen in dieser Arbeit, deren Beeinflussung durch die oben genannten Parameter geprüft werden soll, sind das OS, das PFS sowie das Ansprechen.

Das OS wurde berechnet vom Zeitpunkt der Erstgabe der Immuntherapie bis zum Tod bzw. bei Überleben bis zum Datum des letzten ärztlichen Kontakts. Das PFS errechnet sich aus der Zeitspanne zwischen Erstgabe und Beginn des Progresses oder Versterben des Patienten, je nachdem, welches Ereignis zuerst eintrat. Patienten, die progressionsfrei überlebten, wurden zensiert.

Als Cut-off-Datum wurde für die Überlebensstatistiken der 15.05.2019 festgelegt, um für alle Patienten einen einheitlichen Beobachtungszeitraum zu gewährleisten.

Das objektiv beste Therapieansprechen wurde anhand der Response Evaluation Criteria in solid Tumors (RECIST) bewertet, wobei eine CR wie auch eine PR als Ansprechen gewertet wurden.

2.3 Immunhistochemische Auswertung

Immunhistochemie (IHC)

Formalinfixiertes, in Paraffin eingebettetes Tumorgewebe von 6 Patienten wurden für die Studie ausgewählt; von diesen wurden nach Standard Ultradünnschnitte hergestellt und zunächst mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt. Die immunhistochemischen Färbungen wurden mittels automatisiertem Färbesystem (Bench Mark Ultra, Ventana) durchgeführt.

Die folgenden Antikörper wurden verwendet: PD-L1 (Klon: E1L3N, Cell Signaling Technology, 1:100) sowie CD8 (Klon: Anti.CD8 (SP57), Ventana Medical Systems, 1:25). Für den Polyomavirusstatus wurde der monoklonale Maus anti-LT-Antikörper CM2B4 verwendet (Santa Cruz Biotechnology, 1:100).

Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die Auswertungen wurden angelehnt an eine Arbeit von Feldmeyer et al. in Zusammenarbeit mit dem Institut für Pathologie des UKSH, Campus Lübeck vorgenommen.

Zum einen wurde die CD8⁺-Expression des lymphozytären Infiltrates gemessen, zum anderen wurde die PD-L1-Expression der Tumorzellen analysiert. Für die spätere statistische Auswertung gingen wir, angelehnt an andere Arbeiten, von PD-L1-Positivität aus, wenn $\geq 1\%$ der Tumorzellen in den jeweiligen Proben PD-L1 exprimierten (D'Angelo et al., 2020; Feldmeyer et al., 2016).

Bezüglich der Polyomavirus-Last wurde der Anteil der Polyomavirus-positiven Tumorzellen an allen Tumorzellen geschätzt.

Für die CD8⁺-Infiltration wurde, falls für einen Patienten mehrere Proben vorlagen, jeweils der Mittelwert der Immunzellen gewertet, sodass für die statistische Auswertung für jeden Patienten ein Wert für die Zelldichte im Zentrum, im Hotspot sowie in der Peripherie vorlagen.

Für jeden Biomarker wurde das Areal mit der höchsten Dichte der jeweiligen immunhistochemisch positiven Zellen in einem Gesichtsfeld (400 fache Vergrößerung) als Hotspots definiert und ausgezählt.

Ferner wurde das Immunzellinfiltrat bzw. die Tumorzellen im Tumorzentrum und der Tumorperipherie untersucht. Die Peripherie des Tumors enthielt definitionsgemäß ca. dieselbe Länge und Breite von Tumorzellsaum und benachbarter Stromafäche. Das Zentrum war definiert als ein Areal, das ausschließlich Tumorzellen enthielt, und sich nicht mit einem peripheren Areal überschneidet.

Für jede dieser Regionen (Peripherie bzw. Leitsaum und Zentrum) wurden die Areale mit den meisten immunhistochemisch positiven Zellen detektiert und jeweils bis zu 5 Gesichtsfelder ausgezählt. Falls für Tumorperipherie oder Zentrum aufgrund der begrenzten Größe nicht 5 Gesichtsfelder ausgezählt werden konnten, wurden weniger, aber so viele wie möglich, ausgezählt.

Es wurde vermerkt, ob der Hotspot in der Peripherie oder im Zentrum lokalisiert war; dieser wurde bei der Auszählung der 5 o.g. Areale mitgezählt. Für jede Region (Peripherie bzw. Leitsaum und Zentrum) wurde die Anzahl an positiven Zellen summiert und geteilt durch die Anzahl der Gesichtsfelder, in denen die Zellen gezählt worden waren. Die Ergebnisse wurden dargestellt als mittlere Anzahl von IHC+ Zellen/ausgezählter HPF.

2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Patientendaten erfolgte mit dem Programm IBM SPSS®Statistics. Durch das Institut für medizinische Biometrie und Statistik der Universität zu Lübeck fand zudem eine Beratung hinsichtlich der statistischen Tests statt, außerdem wurde mit A. Bühls „SPSS 23 – Einführung in die moderne Datenanalyse“ gearbeitet.

Die erfassten Parameter wurden zunächst deskriptiv ausgewertet, wobei für kategoriale Variablen eine einfache Häufigkeitsbeschreibung mit Angabe der relativen sowie absoluten Häufigkeiten durchgeführt wurde. Für alle metrischen Variablen wurden statistische Maßzahlen berechnet, bestehend aus Mittelwert und Median sowie Standardabweichung, Varianz, Minimum und Maximum.

Um den möglichen Einfluss einzelner Variablen auf das progressionsfreie sowie Gesamtüberleben zu untersuchen, wurden Kaplan-Meier-Analysen vorgenommen; die statistische Signifikanz ($p \leq 0,05$) wurde dabei mithilfe von log-rank-Tests überprüft und ein Konfidenzintervall (KI) von 95% festgelegt. Fälle, bei denen kein Ereignis eintrat, d.h. Patienten, die progressionsfrei überlebten, wurden hier als zensiert gewertet.

Um den Einfluss bestimmter Variablen auf das Ansprechen zu untersuchen, wurden binär logistische Regressionsanalysen sowohl mit metrischen, als auch mit kategorialen Variablen durchgeführt. Zusammenhänge wurden mittels Chi-QuadratTest untersucht. Bestand eine Subkategorie aus <5 Patienten, wurde auf Regressionsanalysen verzichtet.

In der vorliegenden Arbeit stand das hypothesengenerierende Untersuchen, auch aufgrund der geringen Fallzahl, im Vordergrund, weshalb primär mit nicht korrigierten p-Werten gearbeitet wurde. So sollen die Ergebnisse als ein Hinweis auf Zusammenhänge gesehen werden. Der Vollständigkeit halber wurden die nach Bonferroni-Holm korrigierten p-Werte jeweils in die Ergebnistabellen der univariaten Überlebenszeitanalysen mit aufgenommen.

3. Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik des Patientenkollektivs

3.1.1 Patientencharakteristika

Es wurden insgesamt 13 Patienten mit metastasiertem MCC, die an der Klinik für Dermatologie des UKSH Campus Lübeck mit einer Immuncheckpoint-Blockade behandelt wurden, in die Studie eingeschlossen. Es gab 2 weibliche und 11 männliche Patienten, die bei Diagnosestellung ein medianes Alter von 77 Jahre bei einem Minimum von 61 und einem Maximum von 86 Jahren hatten. Die Altersverteilung ist Abb. 1 zu entnehmen.

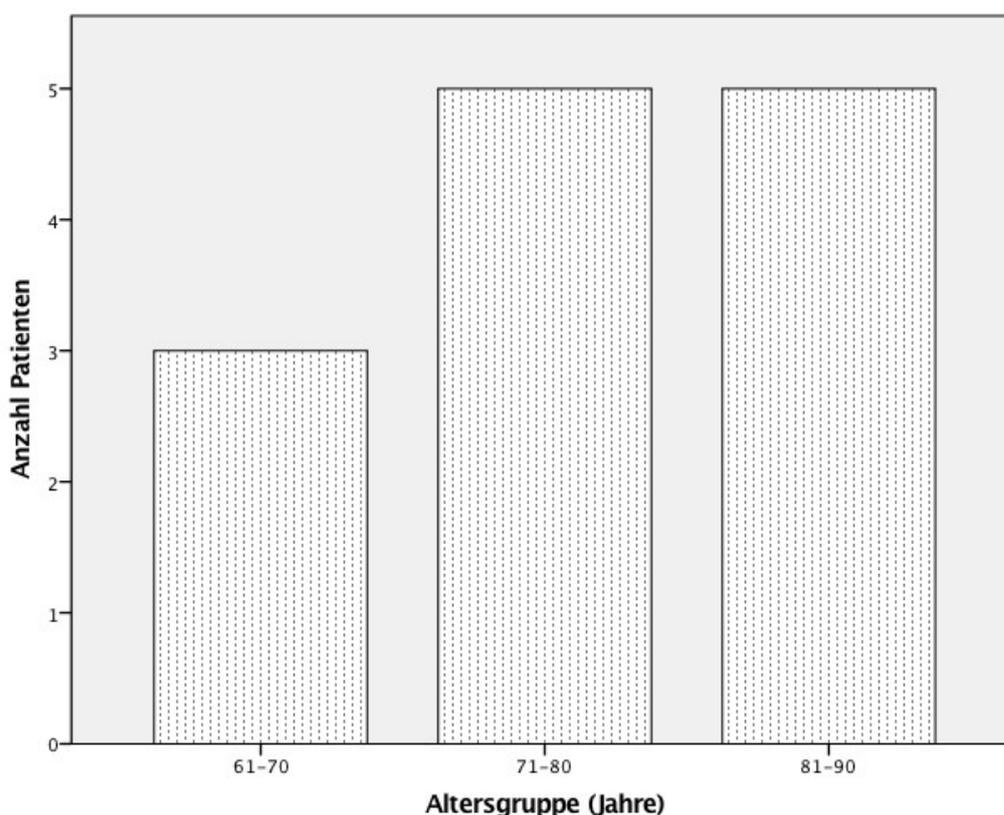


Abb. 1: Altersverteilung der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung

Tabelle 9 im Anhang zeigt die deskriptive Statistik der Patienten. Der Median des BMI betrug 26 kg/m² bei einer Spannweite von 21,2 kg/m² und 34,5 kg/m². Nur etwa ein Drittel des Patientenkollektivs hatte ein normales Gewicht, knapp die Hälfte (n=6) war übergewichtig, der Rest (n=3) adipös.

Die Mehrheit der Patienten (n=9) hatte bei Diagnosestellung einen ECOG-PS-Status von 0. 2 Patienten konnte ein ECOG-PS-Status von 1 zugewiesen werden; nur ein Patient, der einen Status von 3 hatte, war schlechter als diese. Es gab keine Patienten, die sich bei Diagnosestellung im klinischen Stadium I oder II befanden. Mit 8 Patienten hatte die Mehrheit der Patienten bereits Fernmetastasen ausgebildet und fiel demnach in Stadium IV, 5 Patienten befanden sich in Stadium III.

5 Patienten hatten bereits ein Tumorleiden in der Vorgeschichte. 2 der 13 Patienten litten an rheumatoider Arthritis, 3 an Diabetes mellitus.

3.1.1. Primarius

Bei 10 Patienten konnte ein Primärtumor gefunden werden. 5 davon waren im Kopf/Halsbereich lokalisiert und stellten damit die Mehrheit dar. 4 Patienten hatten ihren Primarius an den Extremitäten, davon 3 an den oberen und 1 an den unteren. Ein Primärtumor war am Stamm lokalisiert. Bei 3 Patienten konnte kein Primarius identifiziert werden.

3.1.2. Laborwerte

Es wurden prätherapeutische Laborwerte ermittelt, von denen in der Literatur ein prädiktiver Einfluss auf das Therapieansprechen vermutet wird.

Laborwert	Referenzwert	Median (Spannweite)	Normwertig	Erhöht
LDH (U/l)	250,0	348 (204-2570)	4 (=30,8%)	9 (=69,2%)
CRP (mg/dl)	10,0	9,9 (0,8-163)	8 (=61,5%)	5 (38,5%)

Tabelle 2: LDH und CRP vor Immuntherapie.

LDH = Lactatdehydrogenase, CRP = C-reaktives Protein.

Der Median der Leukozytenzahl lag bei 6070/ μl . Lediglich einer der 13 Patienten hatten eine erhöhte Leukozytenzahl von über 10.500/ μl , ein Patient hatte einen leicht erniedrigten Wert. Das Minimum an Leukozyten lag bei 2980/ μl , das Maximum betrug 10800/ μl .

Die mediane Lymphozytenzahl betrug 1100/ μl bei einem Minimum von 170 und einem Maximum von 10900/ μl . Der Median der Neutrophilenzahl lag bei 3970/ μl bei einer Spannweite von 2460 bis 8460/ μl . Die mediane Eosinophilenzahl betrug 80/ μl , das Minimum 0 und das Maximum 210/ μl . Bei den Thrombozyten betrug der Median 242000/ μl bei einer Spannweite von 153000 bis 347000/ μl .

3.1.3. Tumorstadium nach TNM

Von den 13 Patienten befanden sich bei Erstgabe 6 in Stadium III und 7 in IV, d.h. alle wiesen zum jeweiligen Zeitpunkt zumindest Lymphknotenmetastasen, in Stadium IV Fernmetastasen auf.

3.1.4. Fernmetastasen

Zum Zeitpunkt der Erstgabe der Immuntherapie hatten 7 der 13 Patienten Fernmetastasen. 3 zeigten Lebermetastasen, 2 hatten ossäre Metastasen und 2 wiesen Nierenmetastasen auf. Metastasen in Nebenniere, Pankreas, Milz und in nichtregionären Lymphknoten konnten nur bei jeweils einem Patienten festgestellt werden. Der Median der Überlebenszeit vom Zeitpunkt der Erstdiagnose bis zum Auftreten der Fernmetastasen (Distant metastasis free survival = DMFS) betrug 11 Monate bei einem Minimum von 0 und einem Maximum von 64 Monaten.

Das M-Stadium zum Zeitpunkt des Therapiestarts wurde nach der 7. Version der UICC Klassifikation eingeteilt.

3.1.5. Erstlinientherapie

Für 6 der 13 Patienten stellte die Immuntherapie die Erstlinientherapie dar. 6 weitere hatten zuvor eine Chemotherapie erhalten, 5 davon mit Doxorubicin, ein Patient erhielt eine Kombination aus Carboplatin und Paclitaxel. Ein Patient wurde in erster

Therapielinie mit Cisplatin/Etoposid anbehandelt, aufgrund von Unverträglichkeit stieg man daraufhin auf Carboplatin/Etoposid um.

3.1.6. PD-L1-Expression

Von den 13 Patienten konnte bei 8 Patienten die PD-L1-Expression des Tumorgewebes bestimmt werden.

6 der Patienten zeigten keine PD-L1 Expression auf Tumorzellen, bei 2 Patienten konnte sie in mindestens einer Probe nachgewiesen werden.

3.1.7. MCPyV-Status

Der MCPyV-Status konnte ebenfalls in 8 Fällen bestimmt werden. Die Tumore von 6 Patienten waren MCPyV-negativ, 2 von ihnen positiv. Ein Patient zeigte in zwei unterschiedlichen Proben virusnegative Tumorzellen, in der aktuellsten Probe einer Metastase waren sie dann aber positiv. Haymerle et al. beschrieben dasselbe Phänomen 2017 für einzelne Patienten ihrer MCC-Kohorte, fanden aber keine Erklärung dafür.

3.1.8. CD8⁺-Infiltration

Die CD8⁺-Infiltration wurde für jeden der 8 Patienten, wenn möglich, jeweils für Hotspot, Zentrum und Peripherie bestimmt. Eine Einteilung der Patienten erfolgte daraufhin in CD8⁺-Dichte unter bzw. über dem Median.

Der Median für die CD8⁺-Infiltration im Hotspot betrug 140, für das Zentrum 21 und für die Peripherie 57 Zellen pro HPF.

Ergebnisse

Patient		Prä- parat	Tumor- material	Lokalisation	MCP yV	PD- L1	CD8 ⁺		
Alter	Sex	#					H	Z	P
62	M	1	Metastase	Leber	-	-	140	9	120
81	M	2	Metastase	Haut	+	-	50	11	29
70	W	3	Metastase	Leber	-	-	68	1	68
81	M	4	Metastase	LK Hals	-	-	550	177	104
		5	Primarius	Kapillitium	-	-	15	2	14
		6	Primarius	Kapillitium	-	-	42	0	21
74	M	7	Primarius	Haut, Schulter	-	-	160	16	87
		8	Metastase	Nebenniere	-	-	140	74	39
86	M	9	u	Haut, prä- aurikulär	-	-	5	4	2
84	M	10	Rezidiv	Haut, Handrücken	+	+	180	76	82
		11	u	Haut, Digitus + IV	+	-	220	2	126
		12	Metastase	Haut, Oberarm	-	+	230	12	114
82	M	13	Metastase	LK Axilla	-	-	94	19	45
		14	Metastase	Zökum	-	+	270	194	nu

Tabelle 3: Ergebnisse der immunhistochemischen Auswertungen

u=unbekannt, nu=nicht untersucht, H=Hotspot, Z=Zentrum, P=Peripherie, LK=Lymphknoten. Die Kästen zeigen an, dass die Proben jeweils von denselben Patienten stammen.

Immunhistochemische Auswertungen - Beispielaufnahmen

PD-L1

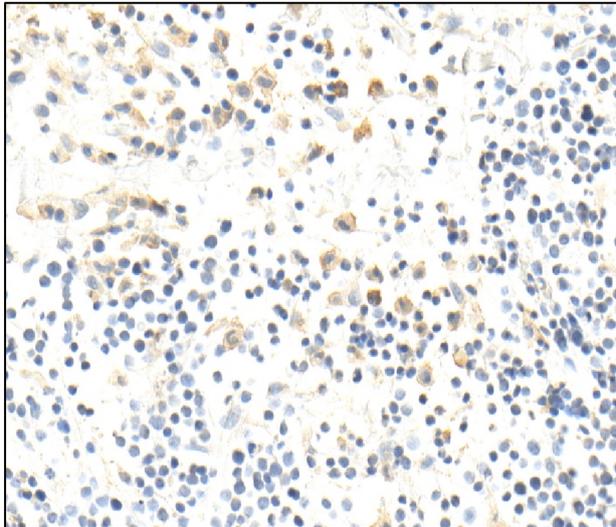


Abb. 2: LK-Metastase mit PD-L1 positiven Stroma - und negativen Tumorzellen (400x) positiven Tumorzellen (400x)

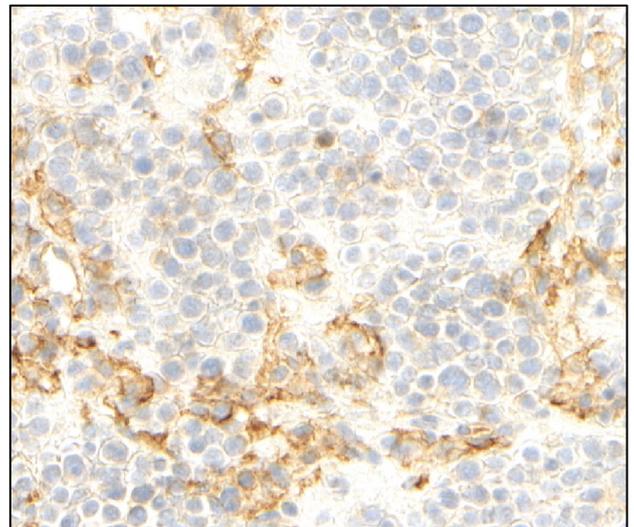


Abb. 3: Metastase des Zökums mit PD-L1

MCPyV

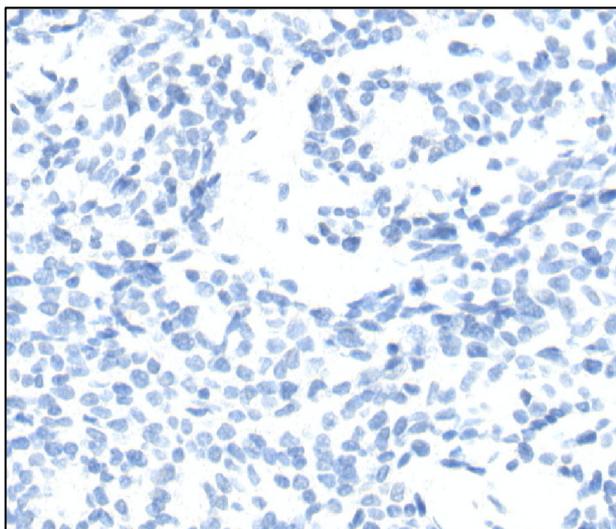


Abb. 4: Hautrezidiv mit MCPyV-negativen Tumorzellen (400x)

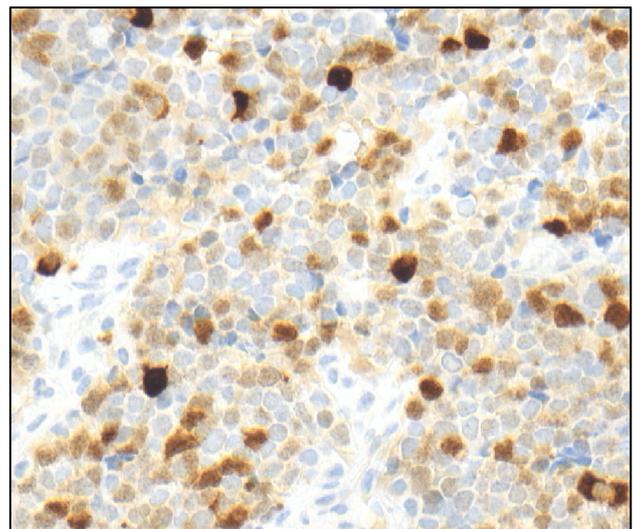


Abb. 5: Hautrezidiv mit MCPyV-positiven Tumorzellen (400x)

CD8⁺-Infiltration

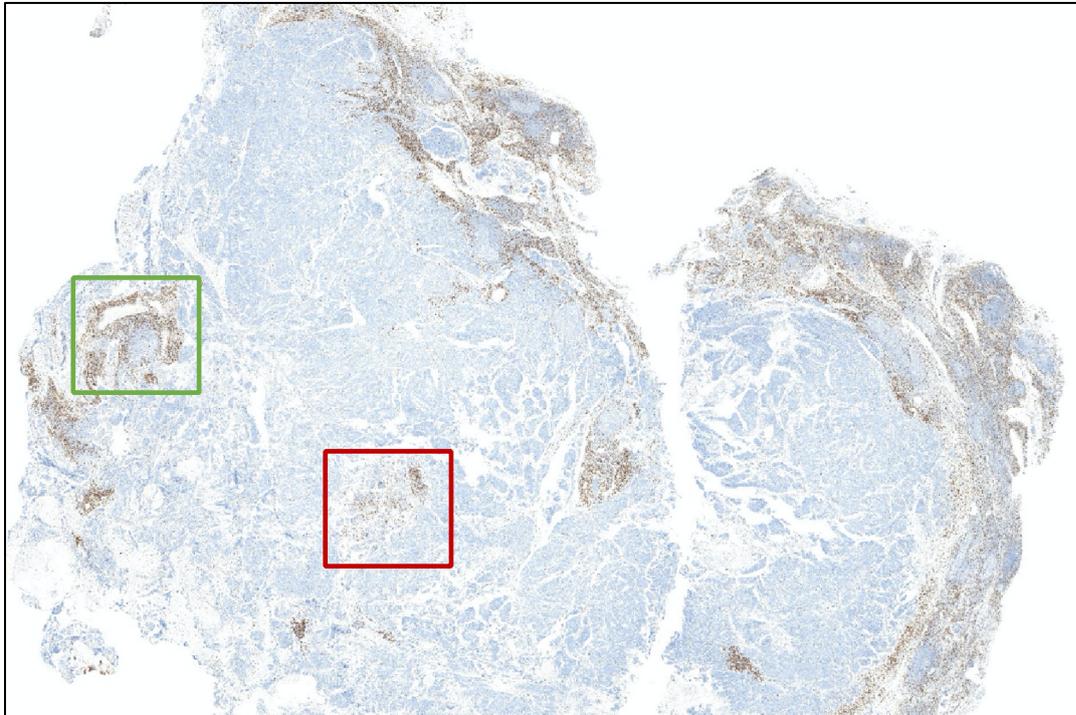


Abb. 6: LK-Metastase mit hoher CD8⁺-Zelldichte peripher (grün) sowie im Zentrum (rot) (10x)

Ergebnisse

Pat.-ID	Sex	Alter (ED)	Primarius	Fernmetastasen (präth.)	PD-L1	MCPyV
1	m	62	Kopf-/Halsbereich	Leber	-	-
2	m	81	Obere Extremität	--	-	+
3	m	72	Untere Extremität	Pankreas, Milz, Mesenterium		
4	w	70	Kopf-/Halsbereich	Leber, Retroperitoneum	-	-
5	w	77	Stamm	LK axillär, gluteal, pararenal		
6	m	81	Kopf-/Halsbereich	--	-	-
7	m	76	CUP	--		
8	m	74	Obere Extremität	Nebenniere, Knochen	-	-
9	m	80	Kopf-/Halsbereich	Leber, Knochen, Niere, ZNS		
10	m	61	CUP	LK zervikal, inguinal, Peritoneum		
11	m	86	Kopf-/Halsbereich	--	-	-
12	m	84	Obere Extremität	--	+	+
13	m	82	CUP	Niere, LK suprarenal, perirenal, axillär	+	-

Tabelle 4: Zusammenfassende Darstellung der einzelnen Patientenfälle

3.2. Ansprechen, progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben

3.2.1. Bestes Ansprechen

Zwei der 13 Patienten (15%) zeigten unter Immuntherapie eine komplette Remission (CR) als bestes Ansprechen. Bei ebenfalls 2 (15%) konnte eine partielle Remission (PR) festgestellt werden, bei einem eine stabile Erkrankung (SD) (8%). 4 Patienten (31%) hatten eine progrediente Erkrankung (PD), und bei 4 (31%) konnte nach Erstgabe der Immuntherapie kein Staging mehr laufen, da sie zu schnell verstarben; somit fielen sie in die Kategorie „Symptomatic Deterioration“. Das Ansprechen dieser Patienten wurde letztlich auch als PD gewertet.

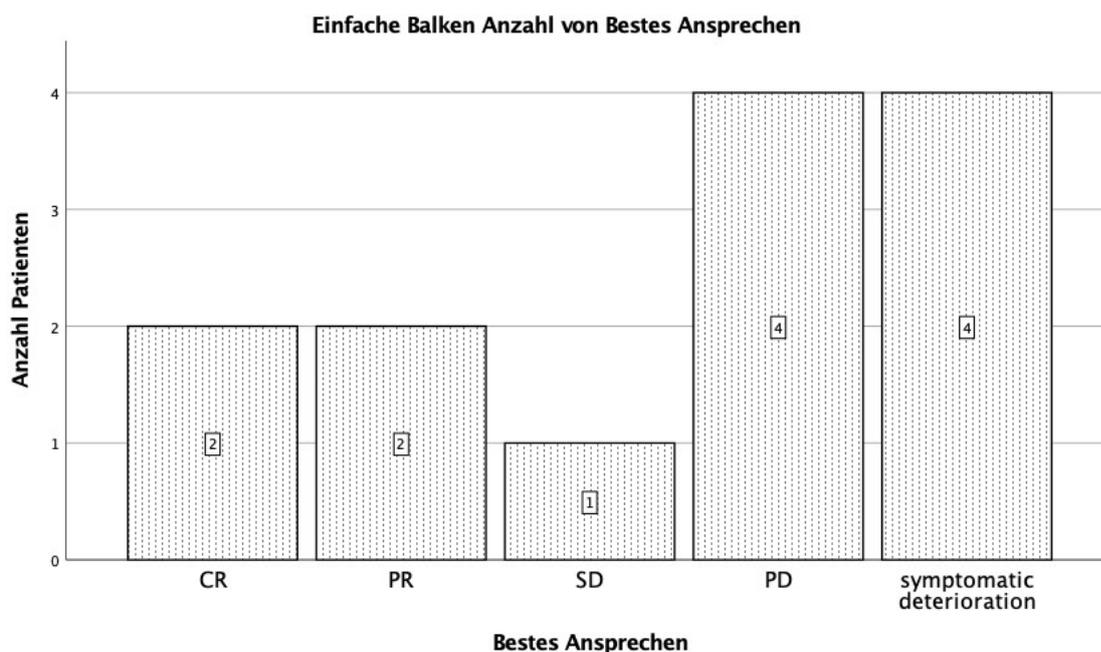


Abb. 7: Balkendiagramm des Ansprechens aller Patienten.

Für die Zielgröße Ansprechen konnten keine statistisch signifikanten Einflussfaktoren identifiziert werden. Es wurden lediglich Tendenzen beobachtet.

Patienten mit prätherapeutisch erhöhten LDH- und CRP-Werten hatten eine verminderte Wahrscheinlichkeit auf ein Therapieansprechen.

Ebenfalls sank sie bei einer Anzahl von ≥ 1 systemischer Vortherapien im Vergleich zur Patientengruppe, bei denen die Immuntherapie die Ersttherapie war, sowie bei

Ergebnisse

erhöhtem Patientenalter bei Erstdiagnose. Patienten, die sich bei Therapiebeginn in einem höheren Tumorstadium befanden, hatten ebenfalls verringerte Chancen auf ein Ansprechen.

Bei erhöhtem BMI-Wert stieg die Wahrscheinlichkeit auf ein Therapieansprechen an.

Variable	OR (KI)	p-Wert
Alter bei Erstdiagnose	0,961 (0,825-1,121)	0,615
Geschlecht	2,667 (0,123-57,620)	0,532
BMI	1,007 (0,767-1,322)	0,962
Tumorstadium b. Therapiebeginn	0,267 (0,019-3,653)	0,322
Therapielinie	1,250 (0,118-13,240)	0,853
SNLB	0,6 (0,053-6,795)	0,680
MCPyV	0,5 (0,19-12,898)	0,676
PD-L1	0,5 (0,19-12,898)	0,676
CD8 hotspot	0,998 (0,990-1,006)	0,584
CD8 periphery	1,029 (0,984-1,077)	0,212
CD8 centre	0,996 (0,969-1,024)	0,774
LDH	0,990 (0,974-1,007)	0,243
CRP	0,843 (0,602-1,181)	0,321
Thrombozyten	1,005 (0,983-1,027)	0,642
Leukozyten	0,784 (0,447-1,376)	0,396
Neutrophile	0,624 (0,268-1,455)	0,275
Lymphozyten	3,290 (0,162-66,941)	0,439
Eosinophile	NR	NR

Tabelle 5: Einfluss einzelner Variablen auf das Ansprechen

3.2.2. Progressionsfreies Überleben

Das mediane progressionsfreie Überleben lag bei 1,7 Monaten (95% Konfidenzintervall: KI 1,3-2,1). Nach 6 Monaten hatten 10 der 13 Patienten einen Progress erlitten, somit lag die Wahrscheinlichkeit der Progressionsfreiheit zu dem Zeitpunkt bei 23% (s. Abb. 9). Das maximale PFS betrug 20 Monate.

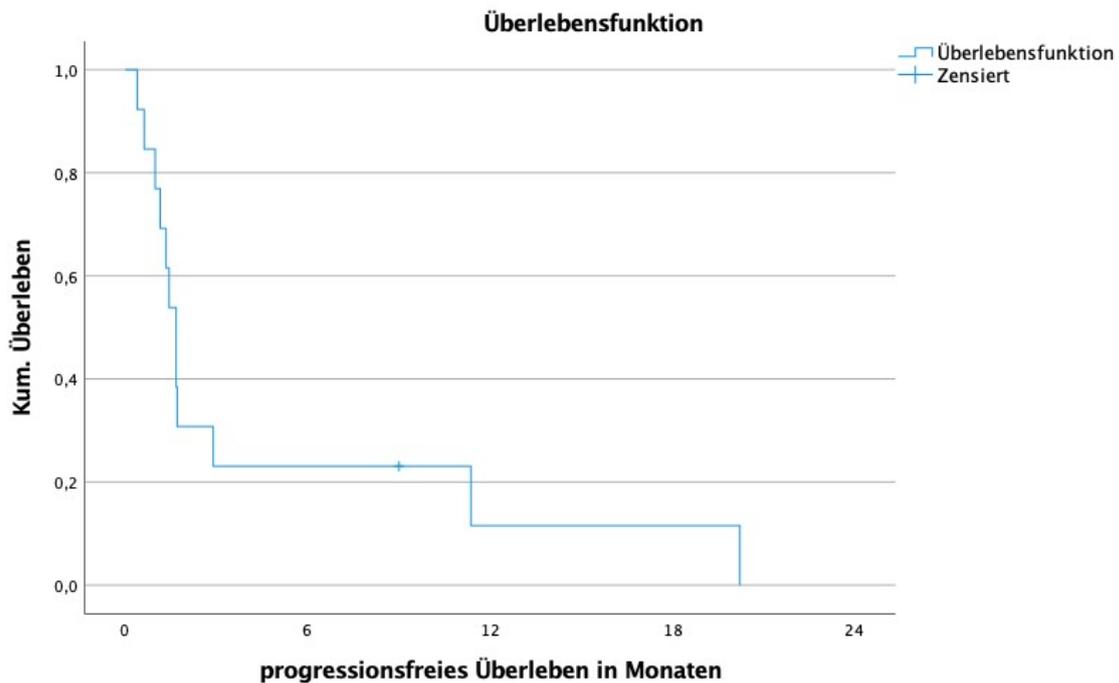


Abb. 8: Kaplan-Meier Kurve des PFS aller Patienten

3.2.3. Gesamtüberleben

Das mediane Gesamtüberleben aller Patienten seit Therapiebeginn betrug 25,7 Monate (KI 0-57,8). Die Kaplan-Meier-Kurve dazu ist in Abb. 10 dargestellt. Die maximale Gesamtüberlebensdauer lag bei 120 Monaten. Nach 6 Monaten waren 7 der 13 Patienten verstorben, sodass die Überlebenswahrscheinlichkeit 48% betrug. Auch die 1- sowie die 2- Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeiten (ÜLW) lagen bei 48%. 5 Patienten überlebten länger als 2 Jahre, 2 länger als 4 Jahre.

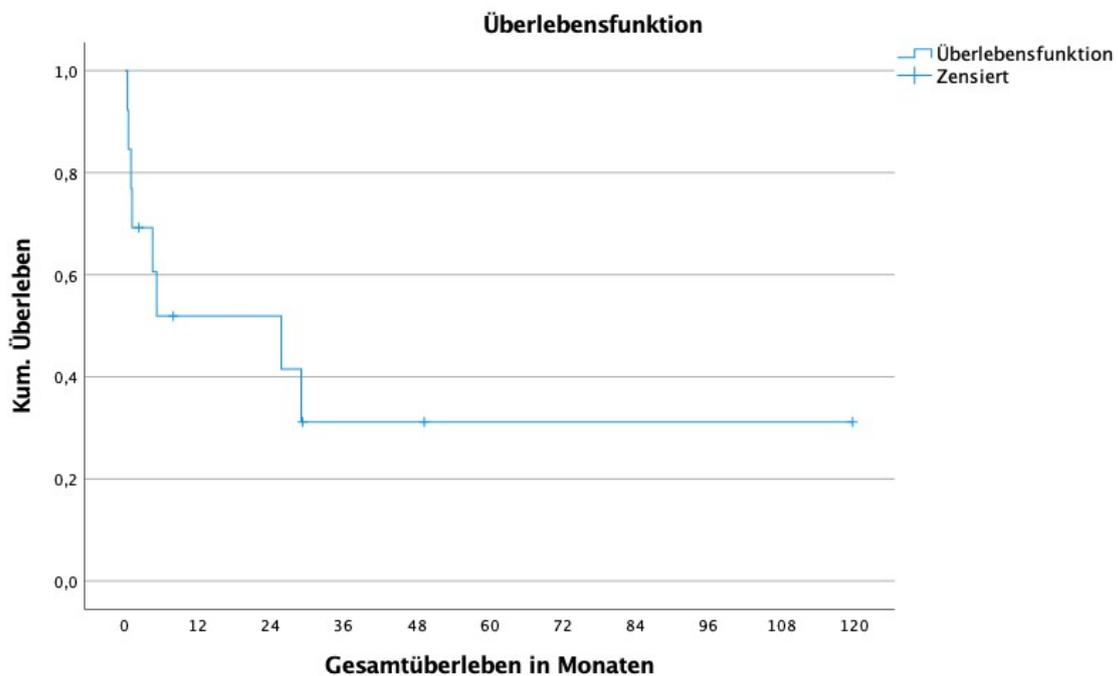


Abb. 9: Kaplan-Meier Kurve des OS aller Patienten

3.3. Univariate Analyse

3.3.1. Progressionsfreies Überleben

3.3.1.1. LDH

Patienten mit normwertiger LDH hatten ein PFS von 2,9 Monaten (KI:0,3-5,5). Bei erhöhten LDH-Werten war das progressionsfreie Überleben verkürzt: bei prätherapeutischen Werten von ≥ 250 U/l betrug es lediglich 1,2 Monate (KI: 0,6-1,7). Der Unterschied zwischen den Gruppen war mit $p=0,041$ signifikant. Bei Unterteilung der Patienten in Gruppen mit normwertiger LDH, 1-<2 ULN und >2 ULN war der Unterschied mit $p=0,004$ ebenfalls signifikant (med. Überleben 2,9 (0-15), 1,7 (1-2,4), 1,2 (0-2,3)).

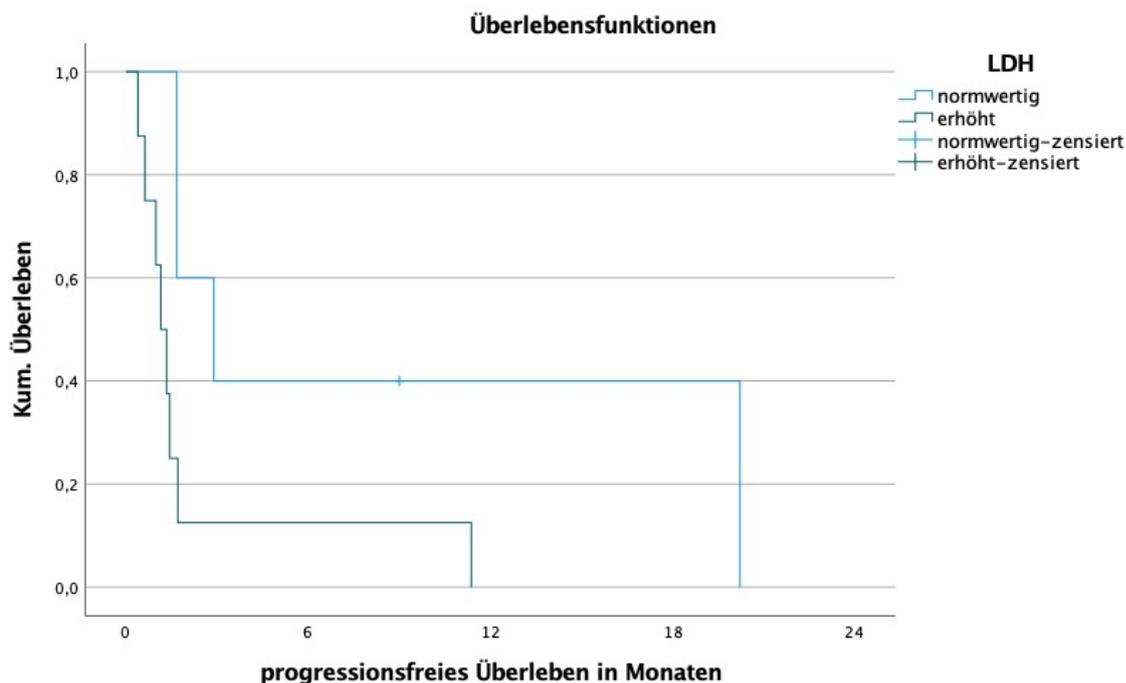


Abb. 10: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des LDH-Wertes auf das PFS

3.3.1.2. CRP

Bei erhöhten CRP-Werten war das PFS verkürzt. Patienten mit normwertigen CRP-Werten hatten ein medianes PFS von 1,7 Monate (KI: 0,3-3), bei erhöhten CRP-Werten betrug das PFS lediglich 1,0 Monate (KI: 0,2-1,8). Der Unterschied zwischen beiden Patientengruppen war signifikant ($p=0,009$).



Abb. 11: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des CRP-Wertes auf das PFS

3.3.1.3. Leukozytenzahl

Bei prätherapeutisch von den Normwerten abweichender Leukozytenzahl verkürzte sich das PFS. Der Unterschied war mit $p < 0,001$ signifikant. Das mediane PFS für die Patientengruppe mit normalen Werten lag bei 1,7 Monaten (KI: 1,3-2), bei erhöhten bzw. erniedrigten Werten betrug es 0,4 Monate bzw. 0,6 Monate (NR). Die Patientengruppe mit nicht normwertiger Leukozytenzahl war mit $n=2$ allerdings sehr klein.

Keiner der Patienten zeigte erhöhte Thrombozytenwerte, weshalb diese Variable hier nicht mit in die Analyse aufgenommen wurde.

3.3.1.4. BMI

Patienten mit Normalgewicht vor Erstgabe der Immuntherapie hatten ein kürzeres PFS als Patienten mit Übergewicht. Das mediane PFS der Normalgewichtigen betrug 1,0 Monate (KI:0,2-1,8), während es bei Übergewichtigen bei 1,7 Monaten lag (KI:1,2-2,2). Der Unterschied mit $p=0,399$ nicht signifikant.

3.3.1.5. Therapielinie

Das mediane PFS unterschied sich nicht signifikant zwischen Patienten, die die Immuntherapie als Erstlinientherapie und derer, die sie als Zweit- oder Drittlinientherapie erhalten hatten ($p=0,620$). Das PFS lag für Patienten, für die die Immuntherapie die erste Therapie darstellte, bei 1,7 Monaten (KI: 1,2-2,1); war sie die zweite oder dritte Therapie lag das PFS bei 1,5 Monaten (KI: 0,7-2,2).

3.3.1.6. Tumorleiden in Vorgeschichte

Patienten, welche vor ihrer MCC-Erkrankung bereits eine andere maligne Tumorerkrankung erlitten hatten, hatten ein längeres PFS von 11,4 Monaten (KI: 0,26,5). Patienten ohne Tumorleiden in der Vorgeschichte hatten ein PFS von 1,2 Monaten (KI: 0,6-1,7). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war mit $p=0,013$ signifikant.

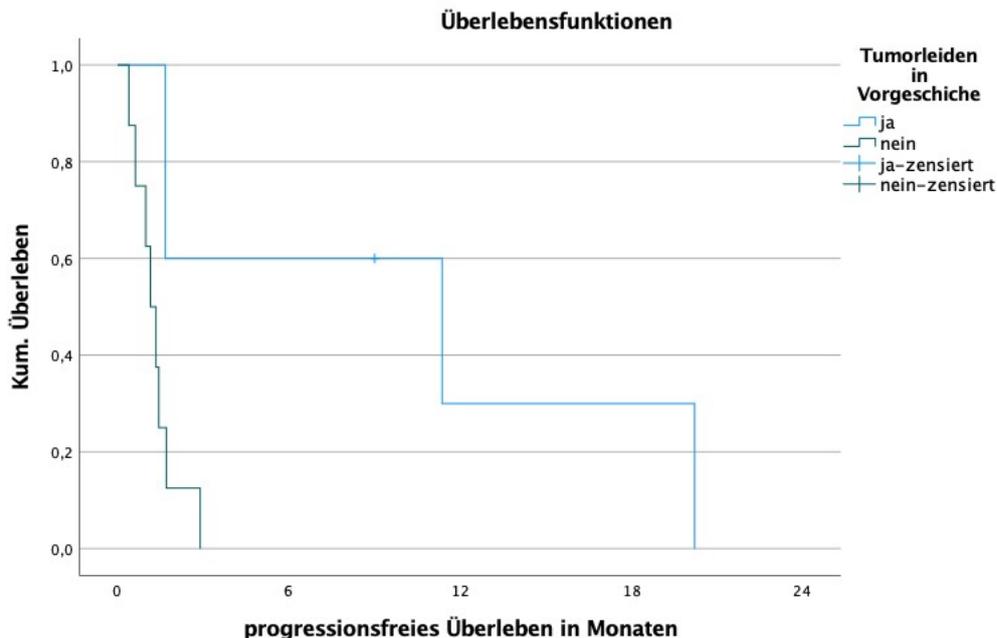


Abb. 12: Kaplan Meier Kurve zum Einfluss eines Tumorleidens in der Vorgeschichte auf das PFS

3.3.1.7. PD-L1-Status

Patienten mit positivem PD-L1-Status hatten ein medianes PFS von 1,7 Monaten (NR), bei PD-L1 negative Patienten betrug es ebenfalls 1,7 Monate (KI: 0,9-2,5). Mit $p=0,348$ war der Unterschied nicht signifikant.

3.3.1.8. Merkelzell-Polyomavirus

Bei negativem viralem Status war das PFS verlängert: Das mediane PFS betrug 1,7 Monate (KI:1,1-2,3).

Bei positivem MCPyV-Status betrug das mediane PFS 0,4 Monate (NR). Das Signifikanzniveau konnte mit $p=0,750$ nicht erreicht werden.

3.3.1.9. CD8⁺-Infiltration

Bei CD8⁺-Infiltration im **Zentrum** über dem Median betrug das mediane PFS 1,7 Monate (KI:0-13,8). Bei Zelldichte unter dem Median war es 1,0 Monate (KI: 0,1-1,9).

Der Unterschied war mit $p=0,085$ nicht signifikant.

Für den **Hotspot** betrug das PFS bei CD8⁺-Werten über dem Median 2,9 Monate (KI :0,4-5,4), für Werte unter dem Median 1,0 Monate (KI: 0-1,9) (s. Abb. 13). Der p-Wert betrug 0,014, der Unterschied ist somit signifikant.

Für die **Peripherie** lag das PFS bei CD8⁺-Werten über dem Median bei 2,9 Monaten (KI: 0-15,5), bei Werten unter dem Median bei 1,7 Monaten (KI: 0,6-2,8).

Der Unterschied war mit $p=0,08$ nicht signifikant.

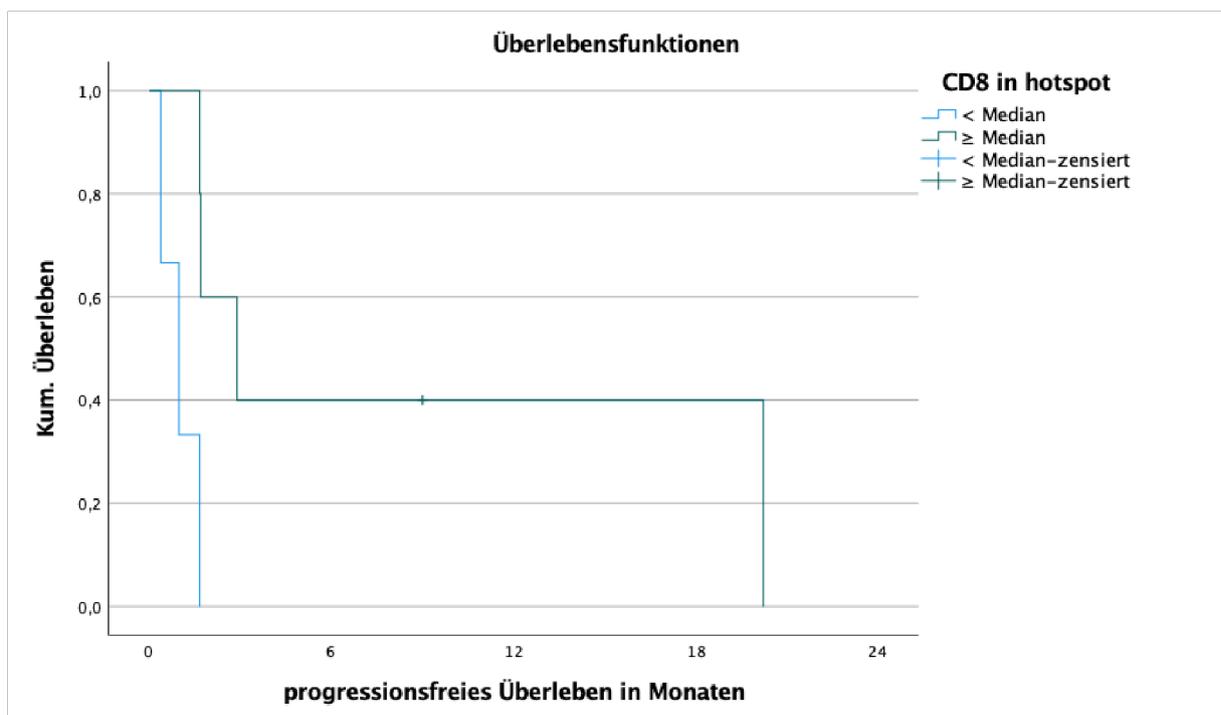


Abb. 13: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss der CD8⁺ -Infiltration im Hotspot auf das PFS

Ergebnisse

Variable	medianes progressionsfreies Überleben in Monaten	p-Wert (korr. p-Wert)
Demographische Variablen		
Alter bei ED	<75 Jahre: 1,3 (KI:0,9-1,8) ≥75 Jahre: 1,7 (KI:1,3-2)	0,226 (1)
Geschlecht	Weiblich: 1 (NR) Männlich: 1,7 (KI:1,3-2)	0,952 (1)
ECOG-Status	0: 1,7 (KI:1,2-2,1) ≥1: 1,5 (KI: 0-3,1)	0,397 (1)
BMI	normwertig: 1,0 (KI:0,2-1,8) erhöht: 1,7 (KI:1,2-2,2)	0,399 (1)
SNLB	ja: 1,2 (KI:0-2,3) nein: 1,7 (KI:1,4-2)	0,311 (1)
Radiatio	ja: 1,7 (KI: 0,9-2,4) nein: 1,4 (KI: 0,3-2,4)	0,679 (1)
Lokalisation Primarius	Bekannt: 1,7 (KI: 1,3-1,6) Unbekannt: 1,5 (KI:1,3-1,6)	0,481 (1)
Therapielinie	Erstlinie: 1,7 (KI: 1,2-2,1) Zweit-/Drittlinie: 1,5 (KI: 0,7-2,2)	0,620 (1)
Tumorleiden in Vorgeschichte	ja: 11,4 (KI: 0-26,5) nein: 1,2 (KI: 0,6-1,7)	0,013 (0,26)
Rheumatoide Arthritis	ja: 1,4 (NR) nein: 1,7 (KI: 1,1-2,3)	0,509 (1)
Diabetes mellitus	ja: 1,7 (NR) nein: 1,4 (KI: 0,5-2,2)	0,595 (1)
Immunhistochemische Auswertungen		
PD-L1-Status	positiv: 1,7 (NR) negativ: 1,7 (KI: 0,9-2,5)	0,348 (1)
MCPyV-Status	positiv: 0,4 (NR) negativ: 1,7 (KI:1,1-2,3)	0,750 (1)
CD8 ⁺ -Dichte i. Zentrum	<Median: 1,0 (KI: 0,1-1,9). ≥Median: 1,7 (KI: 0-13,8)	0,085 (1)
CD8 ⁺ -Dichte i. Peripherie	<Median: 1,7 (KI: 0,6-2,8) ≥Median: 2,9 (KI: 0-15,5)	0,08 (1)
CD8 ⁺ -Dichte i. Hotspot	<Median: 1,7 (KI: 0,6-2,8) ≥Median: 2,9 (KI :0,4-5,4)	0,014 (0,266)
Laborwerte		
LDH	normwertig: 2,9 (KI:0,3-5,5) erhöht: 1,2 (KI: 0,6-1,7)	0,041 (0,738)
CRP	normwertig: 1,7 (KI: 0,3-3) erhöht: 1,0 (KI: 0,2-1,8)	0,009 (0,189)
Leukozyten	normwertig: 1,7 (KI: 1,3-2) erhöht: 0,4 (NR), erniedrigt: 0,6 (NR)	<0,001 (0,022)
Eosinophile	Normwertig: 1,7 (1,1-2,2) Erniedrigt: 1,5 (NR)	0,285 (1)

Ergebnisse

Neutrophile	Normwertig: 1,7 (1,3-2,1) Erhöht: 0,4 (NR)	0,081 (1)
Lymphozyten	Normwertig: 1,7 (0,8-2,1) Erniedrigt: 1,7 (0,8-2,5)	0,285 (1)

Tabelle 6: Einfluss einzelner Variablen auf das PFS

3.3.2. Gesamtüberleben

3.3.2.1. LDH

Patienten mit prätherapeutisch erhöhten LDH-Werten hatten ein kürzeres Gesamtüberleben. Nach 6 Monaten waren 75% (n=6 von 8 Patienten) der Patienten mit erhöhtem LDH verstorben, in der Patientengruppe mit normwertiger LDH waren es 20% (n=1 von 5 Patienten).

Das mediane OS für Patienten mit normwertiger LDH konnte nicht bestimmt werden, da in dieser Gruppe nur ein Patient verstarb und der Rest somit zensiert wurde. Für die Patientengruppe mit erhöhten LDH-Werten betrug das OS 1,2 Monate (KI: 0-5,4). Der Unterschied war mit $p=0,011$ signifikant.

Eine Unterteilung der LDH-Werte nach ULN (normwertig/1-2xULN/ ≥ 2 ULN) ergab keine Signifikanz ($p=0,055$).

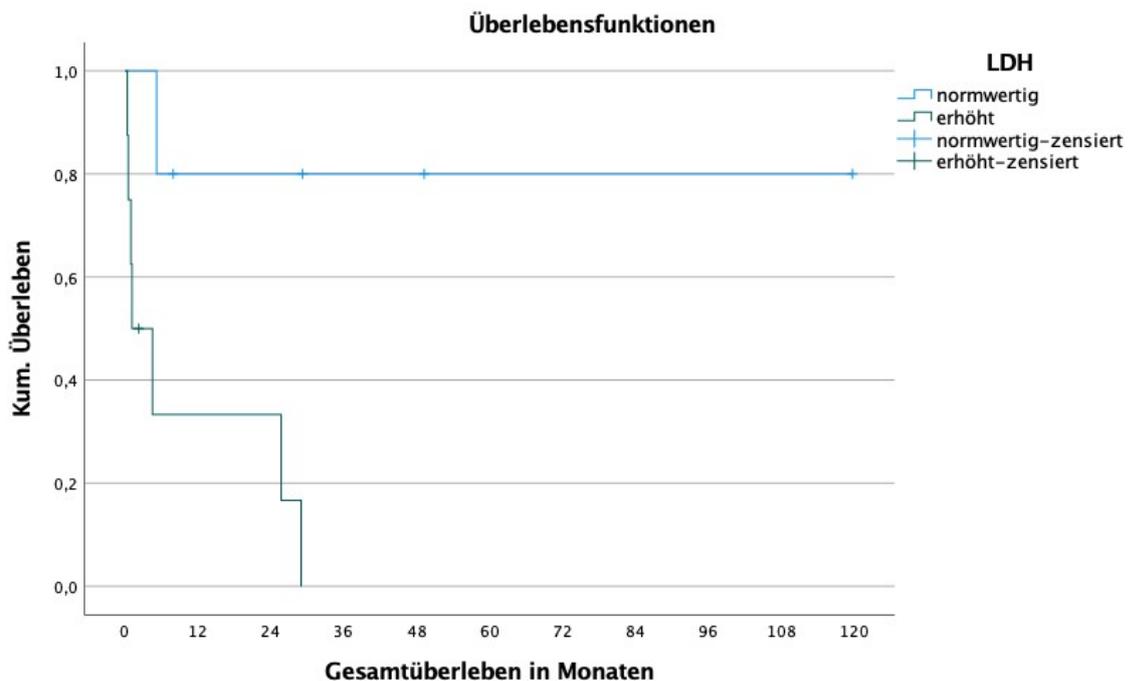


Abb. 14: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des LDH-Wertes auf das OS

3.1.1.1. CRP

Bei erhöhten prätherapeutischen CRP-Werten verkürzte sich das Gesamtüberleben. Patienten mit erhöhten CRP-Werten hatten ein Gesamtüberleben von 1 Monat (KI: 0,07-1,9), während diejenigen mit normwertigem CRP ein OS von 29 Monaten (KI: 20,9-37,1) hatten.

Nach 6 Monaten waren alle 5 Patienten mit erhöhtem CRP verstorben; aus der Gruppe mit normalem CRP-Wert waren es 25% (2 von 8 Patienten).

Der Unterschied war mit $p=0,002$ signifikant.

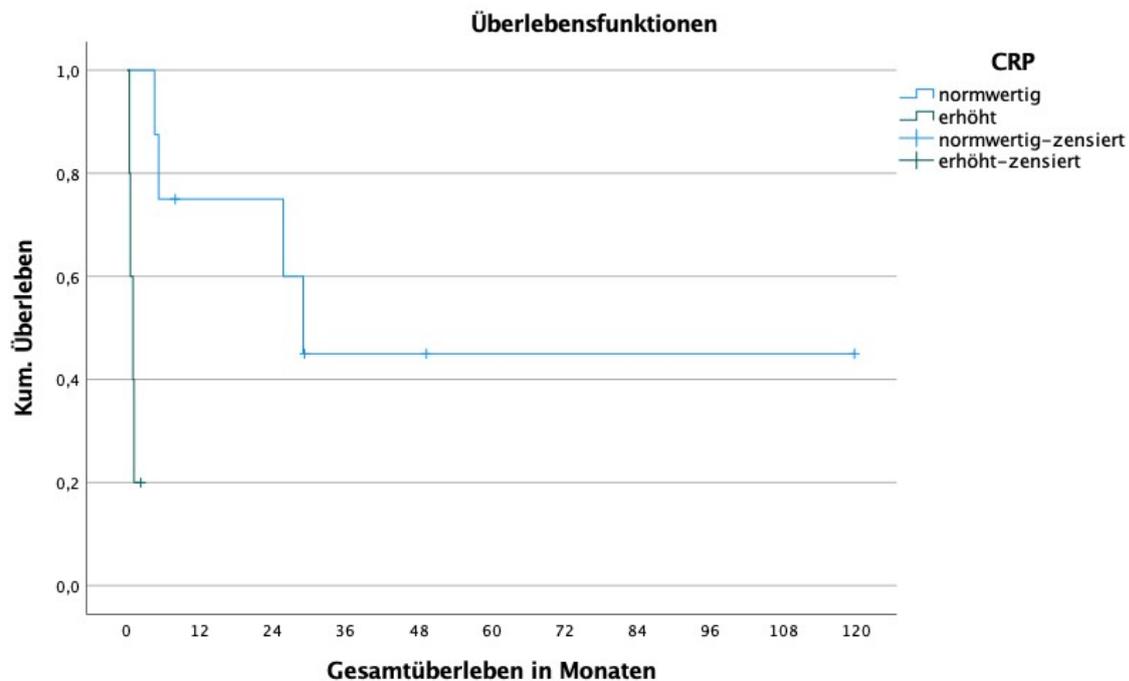


Abb. 15: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss des CRP-Wertes auf das OS

3.1.1.2. Leukozyten

Das mediane Gesamtüberleben bei Patienten mit normwertiger Leukozytenzahl betrug 25,7 Monate (KI: 0-57); bei erhöhten Werten war es mit 0,4 Monaten (NR) kürzer, ebenfalls bei erniedrigten Leukozyten (0,6 Monate (NR)). Der Unterschied erreichte mit einem p -Wert von $p \leq 0,001$ das Signifikanzniveau, allerdings war die Patientengruppe mit nicht normwertiger Leukozytenzahl mit $n=2$ sehr klein.

Die Thrombozytenzahl war für alle Patienten im normwertigen Bereich, sodass hier keine statistischen Tests angewendet wurden.

3.1.1.3. BMI

Das mediane OS bei Normalgewichtigen betrug 1,0 Monate (KI:0-25,6). Für die Patientengruppe mit Übergewicht konnte aufgrund vieler zensierter Fälle keine mediane Überlebenszeit berechnet werden.

Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war mit $p=0,181$ nicht signifikant.

3.1.1.4. Therapielinie

Patienten, die die Immuntherapie als Erstlinientherapie erhielten, hatten ein kürzeres Gesamtüberleben als diejenigen, die sie als Zweit- oder Drittlinientherapie erhielten (medianes OS 5,2 Monate (KI: 3,8-6,6) vs. 29,0 Monate (KI: 0-100)). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,501$). Nur ein Patient erhielt die Immuntherapie in dritter Linie.

3.1.1.5. PD-L1-Status

Der Unterschied im Gesamtüberleben zwischen Patienten mit positiver und negativer PD-L1-Expression war mit $p=0,322$ nicht signifikant. Aufgrund der geringen Fallzahl von $n=8$ und vieler zensierter Fälle konnten keine medianen Überlebenszeiten berechnet werden.

3.1.1.6. Merkelzell-Polyomavirusstatus

Bei negativem viralen Status konnte aufgrund der vielen zensierten Fälle kein medianes Gesamtüberleben bestimmt werden. Monaten. Bei positivem viralen Status betrug das OS 0,4 (NR). Der Unterschied war nicht signifikant ($p=0,553$).

3.1.1.7. CD8⁺-Infiltration

Ergebnisse

Bei CD8⁺-Infiltration im **Zentrum** konnten die medianen Gesamtüberlebenszeiten nicht berechnet werden, da zu viele Patienten zensiert waren. Der Unterschied zwischen den Gruppen war mit $p=0,051$ nicht signifikant.

Für den **Hotspot** konnten mediane OS ebenfalls nicht berechnet werden. Der p-Wert betrug allerdings 0,006; der Unterschied zwischen den Gruppen war somit signifikant (s. Abb. 17).

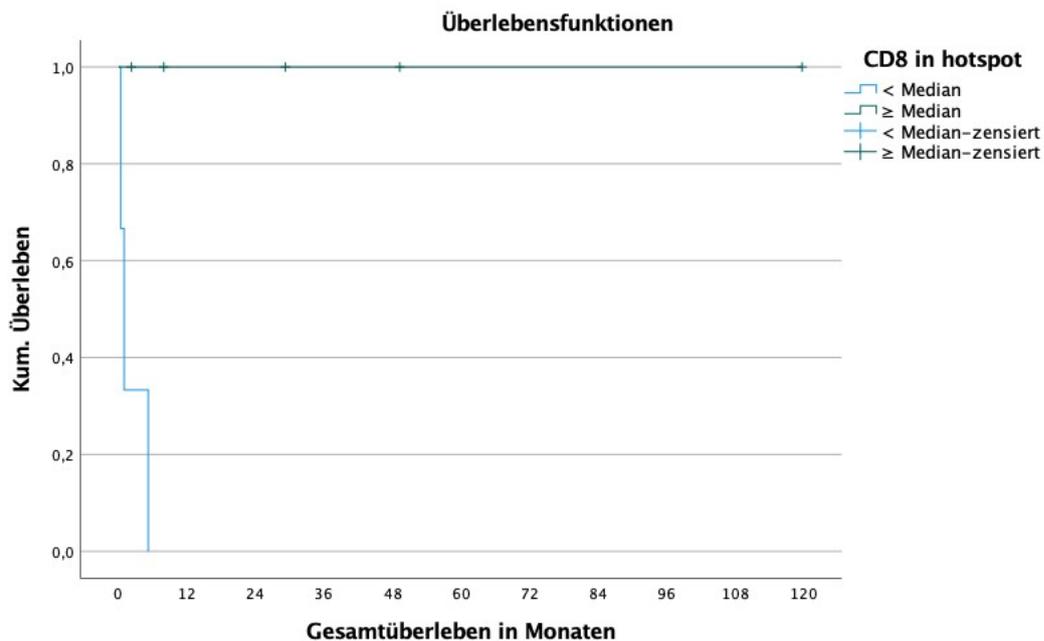


Abb. 16: Kaplan-Meier Kurve zum Einfluss der CD8⁺ - Infiltration im Hotspot auf das OS

Für die **Peripherie** konnte das OS bei CD8⁺-Werten über dem Median nicht errechnet werden (NR), bei Werten unter dem Median bei 5,2 Monaten (NR). Der Unterschied war mit $p=0,433$ nicht signifikant.

Ergebnisse

Variable	medianes Gesamtüberleben in Monaten (KI)	p-Wert (korr. p-Wert)
Demographische Variablen		
Alter bei ED	<75 Jahre: 4,5 (0-11,9) ≥75 Jahre: 25,7 (0-66,6)	0,875 (1)
Geschlecht	Weiblich: 1 (NR) Männlich: 28,9 (0-62)	0,327 (1)
ECOG-Status	0: 5,2 (3,3-7,1) ≥1: 29,0 (NR)	0,732 (1)
BMI	normwertig: 1,0 (0-25,6) erhöht: NR	0,181 (1)
SNLB	ja: 1,2 (0-2,4) nein: 29,0 (0-75,6)	0,157 (1)
Radiatio	ja: 4,5 (0-23,2) nein: 25,7 (0-57,1)	0,548 (1)
Lokalisation Primarius	Bekannt: 5,2 (0-39,0) Unbekannt: 4,5 (NR)	0,931 (1)
Therapielinie	Erstlinie: 5,2 (2,8-6,6) Zweit-/Drittlinie: 29,0 (0-100,5)	0,501 (1)
Tumorleiden in Vorgeschichte	ja: NR nein: 1,2 (0-5,4)	0,112 (1)
Rheumatoide Arthritis	ja: 4,5 (NR) nein: 25,7 (0-61,1)	0,920 (1)
Diabetes mellitus	ja: 29,0 (0-67,1) nein: 4,5 (KI: 0-32,7)	0,566 (1)
Immunhistochemische Auswertungen		
PD-L1-Status	positiv: NR negativ: NR	0,322 (1)
MCPyV-Status	positiv: 0,4 (NR) negativ: NR	0,553 (1)
CD8 ⁺ -Dichte i. Zentrum	<Median: NR ≥Median: NR	0,051 (0,918)
CD8 ⁺ -Dichte i. Peripherie	<Median: 5,2 (NR) ≥Median: NR	0,433 (1)
CD8 ⁺ -Dichte i. Hotspot	<Median: NR ≥Median: NR	0,006 (0,12)
Laborwerte		
LDH	normwertig: NR erhöht: 1,2 (0-5,4)	0,011 (0,209)
CRP	normwertig: 29,0 (20,9-37,1) erhöht: 1,0 (0,1-1,9)	0,002 (0,042)
Leukozyten	normwertig: 25,7 (0-56,9) erhöht: 0,4 (NR), erniedrigt: 0,6 (NR)	<0,001 (0,022)

Ergebnisse

Eosinophile	Normwertig: 5,2 (0-11,0) Erniedrigt: 29,0 (NR)	0,346 (1)
Neutrophile	Normwertig: 25,7 (0-54,6) Erhöht: 0,4 (NR)	0,383 (1)
Lymphozyten	Normwertig: 5,2 (0-83,6) Erniedrigt: 29,0 (0-83,6)	0,438 (1)

Tabelle 7: Einfluss einzelner Variablen auf das OS

4. Diskussion

Obwohl das MCC aufgrund von weltweit steigenden Inzidenzen in den letzten Jahren mehr in den Fokus der Forschung gerückt ist, ist die Prognose für Patienten mit MCC doch infaust: Trotz Fortschritten in den Therapiemöglichkeiten liegt das 5-Jahres-Überleben aufgrund von hohen Rezidivraten und früher Fernmetastasierung bei unter 50% (Lemos et al., 2010).

Für Patienten, die sich mit fortgeschrittenem Stadium vorstellen, sollte frühzeitig eine systemische Therapie eingeleitet werden. Ob sie hierbei für die erst seit kurzem verfügbare Immuntherapie mittels PD-1/PD-L1-Blockade infrage kommen, muss der Kliniker individuell erwägen. Prädiktive und prognostische Faktoren könnten ihm die Entscheidung, welcher Patient am wahrscheinlichsten von der Immuntherapie profitieren könnte, erleichtern. Da es von diesen Faktoren, welche Aussagen über das Ansprechen, das OS und das PFS machen, bisher nur wenige gibt, sollte das Ziel dieser Arbeit sein, anhand unserer Kohorte vorbekannte Faktoren zu überprüfen sowie sie auf neue zu untersuchen. So ergaben sich folgende Fragestellungen: Lassen sich die in vorherigen Arbeiten etablierten prädiktiven und prognostischen Faktoren anhand unserer Kohorte bestätigen? Finden sich neue Faktoren? Lassen sich daraus Therapieempfehlungen ableiten?

Patientenkollektiv

In der größten bisher bekannten Kohorte an MCC-Patienten (Lemos, 10.020 Patienten) betrug der Anteil männlicher Patienten 61%, die Frauen machten mit 39% die Minderheit aus (Lemos et al., 2010). Dieselben prozentualen Anteile brachte eine Studie mit 8044 Patienten hervor (Iyer et al., 2014). Die Zusammensetzung unserer Kohorte, bestehend aus 11 männlichen (85%) und nur 2 weiblichen (15%) Patienten, stellt damit eine Besonderheit dar.

Das mediane Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose betrug in unserer Studie 77 Jahre. Bei Lemos et al. waren es 76 Jahre, ebenso bei Iyer et al.

Wie auch in den genannten größeren Studien, traten die Primärtumore bei unseren Patienten am häufigsten in der Kopf-/Halsregion auf.

In einer größeren Kohorte, in der ebenfalls immunhistochemische Auswertungen von MCC-Proben durchgeführt wurden, exprimierten 66% der Tumore PD-L1, 18% waren

negativ, für den Rest konnte kein Ergebnis ausgewertet werden. In derselben Studie waren 52% MCPyV-positiv und 35% virusnegativ (Kaufman et al., 2016b). In unserer Kohorte waren 25% (n=2) PD-L1 positiv, 75% (n=6) exprimierten kein PDL1. Für das Polyomavirus wurden 25% (n=2) positiv, 75% (n=6) negativ getestet.

LDH

Während ein erhöhter LDH-Wert beim metastasierten Melanom schon länger als negativer prognostischer Faktor bekannt ist, liegen noch keine Studien vor, die einen ähnlichen Einfluss auf die Prognose beim MCC zeigen.

Schon seit 2009 spielt der LDH-Wert in der Stadieneinteilung des Melanoms nach AJCC eine Rolle: in der Fernmetastasen (M)-Klassifikation wurde unterschieden zwischen M1a (Weichgewebismetastasen), M1b (Lungenmetastasen) sowie M1c (Metastasen in anderen viszerale Organen oder LDH-Erhöhung) (Weide et al., 2012). Nach neuen Fassung von 2016 sollte jede M-Kategorie entweder mit einer „0“, was einer normwertigen LDH, oder einer „1“, was einer erhöhten entspricht, gekennzeichnet werden (Gershenwald et al., 2017).

In unterschiedlichen Studien konnte für das Melanom gezeigt werden, dass ein erhöhter LDH-Wert sowohl allgemein (Weide et al., 2012), als auch speziell unter Immuntherapie einen negativen Einfluss auf das hat: Wagner et al. zeigten 2018, dass Patienten mit metastasiertem Melanom unter Pembrolizumab (anti PD-1Antikörper)-Therapie ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben hatten, wenn ihr prätherapeutisches LDL höher war als 1,5xULN.

Durch die Lübecker Kohorte konnte gezeigt werden, dass man ähnliche Beobachtungen in der Immuntherapie des Merkelzellkarzinoms machen kann: Patienten mit prätherapeutisch pathologischen LDH-Werten hatten sowohl ein kürzeres PFS als auch OS.

Studie	Anzahl Patienten	Medianes Alter bei Erst-diagnose	Geschlechter- verteilung (w : m)	Lokalisation des Primärtumors			
				Kopf/Hals- Region	Obere Extremität	Untere Extremität	Rumpf
Lemos, BD (2010)	10.020	76	1 : 1,6	46,5%	21%	15,3%	11,7%
Iyer, J.G. (2014)	8.044	76	1 : 1,6	-	-	-	-
Albores-Saavedra, J. (2010)	3.870	73,6-76,2 (♂ - ♀)	1 : 1,6	43,9%	22%	14,4%	10,6%
Lee, Y. (2019)	601	77-82 (♂ - ♀)	1 : 1,5	46,3%	15,8%	19%	8,5%
Kaufman, H.L. (2016)	88	73	1 : 2,8	-	-	-	-
Von der Grün, J (2019)	49	74	1 : 1	45,5%	34%	-	20,5%
Eigene Daten	13	77	1 : 5,5	38,5%	23%	7,7%	7,7%

Tabelle 8: Vergleich Patientencharakteristika größerer Kohorten

CRP

Auch für das CRP als prognostischen Marker gibt es für das Merkelzellkarzinom noch keine Daten.

Für die Rolle des CRPs als Biomarker mit prognostischer Relevanz in der Immuntherapie des Melanoms hingegen liegen mehrere Studien vor:

eine japanische Arbeitsgruppe untersuchte mehrere Parameter in täglichen Blutentnahmen hinsichtlich ihres Einflusses auf die Prognose des fortgeschrittenen Melanoms unter Nivolumab (Anti PD-1)-Therapie.

Sie kam zu dem Ergebnis, dass das CRP der Parameter mit der größten Aussagekraft war, wenn es darum ging, prätherapeutisch zu prognostizieren, ob ein Patient auf die Immuntherapie ansprechen würde oder nicht. In ihrer Kohorte zeigte sich ein erhöhter CRP-Wert als prognostisch günstig (Okuhira et al., 2018).

Andere Studien identifizierten das CRP ebenfalls als prognostisch wichtigen allgemeinen Parameter, zeigten aber einen gegenteiligen Einfluss desselben: ein erhöhter CRP-Wert ging mit einem signifikant schlechteren Gesamtüberleben einher (Fang et al., 2015; Nakamura et al., 2016).

Mehrere Arbeitsgruppen, die die prognostische Relevanz des CRP speziell unter Immuntherapie untersuchten, kamen zu dem gleichen Ergebnis. Iivanainen et al. konnten einen signifikanten Unterschied im PFS zeigen: bei der Patientengruppe mit CRP-Werten <10 mg/l betrug es 7 Monate, bei denen mit erhöhten Werten waren es 2 (Heppert et al., 2017; Iivanainen et al., 2019).

In unserer Kohorte konnte ein signifikanter Einfluss auf sowohl das PFS, als auch das OS gezeigt werden.

BMI

McQuade et al. identifizierten einen Zusammenhang zwischen Übergewicht und dem Überleben unter Anti-PD-1/PD-L1-Immuntherapie beim metastasierten Melanom: Patienten mit Normalgewicht (BMI 18,5-24,9) hatten, verglichen mit Patienten mit Präadipositas (BMI 25-29,9), ein längeres PFS und OS. Statistisch signifikant war der Unterschied bei männlichen Patienten beim Vergleich der Normalgewichtigen mit adipösen Patienten (BMI ≥ 30) hinsichtlich des PFS: bei normalgewichtigen Patienten betrug es 2,7 Monate, bei den Adipösen war es mit 7,6 Monaten länger; dies entspricht einer 30-40% geringeren Wahrscheinlichkeit, einen Progress zu erleiden (McQuade et al., 2018).

Auch in unserer Kohorte konnte ein ähnlicher Trend beobachtet werden. Aufgrund der geringen Fallzahl wurde auf eine Unterscheidung zwischen Präadipositas und Adipositas verzichtet und somit wurden lediglich zwei Patientengruppen gebildet. Übergewichtige Patienten hatten sowohl ein längeres OS, als auch ein längeres PFS, auch wenn die Unterschiede jeweils nicht das Signifikanzniveau erreichten. Um den von uns beobachteten Trend für das MCC zu bestätigen und außerdem einen eventuellen Unterschied hinsichtlich des Einflusses auf die Prognose zwischen Präadipositas und Adipositas nachzuweisen, wäre es zu empfehlen, Studien mit dieser Fragestellung prospektiv anzulegen.

CD8⁺-Infiltration

Feldmeyer et al. zeigten 2019, dass die Dichte an CD8⁺ Lymphozyten in der Tumorperipherie mit einem erhöhten Gesamtüberleben assoziiert war. Auch frühere Arbeiten identifizierten zytotoxische CD8⁺-Zellen schon als unabhängigen, prognostisch günstigen Marker (Paulson et al., 2011; Sihto & Joensuu, 2012). Paulson et al. unterteilten die Immunzellendichte in fünf Stufen: 0 bedeutete nahezu keine CD8⁺-Zellen, Stufe 5 eine ausgesprochen hohe Infiltration der Immunzellen im Tumorgewebe. Patienten aus den Stufen 3-5 hatten ein MCC-spezifisches Überleben von 100%; diejenigen aus den Stufen 0-2 hatten mit 60% ein deutlich geringeres krankheitsspezifisches Überleben.

Unsere Kohorte zeigte ähnliche Ergebnisse bei einer erhöhten CD8⁺-Zelldichte im Hotspot für das PFS sowie OS.

PD-L1-Expression und MCPyV-Status

Eine tschechische Studie untersuchte einen möglichen Zusammenhang zwischen Gesamtüberleben und PD-L1-Expression bei 14 Patienten und konnte, wie auch wir in unserer Kohorte, keine statistisch signifikante Assoziation feststellen (Richter et al., 2019). Lipson et al. hingegen führten eine Studie mit 67 Patienten durch und kamen zu dem Ergebnis, dass PD-L1 negative Tumorzellen immer auch MCPyV negativ waren. Die Arbeitsgruppe stellte daraufhin die Hypothese auf, dass eine endogene MCPyV-spezifische Immunantwort die PD-L1-Expression in MCC auslösen könnte, wie dies auch schon für das Melanom und Plattenepithelkarzinome im Kopf- und Halsbereich gezeigt werden konnte. In ihrer Kohorte ging PD-L1-Expression mit einem signifikant besseren Gesamtüberleben einher. (Lipson et al., 2013).

Eine Studie mit n=88, in der die Patienten nach Behandlung mit Avelumab (anti-PDL1) über 3 Jahre nachbeobachtet wurden, zeigte für Patienten mit positivem PD-L1 Status im Vergleich zu PD-L1 negativen Tumoren ein verbessertes Ansprechen (ORR 36,8% bzw. 18,8%). Außerdem wurden bessere Ansprechraten beobachtet für Patienten mit negativem MCPyV-Status verglichen mit MCPyV positiven Tumoren (ORR 35,5% bzw. 28,3%) (D'Angelo et al., 2020). In einer anderen Studie untersuchte man dieselben Parameter auf einen möglichen Einfluss auf das Ansprechen bei Therapie mit Pembrolizumab (anti-PD-1). Hier konnte für die PD-L1 Expression sowie den viralen

Status kein signifikanter Einfluss auf die ORR, das PFS oder das OS gezeigt werden (P. Nghiem et al., 2019).

Auch in unserer Kohorte zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen PDL1-Expression oder MCPyV und den Zielgrößen.

Therapielinie

In unserer Kohorte konnte kein signifikanter Unterschied zwischen Patienten, die die Immuntherapie als erste Therapie erhielten, und denen, die zuvor bereits z.B. eine Chemotherapie erhalten hatten, beobachtet werden. Eine Studie, die 88 Patienten mit vorangegangener Chemotherapie einschloss, untersuchte die prädiktive Relevanz der Anzahl der systemischen Vortherapien. Sie kam zu dem Ergebnis, dass eine geringe Anzahl derselben mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für ein Therapieansprechen assoziiert war, und vermutete ein geschwächtes Immunsystem als Grund für ein schlechteres Ansprechen bei hoher Anzahl vorangegangener Therapien (Kaufman et al., 2016b).

Tumorleiden in Vorgeschichte

Wir stellten ein signifikant längeres PFS bei Patienten mit einem Tumorleiden in der Vorgeschichte fest. Es liegen Daten vor, die ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer zweiten Tumorerkrankung innerhalb eines Jahres nach MCC-Diagnose belegen. Bei diesen Patienten scheint es negative Auswirkungen auf das OS zu geben (Saxena et al., 2014). Zum jetzigen Zeitpunkt fehlen Studien, die die möglichen Auswirkungen von Tumorerkrankungen in der Vorgeschichte auf PFS oder OS bei MCC-Patienten beleuchten. Hier wäre die Untersuchung größerer Kohorten zu empfehlen.

4.1 Selbstkritische Aspekte

Aufgrund der kleinen Kohorte von 13 Patienten ist die Aussagefähigkeit der Ergebnisse begrenzt, da diese schnell verzerrt werden können, deshalb sollen unsere Untersuchungen vorrangig mögliche Tendenzen zu prädiktiven Faktoren aufzeigen.

Eine Unterteilung der Kohorte in mehr als 2 Untergruppen war in den meisten Fällen nicht möglich, da die Subgruppen dann zu klein wurden.

Zudem lagen uns nicht immer alle Werte vor, was bei einer Kohorte in dieser Größe einen Einfluss auf die Ergebnisse haben kann. Für die immunhistochemischen Auswertungen hatten wir nur für 8 der Patienten genügend Tumormaterial zur Verfügung.

Bei 4 Patienten konnte nach der Erstgabe der Immuntherapie kein Staging mehr durchgeführt werden, da sie zu schnell verstarben, weshalb keine eindeutigen Aussagen zum Verlauf gemacht werden können. Wir werteten das Ansprechen in diesen Fällen als Progress.

Betrachtet man allerdings die äußerst geringe Inzidenz der Erkrankung mit 0,3/100.000, haben wir mit unserer Lübecker Kohorte von 13 Patienten, die die Immuntherapie mittels PD-1/PD-L1-Blockade erhielten, doch eine verhältnismäßig hohe Patientenzahl erreichen können. Sinnvoll wäre das Anlegen von prospektiven Studien, um unsere Beobachtungen anhand von noch größeren Kohorten zu überprüfen.

4.2 Schlussfolgerung und Ausblick

International rasch steigende Inzidenzen des MCC haben die Tumorentität in den letzten beiden Jahrzehnten in den wissenschaftlichen Fokus gerückt. Bis vor einigen Jahren war die Chemotherapie die primäre systemische Therapie bei fortgeschrittenem MCC (Topalian et al., 2020). Trotz oft hoher Ansprechraten von knapp 60% blieb sie für die Patienten aufgrund der nur kurzen Ansprechdauer von etwa drei Monaten und der vielen Nebenwirkungen doch eine enttäuschende Therapiemöglichkeit (Iyer et al., 2016).

Auch wenn mit der Immuntherapie den Patienten in fortgeschrittenem Stadium seit einigen Jahren eine vielversprechende Alternative zur systemischen Chemotherapie geboten werden kann, profitiert nur etwa die Hälfte der MCC Patienten davon (Kaufman

et al., 2016b; P. T. Nghiem et al., 2016). Dies, sowie auch das Entwickeln von Resistenzen nach initialem Ansprechen, stellt Kliniker vor große Herausforderungen. Auch 9 unserer 13 Patienten zeigten kein Ansprechen auf die Checkpointblockade. Prädiktive Marker könnten es Klinikern ermöglichen, prätherapeutisch wahrscheinliche Responder von Non-Respondern zu unterscheiden, doch welche therapeutischen Optionen können sie ihren Patienten bieten, wenn deren individuelles Profil gegen eine Immuntherapie spricht? Aktuell laufen zahlreiche klinische Studien, die neue Kombinationsmöglichkeiten von PD-1 Blockade mit anderen Checkpointinhibitoren, onkolytischen Virustherapien, TLR-Agonisten, mTOR-Inhibitoren, Tyrosinkinase-Inhibitoren sowie Apoptose-induzierende Wirkstoffe evaluieren (Babadzhanov et al., 2021; Colunga et al., 2018). Glutsch et al zeigten beispielsweise einen MCC Patienten, der in Stadium IIIC initial mit Avelumab behandelt wurde. Monate später zeigte er einen Progress mit Metastasierung in multiplen Organen. Es wurde eine off-label Immuntherapie mit Ipilimumab und Nivolumab eingeleitet, woraufhin innerhalb von vier Wochen eine CR erreicht werden konnte (Glutsch et al., 2019).

Eine österreichische Forschungsgruppe vermutet eine neue Therapiemöglichkeit in der Inhibition von epigenetischen Regulatoren. Sie fanden heraus, dass die Lysin-spezifische-Histon-Demethylase 1A (LSD1) für die Proliferation vom MCC benötigt wird und erhoffen sich eine vielversprechende neue Therapiemöglichkeit mit LSD1-Inhibitoren in Kombination mit Checkpointinhibitoren (Leienecker et al., 2020).

Durch die Immuntherapie konnte die Prognose für MCC-Patienten in fortgeschrittenem Stadium, welche vorher mit der Chemotherapie als einziger Option infaust war, deutlich verbessert werden (Babadzhanov et al., 2021; D'Angelo et al., 2020). Trotz der Fortschritte der letzten Jahre sind weitere klinische Studien mit großen Kohorten nötig, um die vorhandenen Therapien und ihre Kombinationsmöglichkeiten weiterzuentwickeln, sodass mehr Patienten von der Immuntherapie profitieren können. Hier gilt es erste Ergebnisse der laufenden Studien abzuwarten (Colunga et al., 2018).

5. Zusammenfassung

Das Merkelzellkarzinom ist eine seltene, aber aggressive Form des Hautkrebs. Mit der Immuncheckpointblockade ist seit kurzem eine neue Therapiemöglichkeit für Patienten in fortgeschrittenen Stadien zugelassen, die in Studien, im Gegensatz zur Chemotherapie, zu langanhaltenden Ansprechraten führen konnte.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von 13 Patienten, die im Zeitraum von 2015 bis 2019 an der Dermatologie des Universitätsklinikums Schleswig Holstein – Campus Lübeck mit PD-L1 oder PD-1-Inhibition behandelt wurden, erhoben. Der Nachbeobachtungszeitraum endete im Mai 2019. Es wurde statistisch untersucht, welche Faktoren einen positiven oder negativen Einfluss auf das Gesamtüberleben, das progressionsfreie Überleben sowie das Ansprechen haben. Hier fanden KaplanMeier-Analysen mit Log-rank-Tests sowie binär logistische Regressionsanalysen mit Chi-Quadrat-Tests Anwendung.

Auf das Ansprechen hatte keiner der durch uns untersuchten Parametern einen signifikanten Einfluss.

Das Gesamtüberleben betreffend konnten wir einen signifikanten Einfluss nachweisen für den LDH- und CRP-Wert, die Leukozytenzahl und der CD8⁺-Infiltration im Hotspot.

Das progressionsfreie Überleben wurde signifikant beeinflusst durch den LDH- und CRP-Wert, die Leukozytenzahl, CD8⁺-Infiltration im Hotspot sowie bei Tumorleiden in der Vorgeschichte.

Das mediane Gesamtüberleben der Patienten betrug 25,7 Monate (KI: 0-57,8), das mediane progressionsfreie Überleben lag bei 1,7 Monaten (KI: 1,3-2,1). 15% (n=2) der Patienten zeigten unter Immuntherapie eine komplette Remission, ebenfalls 15% zeigten eine partielle Remission. Ein Patient zeigte eine stabile Erkrankung als bestes Ansprechen. Bei vier Patienten (31%) wurde unter Immuntherapie ein Progress festgestellt, bei weiteren vier konnte aufgrund der zügig progredienten Erkrankung

nach der Erstgabe kein Staging mehr durchgeführt werden, da sie zu schnell verstarben. Wir entschieden uns trotzdem, sie in der Auswertung Zusammenfassung

beizubehalten, da sie einen wichtigen Beitrag zu den Ergebnissen leisten und den dermatoonkologischen Klinikalltag widerspiegeln.

Die vorliegende Arbeit liefert teilweise Ergebnisse, die in vorangegangenen Studien schon erzielt wurden, teilweise konnten wir in unserer Kohorte aber auch prädiktive sowie prognostische Faktoren identifizieren, die für das Merkelzellkarzinom noch nicht beobachtet wurden. Um diese in einer größeren Kohorte zu überprüfen, ließen wir die Daten einiger Patienten aus unserer monozentrischen Kohorte in die multizentrische von Becker et al einfließen.

6. Literatur

- Agoff, S. N., Lamps, L. W., Philip, A. T., Amin, M. B., Schmidt, R. A., True, L. D., & Folpe, A. L. (2000). Thyroid Transcription Factor-1 Is Expressed in Extrapulmonary Small Cell Carcinomas but Not in Other Extrapulmonary Neuroendocrine Tumors. *Modern Pathology*, *13*(3), 238–242. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3880044>
- Albores-Saavedra, J., Batich, K., Chable-Montero, F., Sagy, N., Schwartz, A. M., & Henson, D. E. (2010). Merkel cell carcinoma demographics, morphology, and survival based on 3870 cases: A population based study. *Journal of Cutaneous Pathology*, *37*(1), 20–27. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0560.2009.01370.x>
- Amber, K., McLeod, M. P., & Nouri, K. (2013). The Merkel Cell Polyomavirus and Its Involvement in Merkel Cell Carcinoma: *Dermatologic Surgery*, *39*(2), 232–238. <https://doi.org/10.1111/dsu.12079>
- Asgari, M. M., Sokil, M. M., Warton, E. M., Iyer, J., Paulson, K. G., & Nghiem, P. (2014). Effect of Host, Tumor, Diagnostic, and Treatment Variables on Outcomes in a Large Cohort With Merkel Cell Carcinoma. *JAMA Dermatology*, *150*(7), 716. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2013.8116>
- Ashby, M. A., Jones, D. H., Tasker, A. D., & Blackshaw, A. J. (1989). Primary cutaneous neuroendocrine (Merkel cell or trabecular carcinoma) tumour of the skin: A radioresponsive tumour. *Clinical Radiology*, *40*(1), 85–87. [https://doi.org/10.1016/S0009-9260\(89\)80043-1](https://doi.org/10.1016/S0009-9260(89)80043-1)
- Babadzhanov, M., Doudican, N., Wilken, R., Stevenson, M., Pavlick, A., & Carucci, J. (2021). Current concepts and approaches to merkel cell carcinoma. *Archives of Dermatological Research*, *313*(3), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00403-020-02107-9>
- Becker, J. C., Eigentler, T., Frerich, B., Gambichler, T., Grabbe, S., Höller, U., Klumpp, B., Loquai, C., Krause-Bergmann, A., Müller-Richter, U., Pföhler, C., Schneider-Burrus, S., Stang, A., Terheyden, P., Ugurel, S., Veith, J., & Mauch, C. (2019). S2k guidelines for Merkel cell carcinoma (MCC, neuroendocrine carcinoma of the skin) – update 2018. *JDDG: Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*, *17*(5), 562–576. <https://doi.org/10.1111/ddg.13841>
- Borchert, S., Czech-Sioli, M., Neumann, F., Schmidt, C., Wimmer, P., Dobner, T.,

Grundhoff, A., & Fischer, N. (2014). High-Affinity Rb Binding, p53 Inhibition, Subcellular Localization, and Transformation by Wild-Type or Tumor-Derived Shortened Merkel Cell Polyomavirus Large T Antigens. *Journal of Virology*, 88(6), 3144–3160. <https://doi.org/10.1128/JVI.02916-13>

Chang, Y., & Moore, P. S. (2012). Merkel Cell Carcinoma: A Virus-Induced Human Cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 7(1), 123–144. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130227>

Colunga, A., Pulliam, T., & Nghiem, P. (2018). Merkel Cell Carcinoma in the Age of Immunotherapy: Facts and Hopes. *Clinical Cancer Research*, 24(9), 2035–2043. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0439>

D'Angelo, S. P., Bhatia, S., Brohl, A. S., Hamid, O., Mehnert, J. M., Terheyden, P., Shih, K. C., Brownell, I., Lebbé, C., Lewis, K. D., Linette, G. P., Milella, M., Georges, S., Shah, P., Ellers-Lenz, B., Bajars, M., Güzel, G., & Nghiem, P. T. (2020). Avelumab in patients with previously treated metastatic Merkel cell carcinoma: Longterm data and biomarker analyses from the single-arm phase 2 JAVELIN Merkel 200 trial. *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*, 8(1), e000674. <https://doi.org/10.1136/jitc-2020-000674>

D'Angelo, S. P., Russell, J., Lebbé, C., Chmielowski, B., Gambichler, T., Grob, J.-J., Kiecker, F., Rabinowits, G., Terheyden, P., Zwiener, I., Bajars, M., Hennessy, M., & Kaufman, H. L. (2018). Efficacy and Safety of First-line Avelumab Treatment in Patients With Stage IV Metastatic Merkel Cell Carcinoma: A Preplanned Interim Analysis of a Clinical Trial. *JAMA Oncology*, 4(9), e180077. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.0077>

De Wolf-Peeters, C., Marien, K., Mebis, J., & Desmet, V. (1979). A Cutaneous APUDoma or Merkel Cell Tumor? A Morphologically Recognizable Tumor With a Biological and Historical Malignant Aspect in Contrasts with Its Clinical Behaviour. *Cancer*, 46(8), 1810–1816.

Decker, R. H., & Wilson, L. D. (2006). Role of Radiotherapy in the Management of Merkel Cell Carcinoma of the Skin. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 4(7), 713–718. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2006.0061>

Demetriou, S. K., Ona-Vu, K., Sullivan, E. M., Dong, T. K., Hsu, S.-W., & Oh, D. H. (2012). Defective DNA repair and cell cycle arrest in cells expressing Merkel cell polyomavirus T antigen. *International Journal of Cancer*, 131(8), 1818–1827. <https://doi.org/10.1002/ijc.27440>

Eisemann, N., Waldmann, A., Geller, A. C., Weinstock, M. A., Volkmer, B., Greinert, R., Breitbart, E. W., & Katalinic, A. (2014). Non-Melanoma Skin Cancer Incidence and Impact of Skin Cancer Screening on Incidence. *Journal of Investigative Dermatology*, *134*(1), 43–50. <https://doi.org/10.1038/jid.2013.304>

Fang, S., Wang, Y., Sui, D., Liu, H., Ross, M. I., Gershenwald, J. E., Cormier, J. N., Royal, R. E., Lucci, A., Schacherer, C. W., Gardner, J. M., Reveille, J. D., Bassett, R. L., Wang, L.-E., Wei, Q., Amos, C. I., & Lee, J. E. (2015). C-Reactive Protein As a Marker of Melanoma Progression. *Journal of Clinical Oncology*, *33*(12), 1389–1396. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.0209>

Feldmeyer, L., Hudgens, C. W., Ray-Lyons, G., Nagarajan, P., Aung, P. P., Curry, J. L., Torres-Cabala, C. A., Mino, B., Rodriguez-Canales, J., Reuben, A., Chen, P.-L., Ko, J. S., Billings, S. D., Bassett, R. L., Wistuba, I. I., Cooper, Z. A., Prieto, V. G., Wargo, J. A., & Tetzlaff, M. T. (2016). Density, Distribution, and Composition of Immune Infiltrates Correlate with Survival in Merkel Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, *22*(22), 5553–5563. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0392>

Frohm, M. L., Griffith, K. A., Harms, K. L., Hayman, J. A., Fullen, D. R., Nelson, C. C., Wong, S. L., Schwartz, J. L., & Bichakjian, C. K. (2016). Recurrence and Survival in Patients With Merkel Cell Carcinoma Undergoing Surgery Without Adjuvant Radiation Therapy to the Primary Site. *JAMA Dermatology*, *152*(9), 1001. <https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2016.1428>

Gershenwald, J. E., Scolyer, R. A., Hess, K. R., Sondak, V. K., Long, G. V., Ross, M. I., Lazar, A. J., Faries, M. B., Kirkwood, J. M., McArthur, G. A., Haydu, L. E., Eggermont, A. M. M., Flaherty, K. T., Balch, C. M., Thompson, J. F., & for members of the American Joint Committee on Cancer Melanoma Expert Panel and the International Melanoma Database and Discovery Platform. (2017). Melanoma staging: Evidence-based changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual: Melanoma Staging: AJCC 8th Edition. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *67*(6), 472–492. <https://doi.org/10.3322/caac.21409>

Glutsch, V., Kneitz, H., Goebeler, M., Gesierich, A., & Schilling, B. (2019). Breaking avelumab resistance with combined ipilimumab and nivolumab in metastatic Merkel cell carcinoma? *Annals of Oncology*, *30*(10), 1667–1668. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz230>

Harms, K. L., Healy, M. A., Nghiem, P., Sober, A. J., Johnson, T. M., Bichakjian, C. K., & Wong, S. L. (2016). Analysis of Prognostic Factors from 9387 Merkel Cell

Carcinoma Cases Forms the Basis for the New 8th Edition AJCC Staging System. *Annals of Surgical Oncology*, 23(11), 3564–3571. <https://doi.org/10.1245/s10434016-5266-4>

Harms, P. W., Harms, K. L., Moore, P. S., DeCaprio, J. A., Nghiem, P., Wong, M. K. K., & Brownell, I. (2018). The biology and treatment of Merkel cell carcinoma: Current understanding and research priorities. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 15(12), 763–776. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0103-2>

Haymerle, G., Fochtmann, A., Kunstfeld, R., Pammer, J., & Erovic, B. M. (2016). Merkel cell carcinoma: Overall survival after open biopsy versus wide local excision: Wide Local Excision for Merkel Cell Carcinoma. *Head & Neck*, 38(S1), E1014–E1018. <https://doi.org/10.1002/hed.24148>

Heath, M., Jaimes, N., Lemos, B., Mostaghimi, A., Wang, L. C., Peñas, P. F., & Nghiem, P. (2008). Clinical characteristics of Merkel cell carcinoma at diagnosis in 195 patients: The AEIOU features. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 58(3), 375–381. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2007.11.020>

Heppt, M. V., Heinzerling, L., Kähler, K. C., Forschner, A., Kirchberger, M. C., Loquai, C., Meissner, M., Meier, F., Terheyden, P., Schell, B., Herbst, R., Göppner, D., Kiecker, F., Rafei-Shamsabadi, D., Haferkamp, S., Huber, M. A., Utikal, J., Ziemer, M., Bumeder, I., ... Berking, C. (2017). Prognostic factors and outcomes in metastatic uveal melanoma treated with programmed cell death-1 or combined PD-1/cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 inhibition. *European Journal of Cancer*, 82, 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.05.038>

Iivanainen, S., Ahvonen, J., Knuutila, A., Tiainen, S., & Koivunen, J. P. (2019). Elevated CRP levels indicate poor progression-free and overall survival on cancer patients treated with PD-1 inhibitors. *ESMO Open*, 4(4), e000531. <https://doi.org/10.1136/esmooopen-2019-000531>

Iyer, J. G., Blom, A., Doumani, R., Lewis, C., Tarabdkar, E. S., Anderson, A., Ma, C., Bestick, A., Parvathaneni, U., Bhatia, S., & Nghiem, P. (2016). Response rates and durability of chemotherapy among 62 patients with metastatic Merkel cell carcinoma. *Cancer Medicine*, 5(9), 2294–2301. <https://doi.org/10.1002/cam4.815>

Iyer, J. G., Storer, B. E., Paulson, K. G., Lemos, B., Phillips, J. L., Bichakjian, C. K., Zeitouni, N., Gershenwald, J. E., Sondak, V., Otley, C. C., Yu, S. S., Johnson, T. M., Liegeois, N. J., Byrd, D., Sober, A., & Nghiem, P. (2014). Relationships among

primary tumor size, number of involved nodes, and survival for 8044 cases of Merkel cell carcinoma. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(4), 637–643.

<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2013.11.031>

Jouary, T., Leyral, C., Dreno, B., Doussau, A., Sassolas, B., Beylot-Barry, M., Renaud-Vilmer, C., Guillot, B., Bernard, P., Lok, C., Bedane, C., Cambazard, F., Misery, L., Esteve, E., Dalac, S., Machet, L., Grange, F., Young, P., Granel-Brocard, F., ... for the Groupe de Cancerologie Cutanee of the Societe Francaise de Dermatologie. (2012). Adjuvant prophylactic regional radiotherapy versus observation in stage I Merkel cell carcinoma: A multicentric prospective randomized study. *Annals of Oncology*, 23(4), 1074–1080.

<https://doi.org/10.1093/annonc/mdr318>

Kaufman, H. L., Russell, J., Hamid, O., Bhatia, S., Terheyden, P., D'Angelo, S. P., Shih, K. C., Lebbé, C., Linette, G. P., Milella, M., Brownell, I., Lewis, K. D., Lorch, J. H., Chin, K., Mahnke, L., von Heydebreck, A., Cuillerot, J.-M., & Nghiem, P. (2016a). Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: A multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*, 17(10), 1374–1385. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30364-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30364-3)

Kaufman, H. L., Russell, J., Hamid, O., Bhatia, S., Terheyden, P., D'Angelo, S. P., Shih, K. C., Lebbé, C., Linette, G. P., Milella, M., Brownell, I., Lewis, K. D., Lorch, J. H., Chin, K., Mahnke, L., von Heydebreck, A., Cuillerot, J.-M., & Nghiem, P. (2016b). Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: A multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *The Lancet Oncology*, 17(10), 1374–1385. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30364-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30364-3)

Leiendecker, L., Jung, P. S., Krecioch, I., Neumann, T., Schleiffer, A., Mechtler, K., Wiesner, T., & Obenaus, A. C. (2020). LSD1 inhibition induces differentiation and cell death in Merkel cell carcinoma. *EMBO Molecular Medicine*, 12(11).

<https://doi.org/10.15252/emmm.202012525>

Lemos, B. D., Storer, B. E., Iyer, J. G., Phillips, J. L., Bichakjian, C. K., Fang, L. C., Johnson, T. M., Liegeois-Kwon, N. J., Otley, C. C., Paulson, K. G., Ross, M. I., Yu, S. S., Zeitouni, N. C., Byrd, D. R., Sondak, V. K., Gershenwald, J. E., Sober, A. J., & Nghiem, P. (2010). Pathologic nodal evaluation improves prognostic accuracy in Merkel cell carcinoma: Analysis of 5823 cases as the basis of the first consensus staging system. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 63(5), 751–761.

<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2010.02.056>

Liang, E., Brower, J. V., Rice, S. R., Buehler, D. G., Saha, S., & Kimple, R. J. (2015). Merkel Cell Carcinoma Analysis of Outcomes: A 30-Year Experience. *PLOS ONE*, *10*(6), e0129476. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129476>

Lipson, E. J., Vincent, J. G., Loyo, M., Kagohara, L. T., Lubber, B. S., Wang, H., Xu, H., Nayar, S. K., Wang, T. S., Sidransky, D., Anders, R. A., Topalian, S. L., & Taube, J. M. (2013). PD-L1 Expression in the Merkel Cell Carcinoma Microenvironment: Association with Inflammation, Merkel Cell Polyomavirus, and Overall Survival. *Cancer Immunology Research*, *1*(1), 54–63. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0034>

Marzban, S., Geramizadeh, B., & Farzaneh, M.-R. (2011). Merkel cell carcinoma in a 17-year-old boy, report of a highly aggressive fatal case and review of the literature. *Rare Tumors*, *3*(3), 108–110. <https://doi.org/10.4081/rt.2011.e34>

McQuade, J. L., Daniel, C. R., Hess, K. R., Mak, C., Wang, D. Y., Rai, R. R., Park, J. J., Haydu, L. E., Spencer, C., Wongchenko, M., Lane, S., Lee, D.-Y., Kaper, M., McKean, M., Beckermann, K. E., Rubinstein, S. M., Rooney, I., Musib, L., Budha, N., ... Davies, M. A. (2018). Association of body-mass index and outcomes in patients with metastatic melanoma treated with targeted therapy, immunotherapy, or chemotherapy: A retrospective, multicohort analysis. *The Lancet Oncology*, *19*(3), 310–322. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30078-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30078-0)

Moshiri, A. S., Doumani, R., Yelistratova, L., Blom, A., Lachance, K., Shinohara, M. M., Delaney, M., Chang, O., McArdle, S., Thomas, H., Asgari, M. M., Huang, M.-L., Schwartz, S. M., & Nghiem, P. (2017). Polyomavirus-Negative Merkel Cell Carcinoma: A More Aggressive Subtype Based on Analysis of 282 Cases Using Multimodal Tumor Virus Detection. *Journal of Investigative Dermatology*, *137*(4), 819–827. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.10.028>

Nakamura, Y., Kitano, S., Takahashi, A., Tsutsumida, A., Namikawa, K., Tanese, K., Abe, T., Funakoshi, T., Yamamoto, N., Amagai, M., & Yamazaki, N. (2016). Nivolumab for advanced melanoma: Pretreatment prognostic factors and early outcome markers during therapy. *Oncotarget*, *7*(47). <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12677>

Nghiem, P., Bhatia, S., Lipson, E. J., Sharfman, W. H., Kudchadkar, R. R., Brohl, A. S., Friedlander, P. A., Daud, A., Kluger, H. M., Reddy, S. A., Boulmay, B. C., Riker, A. I., Burgess, M. A., Hanks, B. A., Olencki, T., Margolin, K., Lundgren, L. M., Soni, A., Ramchurren, N., ... Topalian, S. L. (2019). Durable Tumor Regression and

Overall Survival in Patients With Advanced Merkel Cell Carcinoma Receiving Pembrolizumab as First-Line Therapy. *Journal of Clinical Oncology*, 37(9), 693–702.

<https://doi.org/10.1200/JCO.18.01896>

Nghiem, P., Kaufman, H. L., Bharmal, M., Mahnke, L., Phatak, H., & Becker, J. C. (2017). Systematic literature review of efficacy, safety and tolerability outcomes of chemotherapy regimens in patients with metastatic Merkel cell carcinoma. *Future Oncology*, 13(14), 1263–1279. <https://doi.org/10.2217/fon-2017-0072>

Nghiem, P. T., Bhatia, S., Lipson, E. J., Kudchadkar, R. R., Miller, N. J., Annamalai, L., Berry, S., Chartash, E. K., Daud, A., Fling, S. P., Friedlander, P. A., Kluger, H. M., Kohrt, H. E., Lundgren, L., Margolin, K., Mitchell, A., Olencki, T., Pardoll, D. M., Reddy, S. A., ... Cheever, M. A. (2016). PD-1 Blockade with Pembrolizumab in Advanced Merkel-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 374(26), 2542–2552. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1603702>

Nicolaidou, E., Mikrova, A., Antoniou, C., & Katsambas, A. D. (2012). Advances in Merkel cell carcinoma pathogenesis and management: A recently discovered virus, a new international consensus staging system and new diagnostic codes: Recent advances in Merkel cell carcinoma. *British Journal of Dermatology*, 166(1), 16–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2011.10562.x>

Okuhira, H., Yamamoto, Y., Inaba, Y., Kunimoto, K., Mikita, N., Ikeda, T., Kaminaka, C., Minami, Y., Kananzawa, N., Furukawa, F., & Jinnin, M. (2018). Prognostic factors of daily blood examination for advanced melanoma patients treated with nivolumab. *BioScience Trends*, 12(4), 412–418. <https://doi.org/10.5582/bst.2018.01158>

Paik, J. Y., Hall, G., Clarkson, A., Lee, L., Toon, C., Colebatch, A., Chou, A., & Gill, A. J. (2011). Immunohistochemistry for Merkel cell polyomavirus is highly specific but not sensitive for the diagnosis of Merkel cell carcinoma in the Australian population. *Human Pathology*, 42(10), 1385–1390. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2010.12.013>

Paulson, K. G., Iyer, J. G., Blom, A., Warton, E. M., Sokil, M., Yelistratova, L., Schuman, L., Nagase, K., Bhatia, S., Asgari, M. M., & Nghiem, P. (2013). Systemic Immune Suppression Predicts Diminished Merkel Cell Carcinoma–Specific Survival Independent of Stage. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(3), 642–646. <https://doi.org/10.1038/jid.2012.388>

Paulson, K. G., Iyer, J. G., Tegeder, A. R., Thibodeau, R., Schelter, J., Koba, S., Schrama, D., Simonson, W. T., Lemos, B. D., Byrd, D. R., Koelle, D. M., Galloway,

D. A., Leonard, J. H., Madeleine, M. M., Argenyi, Z. B., Disis, M. L., Becker, J. C., Cleary, M. A., & Nghiem, P. (2011). Transcriptome-Wide Studies of Merkel Cell Carcinoma and Validation of Intratumoral CD8+ Lymphocyte Invasion As an Independent Predictor of Survival. *Journal of Clinical Oncology*, 29(12), 1539–1546. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.30.6308>

Paulson, K. G., Park, S. Y., Vandeven, N. A., Lachance, K., Thomas, H., Chapuis, A. G., Harms, K. L., Thompson, J. A., Bhatia, S., Stang, A., & Nghiem, P. (2018). Merkel cell carcinoma: Current US incidence and projected increases based on changing demographics. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 78(3), 457-463.e2. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2017.10.028>

Pectasides, D. (2006). Merkel cell cancer of the skin. *Annals of Oncology*, 17(10), 1489–1495. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdl050>

Perez, M. C., de Pinho, F. R., Holstein, A., Oliver, D. E., Naqvi, S. M. H., Kim, Y., Messina, J. L., Burke, E., Gonzalez, R. J., Sarnaik, A. A., Cruse, C. W., Wuthrick, E. J., Harrison, L. B., Sondak, V. K., & Zager, J. S. (2018). Resection Margins in Merkel Cell Carcinoma: Is a 1-cm Margin Wide Enough? *Annals of Surgical Oncology*, 25(11), 3334–3340. <https://doi.org/10.1245/s10434-018-6688-y>

Ricard, A.-S., Sessiecq, Q., Siberchicot, F., Jouary, T., & Laurentjoye, M. (2015). Sentinel lymph node biopsy for head and neck Merkel cell carcinoma: A preliminary study. *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck Diseases*, 132(2), 77–80. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2015.01.005>

Richter, I., Dvorak, T., Cermakova, E., Bartos, J., & Büchler, T. (2019). Expression and prognostic significance of programmed death-ligand 1 (PD-L1) in Merkel cell carcinoma. *Journal of B.U.O.N.: official journal of the Balkan Union of Oncology*, 24(5), 2155–2160.

Saxena, A., Rubens, M., Ramamoorthy, V., & Khan, H. (2014). Risk of Second Cancers in Merkel Cell Carcinoma: A Meta-Analysis of Population Based Cohort Studies. *Journal of Skin Cancer*, 2014, 184245. <https://doi.org/10.1155/2014/184245>

Schmid, Ch., Beham, A., Feichtinger, J., Auböck, L., & Dietze, O. (1992). Recurrent and subsequently metastasizing Merkel cell carcinoma in a 7-year-old girl. *Histopathology*, 20(5), 437–439. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1992.tb01017.x>

Shuda, M., Kwun, H. J., Feng, H., Chang, Y., & Moore, P. S. (2011). Human Merkel cell polyomavirus small T antigen is an oncoprotein targeting the 4E-BP1 translation regulator. *Journal of Clinical Investigation*, 121(9), 3623–3634.

<https://doi.org/10.1172/JCI46323>

Sihto, H., & Joensuu, H. (2012). Tumor-infiltrating lymphocytes and outcome in Merkel cell carcinoma, a virus-associated cancer. *Oncology*, 1(8), 1420–1421. <https://doi.org/10.4161/onci.21120>

Smith, V. A., Camp, E. R., & Lentsch, E. J. (2012). Merkel cell carcinoma: Identification of prognostic factors unique to tumors located in the head and neck based on analysis of SEER data. *The Laryngoscope*, 122(6), 1283–1290. <https://doi.org/10.1002/lary.23222>

Stang, A., Becker, J. C., Nghiem, P., & Ferlay, J. (2018). The association between geographic location and incidence of Merkel cell carcinoma in comparison to melanoma: An international assessment. *European Journal of Cancer*, 94, 47–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2018.02.003>

Tilling, T., & Moll, I. (2012). Which Are the Cells of Origin in Merkel Cell Carcinoma? *Journal of Skin Cancer*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/680410>

Topalian, S. L., Bhatia, S., Amin, A., Kudchadkar, R. R., Sharfman, W. H., Lebbé, C., Delord, J.-P., Dunn, L. A., Shinohara, M. M., Kulikauskas, R., Chung, C. H., Martens, U. M., Ferris, R. L., Stein, J. E., Engle, E. L., Devriese, L. A., Lao, C. D., Gu, J., Li, B., ... Nghiem, P. (2020). Neoadjuvant Nivolumab for Patients With Resectable Merkel Cell Carcinoma in the CheckMate 358 Trial. *Journal of Clinical Oncology*, 38(22), 2476–2487. <https://doi.org/10.1200/JCO.20.00201>

Tseng, Y. D., Apisarnthanarax, S., Liao, J. J., Bhatia, S., Nghiem, P. T., & Parvathaneni, U. (2017). Factors influencing radiation treatment recommendations in early-stage Merkel cell carcinoma: A survey of US-based radiation oncologists. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 17(3), 281–287. <https://doi.org/10.1080/14737140.2017.1285233>

van Veenendaal, L. M., van Akkooi, A. C. J., Verhoef, C., Grünhagen, D. J., Klop, W. M. C., Valk, G. D., & Tesselaar, M. E. T. (2018). Merkel cell carcinoma: Clinical outcome and prognostic factors in 351 patients. *Journal of Surgical Oncology*, 117(8), 1768–1775. <https://doi.org/10.1002/jso.25090>

Vandeven, N., Lewis, C. W., Makarov, V., Riaz, N., Paulson, K. G., Hippe, D., Bestick, A., Doumani, R., Marx, T., Takagishi, S., Chan, T. A., Choi, J., & Nghiem, P. (2018). Merkel Cell Carcinoma Patients Presenting Without a Primary Lesion Have Elevated Markers of Immunity, Higher Tumor Mutation Burden, and Improved Survival. *Clinical Cancer Research*, 24(4), 963–971. <https://doi.org/10.1158/1078->

0432.CCR-17-1678

Weide, B., Elsässer, M., Büttner, P., Pflugfelder, A., Leiter, U., Eigentler, T. K., Bauer, J., Witte, M., Meier, F., & Garbe, C. (2012). Serum markers lactate dehydrogenase and S100B predict independently disease outcome in melanoma patients with distant metastasis. *British Journal of Cancer*, *107*(3), 422–428.

<https://doi.org/10.1038/bjc.2012.306>

Wong, S. Q., Waldeck, K., Vergara, I. A., Schroder, J., Madore, J., Wilmott, J. S., Colebatch, A. J., De Paoli-Iseppi, R., Li, J., Lupat, R., Semple, T., Arnau, G. M., Fellowes, A., Leonard, J. H., Hruby, G., Mann, G. J., Thompson, J. F., Cullinane, C., Johnston, M., ... Tothill, R. W. (2015). UV-Associated Mutations Underlie the Etiology of MCV-Negative Merkel Cell Carcinomas. *Cancer Research*, *75*(24), 5228–5234.

<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1877>

Youlten, D. R., Soyer, H. P., Youl, P. H., Fritschi, L., & Baade, P. D. (2014). Incidence and Survival for Merkel Cell Carcinoma in Queensland, Australia, 1993-2010. *JAMA Dermatology*, *150*(8), 864.

<https://doi.org/10.1001/jamadermatol.2014.124>

7. Anhänge

Deskriptive Statistik der Variablen	
Geschlecht	
weiblich	15,4% (n=2)
männlich	84,6% (n=11)
Alter bei Erstdiagnose in Jahren	
Median (Spannweite)	77 (61-86)
Mittelwert	75,85
Standardabweichung	7,9
Varianz	61,974
Body Mass Index (BMI) in kg/m²	
Median (Spannweite)	26 (21,2-34,5)
Mittelwert	26,915
Standardabweichung	4,5
Varianz	20,125
<25 (Normalgewicht)	30,8% (n=4)
25-29,9 (Präadipositas)	46,2% (n=6)
>30 (Adipositas)	23,1% (n=3)
ECOG-PS	
0	69,2% (n=9)
1	15,4% (n=2)
2	0% (n=0)
3	7,7% (n=1)
4	0% (n=0)
Tumorstadium vor Erstgabe	
I	0% (n=0)
II	0% (n=0)
III	38,5% (n=5)
IV	61,5% (n=8)
Lokalisation Fernmetastasen	
Leber	3
Niere	3
Knochen	2
Nichtregionäre Lymphknoten	1
Nebenniere	1
Milz	1
Pankreas	1
DMFS in Monaten	
Median (Spannweite)	11 (0-64)
Mittelwert	18,63
Standardabweichung	20,549
Varianz	422,258
Anzahl systemischer Vortherapien	
0	23,1% (n=3)

Anhänge

1	46,2% (n=6)
2	23,1% (n=3)
3	0% (n=0)
4	7,7% (n=1)
Primärlokalisierung	
bekannt	76,9% (n=10)
unbekannt	23,1% (n=3)
Primärlokalisierung	
Kopf-/Halsbereich	38,5% (n=5)
Obere Extremität	23,1% (n=3)
Untere Extremität	7,7% (n=1)
Stamm	7,7% (n=1)
PD-L1-Expression	
negativ	75% (n=6)
positiv	25% (n=2)
MCPyV-Status	
negativ	75% (n=6)
positiv	25% (n=2)
CD8⁺-Zellen in periphery	
Median	57
Spannweite	2-120
CD8⁺-Zellen in centre	
Median	21
Spannweite	1-177
CD8⁺-Zellen in hotspot	
Median	140
Spannweite	5-563
Tumorleiden in Vorgeschichte	
ja	38,5% (n=5)
nein	61,5% (n=8)
Diabetes mellitus	
ja	23,1% (n=3)
nein	76,9% (n=10)
Rheumatoide Arthritis	
ja	15,4% (n=2)
nein	84,6% (n=11)
Lactatdehydrogenase in U/l	
Median (Spannweite)	348 (203-2570)
Mittelwert	616,2
Standardabweichung	653,9
Varianz	427.579,8
Normwertig	30,8% (n=4)
1 bis <2 ULN	30,8% (n=4)
≥2 ULN	38,5% (n=5)
C-Reaktives Protein in mg/dl	
Median (Spannweite)	9,9 (0,8-163)
Mittelwert	34,2

Anhänge

Standardabweichung	50,3
Varianz	2525,5
Nicht erhöht (≤ 10)	61,5% (n=8)
Erhöht (> 10)	38,5% (n=5)
Thrombozyten/μl	
Median (Spannweite)	251 (153-347)
Mittelwert	242,9
Standardabweichung	56,8
Varianz	3231,8
< 370.000	100% (n=13)
≥ 370.000	0%
Leukozyten/μl	
Median (Spannweite)	6070 (2980-10800)
Mittelwert	6945
Standardabweichung	2408
Varianz	5798
< 10.500	92,3% (n=12)
≥ 10.500	7,7% (n=1)
Eosinophile /μl	
Median (Spannweite)	80 (0-210)
Mittelwert	93,8
Standardabweichung	0,7
Varianz	0,005
< 50	23,1% (n=3)
≥ 50	76,9% (n=10)
Lymphozyten/ μl	
Median (Spannweite)	1,1 (0,17-10,8)
Mittelwert	1,77
Standardabweichung	2,78
Varianz	7,71
$< 1.100/\mu\text{l}$	46,2% (n=6)
$\geq 1.100/\mu\text{l}$	53,8% (n=7)
Neutrophile/μl	
Median (Spannweite)	3970
Mittelwert	4923
Standardabweichung	1935
Varianz	3745

Tabelle 9: Deskriptive Statistik der Variablen

7.1 Kasuistik

Dem 67-jährigen Patienten war 5 Jahre zuvor ein MCC an der linken Wange in unserer Klinik mit einem Sicherheitsabstand von 1 cm exzidiert worden. Bei der Wächterlymphknotenbiopsie wurden drei Lymphknoten entnommen, von denen alle tumorfrei waren. Aufgrund des hier vorliegenden Tumorstadiums I fand eine adjuvante Radiotherapie der Primärtumorregion sowie der linksseitig cervicalen Lymphknotenstationen mit 50 Gy statt. Die regelmäßig erfolgte Nachsorge war stets unauffällig gewesen. Nun zeigten sich bei der im Rahmen der Nachsorge erfolgten Abdomen-Sonographie und anschließend im MRT bestätigt mehrere metastasensuspekte Läsionen (Abb. 17).

Die größte Raumforderung maß 55 mm mal 43 mm. Nach Entnahme einer Stanzbiopsie zeigten sich in der Histologie ausgedehnte Infiltrate von Tumorzellen mit deutlich vermehrten Mitosen. Immunhistochemisch exprimierten diese Chromogranin und Zytokeratin-20, so dass sich die Läsionen zweifelsfrei als Metastasen des vorbekannten MCC identifizieren ließen (Abb. 18).

Nach Feststellung der Fernmetastasierung wurde eine systemische Chemotherapie mit jeweils 200 mg/m² Paclitaxel und Carboplatin alle 3 Wochen begonnen. Nach 3 Zyklen wurde die Therapie bei Progress abgebrochen, und die erste Immuntherapie mit dem PD-L1-Inhibitor Avelumab (10 mg/kg alle 2 Wochen) eingeleitet. Die Infusionen wurden stets gut vertragen, der Patient äußerte keine Nebenwirkungen. Bereits im ersten Staging 6 Wochen nach Erstgabe zeigte sich eine partielle Remission der Lebermetastasen (Abb. 19).

Im zweiten Staging 12 Wochen nach Therapieeinleitung wurde nur noch ein gemischtes Ansprechen beobachtet (Abb. 20): die große Metastase im rechten Leberlappen war progredient. Der Patient wurde rechtsseitig hemihepatektomiert; im darauffolgenden Staging zeigten sich keine neuen Metastasen, sodass dem Patienten zunächst ein abwartendes Beobachten empfohlen wurde.

6 Monate nach der Hemihepatektomie wurden hepatische Residuen und neue Metastasen sowie neue Lymphknotenmetastasen festgestellt. Es wurden alle 3 Wochen 2 mg/kg des PD-1-Inhibitors Pembrolizumab verabreicht. Leider musste diese Therapie frühzeitig nach nur 2 Gaben aufgrund einer schweren Autoimmunkolitis abgebrochen werden. Seitdem wurde keine neue Therapie begonnen. Der Patient

Anhänge

befindet sich in einer kompletten Remission (Abb. 21), die seit mehr als zwei Jahren anhält.

Anhänge

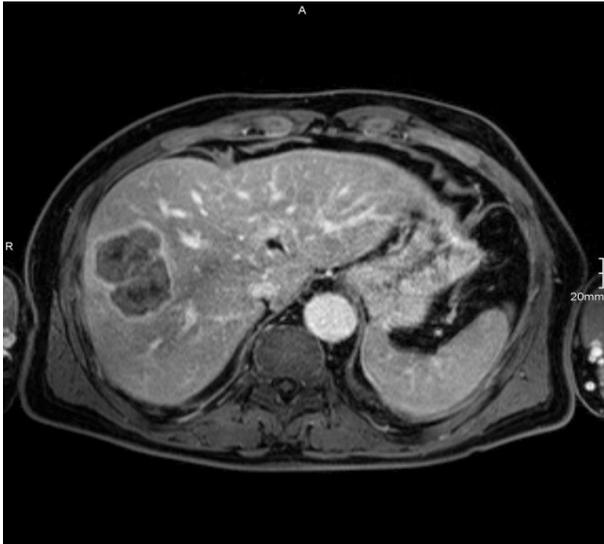


Abb. 17: Lebermetastasierung vor Avelumab-Therapie

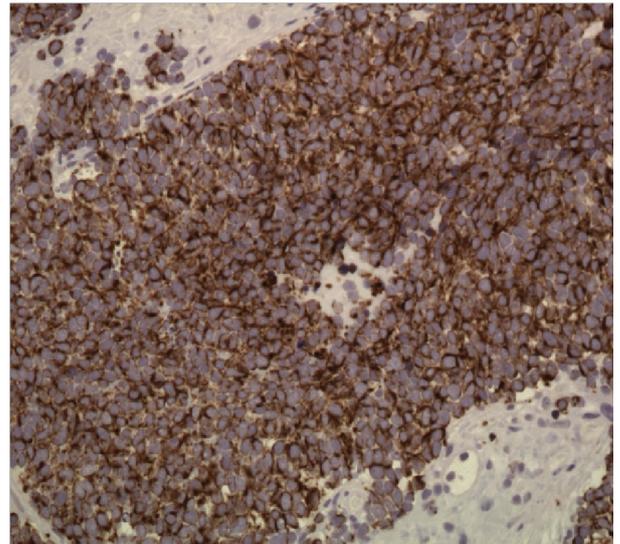


Abb. 18: CK20, 20x

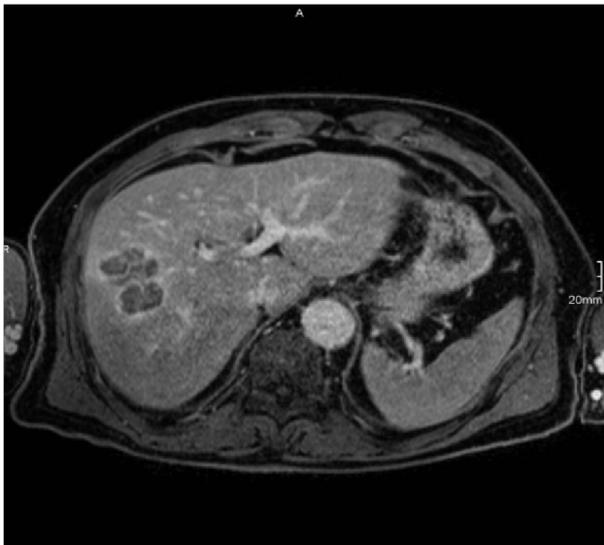


Abb. 19: PR 6 Wochen nach Erstgabe

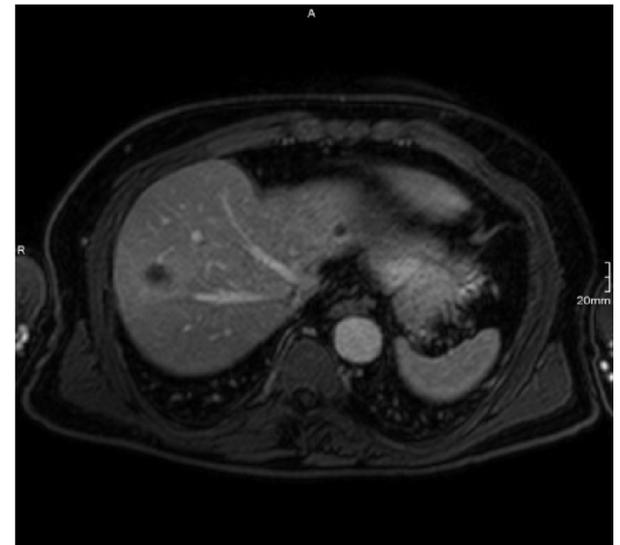


Abb. 20: MR 12 Wochen nach Erstgabe: neue hepatische Rundherde

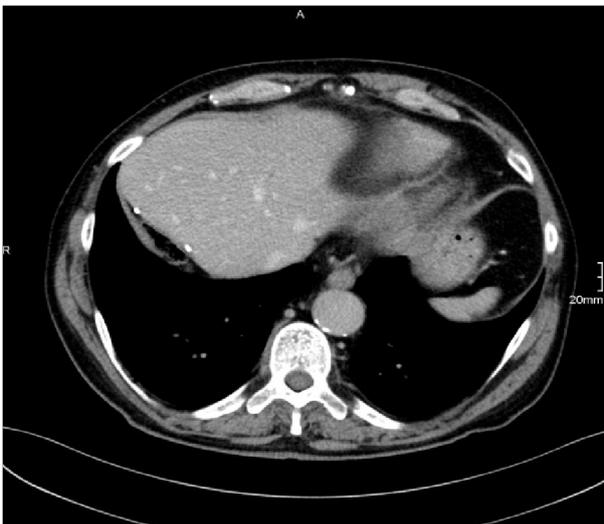


Abb. 21: CR 12 Monate nach Erstgabe



UNIVERSITÄT ZU LÜBECK

Universität zu Lübeck · Ratzeburger Allee 160 · 23538 Lübeck

Herrn
PD Dr. med. Patrick Terheyden
Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie
im Hause

nachrichtlich:
Herrn Dr. Langan, Klinik für Dermatologie, Allergologie und Venerologie
Frau Annalena Mohr, per E-Mail: annalena-mohr@hotmail.de

Ethik-Kommission

Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Stellv. Vorsitzender:
Herr Prof. Dr. med. Frank Gieseler

Ratzeburger Allee 160
23538 Lübeck

Sachbearbeitung: Frau Janine Erdmann
Tel.: +49 451 3101 1008
Fax: +49 451 3101 1024
ethikkommission@uni-luebeck.de

Aktenzeichen: 19-045A

Datum: 05. Februar 2019

**Prädikative Faktoren für die Therapie des Merkelzellkarzinoms mit Inhibitoren von
programmed death 1 (PD-1) und programmed death-ligand 1 (PD-L1)
E-Mail von Frau Mohr vom 28. Januar 2019, Schreiben eingehend am 31. Januar 2019**

Sehr geehrter Herr Dr. Terheyden,

mit Ihrem o.g. Schreiben informieren Sie die Ethik-Kommission über Ihr geplantes Vorhaben.

Es werden ausschließlich anonymisierte Daten verarbeitet.

Die Ethik-Kommission nimmt das von Ihnen in Ihrem Anschreiben beschriebene Vorhaben zur Kenntnis.
Eine Behandlung im normalen Antragsverfahren wird nicht für notwendig erachtet.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Alexander Katalinic
Vorsitzender

8. Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn PD Dr. med. Patrick Terheyden für die Überlassung des Themas, der Bereitstellung aller benötigten Arbeitsmittel und für die gute Betreuung. Außerdem bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. Ewan Langan, der sich bei kurzfristigen Fragestellungen stets die nötige Zeit genommen hat.

Mein Dank gilt weiterhin Frau Dr. Kümpers aus dem Institut für Pathologie für die fortwährende Hilfsbereitschaft und die fachliche Unterstützung, was die immunhistochemischen Auswertungen betraf.

Ich danke den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern in der Dermatookologie für die Hilfestellungen hinsichtlich der Archivarbeit.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern danken, die mir meine Ausbildung ermöglicht haben und mir in jeder Situation beistehen und beigestanden haben.