

Aus der Klinik und Poliklinik für Geburtshilfe und Frauengesundheit der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vergleich der Expression von PD-L1 beim Mammakarzinom in Primärtumor,
Lymphknotenmetastase und Fernmetastase

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Lisa Loreena Frederike Krauthauser
aus Mainz

Mainz, 2024

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ. Prof. Dr. rer. physiol. Hansjörg Schild

1. Gutachter: Univ. Prof. Dr. med. Marcus Schmidt

2. Gutachter: Univ. Prof. Dr. med. Matthias Gaida

Tag der Promotion: 24.04.2025

- Für meine wunderbare Familie, die mich bei all meinen Vorhaben unterstützt -

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	V
1 Einleitung / Ziel der Dissertation.....	1
2 Literaturdiskussion.....	3
2.1 Epidemiologie.....	3
2.2 Prognostische und prädiktive Faktoren.....	4
2.2.1 Histologischer Typ.....	4
2.2.2 Tumorigradung.....	4
2.2.3 Hormonrezeptor-Status.....	4
2.2.4 HER2-Status.....	5
2.2.5 Proliferationsfaktor.....	6
2.2.6 TumorgroÙe.....	6
2.2.7 Metastasierung.....	6
2.2.8 Alter.....	6
2.2.9 Familienanamnese.....	7
2.2.10 Menopausenstatus.....	7
2.3 Tumorstadium.....	7
2.4 Einteilung in Molekulare Subtypen.....	9
2.5 Das tripel-negative Mammakarzinom.....	12
2.5.1 Die Subtypisierung des tripel-negativen Mammakarzinoms.....	13
2.5.1.1 Histologische Subtypisierung.....	14
2.5.1.2 Molekulare Subtypisierung.....	14
2.6 Therapie des tripel-negativen Mammakarzinoms.....	16
2.6.1 Operation des TNBC.....	16
2.6.2 Strahlentherapie des TNBC.....	17
2.6.3 Systemische Therapie des TNBC.....	17
2.6.3.1 Systemische Therapie des metastasierten TNBC.....	19
2.6.4 Molekular-gerichtete und Biomarker-basierte „Targeted Therapies“.....	19
2.6.4.1 Immuntherapie des TNBC.....	22
2.7 Der PD-1/PD-L1-Signalweg.....	25
2.8 Metastasierung.....	27
2.8.1 Lokalisation der Metastasen.....	28
2.8.2 Rezeptordiskordanz zwischen Primarius und Metastase.....	29
2.9 Vergleich des Microenvironments und der PD-L1-Expression zwischen Primarius und Metastase.....	29
3 Fragestellung.....	32
4 Patienten, Material und Methoden.....	33
4.1 Gutachten der Ethikkommission.....	33
4.2 Studiendesign und Vorgehen.....	33

4.3	Patientenkollektiv	33
4.3.1	Einschlusskriterien	34
4.3.2	Ausschlussgründe.....	34
4.4	Datenerfassung.....	35
4.5	Variablenbeschreibung	36
4.6	Histopathologische Begutachtung	38
4.6.1	Bestimmung des TPS	39
4.6.2	Bestimmung des CPS.....	39
4.6.3	Bestimmung des IC.....	39
4.7	Statistische Analyse und graphische Darstellung der Daten	40
4.8	Stichprobenbeschreibung	40
4.8.1	Altersverteilung und zeitliche Entwicklung der Metastasierung	41
4.8.1.1	Altersverteilung und zeitliche Entwicklung der Metastasierung beim TNBC 42	
4.8.2	TNM-Status	43
4.8.2.1	TNM-Status beim TNBC	44
4.8.3	Histologisches Grading	46
4.8.3.1	Histologisches Grading beim TNBC.....	46
4.8.4	Histologische Subtypen.....	47
4.8.4.1	Histologische Subtypen bei TNBC	47
4.8.5	Intrinsische Subtypen.....	48
4.8.6	Lokalisation der Fernmetastasen	48
4.8.6.1	Lokalisation der Fernmetastasen beim TNBC	48
4.8.7	Vergleich von ER, PR, HER2 und Ki-67 zwischen Primarius und Fernmetastase 48	
4.8.7.1	Vergleich von ER, PR, HER2 und Ki-67 zwischen Primarius und Fernmetastase beim TNBC	52
5	Ergebnisse.....	53
5.1	Ergebnisse zur ersten Fragestellung: Wie ist Verteilung der Ausprägung der PD-L1- Expression in Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase?.....	53
5.1.1	Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC im Primarius	53
5.1.2	Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC in den Lymphknotenmetastasen...53	
5.1.3	Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC in den Fernmetastasen	53
5.2	Ergebnisse zur zweiten Fragestellung: Gibt es einen signifikanten Zusammenhang zwischen der PD-L1-Expression des Primärtumors mit der PD-L1-Expression der Lymphknoten- und Fernmetastase?.....	54
5.2.1	Zusammenhang der TPS-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	54
5.2.2	Zusammenhang der CPS-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	56
5.2.3	Zusammenhang der IC-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	57

5.3	Ergebnisse zur dritten Fragestellung: Unterscheiden sich die PD-L1-Werte und die Konkordanz-Raten zwischen Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastase vom TNBC und den anderen Subtypen?	59
5.3.1	Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS, IC beim TNBC	59
5.3.2	Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS, IC bei den anderen intrinsischen Subtypen 60	
5.3.2.1	Luminal-A	60
5.3.2.2	Luminal-B/HER2-negativ	60
5.3.2.3	Luminal-B/HER2-positiv	60
5.3.2.4	HER2-positiv	61
5.3.3	Zusammenhang der PD-L1 Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC	62
5.3.4	Zusammenhang der PD-L1 Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase bei den anderen intrinsischen Subtypen.....	66
5.3.4.1	Luminal-A	66
5.3.4.2	Luminal-B/HER2-negativ	67
5.3.4.3	Luminal-B/HER2-positiv	68
5.3.4.4	HER2-positiv	70
5.4	Ergebnisse zur vierten Fragestellung: Gibt es einen Unterschied in der PD-L1-Expression je nach Metastasen-Lokalisation?.....	70
5.4.1	Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Metastasen-Lokalisation.....	70
5.4.1.1	Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Metastasen-Lokalisation beim TNBC	72
5.4.2	Zusammenhänge der PD-L1-Werte zwischen Primarius und Fernmetastasen je nach anatomischer Lokalisation	73
5.4.2.1	Lebermetastasen	73
5.4.2.2	Ossäre Metastasen	74
5.4.2.3	Lungen- und Pleura-Metastasen.....	75
5.4.2.4	Peritoneale Metastasen	75
5.4.2.5	Hautmetastasen.....	76
5.4.2.6	Sonstige Metastasen.....	77
5.4.3	Subtyp und Lokalisation.....	77
5.5	Explorative Fragestellung: Bedeutung der PD-L1-Positivität für die Indikation der Therapie mit Pembrolizumab oder Atezolizumab	79
Diskussion	81
5.6	Studienpopulation	81
5.6.1	Altersverteilung	81
5.6.2	TNM-Status	82
5.6.3	Tumorgrading.....	82
5.6.4	Histologische Subtypen.....	83
5.6.5	Intrinsische Subtypen.....	83
5.7	Verteilung der Ausprägung der PD-L1-Expression in Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	84

5.8	Zusammenhang zwischen der PD-L1-Expression von Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	88
5.9	Unterschied der PD-L1-Expression und der Konkordanz-Raten zwischen Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastase vom TNBC verglichen mit den anderen Subtypen 91	
5.10	Unterschied in der PD-L1-Expression nach Metastasen-Lokalisation.....	101
5.11	Diskussion der Methodik.....	107
5.11.1	Limitationen dieser Studie.....	107
5.11.2	Einschränkungen im Vergleich der PD-L1-Werte mit den Ergebnissen anderer Studien 108	
5.12	Klinische Relevanz.....	111
5.12.1	Bedeutung für Diagnostik und Therapie.....	111
5.12.2	Bedeutung für die Prognose	114
6	Zusammenfassung	117
7	Literaturverzeichnis.....	119
8	Danksagung.....	129
9	Tabellarischer Lebenslauf.....	130

Abkürzungsverzeichnis

HR	Hormonrezeptor
TNBC	tripel-negatives Mammakarzinom
PD-1	Programmed Cell Death Protein 1
PD-L1	Programmed Cell Death-Ligand 1
ER	Östrogen-Rezeptor
PR	Progesteron-Rezeptor
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
IRS	immune reactive score (Zahlenwert von 0-12) zur Angabe der Ausprägung der Hormonrezeptorpositivität
Ki-67	Proliferationsmarker; prozentualer Anteil aller Zellen, der sich in der Teilungsphase befindet
IHC	Immunhistochemie
FISH	Fluorescence in situ Hybridisierung
LK	Lymphknoten
TNM-Klassifikation	Tumor-Node-Metastasis-Klassifikation
T	Primarius
N	Lymphknotenmetastase
M	Fernmetastase
UICC	Union for International Cancer Control
AJCC	American Joint Committee on Cancer
IDC	invasiv-duktales Mammakarzinom = Mammakarzinom NST
NST	no special type
ILC	invasiv-lobuläres Mammakarzinom
BET	brusterhaltende Therapie
pCR	pathological complete response
PMRT	Postmastektomie-Radiotherapie
VEGF	vaskulärer endothelialer Wachstumsfaktor
FDA	US-amerikanische Food and Drug Administration

PARPi	Poly (ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Inhibitoren
EGFR	epidermalen Wachstumsfaktor (=HER1)
TKI	Tyrosinkinase-Inhibitoren
AR	Androgenrezeptor
CAR	chimärer Antigenrezeptor
ICI	Immun-Checkpoint-Inhibitor
ICB	Immun-Checkpoint-Blockade
mAbs	monoklonale Antikörper
CTLA-4	cytotoxic T lymphocyte antigen-4
irAEs	immune-related adverse events
Treg-Zellen	regulatorische T-Zellen
APC	Antigen-präsentierende Zelle
TCR	T-Zell-Rezeptor
MHC	major histocompatibility complex
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
TPS	Tumor Proportion Score (Angabe der PD-L1 Positivität)
CPS	Combined Positive Score (Angabe der PD-L1 Positivität)
IC	tumor infiltrating immune cells (Angabe der PD-L1 Positivität)
EMA	Europäische Arzneimittelagentur
TMA	tissue microarray (Gewebe-Mikroarray)
WTS	whole tumor section (ganzer Gewebeschnitt)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Überlebensanalyse der Fälle der Carolina-Brustkrebsstudie. Mod. nach Carey et al. (82)	11
Abbildung 2: Gesamtüberleben als Folge des Ansprechens auf Chemotherapie (pathologisch vollständiges Ansprechen (pCR) vs. Resterkrankung (RD)) und Tripel-Negativ-Status (TNBC vs. Nicht-TNBC) (87)	18
Abbildung 3: Neue therapeutische Ziele zur Behandlung des TNBC (98)	20
Abbildung 4: Effekt der PD-1- und PD-L1-Inhibitoren (132)	23
Abbildung 5: Immuntherapie und mögliche Kombinationstherapien bei TNBC (105)	24
Abbildung 6: Der Immun-Checkpoint-Signalweg in Krebszellen (5)	26
Abbildung 7: Flussdiagramm: Patientenkollektiv mit Ein- und Ausschlusskriterien	34
Abbildung 8: Alter (in Jahren) bei Entnahme der Primarius-Probe	41
Abbildung 9: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und LK-Metastase	41
Abbildung 10: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und Fernmetastase	42
Abbildung 11: Alter (in Jahren) bei Entnahme der Primarius-Probe im TNBC-Kollektiv	42
Abbildung 12: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und LK-Metastase im TNBC-Kollektiv	43
Abbildung 13 Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und Fernmetastase im TNBC-Kollektiv	43
Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Tumorstadien (T1-T4) im TNM-System	44
Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung des Lymphknoten-Status (N0-N3) im TNM-System	44
Abbildung 16: Häufigkeitsverteilung des Fernmetastasen-Status (M0-M1) im TNM-System	44
Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der Tumorstadien (T1-T4) im TNM-System im TNBC-Kollektiv	45
Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung des Lymphknoten-Status (N0-N3) im TNM-System im TNBC-Kollektiv	45
Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung des Fernmetastasen-Status (M0-M1) im TNM-System im TNBC-Kollektiv	46
Abbildung 20: Häufigkeitsverteilung des histologischen Gradings (G1-G3)	46
Abbildung 21: Häufigkeitsverteilung des histologischen Gradings (G1-G3) im TNBC-Kollektiv	47
Abbildung 22: Häufigkeitsverteilung der Östrogen-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) im Primärtumor	49
Abbildung 23: Häufigkeitsverteilung der Östrogen-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) in der Fernmetastase	49
Abbildung 24: Häufigkeitsverteilung der Progesteron-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) im Primärtumor	50

Abbildung 25: Häufigkeitsverteilung der Progesteron-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) in der Fernmetastase	50
Abbildung 26: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den Primarius-Proben.....	51
Abbildung 27: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den Fernmetastasen-Proben	51
Abbildung 28: Streudiagramm zur Veranschaulichung des Zusammenhangs zwischen den Ki-67-Werten von Primarius und Fernmetastase.....	51
Abbildung 29: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den TNBC-Primarius-Proben.....	52
Abbildung 30: Anteil der PD-L1-positiven Proben von Primarius, LK- und Fernmetastasen .	54
Abbildung 31: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase	55
Abbildung 32: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Fernmetastase	56
Abbildung 33: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase	57
Abbildung 34: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Fernmetastase	57
Abbildung 35: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase	58
Abbildung 36: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Fernmetastase.....	59
Abbildung 37: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC im Primärtumor zwischen den 5 intrinsischen Subtypen	61
Abbildung 38: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC in den Lymphknotenmetastasen zwischen den 5 intrinsischen Subtypen	62
Abbildung 39: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC in den Fernmetastasen zwischen den 5 intrinsischen Subtypen	62
Abbildung 40: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase beim TNBC.....	64
Abbildung 41: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase beim TNBC.....	65
Abbildung 42: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase beim TNBC.....	66
Abbildung 43: Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Lokalisation der Fernmetastase ...	71
Abbildung 44: Mittelwerte von TPS, CPS und IC beim TNBC je nach Lokalisation der Fernmetastase	73
Abbildung 45: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Lebermetastasen.....	77
Abbildung 46: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den ossären Metastasen.....	78
Abbildung 47: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Lungen- und Pleura-Metastasen	78
Abbildung 48: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den peritonealen Metastasen.....	78

Abbildung 49: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Hautmetastasen	79
--	----

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Berechnung des Immunreactive Score (IRS) (28).....	5
Tabelle 2: TNM-Klassifikation (65)	8
Tabelle 3: UICC-Stadieneinteilung (65).....	9
Tabelle 4: Auswirkung des Tumorstadiums auf die Überlebensrate (21).....	9
Tabelle 5: Die intrinsischen Subtypen (71).....	9
Tabelle 6: Subtypisierung des tripel-negativen Mammakarzinoms (34, 79, 93-101)	14
Tabelle 7: Variablenbeschreibung.....	36
Tabelle 8: Kreuztabelle zur Darstellung der Verteilung des Tumorgradings innerhalb der intrinsischen Subtypen	47
Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeiten der intrinsischen Subtypen	48
Tabelle 10: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts).....	55
Tabelle 11: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	55
Tabelle 12: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts).....	56
Tabelle 13: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	57
Tabelle 14: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts).....	58
Tabelle 15: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten IC-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase.....	58
Tabelle 16: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC	63
Tabelle 17: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC.....	63
Tabelle 18: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC	64
Tabelle 19: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC	65

Tabelle 20: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC	65
Tabelle 21: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten IC-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC	66
Tabelle 22: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A	67
Tabelle 23: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A	67
Tabelle 24: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A	67
Tabelle 25: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ	68
Tabelle 26: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ	68
Tabelle 27: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ	68
Tabelle 28: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-positiv	69
Tabelle 29: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ	69
Tabelle 30: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ	69
Tabelle 31: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase beim Subtyp HER2-positiv	70
Tabelle 32: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lymphknotenmetastase beim Subtyp HER2-positiv	70

Tabelle 33: Mittelwerte mit Standardabweichungen von TPS, CPS und IC je nach Lokalisation der Fernmetastase	72
Tabelle 34: Mittelwerte mit Standardabweichungen von TPS, CPS und IC beim TNBC je nach Lokalisation der Fernmetastase	73
Tabelle 35: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lebermetastasen.....	74
Tabelle 36: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lebermetastasen	74
Tabelle 37: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und ossären Metastasen.....	74
Tabelle 38: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und ossären Metastasen.....	75
Tabelle 39: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lungen- oder Pleura-Metastasen	75
Tabelle 40: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lungen- oder Pleura-Metastasen.....	75
Tabelle 41: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und peritonealen Metastasen.....	76
Tabelle 42: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und peritonealen Metastasen.....	76
Tabelle 43: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Hautmetastasen	76
Tabelle 44: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-(links) und IC-Werte (rechts) von Primarius Hautmetastasen.....	77
Tabelle 45: Kreuztabelle für die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab und Atezolizumab im Gesamtkollektiv	79
Tabelle 46: Kreuztabelle für die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab und Atezolizumab im TNBC-Kollektiv	80
Tabelle 47: PD-L1 Positivität (%) in Primarius, LK- und Fernmetastasen.....	87
Tabelle 48: Konkordanz der PD-L1 Positivität in Primarius, LK- und Fernmetastasen	90
Tabelle 49: PD-L1 Positivität (%) in Primarius, LK- und Fernmetastasen im TNBC	92
Tabelle 50: Vergleich der PD-L1-Positivität (%) in TNBC- und gemischten Kollektiven	93
Tabelle 51: Unterschiede der PD-L1-Expression (%) zwischen Primarius und LK-Metastase im TNBC.....	95
Tabelle 52: Konkordanz (%) der PD-L1-Expression in Primarius-Metastasen-Paaren.....	96
Tabelle 53: PD-L1-Expression (%) der verschiedenen intrinsischen Subtypen.....	99

Tabelle 54: Konkordanz (%) der PD-L1-Expression (TPS, CPS, IC) zwischen Primarius und LK- bzw. Fernmetastase	100
Tabelle 55: PD-L1-Expression (%) nach Metastasen-Lokalisation	104

1 Einleitung / Ziel der Dissertation

Das Mammakarzinom ist weltweit die häufigste Krebserkrankung der Frau und machte 2018 global betrachtet insgesamt 24,2% aller Tumore bei Frauen aus, wobei es mit 15% aller Krebstoten auch die häufigste Todesursache von Frauen im Bereich der bösartigen Neubildungen darstellt. Von allen Krebsfällen, unabhängig von Organsystem und Geschlecht, stellten das Mamma- und das Lungenkarzinom 2018 mit jeweils 11,6% die häufigsten Entitäten überhaupt dar (1). In der Altersgruppe 35-45 Jahre ist das Mammakarzinom die häufigste Todesursache von Frauen (2). Diese Zahlen zeigen deutlich die Relevanz des Mammakarzinoms sowohl in medizinischer als auch in gesundheitsökonomischer Sicht.

Die Prognose der Erkrankung wird stark beeinflusst von der Größe des Tumors, dem Vorhandensein und der Anzahl befallener Lymphknoten bei Erstdiagnose sowie von histopathologischen Charakteristika wie dem Grading, dem Proliferationsindex, dem Hormonrezeptor (HR) -status und dem HER2/neu-Rezeptorstatus (3). Ein positiver HR-Status wirkt sich beispielsweise positiv auf die Prognose aus, da in diesem Fall über gezielt angreifende, die tumorspezifische Rezeptorausstattung ausnutzende Therapeutika interveniert werden kann.

Für das tripel-negative Mammakarzinom (TNBC), bei dem keine Östrogen-, Progesteron- oder HER2-Rezeptoren im Tumorgewebe vorliegen und welches 10 bis 20% aller an Brustkrebs erkrankten Patientinnen betrifft (4-7), gestaltet sich die Therapie hingegen besonders schwierig. Die Option, gezielt an den etablierten Rezeptoren wie ER, PR oder HER2 anzusetzen, besteht beim tripel-negativen Mammakarzinom nicht. Unter anderem aus diesem Grund besitzt das TNBC oft eine deutlich schlechtere Prognose mit geringerer Überlebenszeit. Folglich besteht besonders in diesem Bereich ein dringender Verbesserungsbedarf der therapeutischen Angebote.

Sehr vielversprechend sind in diesem Zusammenhang die neu entwickelten Immun-Checkpoint-Inhibitoren, die an Immun-Checkpoint-Liganden wie dem PD-L1 oder an Immun-Checkpoint-Rezeptoren wie PD-1 oder CTLA-4 auf der Oberfläche von T-Zellen ansetzen. Die Immun-Checkpoints sind für eine Begrenzung der Immunreaktion verantwortlich und folglich kann durch die Verwendung von Immun-Checkpoint-Inhibitoren die Herunterregulation des Immunsystems verhindert werden. Der Wirkmechanismus der Checkpoint-Inhibitoren wurde von James P. Allison und Tasuko Honjo erforscht und 2018 mit dem Nobelpreis für Medizin gewürdigt (8). Unter physiologischen Bedingungen wird durch das Binden von Liganden wie dem Programmed Cell Death-Ligand 1 (PD-L1) an seinen Rezeptor Programmed Cell Death-Protein 1 (PD-1) eine „Bremse“ des Immunsystems betätigt. Dieser Mechanismus ist essenziell für die Reduktion von Autoimmunreaktionen sowie die Förderung einer immunologischen „Selbsttoleranz“. Der PD-L1 wird vor allem von Immunzellen wie T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, regulatorischen T-Zellen und dendritischen Zellen exprimiert. Allerdings können auch manche Tumorzellen den PD-L1 ausbilden und so eine Hemmung der T-Zell-vermittelten Immunantwort bewirken. Auf diese Weise manipulieren die Tumorzellen die PD-1/PD-L1-Kaskade und entziehen sich so dem Zugriff des Immunsystems. Dies erklärt auch die besonders schlechte Prognose von PD-L1 positiven Tumoren (9, 10).

Da 20% aller tripel-negativen Mammakarzinome PD-L1 verstärkt ausbilden, d.h. überexprimieren, bietet sich der PD-L1 als neuer therapeutischer Angriffspunkt an (11). Matikas et al. kamen im Rahmen einer Metaanalyse von 2019 sogar zu dem Schluss, dass die PD-L1-Positivitätsrate der Tumorzellen von Brustkrebs insgesamt bei 24% liegt, betrachtet man die gepoolten Ergebnisse über alle Subtypen hinweg. Das Vorkommen von PD-L1 speziell beim TNBC lag in dieser Analyse mit 41% sogar fast doppelt so hoch (12).

Eine Therapieoption bei Vorliegen eines TNBC ist der Einsatz von monoklonalen Antikörpern, die am PD-L1 oder auch am PD-1 Rezeptor angreifen. Ein wichtiges Beispiel sind hier die monoklonalen Antikörper Atezolizumab und Pembrolizumab, welche durch den Gemeinsamen Bundesausschuss im August 2019 bzw. im Oktober 2021 in Deutschland zur Behandlung des metastasierten, lokal fortgeschrittenen bzw. lokal rezidivierenden inoperablen und PD-L1-

positiven TNBC zugelassen wurde (13, 14). Checkpoint-Inhibitoren wie Atezolizumab besitzen die Eigenschaft, an den PD-L1 der Tumorzellen, aber auch der Immunzellen, zu binden und diesen zu maskieren, sodass die Bindung zwischen PD-1 der T-Zellen und dem PD-L1 Rezeptor nicht mehr möglich ist. Die Tumorzellen können somit die T-Zellen nicht mehr durch ihre Rezeptorbindung inaktivieren und werden nun verstärkt durch die T-Zell-vermittelte Immunantwort bekämpft. Durch die generelle Maskierung des PD-L1 durch Atezolizumab nicht nur auf den Tumorzellen, sondern auch auf allen PD-L1 exprimierenden T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, regulatorischen T-Zellen und dendritischen Zellen, wird die physiologische Inaktivierung der T-Zell-vermittelten Immunantwort insgesamt vermindert und es kann als unerwünschte Nebenwirkung zu einem vermehrten Auftreten von Autoimmunreaktionen und zur Verstärkung entzündlicher Prozesse kommen (9).

Um am PD-L1 Rezeptor angreifende Checkpoint-Inhibitoren gezielt und nur bei Patientinnen mit guten Erfolgsaussichten einzusetzen, um Nebenwirkungen oder eine Verzögerung einer passenderen Therapie zu vermeiden, ist es von therapeutischer Relevanz, die Expressionsrate des PD-L1 Rezeptors im jeweiligen Tumor bzw. der jeweiligen Metastase zu kennen. Aber auch wenn Metastasen eines PD-L1 positiven Tumors auftreten, kann dort die PD-L1-Expressionsrate bestimmt werden, um einschätzen zu können, ob eine Checkpoint-Inhibitor-Therapie erfolgversprechend ist. Da hierfür immer die Entnahme einer Stanze des jeweiligen Herdes und eine immunhistochemische Bestimmung des PD-L1 Rezeptors durch die Pathologie notwendig ist, bevor mit einer Therapie begonnen werden kann, soll sich diese Arbeit mit der Korrelation und Konkordanz der Expression von PD-L1 im Primärtumor und der zugehörigen Fern- bzw. Lymphknotenmetastase beschäftigen.

Bisher wurde in einigen Studien bereits das Microenvironment von Tumoren untersucht und dabei auch ein Vergleich der PD-L1-Expression zwischen Primärtumoren und ihren Metastasen gezogen. Hier konnte die Tendenz einer Verringerung der Expressionsrate von PD-1 und PD-L1 vom Primarius zur Metastase hin festgestellt werden, allerdings wurde in den vorliegenden Studien teils die Lokalisation der Metastasen nicht berücksichtigt, teils gab es auch Differenzen in den Ergebnissen (15, 16).

Durch diese Arbeit sollen weitere Erkenntnisse zur Korrelation der PD-L1-Expression zwischen Primarius und Metastasen unterschiedlicher Lokalisationen gewonnen werden, wodurch ermöglicht werden soll, die PD-L1 Positivität von Metastasen prädiktiv einschätzen zu können, noch bevor eine Stanze entnommen wird. Somit könnte es bei einer hohen Korrelation der PD-L1 Raten zwischen Primarius und Metastase sogar möglich werden, das invasive Verfahren einer Stanzbiopsie zu vermeiden oder bei Metastasen an schlecht stanzbaren Lokalisationen trotzdem eine Einschätzung zur Wirksamkeit einer PD-L1 gerichteten Therapie, wie Atezolizumab, abgeben zu können.

Dazu wurde eine immunhistochemische PD-L1-Diagnostik an den Gewebeproben von 138 Brustkrebspatientinnen im metastasierten Stadium aus der Gynäkologischen Abteilung der Johannes Gutenberg-Universität Mainz durchgeführt. Um einen Zusammenhang zwischen der Expression des PD-L1-Rezeptors im Primärtumor und in den zugehörigen Lymphknoten- bzw. Fernmetastasen zu untersuchen, wurden Kreuztabellen, der χ^2 -Test und Spearman-Korrelationen verwendet. Das triple-negative Kollektiv wurde innerhalb des Gesamtkollektivs gesondert betrachtet und mit den anderen intrinsischen Subtypen verglichen. Ebenso wurde der Einfluss der Lokalisation der Fernmetastasen untersucht.

Die so gewonnenen Ergebnisse werden diskutiert und mit der aktuellen Literatur verglichen.

Da der Anteil der Frauen im Vergleich zum Anteil der Männer am Gesamtkollektiv der Brustkrebspatienten deutlich überwiegt, wird in dieser Arbeit von „Patientinnen“ gesprochen, wobei dieser Begriff die Minderheit der an Brustkrebs erkrankten Männer selbstverständlich miteinschließen soll.

2 Literaturdiskussion

2.1 Epidemiologie

Nach den Veröffentlichungen des Zentrums für Krebsregisterdaten (ZfKD) des Robert Koch Instituts in Berlin, welches für die Auswertung der Daten der epidemiologischen Landeskrebsregister auf Bundesebene zuständig ist, erkrankt jede achte Frau in Deutschland im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs (17). Durch die Betrachtung der Zahlen von 2015/2016 ergibt sich innerhalb von Deutschland eine Zahl von rund 69.000 Neuerkrankungen jährlich, was einer Inzidenz von ca. 113 pro 100.000 Einwohner entspricht, wobei die zusätzlichen 6.000 jährlichen Diagnosen eines in-situ-Tumors in diesen Daten noch nicht berücksichtigt werden. Somit ist das Mammakarzinom die häufigste bösartige Neubildung der Frau und „fast drei von zehn betroffenen Frauen sind bei Diagnosestellung jünger als 55 Jahre alt“ (17). Mit einem mittleren Erkrankungsalter von 64 Jahren bei Frauen tritt das Mammakarzinom deutlich früher auf als die meisten anderen Krebserkrankungen. Das mittlere Erkrankungsalter aller Krebserkrankungen liegt bei Frauen im Schnitt bei 69 Jahren und bei Männern bei 70 Jahren (18). Aber auch Männer können von Krebserkrankungen der Brustdrüse betroffen sein – immerhin 1% aller Mammakarzinome findet sich bei Männern, bei ihnen liegt das mittlere Erkrankungsalter bei 72 Jahren (17).

Durch die Einführung des Mammographie-Screenings zwischen 2005 und 2009 sowie die Fortschritte in der Systemtherapie des Brustkrebses konnten die Überlebenschancen der Erkrankten seither deutlich verbessert werden. 2017 starben in Deutschland 18.401 Frauen und 192 Männer an einem Tumor der Brustdrüse. Dies entspricht in etwa den Werten der davorliegenden Jahre, jedoch konnte das mittlere Sterbealter zwischen 2015/2016 und 2017 sowohl für Frauen (von 75 auf 76 Jahre) als auch für Männer (von 75 auf 77 Jahre) gesteigert werden (17). Dies unterstreicht erneut die Wichtigkeit einer ständigen Verbesserung der Diagnostik und Therapie des Mammakarzinoms. Die relative 5-Jahres-Überlebensrate lag 2015/2016 bei 87%, die 10-Jahres-Überlebensrate bei 82% (17).

Auch weltweit stellt Brustkrebs zusammen mit Lungenkrebs die häufigste Krebserkrankung dar. Im Jahr 2018 traten weltweit 2.088.849 neue Brustkrebserkrankungen und 2.093.876 neue Lungenkrebsfälle auf. Jede dieser beiden Entitäten macht jeweils 11,6% aller Krebserkrankungen aus (1). Dabei erweist sich das Mammakarzinom weltweit als die vierthäufigste Todesursache an Krebs. Mit insgesamt 626.679 Toten im Jahr 2018 ist es für 6,6% aller Krebstoten verantwortlich und rangiert damit an vierter Stelle hinter Lungenkrebs mit 1.761.007 (18,4%), Magenkrebs mit 782.685 (8,2%) und Leberkrebs mit 781.631 (8,2%) Todesfällen (1). Betrachtet man ausschließlich die Krebsstatistiken von Frauen, so ist Brustkrebs die zweithäufigste Ursache der krebsbedingten Todesfälle in den entwickelten Ländern und die häufigste Krebstodesursache in den weniger entwickelten Ländern, wobei noch ein Anstieg der Krebsfälle in den weniger entwickelten Ländern wie Südamerika, Afrika und Asien zu erwarten ist (1). Aber auch in Europa wird es auf Grund der alternden Bevölkerung voraussichtlich weiter zu einem Anstieg der Inzidenz des Mammakarzinoms kommen (19). Insbesondere Bewegungsmangel, Übergewicht, die westliche Ernährungsweise und Alkoholkonsum führen zu steigenden Inzidenzen (20). So wird nach dem Anstieg der Brustkrebs-Fälle in den letzten Jahren prognostiziert, dass die weltweite Inzidenz bis 2050 etwa 3,2 Millionen neue Fälle pro Jahr erreichen wird (21).

Brustkrebs spielt folglich hinsichtlich der Weltgesundheit und als eine der häufigsten Todesursachen durch Krebs global eine große Rolle. Gleichzeitig gilt es diesen malignen Tumor auch differenziert zu betrachten, da er sich durch Histologie, Immunhistochemie, Rezeptoreigenschaften und genetische Besonderheiten in viele verschiedene Subtypen differenzieren lässt und abhängig davon eine sehr unterschiedliche Prognose aufweist.

2.2 Prognostische und prädiktive Faktoren

Um die biologisch sehr heterogene Erkrankung des Mammakarzinoms differenzierter zu betrachten und damit die Prognose der einzelnen Subtypen und Therapieoptionen besser einschätzen zu können, wird aktuell das primäre Mammakarzinom in verschiedene Risikogruppen unterteilt. Die Risikostratifizierung anhand der unterschiedlichen Prognosefaktoren bildet die Grundlage der Therapieempfehlung. Hierzu werden folgende klinisch-pathologische Faktoren berücksichtigt (22, 23):

2.2.1 Histologischer Typ

Bei der Betrachtung des histologischen Typs wird das Mammakarzinom NST (no special type), früher auch als invasiv-duktales Mammakarzinom (IDC) bekannt, vom invasiv-lobulären Mammakarzinom (ILC) unterschieden. Dem Bericht der American Cancer Society von 2019-2020 und Berichten der WHO zufolge stellen sich histologisch etwa 80% aller Mammakarzinome als Mamma-Karzinom NST und 15% als ILC dar. Weniger als 2% sind vom rein tubulären Typ und 0,8% bis 3,5% sind dem invasiv-kribriformen Typ zuzuordnen (6, 24). Das ILC weist als Unterschied zum IDC ein nicht-kohäsives Wachstum auf, welches durch die fehlende Expression von E-Cadherin verursacht wird. Im Mittel wird das ILC in späteren Stadien diagnostiziert als das IDC und bildet vermehrt HR-Positivität, HER2-Negativität und Lymphknoteninvasion aus, wobei letzteres bereits einen eigenständigen Risikofaktor darstellt. Zudem weist das ILC im Durchschnitt eine geringere erkrankungsfreie Zeit auf, welche durch ein vermehrtes Auftreten von Zweitumoren in der kontralateralen Brust verursacht wird (25).

2.2.2 Tumorgrading

Das histologische Grading ist der am längsten etablierte prognostische Faktor beim Mammakarzinom. Seit 1991 wird für invasive Karzinome das Grading nach Elston und Ellis genutzt, welches die Morphologie der Tubuli, der Zellkerne und die Zahl der Mitosen berücksichtigt, wodurch ein Gesamtscore von 1-3 bestimmt werden kann (26). Hierbei stellt die Bezeichnung G1 einen hoch, G2 einen mäßig und G3 einen gering differenzierten Tumor dar. Ein geringerer Differenzierungsgrad steht für eine stärkere Entartung der Zellen und ist somit als unabhängiger negativer prognostischer Faktor zu betrachten (27). Zudem hängt eine stärkere Entdifferenzierung mit einer ausgedehnteren Tumorgroße und einem verstärkten Metastasierungsverhalten zusammen (21).

2.2.3 Hormonrezeptor-Status

Dunnwald et al. untersuchten 2007 an 155.175 Mammakarzinom-Patientinnen die Häufigkeit des Vorkommens der Östrogen- (ER) und Progesteronrezeptoren (PR). Dabei stellten sie fest, dass 63% aller Brusttumoren ER und PR positiv waren, d.h. ER+/PR+. Weitere 13% waren ER+/PR-, wohingegen sich nur 3% aller untersuchten Mammakarzinome als ER-/PR+ darstellten. Die übrigen 21% der untersuchten Brustkrebsfälle waren ER-/PR-, d.h. Hormonrezeptor- (HR) negativ, was als negativer prognostischer Faktor gilt. Zudem zeigte sich in den Untersuchungen, dass ältere Frauen häufiger ein ER+/PR+ Mammakarzinom aufweisen, wohingegen jüngere Frauen vergleichsweise häufig an einem tripel-negativen Karzinom leiden, d.h. weder ER oder PR noch HER2-Rezeptoren in ihrem Tumor exprimiert werden. Dies betrifft mehr als ein Drittel der an Brustkrebs erkrankten Frauen zwischen 30 und 39 Jahren (28).

Ein positiver HR-Status gilt als wichtiger positiver prognostischer Faktor. Verschiedene Studien konnten ermitteln, dass ein positiver ER-Status (auch unabhängig von der Therapie) für die ersten 5 Jahre mit einem prognostischen Vorteil einhergeht (29-31). Auch Patientinnen mit PR-Positivität weisen ein signifikant längeres Gesamtüberleben und eine häufigere Rezidivfreiheit auf (32, 33). Obwohl der HR-Status einen großen Wert als prognostischer Faktor besitzt, ist seine Aussagekraft als prädiktiver Wert, d.h. als Voraussagewert für ein erfolgreiches Therapieansprechen, noch essenzieller (31). Da ein HR-positiver Tumor abhängig vom Vorhandensein von Östrogen und Progesteron wächst, kann in dem Fall eine

endokrine Therapie angewandt werden, die zu einem „Hormonentzug“ des Tumors und somit zu verringertem Wachstum führt (30). Bei ER-Positivität verbessert die systemische antihormonelle Therapie, z.B. mit Tamoxifen, die Prognose in Bezug auf Rezidivfreiheit und Gesamtüberleben (31).

Die Ausprägung von ER und PR wird mittels Immunhistochemie (IHC) festgestellt. Laut der Richtlinien der American Society of Clinical Oncology (ASCO) soll bei einer IHC-Testung von ER und PR der Wert je als positiv betrachtet werden, wenn mindestens 1% der Tumorzellen der Probe ein positives Signal senden (34, 35). Zusätzlich kann die Ausprägung der HR-Positivität mittels immune reactive score (IRS) dargestellt werden, einem Zahlenwert von 0-12. Der IRS berechnet sich aus dem Prozentwert positiver Zellen (Kategorien 0-4) multipliziert mit der Intensität der Färbung (Kategorien 0-3). Ab einem IRS von 2 wird ein Tumor als HR-positiv gewertet (36, 37).

Tabelle 1: Berechnung des Immunreactive Score (IRS) (28)

A (percentage of positive cells)	B (intensity of staining)	IRS score (multiplication of A and B)
0 = no positive cells	0 = no color reaction	0-1 = negative
1 = <10% of positive cells	1 = mild reaction	2-3 = mild
2 = 10-50% positive cells	2 = moderate reaction	4-8 = moderate
3 = 51-80% positive cells	3 = intense reaction	9-12 = strongly positive
4 = >80% positive cells	Final IRS score (A × B): 0-12	

2.2.4 HER2-Status

Der human epidermal growth factor receptor 2 (HER2 oder auch HER2/neu), auch als ERBB2 (erb-b2 receptor tyrosin kinase 2) bezeichnet, gehört zur Familie der epidermalen Wachstumsfaktorrezeptoren und findet sich in etwa 18-20% der Mammakarzinome (38, 39). Eine Expression und folgende Aktivierung des HER2-Rezeptors bewirkt eine Hochregulation der Zellproliferation sowie eine Hemmung des Zelltods der entsprechenden HER2-positiven Tumorzellen. Dies geschieht durch eine Signalkaskade über den RAS-MAP-Kinase-Weg, welcher eine entscheidende Rolle beim Zellwachstum spielt. Das Überleben der entsprechenden Zelle wird über den mTOR-Signalweg gefördert, welcher Apoptose-hemmend wirkt. Wird der HER2-Rezeptor auf Tumorzellen durch eine c-erbB2-Gen-Amplifikation überexprimiert, hat dies sowohl ein schnelleres Tumorwachstum und eine erhöhte Rezidivrate als auch ein kürzeres Gesamtüberleben und damit eine deutlich schlechtere Prognose zur Folge (38-41). Zusätzlich korreliert eine HER2-Positivität mit einem größeren Primärtumor, einem positiven Nodalstatus und einem geringeren Differenzierungsgrad (40, 42). Der HER2-Status stellt somit einen wichtigen prognostischen Faktor dar. Insbesondere für das frühe, nicht metastasierte Mammakarzinom liefert er zusätzlich zum ER-Status wertvolle prognoserelevante Informationen (43).

Gleichzeitig birgt eine HER2-Überexpression auch die Möglichkeit einer zielgerichteten Therapie, wie zum Beispiel mit dem monoklonalen Antikörper Trastuzumab (Handelsname Herceptin). Dieser greift gezielt am HER2-Rezeptor an, wodurch HER2 auch Bedeutung als prädiktiver Faktor erlangt (42, 44). Auch für das Ansprechen auf weitere Chemotherapeutika wie Anthracycline und Taxane besitzt der HER2-Status Aussagekraft als prädiktiver Wert (45, 46).

Der HER2-Status wird, wie die Hormonrezeptoren, per IHC bestimmt. Bei einer vollständigen und intensiven Membranfärbung von über 10% der Tumorzellen gilt der HER2-Status als eindeutig positiv und wird mit einem Score von 3+ gekennzeichnet. Ein Score von 1+ oder 0 zeigt ein negatives Ergebnis an. 1+ bedeutet eine unvollständige und schwache Membranfärbung in >10% der invasiven Tumorzellen. Die Kennzeichnung 0 wird verwendet, wenn nur wenige (≤10%) oder keine Zellen einen HER2-Rezeptor aufweisen. Ein Score von

2+ wird bei Unsicherheit über die HER2-Positivität vergeben und sollte durch eine anschließende FISH (Fluorescence in situ Hybridisierung) -Analyse gesichert werden (47). Neuerdings kann ein HER2-negativer Status weiter untergliedert werden in HER2-zero (IHC-Score von 0) und HER2-low (IHC-Score von 1+ oder 2+, während die FISH-Analyse ein negatives Ergebnis erbringt) (44). Zur Vereinfachung wird in dieser Arbeit allerdings nur von HER2-negativ (d.h. ein HER2-Score von 0 oder 1+, bzw. 2+ mit negativer FISH) oder HER2-positiv (d.h. ein Score von 3+ bzw. 2+, mit positiver FISH) gesprochen.

2.2.5 Proliferationsfaktor

Der Proliferationsmarker MIB-1 färbt das Antigen Ki-67 während der Teilungsphase des Zellzyklus an und beschreibt somit die Zellteilungsrate in %. Nach der jeweiligen Ausprägung unterscheidet man in „Low Risk“ (Ki-67 $\leq 14\%$), „Intermediate Risk“ (Ki-67 15-20%) sowie „High Risk“ (Ki-67 $>20\%$) (48). Auch wenn in manchen Studien kein eigenständiger statistisch signifikanter prognostischer Aussagewert für Ki-67 ermittelt werden konnte (49), zeigt die bisher größte hierzu durchgeführte Studie deutlich, dass ein hoher Proliferationsindex mit einem signifikant höheren Rezidiv- und Sterberisiko einhergeht (50, 51). Dies erklärt auch die bessere Prognose von Brustkrebs-Subtypen mit einem niedrigen Ki-67.

Obwohl einige Tumorsubgruppen bei erhöhtem Ki-67 besser auf eine neoadjuvante Therapie ansprechen und es somit auch einen prädiktiven Marker für das Ansprechen auf eine zytostatische Therapie darstellt, kann Ki-67 insgesamt als negativer prognostischer Faktor betrachtet werden (51).

2.2.6 Tumorgröße

Die Tumorgröße bei Erstdiagnose stellt ebenfalls einen wichtigen negativen prognostischen Faktor dar. Auch wenn der Subtyp zu berücksichtigen (52) und somit eine Verallgemeinerung mit Vorsicht zu betrachten ist, konnte eine (nichtlineare) Korrelation zwischen der Tumorgröße und dem Vorhandensein von Lymphknoten- und Fernmetastasen sowie der 15-Jahres-Mortalität festgestellt werden. Bei sehr kleinen (<10 mm) und sehr großen ($>60-90$ mm) Tumoren fand sich hierbei allerdings nur eine geringe Korrelation zwischen der Größe eines Tumors und seinem Metastasierungsrisiko (53).

2.2.7 Metastasierung

Der Befall von Lymphknoten (LK) stellt ebenfalls einen negativen prognostischen Faktor dar. Hierbei gilt, je mehr LK befallen sind, desto geringer ist die mittlere Überlebenszeit und desto höher ist das Risiko, ein Lokalrezidiv oder eine Fernmetastasierung zu entwickeln (54).

Liegen Fernmetastasen vor, so gilt die Erkrankungssituation als palliativ. Ein kurzes metastasenfreies Intervall von unter 24 Monaten deutet zusätzlich auf eine besonders schlechte Prognose in Hinblick auf die Überlebenszeit hin (55).

2.2.8 Alter

Ein junges Alter bei Erstdiagnose korreliert mit einem vermehrten Auftreten prognostisch ungünstiger klinisch-pathologischer Merkmale, wie einem hohen histologischen Entdifferenzierungsgrad, schwach ausgeprägter ER-Positivität, einer stärkeren HER2-Überexpressionsrate sowie einem positiven Nodalstatus (56). Zudem wird ein neu aufgetretenes Mammakarzinom bei jungen Frauen i.d.R. später diagnostiziert als bei älteren Frauen. Dies ist u.a. durch die bei jungen Patientinnen fehlenden Vorsorgeuntersuchungen zu erklären, durch die eine Brustkrebserkrankung bereits im klinisch noch unauffälligen Stadium festgestellt werden könnte. Da maligne Erkrankungen bei jungen Menschen generell seltener sind, wird bspw. das Mammographie-Screening aktuell erst ab einem Alter von 50 Jahren durchgeführt. Aus diesen Faktoren folgen sowohl ein kürzeres erkrankungsfreies Überleben als auch ein kürzeres Gesamtüberleben für junge Patientinnen, weshalb sich die Experten der St. Gallen Konferenz von 2005 dazu entschieden, ein geringes Alter bei Diagnose zu den Risikofaktoren zu zählen (56).

2.2.9 Familienanamnese

Eine positive Familienanamnese kann auf eine somatische Mutation hinweisen, häufig in dem BRCA1- oder BRCA2-Gen. Frauen, die eine BRCA1 oder -2 Mutation tragen, besitzen ein Lebenszeitrisiko einer Brustkrebserkrankung von 50-85%. Bei Männern mit BRCA2 beträgt das Lebenszeitrisiko 5-10%, bei BRCA1 etwas niedriger. Zudem steigt das Lebenszeitrisiko der betroffenen Frauen ein Ovarialkarzinom zu entwickeln mit BRCA1 auf 10-40%, mit BRCA2 auf 10-20% (57). Weiterhin tritt das Mammakarzinom bei bestehender genetischer Mutation meist bereits in jüngerem Alter auf und begünstigt weitere Karzinome in der kontralateralen Brust. Bei BRCA1 handelt es sich zudem vermehrt um tripel-negative Tumore (57, 58).

2.2.10 Menopausenstatus

Da es sich bei Brustkrebs in zwei Drittel der Fälle um einen hormonabhängigen Tumor handelt (59, 60) und eine Exposition gegenüber weiblichen Geschlechtshormonen als Risikofaktor für die Entwicklung von Brustkrebs angesehen wird (61), spielt der Menopausenstatus eine wichtige Rolle zur Abschätzung der Prognose. Das Lebenszeitrisiko für Brustkrebs ist sowohl bei einer frühen Menarche als auch bei einer späten Menopause erhöht (62), was verdeutlicht, dass ein lang andauernder Steroidhormoneinfluss auf das Brustgewebe einen unabhängigen Risikofaktor darstellt (63). Gleichzeitig spielen aber auch mit dem Menopausenstatus zum Zeitpunkt der Erstdiagnose korrelierende Faktoren wie das Alter (s.o.) eine Rolle. Ebenso konnte belegt werden, dass prämenopausale Patientinnen häufiger ER-negative Karzinome entwickeln, welche an sich bereits mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind (64, 65). Zudem stellt der Menopausenstatus eine wichtige Variable bei der Therapieentscheidung dar. Aromatasehemmer bspw. werden bevorzugt zur Therapie von HR-positiven postmenopausalen Patientinnen verwendet, da die Östrogenproduktion aktiver Ovarien durch Aromatasehemmer nicht ausreichend unterdrückbar ist (66).

2.3 Tumorstadium

Um die prognostischen Auswirkungen von Tumorgröße, LK- und Fernmetastasierungs-Status zusammenfassen zu können, werden die einzelnen Parameter in einem Staging erfasst und, wie bei Malignomen üblich, in der TNM-Klassifikation zusammengefasst. Die TNM-Klassifikation ist eine mehrdimensionale Stadieneinteilung maligner Erkrankungen unter Berücksichtigung der Ausdehnung des Primärtumors (T) bzw. seiner Infiltration in angrenzende Organe, des Vorhandenseins bzw. der Anzahl von LK-Metastasen (N) und des eventuellen Vorliegens von Fernmetastasen (M).

Das TNM-System basiert auf der Arbeit von Pierre Denoix in den 1940er Jahren und ist seitdem zu einer weltweit anerkannten Klassifikation geworden, um präzise das anatomische Ausmaß des Tumors und seiner Ausdehnung zu kommunizieren (67). Das TNM-System wird als gemeinsame Sprache in der Fachliteratur und zwischen Behandlungszentren auf der ganzen Welt verwendet, um die Behandlungsplanung zu leiten, die Wirksamkeit der Behandlung während der Nachsorge festzuhalten und um die Prognose zu ermitteln (68). Verwendet werden können die von der „Union for International Cancer Control“ (UICC) sowie vom „American Joint Committee on Cancer“ (AJCC) herausgegebenen Fassungen der TNM-Klassifikation. Diese beiden Versionen unterscheiden sich in einigen Aspekten (67). Hier soll hauptsächlich auf die „TNM Classification of Malignant Tumors“ der UICC eingegangen werden, welche in den AWMF-Leitlinien zum Mammakarzinom verwendet wird (69).

Tabelle 2: TNM-Klassifikation (65)

T = Tumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ
- Tis (DCIS)	- Duktales Carcinoma in situ
- Tis (LCIS)	- Lobuläres Carcinoma in situ
- Tis (Paget)	- M. Paget der Mamille ohne nachweisbaren Tumor
T1	Tumor maximal 2 cm im größten Durchmesser
- T1mi	- Mikroinvasion 0,1 cm oder weniger
- T1a	- größer 0,1 cm bis maximal 0,5 cm
- T1b	- größer 0,5 cm bis maximal 1 cm
- T1c	- größer 1 cm bis maximal 2 cm
T2	Tumor größer als 2 cm bis max. 5 cm im größten Durchmesser
T3	Tumor größer als 5 cm im größten Durchmesser
T4	Tumor jeder Größe mit direkter Ausdehnung auf Brustwand oder Haut, soweit unter T4a–T4d beschrieben
- T4a	- Ausdehnung auf Brustwand
- T4b	- Ödem (einschließlich „peau d’orange“) oder Ulzeration der Brusthaut oder Satellitenknötchen der Haut der gleichen Brust
- T4c	- Kriterien 4a und 4b
- T4d	- Inflammatorisches Karzinom
N = Node	
Nx	Regionäre Lymphknoten (LK) können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären LK-Metastasen
N1	Metastase in beweglichen ipsilateralen axillären LK der Level I und II
N2	Metastase in ipsilateralen axillären LK der Level I und II
- N2a	- Metastase in ipsilateralen axillären LK, untereinander oder an andere Strukturen fixiert
- N2b	- Metastase in klinisch erkennbaren ipsilateralen LK entlang der A. mammaria int. in Abwesenheit klinisch erkennbarer axillärer LK-Metastasen
N3	Metastase in ipsilateralen infraklavikulären LK (Level III) oder in klinisch erkennbaren ipsilateralen LK entlang der A. mammaria int. in Anwesenheit axillärer LK-Metastasen des Level I und II
- N3a	- Metastase in ipsilateralen infraklavikulären LK
- N3b	- Metastase in ipsilateralen LK entlang der A. mammaria int. in Anwesenheit axillärer LK-Metastasen
- N3c	- Metastase in ipsilateralen supraklavikulären LK
M = Metastasis	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden

Die Zusatzbezeichnungen c, p oder y können den TNM-Angaben vorangestellt werden. Sie geben an, ob die zur aktuellen Klassifikation durchgeführte Untersuchung klinisch (=c) durch Voruntersuchungen, pathologisch (=p) durch Entnahme einer Gewebeprobe, meist während einer Operation, oder im neoadjuvanten (=y) Regime mit einer bereits vor Gewebeentnahme erfolgten Chemotherapie erfolgt ist.

Auf Grundlage der TNM-Einstufung kann der Tumor anschließend in ein Stadium nach UICC bzw. AJCC eingeteilt werden. Diese dient der vereinfachten Bewertung der Schwere der Erkrankung durch eine Unterteilung in die Stadien 0 (geringer Schweregrad) bis 4 (hoher Schweregrad) und besitzt eine große Aussagekraft über die Prognose der Patientinnen (23).

Tabelle 3: UICC-Stadieneinteilung (65)

Stadium	TNM
0	Tis, N0, M0
IA	T1, N0, M0
IB	T0-T1, N1mi, M0
IIA	T0-T1, N1, M0 oder T2, N0, M0
IIB	T2, N1, M0 oder T3, N0, M0
IIIA	T0-T2, N2, M0 oder T3, N1-N2, M0
IIIB	T4, N0-N2, M0
IIIC	Alle T, N3, M0
IV	Alle T, Alle N, M1

Tabelle 4: Auswirkung des Tumorstadiums auf die Überlebensrate (21)

Stadium	relative 5-Jahres Überlebensrate	relative 10-Jahres Überlebensrate
I	95%	90%
Ila	86%	72%
Ilb	72%	51%
IIla	57%	32%
IIlb	51%	30%
IV	20%	10%

2.4 Einteilung in Molekulare Subtypen

Besonders die molekularen Subtypen haben seit ihrer Erforschung durch Perou et al. im Jahr 2000 zum besseren Verständnis der tumorbiologischen Heterogenität des Mammakarzinoms beigetragen (70). Synonym kann auch der Begriff „intrinsische Subtypen“ genutzt werden. Die Einteilung nach Erkenntnissen von Genexpressionsanalysen und phänotypischen bzw. klinisch-pathologischen Merkmalen, in die die Ergebnisse immunhistochemischer Analysen von ER und PR, des HER2-Status und des Proliferationsindex (Ki-67) einfließen, entsprechen sich weitestgehend (70, 71). So konnten für den klinischen und therapeutischen Alltag vereinfacht vier molekulare Subtypen definiert werden: Luminal-A, Luminal-B, HER2-positiv und Basal-like bzw. tripel-negativ (22, 40, 72). Hierbei kann der Subtyp Luminal-B allerdings je nach dem HER2-Status nochmals in zwei Untertypen aufgegliedert werden. Die Begriffe „Luminal“ und „Basal“ beziehen sich darauf, dass es in der menschlichen Brustdrüse zwei Arten von Epithelzellen gibt: luminale und basale/myoepitheliale. Diese Zelltypen können immunhistochemisch durch die Expression von ER und PR voneinander unterschieden werden, da nur der luminale Zelltyp diese beiden Steroidrezeptoren ausbildet (34).

Seit dem Konsensus der 12. internationalen St. Gallen Konferenz im Jahr 2011 wird die Klassifizierung von Brustkrebs in die vier intrinsischen biologischen Subtypen allgemein anerkannt, was Implikationen sowohl für die Therapie als auch für die Prognose mit sich bringt (71).

Tabelle 5: Die intrinsischen Subtypen (71)

Subtyp	Eigenschaften
Luminal-A	ER+ und/oder PR+, HER2-, Ki67 niedrig (<14%)
Luminal-B -HER2 negativ	ER+ und/oder PR+, HER2-, Ki67 hoch (>14%)
-HER2 positiv	ER+ und/oder PR+, HER2+, Ki67 hoch (>14%) oder niedrig (<14%)
HER2-positiv	ER-, PR-, HER2+
Basal-like/ tripel-negativ	ER-, PR-, HER2-

Der Subtyp Luminal-A ist HR-positiv, HER2-negativ und weist einen niedrigen Proliferationsindex auf. Für die Differenzierung in Luminal-A und Luminal-B wird meist der Cut-off Wert von 14% verwendet (71, 73, 74), auch wenn in manchen Studien ein Wert von 20% zur Unterscheidung angegeben wird (75). Ein niedriger Ki-67-Wert ist also bezeichnend für den Luminal-A Subtyp und der Hauptgrund für die bessere Prognose der an Luminal-A Brustkrebserkrankten (40). Insgesamt wird die Prognose dieses Typs als die günstigste aller Subtypen angesehen. Das deutsche Krebsforschungszentrum gibt den Luminal-A Subtyp mit 40-60% aller Brustkrebsfälle an (7). Den Zahlen der American Cancer Society in ihrem Bericht von 2019 nach ließen sich in den Vereinigten Staaten von Amerika in einem Zeitraum von 2012-2016 rund 73% aller Mammakarzinome als HR-positiv/HER2-negativ klassifizieren (6), was also genau genommen alle Luminal-A und Luminal-B/HER2-negativ Fälle zusammenfasst.

Der zweite der vier molekularen Subtypen wird als Luminal-B Typ bezeichnet und besitzt HR-Positivität mit hoher Proliferationsrate. Dieser Subtyp wird zudem noch in die Untergruppen HER2-positiv und HER2-negativ unterteilt. Das deutsche Krebsforschungszentrum berichtet von insgesamt 15-20% der Brustkrebsfälle, die sich dem Luminal-B Subtyp zuordnen lassen (7). Laut der American Cancer Society handelt es sich in den USA um ca. 11% aller Mammakarzinome, die HR- und HER2-positiv sind, also konkret dem Luminal-B/HER2-positiv Typ angehören (6). Die Fälle von Luminal-B/HER2-negativem Brustkrebs wurden in den Daten der American Cancer Society nicht separat angegeben, sondern mit den Luminal-A-Karzinomen zusammengefasst (insg. 73%).

Als HER2-positiv wird Brustkrebs bezeichnet, welcher HR-negativ und zugleich HER2-positiv ist. Dieser Subtyp macht in Deutschland 15-20% aller Mammakarzinome aus (7), während in den USA nur 4% aller Brustkrebsfälle dem HER2-positiv Subtyp zugeordnet werden konnten (6).

Tripel-negativer Brustkrebs ist definiert als invasives Mammakarzinom, das weder den Östrogen- oder Progesteronrezeptor noch den HER2-Rezeptor exprimiert. Er umfasst ein Spektrum histopathologisch und genetisch unterschiedlicher Tumore. Dabei besteht die Mehrheit der TNBC-Fälle aus dem Basal-like Subtyp, welcher sich durch sein genetisches Profil definiert und der ein inhärent und biologisch aggressiveres Krankheitsmuster darstellt. Nicht-Basal-like TNBC kann also prognostisch günstiger ausfallen als Basal-like TNBC (76). So ist zwar nicht aller tripel-negativer Brustkrebs vom Basal-like Typ und nicht aller Basal-like Brustkrebs ist tripel-negativ, doch die Überschneidungen zwischen diesen beiden Typen sind groß. So kann das Überlappungsverhältnis der Genexpressionsprofile zwischen TNBC und Basal-like Brustkrebs bis zu 60-90% betragen, verglichen mit nur 11,5% zwischen Nicht-TNBC und Basal-like Brustkrebs (77). Auch Prat et al. unterteilen das TNBC noch weiter in Basal-like TNBC und Nicht-Basal-like TNBC. Der Basal-like Typ macht 70-80% des TNBC insgesamt aus. Prat et al. schlagen vor, das Basal-like TNBC als eigene Krebsart zu betrachten, da dies weitere Implikationen bezüglich des Therapieansprechens mit sich bringen könnte (78). In dieser Arbeit soll vereinfacht allerdings nur auf das TNBC ohne Untergliederung in weitere Subtypen eingegangen werden.

Gemäß dem deutschen Krebsforschungszentrum hören 10-20% aller Mammakarzinome dem Basal-like Subtyp an (7), während die American Cancer Society den Anteil der TNBC-Fälle mit 12% aller Mammakarzinom-Fälle angibt (6, 78). Das TNBC gilt als der aggressivste Brustkrebs-Subtyp mit einem schlechten Therapieansprechen und somit auch als schlechter prognostischer Faktor (79).

Laut verschiedener Studien korreliert die phänotypische Einteilung in die vier molekularen bzw. intrinsischen Subtypen nach ihrem ER-, PR-, HER2- und Ki67-Status recht gut mit den sonstigen genetischen Besonderheiten der Tumoren (78, 80). Die Subtypisierung bildet somit insgesamt den größten Teil der bei Brustkrebs auftretenden biologischen Vielfalt sehr gut ab und teilt die biologisch heterogene Erkrankung des Mammakarzinoms in differenziertere Untergruppen ein. Diese Heterogenität und die relevanten Unterschiede der Subtypen

spiegeln sich auch in deren durchschnittlich sehr unterschiedlichen Prognosen und den verschiedenen Therapieoptionen wider (70, 78).

Insgesamt zeigt der Luminal-A Typ die beste Prognose bezüglich Überlebenszeit sowie rezidivfreiem Überleben. Obwohl der Luminal-B/HER2-negativ Typ in Bezug auf den Rezeptorstatus recht ähnlich ist, besitzt er bezüglich des (rezidivfreien) Überlebens eine deutlich schlechtere Prognose, was sich durch den Unterschied in der Ausprägung von Ki-67 erklären lässt (40). Der Luminal-B/HER2-positiv Typ zeigt sowohl hinsichtlich des 10-Jahres-Gesamtüberlebens als auch bezüglich des krankheitsfreien Überlebens etwas schlechtere Werte als der Luminal-B/HER2-negativ Typ (81).

Die beiden verbleibenden Subtypen zeigen sich prognostisch als am ungünstigsten. Dabei ist der HER2-Typ durch eine kurze rezidivfreie Überlebenszeit charakterisiert, wohingegen sich ein fortgeschrittenes TNBC mit nur 12 Monaten durchschnittlicher Überlebenszeit als Subtyp mit der kürzesten Gesamtüberlebenszeit auszeichnet (40).

Auch Carey et al., die 496 neu aufgetretene Fälle invasiven Brustkrebses aus Phase 1 der Carolina Breast Cancer Study analysierten, legten ähnliche Ergebnisse nahe. Die Prävalenzen der per IHC identifizierten intrinsischen Subtypen waren 51% für Luminal-A, 16% für Luminal-B, 7% für den HER2-positiv Typ, 20% für den Basal-like-Subtyp und 6% konnten nicht klassifiziert werden. Es konnte festgestellt werden, dass der Basal-like sowie der HER2-positiv-Subtyp innerhalb der ersten 4 bis 5 Jahre eine besonders hohe krebssassoziierte Sterberate verzeichneten. Während des gesamten Beobachtungszeitraums war das Überleben der Basal-like und der HER2-positiv Subpopulation deutlich schlechter als das Überleben der Luminal-A und Luminal-B Patientinnen, wobei sich nach einer Dauer von 5 Jahren zudem ein Überlebensnachteil der HER2-positiv Patientinnen verglichen mit den Basal-like Patientinnen zeigte (82).

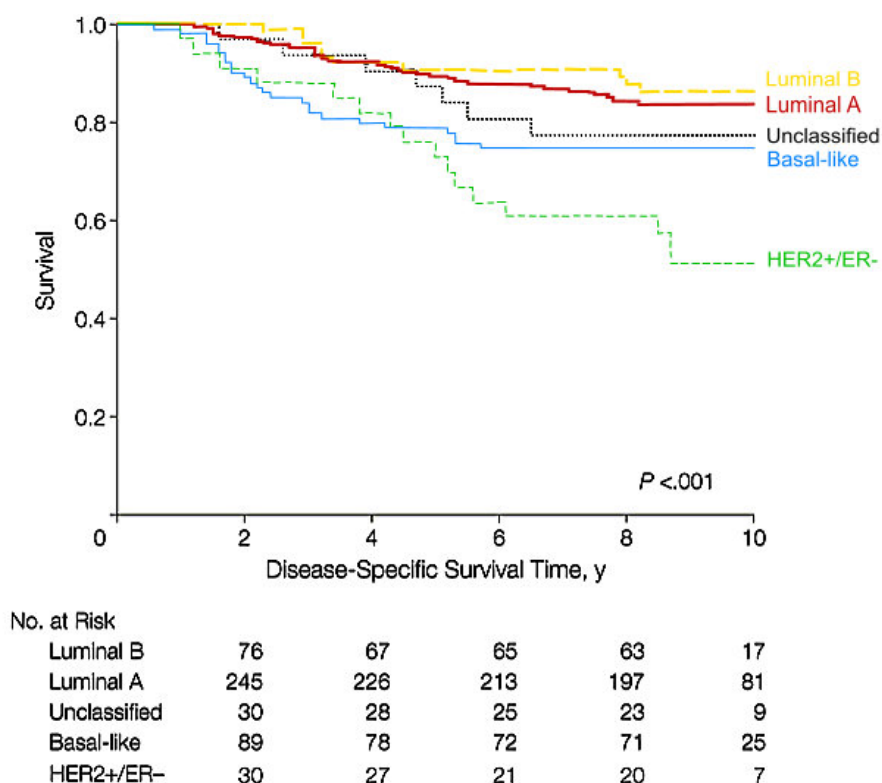


Abbildung 1: Überlebensanalyse der Fälle der Carolina-Brustkrebsstudie. Mod. nach Carey et al. (82)

In Anbetracht dieser Fakten wurde auf der Konsensuskonferenz von St. Gallen im Jahr 2013 entschieden, eine Therapieempfehlung anhand dieser vier Subtypen auszusprechen (83). Die folgenden Empfehlungen beziehen sich auf den Aspekt einer systemischen Therapie, welche außer der Chemotherapie die Hormon- und Immuntherapie beinhaltet. Neben der

systemischen Therapie gibt es noch lokale Therapien wie die Operation oder eine Strahlentherapie (Radiotherapie).

So erhalten Patientinnen mit Luminal-A Tumoren als systemischen Ansatz meist eine rein endokrine Therapie, z.B. mit Tamoxifen. Eine Chemotherapie kann bei bestimmten Risikokonstellationen, wie z.B. axillärem LK-Befall, zusätzlich gegeben werden. Luminal-B-Erkrankte der Subgruppe HER2-negativ erhalten alle eine endokrine Therapie, die meisten davon zusätzlich eine Chemotherapie. In der Subgruppe HER2-positiv folgt man hingegen dem Therapieplan Chemotherapie + Anti-HER2-Therapie (Trastuzumab) + endokrine Therapie. Für den HER2-positiv Subtyp wendet man eine Anti-HER2-Therapie in Kombination mit Chemotherapie an. Beim tripel-negativen Mammakarzinom kommt regelhaft als systemische Therapie nur eine Chemotherapie in Frage (83). Im metastasierten Stadium (bei TNBC Patientinnen ohne vorherige Chemotherapie und mit einer PD-L1-Expression der tumorinfiltrierenden Immunzellen $IC \geq 1\%$) ist in Deutschland seit August 2019 nun auch der PD-L1-Inhibitor Atezolizumab als Immuntherapeutikum zugelassen (84). Seit Oktober 2022 steht nun bei ähnlicher Indikation und einer vorhandenen PD-L1-Expression (ab einem CPS ≥ 10) auch der PD-1-Inhibitor Pembrolizumab zur Verfügung (13).

2.5 Das tripel-negative Mammakarzinom

Tripel-negativer Brustkrebs macht je nach Quelle 10-20% aller Mammakarzinome aus (4-7). Er besitzt eine positive Korrelation mit jungem Alter (<50 Jahre), später Diagnosestellung, einem hohen Grading, einem hohen Proliferationsindex sowie der ethnischen Herkunft (34, 82).

So ergab eine Studie zum Vergleich des Auftretens einer TNBC-Erkrankung zwischen US-amerikanischen sowie ghanaischen Frauen, dass ein TNBC signifikant häufiger bei ghanaischen Frauen auftritt, gefolgt von afroamerikanischen und schließlich weißen Amerikanerinnen. In der Kategorie der tastbaren und stark entdifferenzierten (G3) Brusttumoren hatten die Patientinnen aus Ghana die höchste Prävalenz von tripel-negativen Tumoren (82,2%), während afroamerikanische (32,8%) und weiße amerikanische Frauen (10,2%) ein deutlich geringeres Risiko aufwiesen, ein TNBC der Grading-Stufe 3 zu entwickeln (85). Carey und Perou konnten darstellen, dass das Basal-like Mammakarzinom bei prämenopausalen afroamerikanischen Frauen 39% aller Brustkrebsfälle ausmachte. In dieser Subgruppe war der Anteil des Basal-like Mammakarzinoms somit nicht nur höher als bei postmenopausalen afroamerikanischen Frauen mit 14%, sondern auch als bei nicht afrikanischstämmigen amerikanischen Frauen jeder Altersgruppe mit 16% Anteil an allen Brustkrebsfällen. Hingegen kam der Luminal-A Subtyp bei den jungen Afroamerikanerinnen seltener vor als bei den beiden anderen Gruppen (36% vs. 59% und 54%), und der HER2-positiv Typ zeigte keine signifikante Korrelation mit Menopausenstatus oder ethnischer Abstammung (82). Neben der Ethnie und dem Menopausenstatus sind zudem Übergewicht sowie ein erhöhtes Verhältnis des Taillen-/Hüftumfangs mit einer TNBC-Erkrankung assoziiert (34, 86, 87). Stillen hingegen scheint ein protektiver Faktor in Bezug auf die Entwicklung eines TNBC zu sein (87).

Auch besteht ein Zusammenhang zwischen der genetischen BRCA-1 Mutation mit tripel-negativem Brustkrebs (34, 88-90). Weiterhin zeichnet sich das TNBC durch eine hohe Chemosensitivität und sein gehäuftes Auftreten als Intervallkarziom aus. (Der Begriff des Intervallkarzinoms bezeichnet das Neuaufreten eines Tumors zwischen zwei Screening-Intervallen.) Beim TNBC ist die Tumorgröße nicht mit einem Vorhandensein von LK-Metastasen assoziiert, wie es bei anderen Subtypen der Fall ist, und eine hämatogene Metastasierung ist häufiger. So kommt es öfter zu einer Hirnmetastasierung als bei den anderen Subtypen. Weiterhin hat das TNBC eine höhere Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv in den ersten drei Jahren nach Diagnosestellung und eine geringere Rezidivrate nach Ablauf der ersten drei Jahre, verglichen mit anderen Brustkrebs-Subtypen. Außerdem entwickeln tripel-

negative Tumore im Vergleich mit den anderen Subtypen seltener ein lokoregionäres Rezidiv vor einem distanten Rezidiv und zeichnen sich durch eine kürzere mediane Überlebenszeit nach Metastasierung aus (34).

Wie im Kapitel „Einteilung in Molekulare Subtypen“ erwähnt, besitzt tripel-negativer Brustkrebs einen besonders schlechten Verlauf (s. Grafik von Carey et al.). Verglichen mit Nicht-TNBC-Patientinnen haben TNBC-Patientinnen in allen Stadien eine geringere Gesamtüberlebenszeit und eine kürzere ursachenspezifische Überlebenszeit für Brustkrebs, angepasst an die Variablen Alter, ethnische Zugehörigkeit, Tumorgrad sowie Operation und Bestrahlung (91). Gleichzeitig bestehen beim TNBC auf Grund der fehlenden therapeutischen Ansatzpunkte an Hormon- oder HER2-Rezeptoren die geringsten therapeutischen Möglichkeiten. Neben lokoregionären Therapien wie einer (adjuvanten) Operation, entweder als Mastektomie oder mit Brusterhaltung, sowie der Bestrahlung besteht als systemische Therapieoption nur die Chemotherapie. Durch das Fehlen der HR und des HER2-Rezeptors sind zielgerichtete systemische Therapien wie eine antihormonelle Therapie oder der Einsatz von Trastuzumab nicht möglich.

Allerdings konnten neben Matikas et al. auch Zhang et al. nachweisen, dass der PD-1 Rezeptor und sein Ligand PD-L1 in den Tumorzellen und den interstitiellen Lymphozyten bei TNBC signifikant stärker exprimiert wird als bei Nicht-TNBC (12, 92). In den Untersuchungen von Zhang et al. betragen die Expressionsraten von PD-L1 in TNBC in den Krebsnestern 16,6% und im Stroma 25,2%. Dabei zeigte die PD-L1-Expression zudem in den Krebszellen eine positive Korrelation mit dem histologischen Grad des Tumors und dem Vorhandensein von LK-Metastasen, während die PD-L1-Expression der interstitiellen Lymphozyten nur eine positive Korrelation mit dem histologischen Grad des Tumors aufwies. Ähnlich dazu betrug die Expressionsrate von PD-1 27,2% und korrelierte mit der PD-L1-Expression in stromalen tumorinfiltrierenden Lymphozyten (92).

Anstatt die HR oder HER2 als Therapieziele zu nutzen, wäre also ein zielgerichteter Angriff am PD-1 oder PD-L1 beim TNBC eine sinnvolle therapeutische Option.

Weiterhin werden auch der epidermal growth factor receptor/HER1, cKIT, Zytokeratin 5/6, Zytokeratin 14 und 17, p53, p15 und Cyclin E im TNBC überexprimiert. Diese können in der IHC detektiert werden und sind nicht nur mit einem kürzeren Überleben der entsprechenden Patientinnen assoziiert, sondern könnten in Zukunft ebenfalls als therapeutische Ziele dienen (34).

2.5.1 Die Subtypisierung des tripel-negativen Mammakarzinoms

Um auch beim TNBC eine gezieltere Therapie nutzen zu können, wird in der aktuellen Forschung vorgeschlagen, den Subtyp TNBC in weitere molekulare Subtypen zu klassifizieren, welche sich z.B. durch genomische Mutationen, wie eine ERBB2- oder PD-L1 Mutation zeigen. Anschließend sollen weitere subtypspezifische therapeutische Ziele (targets) und Biomarker nachgewiesen werden, um die sehr heterogene Erkrankung des tripel-negativen Mammakarzinoms weiter zu untergliedern. Durch diese schrittweise Subtypisierung hofft man, eine gezieltere und individuellere Therapie erreichen zu können (79).

Tabelle 6: Subtypisierung des tripel-negativen Mammakarzinoms (34, 79, 93-101)

<i>Histologische Subtypisierung</i>	invasiv-duktales spezielle histologische Typen <ul style="list-style-type: none"> - medullär - metaplastisch - apokrin - invasiv-lobulär - adenoid-zystisch
<i>Molekulare Subtypisierung</i>	Mutationssignaturen nach Jiang et al. <ul style="list-style-type: none"> - APOBEC - HRD - clock-like - mixed Transkriptom-Profilierung nach Lehmann et al. <ul style="list-style-type: none"> - basal-like 1 - basal-like 2 - mesenchymal - luminaler Androgenrezeptor mRNA-basiert nach Jiang et al. <ul style="list-style-type: none"> - basal-like und immunsupprimiert - immunmodulatorisch - mesenchymal-like - luminaler Androgenrezeptor Microenvironment basiert <ul style="list-style-type: none"> - tumorinfiltrierende Leukozyten u.a. nach Adams et al. - hohe, mittlere und niedrige Immunogenität nach He et al. - Stromale Achsen bezüglich T-Zellen, B-Zellen, Epithelmarker und Desmoplasie nach Saleh et al. - Makrophagen-angereichert und Neutrophilen-angereichert nach Kim et al. - Die Mikroumgebungs-Cluster immune-desert, innate immune-inactivated und immune-inflamed Cluster nach Xiao et al.

2.5.1.1 Histologische Subtypisierung

Beim TNBC handelt es sich um eine sehr heterogene Untergruppe, die sich in ihrer klinischen Präsentation, ihrer Pathologie und ihrem Therapieansprechen sehr unterschiedlich verhalten kann (34). Histologisch kann man das TNBC weiter unterteilen in invasiv-duktales Karzinome, welche die große Mehrheit aller TNBC ausmachen, sowie in sogenannte „spezielle histologische Typen“. Diese machen insgesamt nur 10% der TNBC aus und beinhalten u.a. die histologischen Formen des medullären, des metaplastischen, des apokrinen, des invasiv-lobulären und des adenoid-zystischen Karzinoms (34, 79). Diese histologische Untergliederung besitzt einen prognostischen Wert, da festgestellt wurde, dass metaplastische und invasiv-lobuläre Karzinome eine schlechtere Prognose zeigen als das invasiv-duktales TNBC, während medulläre, apokrine und adenoid-zystische Karzinome eine günstigere Prognose für den Patientinnen mit sich bringen (79).

2.5.1.2 Molekulare Subtypisierung

Um das TNBC auch molekular weiter klassifizieren zu können, wurden zahlreiche Genom-Analysen durchgeführt, die zeigen konnten, dass die häufigsten genomischen Veränderungen im TNBC durch somatische Mutationen und Veränderungen der Anzahl an Genkopien verursacht werden (79). Da die Zahl an möglichen Mutationen im TNBC sehr unübersichtlich ist, unterteilten Jiang et al. die Mutationstypen in vier Gruppen von Mutationssignaturen. Unterschiedliche Mutationsprozesse erzeugen oft unterschiedliche Kombinationen von Mutationstypen, die als „Signaturen“ bezeichnet werden (95). Mutationssignaturen

beschreiben folglich ein Mutationsmuster, das für einen Tumortyp charakteristisch ist, und so konnten Jiang et al. vier Subgruppen einteilen:

- APOBEC (apolipoprotein B mRNA-editing enzyme, catalytic polypeptide), welches die APOBEC bezogenen Signaturen 2 und 13 besitzt;
- HRD, mit der HRD (homologous recombination deficiency) bezogenen Signatur 3, welche mit einer BRCA1 oder BRCA2 Mutation einhergeht;
- Clock-like, welches die clock-like Signaturen 1 und 5 beinhaltet und
- Mixed, wobei dieser Subtyp keine dominante Signatur enthält (79, 97).

Schmidt et al. konnten 2008 durch Genexpressionsanalysen bei medikamentös unbehandelten nodal-negativen Mammakarzinomen zeigen, dass eine erhöhte Expression von Genen, die für B-Lymphozyten kodieren (B-Zell Metagene) mit einer verbesserten Prognose signifikant zusammenhängt (102). Aufbauend auf diesen Transkriptomanalysen postulierten sie 2009, dass je nach Höhe des B-Zell Metagens Basal-like Mammakarzinome in zwei prognostisch unterschiedliche Gruppen aufgeteilt werden können. Eine verstärkte Immunaktivität im Tumor durch eine hohe Expression immunzellbezogener Transkripte scheint die Tumorzellproliferation zu verlangsamen und damit eine Metastasierung unwahrscheinlicher zu machen und die Prognose zu verbessern (103).

Ein weiterer Ansatz zur molekularen Subtypisierung des TNBC ist die Transkriptom-Profilierung-Analyse durch Lehmann et al.. Anhand der Genexpressionsprofile ihrer Tumorproben unterteilten sie das TNBC in vier Subtypen:

- basal-like 1 (BL1), welcher eine Anreicherung von Genen bezüglich Zellzyklus und Zellteilung enthält;
- basal-like 2 (BL2), in dem sich veränderte Gene bezüglich der Wachstumsfaktor-Signalgebung, der Glykolyse und der Gluconeogenese befinden;
- mesenchymal (M), in dem sich überexprimierte Gene bezüglich der Zellmotilität finden; und
- mit lumbalem Androgenrezeptor (LAR); Dieser Subtyp besitzt neben luminalen Genexpressionsmustern eine Androgenrezeptor-Signalgebung (79, 93, 94).

In dieser Subtypisierung werden neben genetischen Anomalitäten auch die Zell-Linie, die Histologie der Tumorprobe und im Subtyp vorkommende Mutationen beachtet. Daraus ergaben sich unterschiedliche Therapieansätze für die verschiedenen Subtypen, wobei Lehmann et al. zudem zeigen konnten, dass die verschiedenen Zelllinien unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber Therapeutika aufweisen (79). So beeinflussen die verschiedenen Subtypen das Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie. Während von 300 TNBC-Patientinnen 41% des BL1-Typs eine histopathologisch festgestellte vollständige Remission erreichten, konnte nur bei 18% der BL2- und bei 29% der LAR-Patientinnen eine komplette Remission verzeichnet werden (94).

Die Ergebnisse von Lehmann et al. zeigen, dass die Identifizierung der einzigartigen Expression zellulärer Komponenten und des Vorhandenseins von Mutationen in wichtigen Onkogenen und Tumorsuppressoren in jedem Subtyp dazu beitragen kann, die Heterogenität des TNBC zu verstehen und Ansätze zur Entwicklung einer wirksamen Präzisionsbehandlung zu liefern (79).

Ähnlich dazu definierten Jiang et al. auf Grundlage von klinischen, genomischen und transkriptomischen Daten vier mRNA-basierte Subtypen des TNBC, welche sich in genomischen und klinischen Merkmalen voneinander differenzieren lassen:

- der basal-like und immunsupprimierte Subtyp (BLIS) enthält verstärkt aktivierte Gene zur DNA-Reparatur sowie herunterregulierte Gene zur Immunantwort;
- der immunmodulatorische (IM) Subtyp zeigt eine starke Expression von Genen zur Immunzell- und Zytokin-Signalgebung;
- der mesenchymal-like Subtyp (MES) zeichnet sich durch eine Anreicherung von Brustkrebs-Stammzellwegen aus;
- der LAR-Subtyp besitzt die bereits bekannte Androgenrezeptor-Signalgebung (79, 97).

Durch diese Klassifikation könnten noch spezifischere und an den jeweiligen Subtyp angepasste Behandlungsstrategien für TNBC-Patientinnen ermöglicht werden. So könnte die Subtypisierung des TNBC in Zukunft Bedeutung für die klinischen Therapieentscheidungen erlangen.

Weiterhin existieren auch verschiedene Klassifikationen basierend auf dem „Microenvironment“, also der Umgebung des Tumors, mit welchen sich ebenfalls Aussagen über die Prognose der Patientinnen und die Wirksamkeit der Immuntherapie treffen lassen (79, 96):

Hier werden u.a. nach Adams et al. insbesondere die tumorinfiltrierenden Leukozyten (TILs) beurteilt, wobei hohe TIL-Werte im Frühstadium eines TNBC für eine bessere Prognose sprechen und als prädiktiver Wert für das Ansprechen auf eine neoadjuvante Chemotherapie gelten (79, 96). Auch im metastasierten Stadium sprechen hohe Zahlen an TILs für ein besseres Ansprechen auf eine Immuntherapie und so für längere Überlebenszeiten (79).

Nach He et al. lässt sich das TNBC basierend auf der Expression von bestimmten Immunsignaturen in die Subgruppen hohe, mittlere und niedrige Immunogenität unterteilen, wodurch Vorhersagen für das Ansprechen auf Immuntherapeutika getroffen werden können (98).

Auch das Tumorstroma kann anhand der Kriterien T-Zellen, B-Zellen, Epithelmarker und Desmoplasie beurteilt werden. Indem diese Stroma-Ausprägungen als Achsen verwendet werden, konnte durch Saleh et al. ein neuartiges Klassifikationssystem zur Prognoseeinschätzung der TNBC geschaffen werden (79, 99).

Neben den TILs können bezüglich des Microenvironments auch die tumorinfiltrierenden Makrophagen und neutrophilen Granulozyten beurteilt werden, wodurch sich die tripel-negativen Karzinome in Makrophagen-angereicherte und Neutrophilen-angereicherte TNBC-Subtypen unterteilen lassen. Nach Kim et al. verhielten sich Makrophagen-angereicherte tripel-negative Brusttumore in Bezug auf eine Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren uneinheitlich. Die Neutrophilen-angereicherten TNBC stellten sich als resistent gegen diese Behandlungsform dar (79, 100).

Nach Xiao et al. konnten auf Grundlage einer Expressionsprofil-basierten Analyse der Häufigkeit von Zellen des Tumor-Microenvironments drei Mikroumgebungs-Cluster definiert werden: Das „immune-desert“ Cluster mit geringer Microenvironment-Zellinfiltration; Das „innate immune-inactivated“ Cluster, welches ruhende angeborene Immunzellen und eine Stromainfiltration von Nicht-Immunzellen enthält; und das „immune-inflamed“ Cluster, welches sich durch eine deutliche Infiltration von adaptiven und angeborenen Immunzellen im Microenvironment des Tumors auszeichnet (79, 101).

Auch wenn in den verschiedenen Subtypisierungen jeweils unterschiedliche Merkmale im Vordergrund stehen, bestehen doch deutliche Übereinstimmungen zwischen den histologischen (IHC-basierten) und den molekularen (mRNA-basierten) Subtypen, da die molekularen Eigenschaften und die damit verbundenen therapeutischen Implikationen über die verschiedenen Klassifikationen hinweg erhalten bleiben (79). Insgesamt gelingt durch die molekulare Subtypisierung des tripel-negativen Mammakarzinoms eine Untergliederung in homogenere Untergruppen, die sich durch ihre genomischen Mutationen voneinander abheben. Diese Untergliederung und die Differenzierung der verschiedenen Subgruppen stellt eine Grundlage für eine individualisierte und erfolgversprechendere Therapie des TNBC dar.

2.6 Therapie des tripel-negativen Mammakarzinoms

2.6.1 Operation des TNBC

Wie auch bei den anderen Brustkrebs-Subtypen, wird beim TNBC unter anderem eine lokoregionäre Therapie in Form einer Operation durchgeführt. Dabei besteht die Möglichkeit der kompletten Mastektomie sowie die Option der brusterhaltenden Therapie (BET), welche aus einer brusterhaltenden Operation mit axillärer LK-Dissektion sowie einer anschließenden Strahlentherapie besteht.

Um die passende Therapie auszuwählen, wird zum einen der Patientenwunsch berücksichtigt, zum anderen spielt aber auch die Ausdehnung des Tumors eine Rolle. Bei kleinen Tumoren (Stadium cT1 und cT2) wird i.d.R. einer BET Vorrang gegeben, bei größeren oder multizentrischen Tumoren wird eher eine Mastektomie empfohlen. Wird durch eine neoadjuvante Chemotherapie eine vollständige Remission (pathological complete response bzw. pCR) erreicht, kann auch bei Tumoren größerer Ausdehnung eine BET angestrebt werden (34).

In Bezug auf das Therapieergebnis konnten verschiedene Studien zeigen, dass das Risiko eines lokoregionären Rezidivs bei Patientinnen mit TNBC höher ist als bei Patientinnen mit anderen Brustkrebs-Subtypen (34). So erlebten 11,8% der TNBC-Patientinnen in Anschluss an eine Mastektomie mit folgender Strahlentherapie ein Lokalrezidiv, während dies nur bei 3,9% der Frauen eines anderen Subtyps auftrat (104). Trotz dieser Ergebnisse sprechen die Leitlinien keine grundlegend anderen OP-Empfehlungen bei TNBC-Patientinnen aus als bei allen anderen Subtypen des Mammakarzinoms (105).

2.6.2 Strahlentherapie des TNBC

Die Radiotherapie ist fester Bestandteil der BET. Diesbezüglich wird in den Leitlinien kein Unterschied in den Empfehlungen zur adjuvanten Radiotherapie des TNBC oder eines anderen Subtyps gemacht (34).

In einer Studie von Kyndi et al., die den Einfluss von Postmastektomie-Radiotherapie (PMRT) in Bezug auf den Rezeptorstatus untersuchte, konnte herausgefunden werden, dass eine PMRT das Risiko eines lokoregionären Rezidivs im Vergleich zu einer Mastektomie ohne Radiotherapie insgesamt verringert, dies aber bei TNBC-Patientinnen in geringerem Maße als bei HR-positiven Patientinnen. Sowohl ein negativer ER/PR-Status, verglichen mit einem positiven HR-Status, als auch der tripel-negative oder HER2-positiv Subtyp, verglichen mit dem Luminal-A oder dem Luminal-B (HER2-negativen) Subtyp, zeichnete sich durch einen geringeren Vorteil bezüglich eines lokoregionären Rezidivs nach einer PMRT aus (106).

Außerdem wird ein durch die PMRT signifikant verbessertes Gesamtüberleben nur bei HR-positiven, nicht aber bei dem HER2-positiv und beim tripel-negativen Subtyp erreicht. Die Autoren vermuten die zugrunde liegende Ursache u.a. in der Expression des ER-Rezeptors, da dieser zu einer kürzeren Zellzyklusdauer führt. Dies hat eine kürzere zu Verfügung stehende Zeit für die Reparatur der strahlenverursachten DNA-Schäden zu Folge. ER-negative Tumore haben folglich mehr Zeit, die entstandenen DNA-Schäden zu korrigieren und besitzen somit eine relative Strahlenresistenz (34, 106).

2.6.3 Systemische Therapie des TNBC

Da beim TNBC Angriffspunkte wie die HR oder der HER2-Rezeptor fehlen, scheiden sonst sehr erfolgreiche systemische Therapiestrategien aus. So ist bspw. der Einsatz einer endokrinen Therapie mit Aromatasehemmern oder Tamoxifen, welche bei ER-positiven Tumoren genutzt werden, oder das Anwenden des monoklonalen Antikörpers Trastuzumab, der am HER2-Rezeptor ansetzt, nicht möglich. Daher galt für das TNBC lange eine Chemotherapie als einzige Möglichkeit eines systemischen Therapieansatzes.

Standard einer Chemotherapie beim Mammakarzinom in der adjuvanten und neoadjuvanten Situation ist heutzutage die Anthrazyklin- und/oder Taxan-basierte Chemotherapie (34, 107). Diese hat sich auch beim TNBC als hochwirksam erwiesen (108). Insbesondere wenn Taxane zu einer Anthrazyklin-basierten Therapie hinzugenommen werden, zeigen sich, unabhängig vom ER-Status des Tumors, verbesserte Ergebnisse bezüglich des krankheitsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens (34). Anthrazykline gehören der Zytostatikagruppe der Topoisomerase-Hemmstoffe an und beinhalten u.a. Epirubicin und Doxorubicin. Taxane hingegen sind Mitosehemmstoffe bzw. Spindelgifte. Hier stehen aktuell Docetaxel und Paclitaxel zur Verfügung. Rouzier et al. konnten bereits 2005 nachweisen, dass tripel-negativer sowie HER2-positiv Brustkrebs sensitiver auf Paclitaxel und Doxorubicin reagierten als die übrigen Subtypen (108).

Eine Chemotherapie stellt beim TNBC eine Option mit recht guter Ansprechrate dar (109). Häufig wird aber auch eine neoadjuvante Polychemotherapie durchgeführt, da beim TNBC

eine sehr gute Korrelation zwischen einer pathological complete response (pCR) und Überleben nachweisbar ist. Patientinnen mit TNBC, die eine neoadjuvante Chemotherapie erhalten, haben verglichen mit Nicht-TNBC-Patientinnen doppelt so häufig eine pCR (22% vs. 11%). Bei den TNBC-Patientinnen, bei denen solch eine pCR erreicht wurde, konnte trotz der sonst deutlich schlechteren Prognose eines TNBC ein annähernd gleich gutes Überleben wie bei allen Nicht-TNBC-Patientinnen verzeichnet werden (110). In diesem Zusammenhang wurde von Carey et al. auch der Begriff des „tripel-negativen Paradoxons“ geprägt, welcher ausdrückt, dass TNBC-Patientinnen mit gutem Ansprechen auf die neoadjuvante Chemotherapie und folgender pCR eine gute Prognose besitzen, während bei den TNBC-Patientinnen, bei denen keine pCR erreicht werden konnte, die Prognose deutlich schlechter ausfällt als bei Nicht-TNBC-Patientinnen (111). Dieser Umstand könnte laut Carey et al. auf eine generell höhere Rückfallwahrscheinlichkeit der Patientinnen mit Therapieversagen zurückzuführen sein. Das Erreichen einer pCR ist bei Patientinnen mit TNBC also besonders wichtig. Auch in anderen Studien konnte festgestellt werden, dass der Zusammenhang zwischen pCR und Langzeitergebnissen bei Patientinnen mit TNBC stärker ist als bei Patientinnen mit anderen Subtypen (34, 112). In der folgenden Abbildung wird das deutlich verlängerte Überleben von TNBC-Patientinnen in den Fällen, in denen eine pCR erreicht werden konnte, deutlich. Hingegen folgt ein deutlich reduziertes Überleben im Vergleich zu Nicht-TNBC-Patientinnen, wenn es zu einem Therapieversagen ohne TNBC kommt.

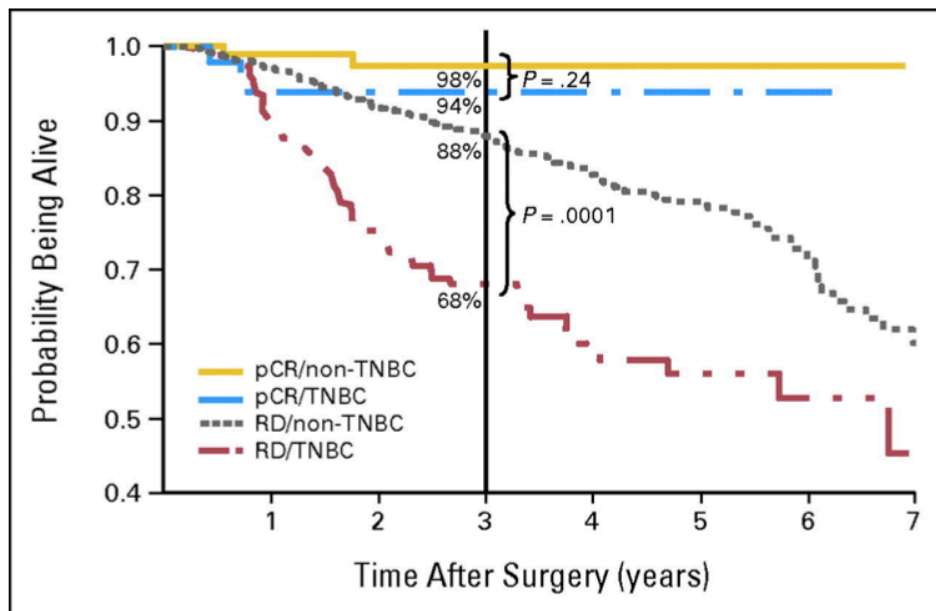


Abbildung 2: Gesamtüberleben als Folge des Ansprechens auf Chemotherapie (pathologisch vollständiges Ansprechen (pCR) vs. Resterkrankung (RD)) und Tripel-Negativ-Status (TNBC vs. Nicht-TNBC) (87)

Insbesondere im Stadium des frühen TNBC kann der zusätzliche neoadjuvante Einsatz von Platinanaloga wie Cisplatin und Carboplatin erwogen werden. In der GeparSixto-Studie konnte ein Vorteil bezüglich der pCR und der krankheitsfreien Überlebenszeit nachgewiesen werden, wenn Carboplatin zur sonstigen Chemotherapie mit Anthrazyklin/Taxan hinzugenommen wurde. Ein Vorteil bezüglich des Gesamtüberlebens ergab sich hingegen nicht. Zudem konnte gezeigt werden, dass insbesondere Patientinnen mit Keimbahnmutationen, wie z.B. BRCA1 und BRCA2, besonders von der Intervention mit Carboplatin profitierten, was auf die genetische Instabilität dieser Mutationen zurückzuführen ist (113, 114). Platinhaltige Substanzen wie Carboplatin, Cisplatin und Oxaliplatin gehören zur Übergruppe der Alkylantien. Sowohl Cis- als auch Carboplatin bewirken durch das Ausbilden von kovalenten Bindungen zwischen Purinbasen DNA-Läsionen die Aktivierung mehrerer Signaltransduktionswege und folgend eine Apoptose der betroffenen Zelle (115, 116). Da Patientinnen mit BRCA-Mutation einen Mangel an Reparaturmechanismen für DNA-Läsionen besitzen, können in diesem Fall die Platinsalz-verursachten DNA-Quervernetzungen und Doppelstrangbrüche nicht repariert werden und eine folgende Apoptose der BRCA-mutierten

Zellen ist überdurchschnittlich häufig (34). Somit eignet sich der Einsatz von Platinsalzen beim TNBC besonders, da dies viele Patientinnen mit Keimbahnmutationen einschließt.

Die meisten nationalen und internationalen Leitlinien, wie die NCCN, der St. Gallen Konsensus und die ESMO empfehlen nach wie vor die konventionelle Chemotherapie als tragende Säule der Therapie des TNBC. Es wird aber zunehmend nach zielgerichteteren Therapieoptionen geforscht. Da die (neoadjuvante) Chemotherapie TNBC-Patientinnen zwar einen Überlebensvorteil, wenn auch gepaart mit Nebenwirkungen, bringt, so kann es trotzdem bei fast der Hälfte der Patientinnen zu einer Chemotherapie-Resistenz kommen (117). Neue Therapieoptionen sind also von hoher Relevanz. So gelten systemische „targeted therapies“, die an spezifischen molekularen Zielen, am Zytoskelett, der Zellmigration, dem Gefäßsystem oder Genen mit hoher Proliferationsaktivität angreifen, als mögliche Alternativen oder Ergänzungen zur bisher existierenden Therapie. Auch die Immuntherapie oder mögliche Impfstoffe sind Gegenstand der aktuellen Forschung (34).

2.6.3.1 Systemische Therapie des metastasierten TNBC

Auch für das metastasierte TNBC eignet sich die Chemotherapie. Im Unterschied zur Chemotherapie des frühen TNBC kann im Stadium des metastasierten TNBC zwischen einer Chemotherapie mit nur einem einzigen Wirkstoff oder, bei Notwendigkeit eines besonders schnellen Ansprechens, einer Polychemotherapie gewählt werden. Als Einzelwirkstoffe eignen sich Anthrazykline, Taxane, Antimetabolite, Mikrotubuli-Inhibitoren oder Platinanaloga, wohingegen als Polychemotherapie die Kombination aus Paclitaxel + Gemcitabin oder Docetaxel + Capecitabin möglich ist (34). Gemcitabin und Capecitabin sind Zytostatika der Gruppe der Antimetabolite bzw. der Untergruppe der Pyrimidin-Antagonisten. Ihre Wirkweise beruht auf dem Einbau einer falschen Base in die sich replizierende (Tumor-)DNA und damit dem Stopp der Replikation.

Auch wenn empfohlen wird, jede Metastase durch Biopsie zu bestätigen und den Rezeptorstatus der Metastase zu bestimmen, so kommt es speziell beim TNBC ausgesprochen selten zu einer Rezeptordiskordanz. Amir et al. konnten bei ER, PR und HER2 positiven Tumoren 16%, 40% bzw. 10% Diskordanz zwischen Primarius und Metastase feststellen, wohingegen bei keiner der 23 TNBC-Patientinnen ein Wechsel hin zu einer Rezeptorpositivität festgestellt werden konnte (118). So stehen auch bei TNBC-Metastasen keine Rezeptoren als Angriffspunkt für eine zielgerichtete systemische Therapie zu Verfügung, und auf Grund fehlender Alternativen bleibt die Chemotherapie der Grundpfeiler systemischer Therapie im fortgeschrittenen Stadium. In diesem geht es vornehmlich um die Verlängerung der Lebenszeit und die Linderung von Symptomen (34). Ein längerfristiger Erfolg der Chemotherapie im metastasierten Stadium ist sehr begrenzt. Ein TNBC im fortgeschrittenen Stadium spricht schlechter auf die aktuell verfügbaren Chemotherapeutika an, und auch bei gutem Ansprechen folgt i.d.R. eine schnellere Krankheitsprogression als im frühen, nicht-metastasierten Stadium (34). Dies führt mitunter dazu, dass die Überlebenszeit von Patientinnen mit fernmetastasiertem TNBC im Vergleich zu fernmetastasiertem Brustkrebs anderer Subtypen am schlechtesten ist (119). In einer 2022 erschienenen Studie konnte festgestellt werden, dass Patientinnen mit metastasiertem tripel-negativen Brustkrebs im Schnitt nur 15,2 Monate überlebten, während bei HR- oder HER2-positiven Subtypen im metastasierten Stadium durchschnittliche Gesamtüberlebenszeiten von 35,7-37 Monaten beobachtet wurden (120). Besonders in Anbetracht der schlechten Therapieoptionen beim metastasierten TNBC wären zielgerichtete erfolversprechendere Therapien wünschenswert.

2.6.4 Molekular-gerichtete und Biomarker-basierte „Targeted Therapies“

Neuartige individualisierte Behandlungen werden insbesondere bei der sehr heterogenen Erkrankung des TNBC dringend benötigt. Dafür eignen sich zielgerichtete Therapien („targeted therapies“), welche an molekularen Strukturen des Tumors angreifen sollen. Kumar und Aggarwal beschrieben etliche solcher Ansatzpunkte sowie erste dazu passend entwickelte Therapeutika (34). Das Behandlungsparadigma der Chemotherapie als „one size fits all“ für das Therapiemanagement des TNBC ändert sich basierend auf der molekularen Subtypisierung und es werden per Tumorsequenzierung weitere potenzielle molekulare Ziele

identifiziert und neue niedermolekulare Wirkstoffe auf diesem Gebiet erprobt und bewertet (121). Gezielte Therapieentwicklungen finden sich beispielsweise in der Immuntherapie, in den Bereichen der PARP- und AKT-Inhibitoren sowie in Form von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten und der Androgenrezeptorblockade (122).

Um hier einen Überblick über die verschiedenen Ansätze und Wirkweisen der molekular gerichteten „targeted therapies“ zu erhalten, dient die folgende Abbildung aus einer Arbeit von Lyons (121) sowie der folgende Abschnitt, welcher auf den Übersichtsarbeiten von Kumar et al. (34), Lyons (121), Yin et al. (77) sowie der aktuellen Arbeit von Kanwal (117) beruht.

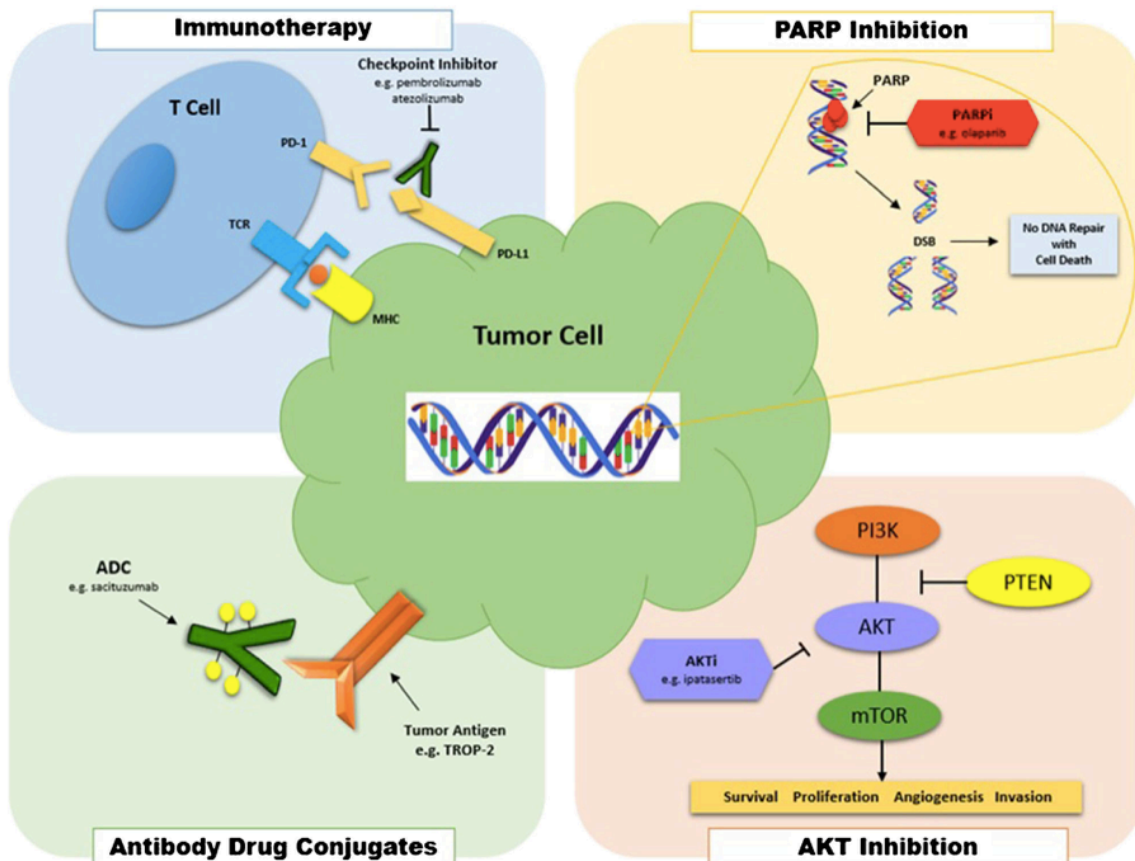


Abbildung 3: Neue therapeutische Ziele zur Behandlung des TNBC (98)

VEGF-Hemmer setzen an dem vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF) an. Dadurch blockieren sie die Angiogenese bzw. die Neovaskularisation, welche für die Proliferation des Tumorgewebes benötigt wird. Ein Beispiel ist der monoklonale Anti-VEGF-Antikörper Bevacizumab. Dieser erhöhte in verschiedenen Studien nachweislich die Ansprechrate und das progressionsfreie Überleben von Patientinnen mit metastasiertem Brustkrebs, wenn er zusätzlich zur Erstlinien-Chemotherapie gegeben wurde. Auch in der GeparQuinto-Studie zeigte sich, dass die Zugabe von Bevacizumab zu einer neoadjuvanten Chemotherapie mit Anthrazyklin und Taxan die pCR-Rate bei Patientinnen mit operablem oder lokal fortgeschrittenem TNBC signifikant von 27,9% auf 39,3% erhöhte. Es existieren jedoch auch Studien ohne signifikantes Ergebnis, und so wurde die Zulassung der US-amerikanischen „Food and Drug Administration“ (FDA) von Bevacizumab bei Brustkrebs, einschließlich TNBC, zurückgezogen, da eine mangelnde Wirksamkeit einer erhöhten Toxizität der Kombinationstherapie entgegenstand. Weitere antiangiogene Wirkstoffe stellen die Anti-VEGFR-Tyrosinkinase-Inhibitoren Sunitinib und Sorafenib dar, zudem existiert der gegen VEGFR-2 gerichtete monoklonale Antikörper Ramucirumab (34).

Poly (ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Inhibitoren (PARPi) stellen eine vielversprechende Wirkstoffgruppe dar. Die Enzyme PARP1, welches am häufigsten vorkommt, und PARP2 sind

am Mechanismus der einzelsträngigen DNA-Reparatur, der sogenannten Basenexzisionsreparatur, beteiligt. Sie können auch frühe Phasen der Reparatur der DNA-Replikationsgabel durch homologe Rekombination stimulieren. PARPi inhibieren folglich das Enzym PARP und führen zur Apoptose von Tumorzellen. Dieser Wirkmechanismus ist insbesondere erfolgreich bei Tumorzellen, welche in sich bereits eine Mutation eines Reparaturgens tragen, wie BRCA1 und BRCA2. Somit haben PARPi eine 100 bis 1000-mal höhere Wirksamkeit in BRCA1-defizienten Tumoren als in BRCA-kompetenten Zellen. Beispiele für die Wirkstoffgruppe der PARPi sind Iniparib, Olaparib, Talazoparib und Veliparib (34, 117). So ist Olaparib seit 2018 von der FDA im postneoadjuvanten Setting für BRCA-mutierte HER2-negative Fälle von Brustkrebs, d.h. auch für das TNBC, welche keine Komplettremission aufweisen, zugelassen. Talazoparib besitzt eine Zulassung für BRCA-mutierten, lokal-fortgeschrittenen oder metastasierten HER2-negativen Brustkrebs. Diese PARPi erbrachten bereits vielversprechende klinische Ergebnisse für die entsprechenden Patientinnen mit TNBC (117, 121, 123-125). Zudem können PARPi die therapeutische Wirkung von Strahlen- und Chemotherapie signifikant verstärken (77).

Antitubulin-Agenzien, auch Etoposide genannt, zielen auf die Mikrotubuli ab und stören die Funktion des Proteins Tubulin. Durch eine Stabilisierung der Mikrotubuli bewirken sie einen Zellzyklusarrest und die Verhinderung der Zellteilung. Ein Beispiel ist Etoposid, welches in einer neoadjuvanten Studie verbesserte pCR-Raten bei HR-negativen Tumoren verglichen mit HR-positiven Tumoren zeigte (34).

EGFR-Hemmer greifen am epidermalen Wachstumsfaktor (EGFR, auch HER1 genannt) an, welcher in einem großen Teil der TNBC-Tumoren überexprimiert wird. Der monoklonale Antikörper Cetuximab sowie der Cetuximab-verwandte Wirkstoff Panitumumab sind Therapeutika dieser Wirkstoffgruppe. Zudem existieren niedermolekulare Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKIs) gegen EGFR, wie Gefitinib und Erlotinib (34). Obwohl präklinische Studiendaten die Verwendung von EGFR als potenzielles Ziel für eine zielgerichtete TNBC-Therapie stark unterstützten, konnten in klinischen Versuchen allerdings die erwarteten Ergebnisse nicht erzielt werden. Eine alleinige EGFR-gerichtete Behandlung besitzt also keine signifikante Wirksamkeit in der TNBC-Therapie (77).

mTOR-Inhibitoren setzen an dem ubiquitär in Säugetieren vorkommenden und das Immunsuppressivum Rapamycin indirekt bindenden Protein mTOR (mammalian target of rapamycin) an. mTOR ist (wie in Abb. 3 zu sehen) Teil der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K)-Signalkaskade und wird durch Aktivierung von PI3K und der folgenden Aktivierung der Serin/Threonin-Kinase "AKT" aktiviert. AKT entspricht der Proteinkinase B (PKB) und ist ein Protoonkogen. Die Aktivierung von AKT kann jedoch durch die Phosphatase „PTEN“, welche ein Tumorsuppressor ist, verhindert werden. In Mammakarzinomen finden sich häufig Mutationen in Proteinen des PI3K-Signalwegs. Der Verlust von PTEN, der sich häufig im TNBC findet, erhöht die mTOR-Aktivierung. mTOR-Inhibitoren wie Everolimus und Temsirolimus könnten insbesondere bei TNBC-Patientinnen solchen überaktivierten und onkogenen Signalkaskaden entgegenwirken (34, 121).

Molekulares „targeting“ ist aber auch direkt am Protoonkogen AKT möglich und stellt eine erfolgversprechende Möglichkeit zur Behandlung des TNBC dar. Der AKT-Inhibitor Ipatasertib wurde in einer Studie mit Paclitaxel kombiniert und zeigte eine Verbesserung des progressionsfreien Überlebens. Insbesondere bei Patientinnen mit PIK3CA/AKT1/PTEN-veränderten Tumoren zeigte sich ein verstärkter Nutzen der Intervention. Auch der AKT-Inhibitor Capivasertib führte in Kombination mit Paclitaxel zu verbesserten Ergebnissen bezüglich des progressionsfreien Überlebens sowie des Gesamt-Überlebens (121).

Src-Tyrosinkinase-Inhibitoren setzen an der in TNBC überexprimierten Src-Tyrosinkinase an, welche mit einer verstärkten Metastasierung assoziiert ist. Ein Vertreter ist Dasatinib, welches nicht nur an Src, sondern auch an c-kit und am platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR β), eine inhibierende Wirkung besitzt (34).

Antikörper-Wirkstoff-Konjugate wie Sacituzumab Govitecan zielen auf das menschliche Trophoblasten-Zelloberflächen-Antigen 2 (TROP-2) ab. Der Oberflächenmarker TROP-2 ist auf vielen soliden Tumoren verstärkt vorzufinden, wird aber kaum von reifen Körperzellen exprimiert. Es reguliert das Wachstum, die Invasion und die Ausbreitung von Krebs über verschiedene Signalwege und stellt somit ein gutes Ziel für eine spezifische Therapie dar (126). Sacituzumab Govitecan hat bereits vielversprechende klinische Ergebnisse für TNBC-Subgruppen geliefert und zählt zu den von der FDA zugelassenen Therapien (117).

Zelluläre und molekulare Immuntherapien stellen erfolgversprechende Ansätze beim TNBC dar. Eine hohe Tumoruminfiltration bzw. eine ausgeprägte Tumorummunität ist beim TNBC häufig zu finden und stellt einen prädiktiven Marker für ein Ansprechen auf die Immuntherapie dar. Neben der Möglichkeit zu immuntherapeutischen-Impfstoffen, die z.B. an den Zielen MAGE-A3 und MUC-1 ansetzen können, gibt es am chimären Antigenrezeptoren (CAR) manipulierte T-Zellen (CAR-T-Zellen) (34). Immuntherapien wie der Checkpoint-blockierende Antikörper Anti-PD-1 oder Anti-PD-L1 sollen in einem eigenen folgenden Kapitel näher beleuchtet werden.

2.6.4.1 Immuntherapie des TNBC

Der Begriff der Immuntherapie, welche in aktive und passive Immuntherapie unterschieden werden kann, bezieht sich auf jeden Ansatz, der darauf abzielt, das Immunsystem zu manipulieren oder zu verstärken, um dadurch Krankheiten besser bekämpfen zu können (79, 127). Auf Grund der starken Immunogenität des TNBC eignen sich zur systemischen Behandlung nach einer Studie von Heimes und Schmidt insbesondere auch immuntherapeutische Ansätze (128). Diese Annahme stützen auch viele Studien, die zur Evaluierung von Checkpoint-Inhibitoren an Brustkrebs durchgeführt wurden und bei TNBC die größten Erfolgsraten verzeichnen konnten (121).

Bezüglich der Immunogenität spielen sowohl TILs als auch die bei TNBC höhere Expression des PD-L1 eine wichtige Rolle (128). Wie bereits im Kapitel „Molekulare Subtypisierung“ angesprochen, besitzen TILs sowohl einen prognostischen als auch prädiktiven Wert und deuten auf einen besseren Erfolg der Immuntherapie hin (96, 129). Diese positive Assoziation gilt sowohl im frühen als auch im fortgeschrittenen Stadium des TNBC (121). Somit korreliert das Ergebnis der Immuntherapie beim TNBC mit dessen Tumoruminfiltration (34). Zudem gilt, dass Tumoren mit einer höheren Mutationslast eine bessere Ansprechrate auf die Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren zeigen und das TNBC generell eine höhere Mutationslast aufweist als andere Brustkrebs-Subtypen (121). Folgend sind TNBC durch Immunaktivierung und -infiltration gekennzeichnet und exprimieren häufiger Biomarker, die mit dem Ansprechen auf eine Immuntherapie assoziiert sind (130). Das bessere Ansprechen von TNBC auf eine Immuntherapie, verglichen mit anderen Subtypen, wird also hervorgerufen durch das verstärkte Vorkommen von TILs, eine höhere PD-L1-Expression sowohl auf Tumor- als auch auf Immunzellen und die höhere Mutationslast, welche durch ein erhöhtes Vorkommen tumorspezifischer Neoantigene zu einer Aktivierung neoantigenspezifischer T-Zellen führt (129).

Verschiedene Immuntherapien, die zudem synergistisch mit dem Einsatz von Chemotherapeutika wirken können, sind Gegenstand aktueller Forschung. Neben Immunvakzinen und dem Transfer von manipulierten T-Zellen mit chimären Antigenrezeptoren (CAR) sind Immun-Checkpoint-Inhibitoren (ICIs) ein erfolgversprechender Ansatz (34).

Im Rahmen der Immun-Checkpoint-Blockade (ICB) verwendet man monoklonale Antikörper (mAbs), um die Bindung von inhibitorischen Rezeptoren an ihre natürlichen Liganden zu blockieren (131), durch welche das Immunsystem in seiner Funktion ansonsten „gebremst“ würde. Somit ist es möglich, dass ICIs die immunologische Selbsttoleranz modifizieren. Humanisierte Antikörper gegen die Immun-Checkpoint-Rezeptoren cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) und PD-1 oder gegen Immun-Checkpoint-Liganden wie den PD-L1 verhindern somit einen durch die Tumorzellen induzierten Zelltod der T-Zellen. Stattdessen wird durch die ICB eine Proliferation und Aktivierung der T-Zellen sowie eine Sekretion von Zytokinen bewirkt (132), es kommt damit gewissermaßen zu einer Aktivierung

tumorspezifischer Effektor-T-Zellen. Diese ist neben der Blockade regulatorischer Zellen und der Migration von T-Zellen in den Tumor wichtiger Bestandteil einer wirksamen Anti-Tumor-Immunität (131). Dabei sind das programmierte Zelltod-Protein 1 PD-1 und sein Ligand PD-L1 die am besten untersuchten Ziele von ICIs und konnten bereits gute Ergebnisse in von TNBC betroffenen Patientengruppen vorweisen (79, 117).

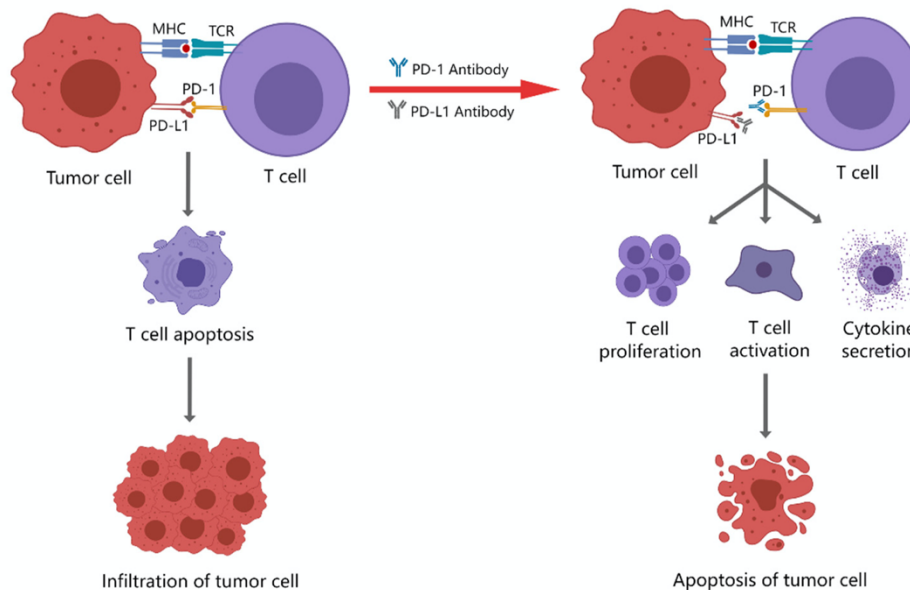


Abbildung 4: Effekt der PD-1- und PD-L1-Inhibitoren (132)

Vertreter der PD-L1 Therapeutika sind Atezolizumab, Durvalumab und Avelumab, während Pembrolizumab am PD-1-Rezeptor angreift (129). Die auf das PD-1 und den PD-L1 gerichteten Therapeutika Pembrolizumab und Atezolizumab wurden bereits von der FDA zugelassen und gelten als vielversprechende Optionen in der „targeted therapy“.

Atezolizumab, das erste immuntherapeutische Medikament mit erteilter Zulassung durch die FDA, ist dabei in Kombination mit Nab-Paclitaxel an Patientinnen mit inoperablem lokal fortgeschrittenen oder metastasiertem PD-L1-positivem TNBC zu verabreichen (117, 130). Für die 2019 erteilte Zulassung erbrachte die Phase-III-Studie IMpassion130, dass bei Zugabe von Atezolizumab zu Nab-Paclitaxel bei PD-L1 positiven Patientinnen sowohl das progressionsfreie Überleben als auch das Gesamtüberleben klinisch bedeutsam verbessert wird. Das progressionsfreie Überleben stieg von 5 auf 7,5 Monate an und das Gesamtüberleben konnte durch Atezolizumab von 18 auf 25 Monate verbessert werden (79). Auch zeigte Atezolizumab als Einzelwirkstoff bei Patientinnen mit metastasiertem TNBC einen Überlebensvorteil, insbesondere wenn die Immunzellinfiltration und die PD-L1 Positivität stark ausgeprägt waren (79). Auch der mit Atezolizumab verwandte PD-L1 Inhibitor Durvalumab konnte in der GeparNuevo-Studie bei Zugabe zu einer neoadjuvanten Therapie auf Anthrazyklin-/Taxan-Basis die pCR-Rate erhöhen (79).

Für das 2020 durch die FDA zugelassene Therapeutikum Pembrolizumab, welches in Kombination mit einer Chemotherapie bei lokal rezidivierendem inoperablem und metastasiertem PD-L1-positivem TNBC verabreicht werden darf, schufen die Ergebnisse der Phase-III-Studie KEYNOTE-355 die Basis (130). Die Pembrolizumab-Monotherapie zeigte eine dauerhafte Antitumoraktivität bei Patientinnen mit zuvor unbehandeltem PD-L1-positivem metastasiertem TNBC und auch bei Patientinnen mit zuvor behandeltem metastasiertem TNBC, in diesem Fall unabhängig von der PD-L1-Expression (79). Ebenso erbrachte die TOPACIO-Studie vorteilhafte Ergebnisse für die Kombination des PARP-Inhibitors Niraparib mit Pembrolizumab bei Patientinnen mit fortgeschrittenem oder metastasiertem TNBC, insbesondere bei Patientinnen mit BRCA-Mutationen (79).

Ipilimumab, ein Anti-CTLA-4-Antikörper, wurde von der FDA bisher nur für die Behandlung des fortgeschrittenen Melanoms zugelassen und wird im Bereich des Mammakarzinoms noch weiter erforscht. CTLA-4 hemmt die T-Zell-Aktivierung durch Bindung an kostimulatorische Moleküle wie CD80 und CD86 (77). Im Mausmodell konnte bereits eine zytotoxische Wirkung

und eine Hemmung des Tumorwachstums durch die Kombination von Nanovakzinen und monoklonalem Anti-CTLA-4-Antikörper zur Behandlung von TNBC verzeichnet werden. In einer anderen Studie konnte ein signifikant verlängertes Überleben von Mäusen mit metastasiertem TNBC unter der Kombinationstherapie mit einem CTLA-4-Inhibitor und einer neuartigen auf Mikrotubuli zielenden niedermolekularen Verbindung festgestellt werden (77). Auch wenn hierzu noch weitere Studien nötig sind, zeichnet sich die Möglichkeit eines Kombinationsschemas zur Nutzung von CTLA-4 Immuntherapeutika beim TNBC ab (77). Da die Wirksamkeit von ICIs als Einzelwirkstoff jedoch insgesamt begrenzt ist, empfiehlt sich insbesondere beim metastasierten TNBC eine Kombination verschiedener Wirkstoffe. Kombinationstherapien aus PD-1 bzw. PD-L1-Inhibitoren plus Chemotherapie haben bei metastasierten TNBC mehr Erfolg gezeigt als die ICI als Einzelwirkstoff (129). Neben der Herausforderung, das Ansprechen von TNBC-Patientinnen auf eine Anti-PD-1 bzw. Anti-PD-L1-Therapie zu verbessern und Non-Responder zu Respondern zu machen, besteht eine weitere Herausforderung in der Assoziation zwischen der Immunantwort und dem Ras/Raf/MAPK-Signalweg bei TNBC. Der Ras/Raf/MAPK-Weg ist eine komplexe Signaltransduktionskaskade, welche letztendlich essenzielle Zellfunktionen wie die Proliferation und die Differenzierung reguliert. In einer Studie wurde dargelegt, dass der Ras/Raf/MAPK-Weg die Antitumorimmunität negativ reguliert, indem er die Antigenpräsentation, u.a. die von MHC-I, MHC-II und PD-1, beeinflusst. Eine Kombination aus der Hemmung der enzymatischen Zwischenstufe MEK, welche eine wichtige Rolle im Ras/Raf/MAPK-Signalweg spielt, und PD-1 bzw. PD-L1 verstärkte in den zugehörigen Versuchen die Wirkung der Behandlung (77). Eine Kombinationstherapie ist also unter unterschiedlichen Gesichtspunkten sehr sinnvoll und effektiver als eine Monotherapie. Wie Immuntherapeutika gemeinsam mit anderen „targeted therapies“ und der konventionellen Chemotherapie angewendet werden können, um die verschiedenen Wirkansätze synergistisch zu nutzen, zeigt die folgende Abbildung aus einer Arbeit von Keenan et al. (129).

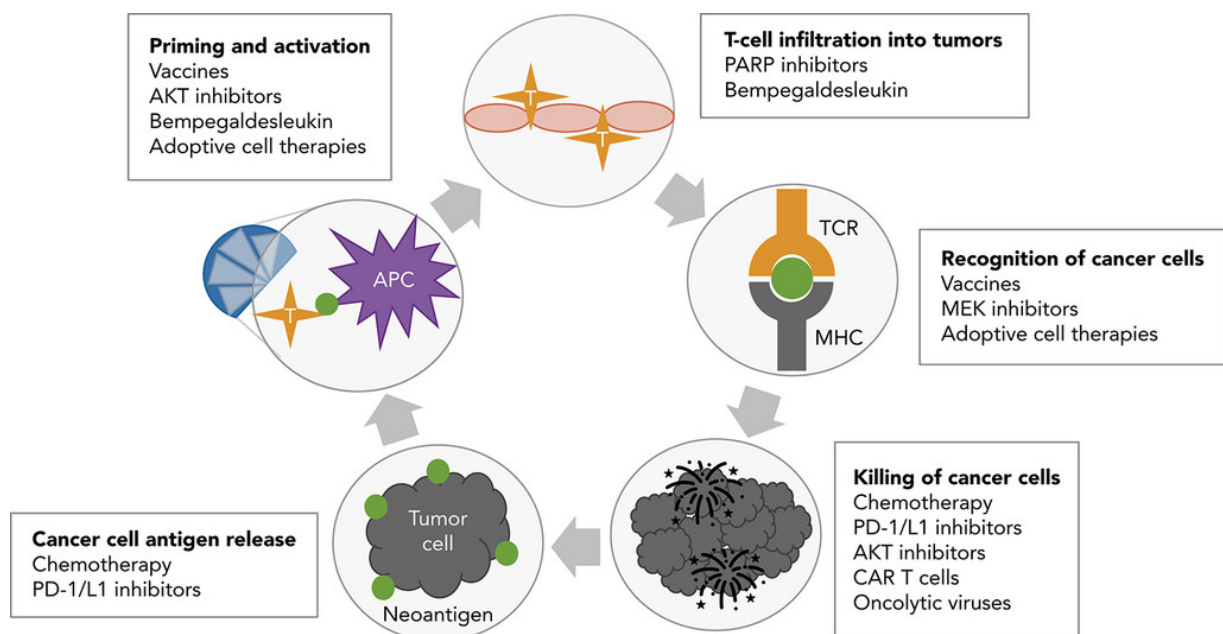


Abbildung 5: Immuntherapie und mögliche Kombinationstherapien bei TNBC (105)

Jedoch zeigen sich auch bei der Immuntherapie Nebenwirkungen und „immune-related adverse events“ (irAEs). Diese beruhen auf der durch die Immuntherapeutika aufgehobenen Unterdrückung der T-Zell-Funktion. Da die Immunaktivierung nicht tumorspezifisch ist, sondern auch die immunologische Selbsttoleranz reduziert wird, können durch die Immuntherapie Toxizitäten bzw. autoimmune Effekte und überschießende Immunreaktionen ausgelöst werden. Dies hat ein breites Nebenwirkungsspektrum zur Folge und neben

Entzündungen der Haut können Entzündungen des Dickdarms, der Schilddrüse, der Leber, der Bauchspeicheldrüse, der Lunge und des Zentralnervensystems auftreten (130).

Die Inzidenz von irAEs bei der Behandlung mit Anti-PD-1- oder Anti-PD-L1-Antikörpern lag in einer Metaanalyse bei rund 66%, wobei 14% der Patienten mindestens ein irAEs von Grad 3 oder höher entwickelten (133). Zudem zeigte sich in der Metaanalyse, dass die häufigsten unerwünschten Ereignisse aller Schweregrade Müdigkeit (18,26%), Juckreiz (10,61%) und Durchfall (9,47%) waren. Die häufigsten unerwünschten Ereignisse vom Grad 3 oder höher waren Müdigkeit (0,89%), Anämie (0,78%) und ein Anstieg des Leberenzym Aspartat-Aminotransferase (0,75%), welches auf eine Schädigung der Leberzellen hinweist. Hypothyreose (6,07%) und Hyperthyreose (2,82%) waren die häufigsten endokrinen immunbedingten Nebenwirkungen aller Grade (133).

Während die Risiken und Nebenwirkungen der Immuntherapie individuell zu berücksichtigen sind, können die Vorteile dieser Therapie von großer Bedeutung sein. Insbesondere Patientinnen mit fortgeschrittenem TNBC, welches PD-L1 positiv ist und eine starke Anreicherung von TILs besitzt, sollten für eine Immuntherapie in Betracht gezogen werden. Dabei ist eine engmaschige Überwachung und ein frühzeitiges Management von möglichen irAEs zu beachten (130).

2.7 Der PD-1/PD-L1-Signalweg

Immun-Checkpoint-Wege wie der PD-1/PD-L1-Signalweg, sind für die physiologische Begrenzung von Immunreaktionen und damit für die Vermittlung von Selbsttoleranz sowie für die Vermeidung von Selbstschädigung wichtig. Jedoch können sie durch spezielle Krebszellen manipuliert werden, welche sich dadurch der Erkennung und Elimination durchs Immunsystem entziehen (9, 77). Daher ist, wie im vorigen Kapitel besprochen, die Immun-Checkpoint-Inhibition eine erfolgreiche Behandlungsstrategie, um die PD-1/PD-L1-Manipulation durch Krebszellen aufzuheben und das Immunsystem stärker zu aktivieren. Der PD-1/PD-L1-Signalweg und seine Funktion sollen nun in diesem Abschnitt näher beleuchtet werden.

PD-1 ist ein Zelloberflächenprotein der CD28-Familie und wird auf aktivierten T-Zellen exprimiert, wobei seine Expression auf tumorinfiltrierenden T-Lymphozyten besonders hoch ist. Zudem wird PD-1 auch auf anderen aktivierten Immunzellen exprimiert, wie den B-Zellen, natürlichen Killerzellen und Monozyten. Auf diese Weise kann PD-1 die Immunität teils auch T-Zell-unabhängig modulieren. PD-1 hat zwei Hauptliganden: PD-L1 (auch CD274 genannt) und PD-L2 (auch als CD273 bezeichnet), welche beide zur B7-CD28-Proteinfamilie gehören (9, 134), weshalb PD-L1 auch als B7 Homolog 1 (B7-H1) bezeichnet werden kann (10). Der programmierte Zelltodligand 1 ist ein 40-kDa-Transmembranprotein (77) und wird vor allem von Immunzellen wie T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, regulatorischen T-Zellen (Treg) und dendritischen Zellen exprimiert. Den PD-L2 hingegen besitzen nur Antigen-präsentierende Zellen (APCs) wie Makrophagen und dendritische Zellen (9).

Die PD-1/PD-L1-Achse spielt eine wichtige Rolle für das Gleichgewicht der T-Zell-Aktivierung. Die T-Zell-Aktivierung ist für eine effektive Immunantwort nötig, um körperfremde oder geschädigte bzw. mutierte Zellen wie Tumorzellen effektiv eliminieren zu können. Die Aktivierung benötigt zwei voneinander unabhängige Signale, um in Gang gesetzt zu werden: Das erste Signal entsteht durch die Antigenpräsentation der APC gegenüber der T-Zelle. Das (Tumor-)Antigen wird zusammen mit dem auf der Oberfläche von APC präsentierten „major histocompatibility complex“ (MHC) durch den T-Zell-Rezeptor (TCR) erkannt. Das zweite Signal wird durch die kostimulatorische Wechselwirkung zwischen CD28 auf der Oberfläche von T-Zellen und CD80 (B7.1) oder CD86 (B7.2) auf der Oberfläche von APC gesendet (134). Damit es wiederum nicht zu einer überschießenden Reaktion der aktivierten T-Zellen kommt, besitzen sie die Oberflächenproteine CTLA-4 und PD-1, welche als Kontrollpunkte (checkpoints) dienen und die Hemmung der T-Zell-Aktivierung und -Reaktion zum Ziel haben (134).

Die Bindung von PD-1 an entweder PD-L1 oder PD-L2 führt zur Aktivierung inhibitorischer Kinasen, welche an der Proliferation, Adhäsion und Zytokinproduktion von T-Zellen beteiligt sind. Die Wechselwirkung zwischen PD-1 und seinen Liganden spielt eine wichtige Rolle bei der Begrenzung der anfänglichen Reaktion von T-Zellen auf Antigen-Exposition und die

Induktion der T-Zell-Toleranz (9). Bei Bindung der Liganden an den PD-1 werden in einer Kaskade Signale übertragen, durch welche die antigenspezifische T-Zell-Proliferation gehemmt und die Inaktivierung der T-Zellen gefördert wird (8, 77). Die Funktion von T-Zellen und tumorinfiltrierenden Lymphozyten wird durch die PD-1/PD-L1-Interaktion somit verringert, während die Funktion von immunsuppressiven Treg verstärkt wird (135). Durch die Wechselwirkung zwischen Rezeptor und Ligand wird folglich gewissermaßen eine „Bremse“ des Immunsystems betätigt, was essenziell für die Reduktion von Autoimmunreaktionen sowie für die Förderung einer immunologischen Selbsttoleranz ist. Auch eine Regulation von Entzündungsreaktionen sowie die Antitumoraktivität von T-Zellen und die hämatogene Verbreitung von Krebszellen werden durch die PD-1/PD-L1 Aktivität mitbestimmt (8). Der Wirkmechanismus der Immun-Checkpoints CTLA-4 und PD-1/PD-L1 wurde von James P. Allison und Tasuko Honjo erforscht, welche für ihre Entdeckung der Krebstherapie durch Hemmung der negativen Immunregulation durch Checkpoint-Inhibitoren 2018 den Nobelpreis für Medizin erhielten (8).

Eine gewisse Herunterregulation und Begrenzung des Immunsystems ist also physiologisch und essenziell für das Gleichgewicht von Immunreaktionen. Allerdings können auch manche Tumorzellen den PD-L1 ausbilden. Durch die Bindung von PD-L1 der Tumorzellen an PD-1 auf der Oberfläche von T-Zellen übermitteln die Tumorzellen folgend Hemmungssignale an T-Zellen, lösen deren Apoptose oder Anergie aus und verhindern so die körpereigene Abwehr kanzeröser Zellen. Auch eine durch die Bindung angestoßene Umwandlung der T-Zellen zu T-Suppressorzellen ist möglich (9, 77). Auf diese Weise manipulieren die Tumorzellen die PD-1/PD-L1-Kaskade und entziehen sich dem Zugriff des Immunsystems (135). Auch nach den Ergebnissen von Mittendorf et al. könnte die Aktivierung des PD-1/PD-L1-Signalwegs bei Brustkrebs die T-Zell-Proliferation hemmen, die Apoptose der Immunzellen fördern und den Tumoren helfen, sich der Immunantwort gegen Krebs zu entziehen. Infolgedessen vermehren sich diese Tumorzellen schneller und breiten sich aus (11). Dies erklärt auch die besonders schlechte Prognose von PD-L1 positiven Tumoren (9, 10). Zudem könnte dies ein Erklärungsansatz für die Assoziation der PD-1/PD-L1-Expression mit dem Grad der Lymphozyteninfiltration sowie dem histologischen Grad des Tumors sein (77, 92). Eine weitere Konsequenz davon, dass die Tumorzellen nicht mehr von den T-Zellen angegriffen werden, ist, dass sich in einem Tumor sehr viele Immunzellen finden können, die aber zum Großteil inaktiv sind (9).

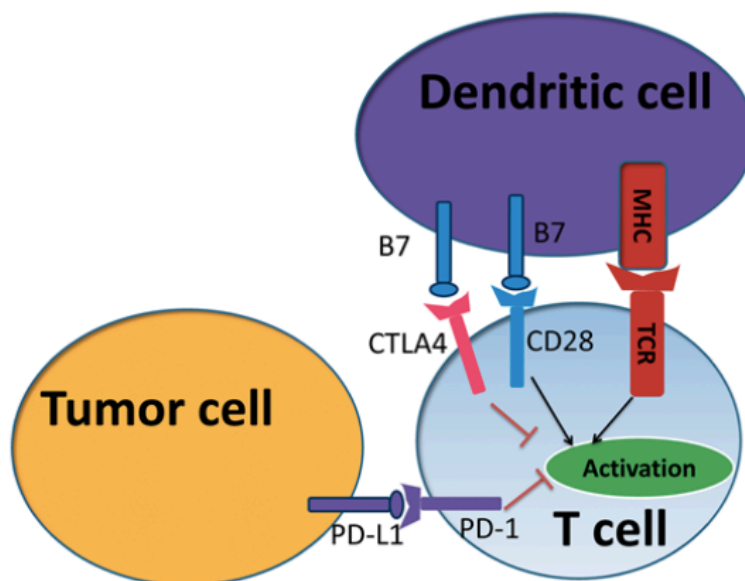


Abbildung 6: Der Immun-Checkpoint-Signalweg in Krebszellen (5)

Tumore, in denen vermehrt PD-L1 ausgebildet wird, sind das maligne Melanom, das Glioblastom, Lungen-, Nieren-, Magen-, Darm- und Bauchspeicheldrüsenkrebs, Brustkrebs

sowie Gebärmutterhals- und Eierstockkrebs. Ebenso wird PD-L1 auch bei hämatologischen Malignitäten wie dem multiplen Myelom, dem Lymphom und verschiedenen Leukämietypen gefunden. Im Gegensatz dazu wird PD-L2 bevorzugt in hämatopoetischen Tumoren wie B-Zell-Lymphomen exprimiert (9).

Ursächlich für die Hochregulation von PD-L1 bei Krebs könnten verschiedene aktivierte onkogene Signalwege, wie der PTEN-PI3K-AKT-Signalweg, sein. Es konnte bereits gezeigt werden, dass dieser Signalweg PD-L1 in Glioblastomen hochreguliert (9). Ähnlich dazu kann die Aktivierung der JAK/STAT oder RAS/ERK-Signalwege die PD-L1-Expression beeinflussen (134). Eine weitere Möglichkeit der Hochregulierung von PD-L1 auf Tumorzellen oder tumorinfiltrierten Leukozyten ist die adaptive Immunantwort, wobei eine Entzündungsreaktion die Hochregulation bewirkt. Dabei sind Interferone, insbesondere Interferon γ , und Interleukin 4, Interleukin 10, VEGF, Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (G-CSF) und bakterielles Lipopolysaccharid beteiligt. Die durch Entzündungsmediatoren verstärkte Expression von PD-L1 könnte somit zur Assoziation von chronischen Entzündungen mit einer Krebsentstehung beigetragen haben (9).

Auch Jiang et al. beschreiben, dass viele Zytokine und vom Tumor stammende Exosomen in der Tumormikroumgebung die Expression von PD-L1 induzieren und die Immunabwehr des Tumors fördern können. Zudem kommen sie nicht nur zu dem Schluss, dass die Induktion von PD-L1 durch Entzündungsfaktoren in der Tumormikroumgebung einer der wichtigsten Faktoren sein könnte, die die therapeutische Effizienz der PD-L1/PD-1-Blockierung beeinflussen, sondern auch, dass das Microenvironment des Tumors große Auswirkungen auf dessen Wachstum und systemische Ausbreitung in Form einer Metastasierung hat (136).

Allerdings gilt es, genau zwischen PD-L1-positiven Tumorzellen und PD-L1-positiven TILs zu unterscheiden. Wie beschrieben, wird die PD-L1-Expression auf Tumorzellen v.a. durch tumoreigene Mechanismen angetrieben, einschließlich der genannten Aktivierung onkogener Signalwege oder auch durch die HIF1- α -Induktion durch Hypoxie. Im Gegensatz dazu wird die PD-L1-Positivität der TILs über adaptive Mechanismen reguliert, was eine bereits vorhandene Immunität widerspiegelt. Das bedeutet im Umkehrschluss, dass aktivierte und verstärkt vorhandene PD-L1-positive TILs im Zusammenhang mit einer aktiven Antikrebsimmunität stehen. Dies könnte eine Erklärung dafür sein, warum die Blockierung von PD-L1 mit Atezolizumab bei TNBC-Patienten mit vorhandenen PD-L1-positiven TILs zu günstigen Ergebnissen führt, was bei PD-L1-positiven Tumorzellen hingegen nicht der Fall ist (10).

2.8 Metastasierung

Das prognostisch relevante Ereignis in der Karzinogenese des Mammakarzinoms ist die hämatogene Streuung von Tumorzellen, auf deren Boden Fernmetastasen in fast allen Organsysteme vorkommen können (23). Betrachtet man den Aspekt der Metastasierung beim TNBC, so zeigen sich bei etwa 46% der Patientinnen Fernmetastasen. Der Häufigkeitsgipfel des Auftretens von Fernmetastasen liegt im 3. Jahr nach Diagnosestellung. Dabei beträgt die mediane Überlebenszeit nach Feststellen einer Metastasierung nur 13,3 Monate, während die Rate von rezidivierenden Metastasen nach Operation bei bis zu 25% liegt. Die durchschnittliche Zeit bis zum Rezidiv beträgt bei Nicht-TNBC-Patientinnen 35-67 Monate, während sie bei TNBC-Patientinnen nur 19-40 Monate beträgt. Die Sterblichkeitsrate von TNBC-Patientinnen innerhalb von 3 Monaten nach dem Rezidiv liegt bei bis zu 75% (77). In der 2022 von File et al. erschienenen Studie konnten ähnliche Zeiträume festgestellt werden. In dieser Studienpopulation überlebten Patientinnen mit metastasiertem TNBC durchschnittlich 15,2 Monate, während Patientinnen mit einem metastasierten ER-, PR- oder HER2-positiven Subtyp Überlebenszeiten von 35,7-37 Monaten aufwiesen (115).

In einer älteren Studie von Kennecke et al., in der das Metastasierungsverhalten je nach Subtyp untersucht wurde, wurde neben der herkömmlichen Subtypisierung das TNBC noch weiter differenziert in basal-like TNBC (EGFR-positiv und/oder CK5/6-positiv) sowie in TNBC-nonbasal. In dieser Untergliederung zeigte sich ab dem Zeitpunkt der ersten Fernmetastasierung eine mediane Überlebensdauer von 2,2 Jahren bei Patientinnen mit Luminal-A. Alle anderen Subtypen erreichten schlechtere Ergebnisse mit 1,6 Jahren bei Luminal-B/HER2-negativ, 1,3 Jahren bei Luminal-B/HER2-positiv, 0,7 Jahre bei HER2-positiv,

0,5 Jahre bei den basal-like TNBC und 0,9 Jahre bei den TNBC-nonbasal Patientinnen (119). Dabei gab es deutliche Unterschiede im Zeitpunkt des Rückfalls. Praktisch alle Rückfälle der TNBC-nonbasal und basal-like sowie der HER2-positiv Subtypen traten innerhalb der ersten 5 Jahre auf, wohingegen bei den Luminal-Subtypen auch noch später Rezidive auftreten konnten (119).

2.8.1 Lokalisation der Metastasen

Im Rahmen der Metastasierung unterscheidet man zwischen lokoregionären Metastasen, wie regionalem Lymphknotenbefall, und den Fernmetastasen. Die häufigste Lokalisation der Fernmetastasen des Mammakarzinoms ist das Skelettsystem (laut Ignatov et al. Inzidenz von 4,7%). Daneben sind Lunge (3,1%) und Leber (2,7%) weitere häufige Metastasierungsorte. Etwas seltener treten Fernmetastasen im Gehirn (1,9%), in entfernten Lymphknoten (1,5%) und an sonstigen Lokalisationen (1%) wie z.B. in Haut, Pleura, Darm, Peritoneum, und inneren weiblichen Geschlechtsorganen) auf (81).

In der differenzierten Untersuchung von Kennecke et al. war das Skelettsystem bei allen Subtypen mit Ausnahme des basal-like TNBC am häufigsten von Metastasen betroffen. In der Subgruppe des basal-like TNBC waren Lungen- und entfernt gelegene LK-Metastasen noch etwas häufiger zu beobachten als Knochenmetastasen (119).

Basal-like TNBC hingegen hatten somit im Vergleich zu den anderen Subtypen eine höhere Rate an Hirn-, Lungen- und entfernt gelegenen LK-Metastasen, aber eine signifikant niedrigere Rate an Leber- und Knochenmetastasen. Insbesondere im Frühstadium zeigten basal-like TNBC mit 10,9% sehr hohe Raten an Hirnmetastasen (vs. Luminal-A 2,2% und Luminal-B/HER2-negativ 4,7%). Lungen- (18,5%), Knochen- (16,6%) und nicht lokale LK-Metastasen (17,2%) traten beim basal-like TNBC ähnlich häufig in der beobachteten Zeitspanne von 25 Jahren auf, während eine vergleichsweise niedrigere Rate an Lebermetastasen (9,3%) im Frühstadium zu beobachten war. Tumore der TNBC-nonbasal Subgruppe zeigten ein ähnliches Muster wie die basal-like TNBC, waren im Vergleich der kumulativen Inzidenzen jedoch nicht mit weniger Lebermetastasen assoziiert (119).

Luminal B/HER2-positiv und HER2-positiv Tumore waren im Vergleich zu Luminal-A Tumoren mit einer signifikant höheren Rate an Hirn-, Leber- und Lungenmetastasen assoziiert. Die große Gruppe der untersuchten Luminal-A Tumore wies insgesamt die niedrigsten Inzidenzen für eine Fernmetastasierung auf. Innerhalb jeder Metastasen-Lokalisation war Luminal-A der Subtyp mit den geringsten Inzidenzen, lediglich bei Knochenmetastasen lag die Inzidenz (18,7%) etwas höher als die Inzidenz der basal-like (16,6%) und nonbasal TNBC (5,1%) (119). Auch in der 2018 erschienenen Studie von Ignatov et al. zeigt sich die Tendenz des Luminal-A Subtyps, die geringste Fernmetastasierungsrate aufzuweisen und Metastasen hauptsächlich im Knochen (Inzidenz von 2,1%) auszubilden. Luminal-B/HER2-negativ wiesen zwar insgesamt mehr Fernmetastasen, jedoch ein ähnliches Verteilungsmuster auf. Noch höhere Metastasierungsraten fanden sich bei Luminal-B/HER2-positiv, ebenfalls bei einer ähnlichen Verteilung auf die Lokalisationen. Auch bei HER2-positiv mit einer Inzidenz von 6% für Knochenmetastasen war der Knochen noch die häufigste Metastasen-Lokalisation, doch erreichten Hirnmetastasen mit 5,9% eine ähnliche Inzidenz. Erst danach folgten Leber- (5,4%) und Lungenmetastasen (2,5%) (81).

Ähnlich der Studie von Kennecke et al. zeichnete sich auch in diesen Untersuchungen das TNBC durch ein im Vergleich zu den anderen Subtypen hohes Maß an Lungen- (7,0%) und Hirnmetastasen (4,9%) sowie entfernten LK-Metastasen (3,8%) aus. Knochen (5,5%) und Leber (3,4%) waren im Vergleich zum Durchschnitt (4,7% und 2,7%) nur leichtgradig häufiger von einer Metastasierung betroffen (81).

Insgesamt wiesen neben dem TNBC auch der Luminal-B/HER2-positiv sowie der HER2-positiv Subtyp signifikant häufiger mehr als eine Fernmetastase auf als es bei Luminal-A und Luminal-B/HER2-negativ Tumoren der Fall war (81).

Es zeigt sich durch diese Studien also, dass der Subtyp einen großen Einfluss sowohl auf die Häufigkeit der Metastasierung insgesamt als auch auf die Lokalisation der Fernmetastasen besitzt. Auch wenn der Knochen bei den meisten Subtypen der häufigste anatomische Ort für eine Fernmetastasierung ist, so sollte beachtet werden, dass das TNBC hier eine Ausnahme

mit der Lunge als häufigste Lokalisation darstellt. Zudem sollte bedacht werden, dass das TNBC und der HER2-positiv Subtyp mit höheren Raten an Hirnmetastasen einhergehen und sich somit das Verteilungsmuster deutlich von dem der Luminalen Subtypen unterscheidet.

2.8.2 Rezeptordiskordanz zwischen Primarius und Metastase

Neben der Intertumorheterogenität zwischen unterschiedlichen Tumoren existiert zudem die Intratumorheterogenität innerhalb eines Tumors. Diese Variabilität kann u.a. zwischen Primärtumor und Metastasen beobachtet werden und bezeichnet eine Rezeptordiskordanz, welche im zeitlichen Verlauf der systemischen Ausbreitung des Primarius entstehen kann. Die Diskordanz für den ER-, PR- und HER2-Status beträgt durchschnittlich 20%, 33% bzw. 8% (137). Auch Amir et al. berichteten mit 16%, 40% bzw. 10% über ähnliche Diskordanz-Ergebnisse für ER, PR und HER2 zwischen Primarius und den zugehörigen Filiae (118). Selbst innerhalb der HER2-negativen Subgruppe lässt sich bei weiterer Untergliederung dieser in HER2-zero und HER2-low eine Diskordanz von 49,6 % zwischen Primarius und Metastase feststellen. Dabei handelt es sich meist um einen Switch von HER2-zero zu HER2-low (44). Retrospektive Daten deuten darauf hin, dass eine Diskordanz zwischen Primarius und Metastase zu einem nachteiligen Ergebnis führt. Die Biopsie und Ermittlung des Rezeptorstatus der Metastase führte in 14% der von Amir et al. berichteten Fälle zu einem gemeldeten Wechsel des therapeutischen Managements. In diesen Fällen war eine Rezeptordiskordanz nicht mit nachteiligen Auswirkungen auf die Zeit bis zum Therapieversagen oder das Gesamtüberleben verbunden (118). Bei Frauen mit Brustkrebs und Verdacht auf ein metastasiertes Rezidiv sollte folglich eine Gewebeprobe der Metastase zur Untersuchung des Rezeptorstatus in Betracht gezogen werden, um eine eventuelle Änderung des bisherigen Status feststellen zu können. Dabei sind Feinnadelaspiration und Knochenbiopsie weniger geeignet als eine Biopsie, da sie in der Studie von Amir et al. zu einer verminderten Fähigkeit, Rezeptoren zu analysieren führten (118). Eine Ursache für die Intratumorheterogenität scheint u.a. in der Tumormikroumgebung zu liegen, welche die Tumorzellentwicklung stark beeinflusst (137).

2.9 Vergleich des Microenvironments und der PD-L1-Expression zwischen Primarius und Metastase

In der genannten Studie von Amir et al. konnte bei keinem der 23 untersuchten TNBC-Fälle eine echte Rezeptordiskordanz zwischen Primarius und Metastase festgestellt werden (118). Auch in einer weiteren Studie wies das TNBC die geringste Diskordanz (nur 2 von 15 Fällen) zwischen Primärtumor und Rezidiv oder Fernmetastase auf (138). D.h. die tripel-negativen Tumore entwickelten auch in ihren Metastasen keine bzw. kaum neue HR- oder HER2-Positivität. So lohnt es sich, auch bei den Metastasen den Fokus auf die PD-L1-Expression zu legen, da diese die genannten Möglichkeiten immuntherapeutischer Ansätze bietet, während eine HR- oder HER2-gerichtete Therapie auch für die TNBC-Metastasen keine Option ist. Bisher wurde in einigen Studien bereits das Microenvironment von Tumoren untersucht und dabei auch ein Vergleich der PD-L1-Expression zwischen Primärtumoren und Metastasen gezogen.

Einige kleinere Studien berichteten bereits über einen in TNBC festgestellten Rückgang an TILs vom Primarius zur Metastase hin (139) oder zudem auch über eine stärkere Immuninfiltration durch TILs bei PD-L1 positiven TNBC, verglichen mit PD-L1 negativen TNBC (140). Auch Ogiya et al. stellten fest, dass der Prozentsatz der TILs in HER2-positiven sowie in TNBC-Primärtumoren mit 34,6% signifikant höher lag als der in metastatischen Läsionen mit 15,7%. Auch die Zahl der CD8+ und CD4+ T-Zellen nahm signifikant vom primären Tumor zur Metastase hin ab. Zudem änderte sich die Expression von PD-L1, PD-L2 und HLA bzw. MHC-Klasse-I-Antikörpern von den primären zu den metastatischen Tumorzellen in einigen Fällen von stark oder schwach positiv zu negativ und umgekehrt. Es gab jedoch keinen signifikanten Unterschied im Prozentsatz von PD-L1+ und PD-L2+ TILs zwischen den primären und den metastatischen Läsionen. Die Fallzahlen in der Studie von Ogiya waren mit 25 Patientinnen insgesamt allerdings gering (141).

In einer Studie von Szekely et al. stellte sich durch die Nutzung von Immunhistochemie und der mRNA-Analyse immunbezogener Gene heraus, dass metastasierter Brustkrebs generell immunologisch inaktiver ist als die entsprechenden Primärtumoren (15). Metastasen wiesen nicht nur eine signifikant geringere Anzahl an TILs auf, sondern auch eine signifikant geringere Expression von 13 der 29 untersuchten immunonkologischen therapeutischen Ziele, einschließlich PD-1, PD-L1 und CTLA-4. Die Expression der PD-1 und PD-L1 mRNA verringerte sich vom Primarius zur Metastase hin etwa um die Hälfte. Zudem fand sich in Metastasen eine Herunterregulierung der Expression von für die Chemotaxis bedeutsamen Ligand/Rezeptor-Paaren, Interferon-regulierten Genen, Granzym/Granulysin, MHC-I und Immunproteasom. Diese in Metastasen zu beobachtende Herunterregulierung eines breiten Spektrums chemotaktischer und immunaktivierender Zytokine und deren Rezeptoren trägt zu einer Immunzell-depletierten Mikroumgebung bei. Zusätzlich zu dieser allgemein geringeren Immuninfiltration in den Metastasen zeigte sich in den Untersuchungen von Szekely et al. eine Hochregulierung von inhibitorischen Komplementrezeptoren sowie eine erhöhte Produktion von immunsuppressiven kleinen Molekülen wie Adenosin. Durch diese Ergebnisse lässt sich erahnen, dass eine Immuntherapie im metastasierten Stadium von Brustkrebs weniger erfolgversprechend sein wird als im frühen Stadium. Allerdings wurde in der Studie von Szekely et al. nicht speziell tripel-negativer Brustkrebs untersucht und auf Grund der geringen Stichprobengröße von insgesamt 100 Patientinnen auch nicht nach der Lokalisation der Metastasen unterschieden (15).

Eine weitere Studie erkannte hingegen starke Unterschiede in der PD-L1-Expression, je nach Lokalisation der Metastasen. Rozenblit et al. verglichen in einer 2020 erschienenen Studie die PD-L1-Positivität auf Immunzellen und Tumorzellen in primären und metastasierten TNBC-Tumoren und entdeckten, dass sich die Positivitätsraten für den PD-L1 je nach Lokalisation der Metastase zwischen Metastase und Primarius unterschieden (16). Zunächst fand sich in den 340 untersuchten Fällen für mehr Primärtumoren eine PD-L1-Positivität auf Immunzellen als für ihre Metastasen (63,7% vs. 42,2%). Dies könnte durch die niedrigeren PD-L1-Positivitätsraten von Metastasen in der Haut (23,8%), der Leber (17,4%) und dem Knochen (16,7%) zu erklären sein. Im Gegensatz dazu hatten Metastasen mit Lokalisation in der Lunge (68,8%), im Weichgewebe (65,2%) und in LK (51,1%) ähnliche PD-L1-Positivitätsraten wie die TNBC-Primärtumoren. Verglichen mit der PD-L1-Expression auf Immunzellen war die Expressionsrate sowohl auf Tumorzellen des Primärtumors als auch der Metastasen mit 8,3% bzw. 4,3% relativ selten und der Unterschied war nicht signifikant. Metastasen in Gehirn, Mediastinum, Pleura, Muskel, Omentum, Ovarien, Becken oder Retroperitoneum und in den Nebennieren kamen insgesamt selten (je unter 10 Fälle) vor. Weiterhin fanden Rozenblit et al. keinen Zusammenhang zwischen der PD-L1-Expression auf Immunzellen und dem Alter der Patientinnen (16).

Zudem berichten Rozenblit et al., dass auch die IMpassion-130-Studie ähnliche Beobachtungen machen konnte und eine geringere durchschnittliche PD-L1-Positivität in metastasiertem Gewebe im Vergleich zu Primärtumoren (36% vs. 44%) fand. Auch war im Vergleich der Metastasen-Lokalisation die PD-L1-Expression in der Leber am niedrigsten und in LK am höchsten (16, 142).

Ähnlich zu den Ergebnissen von Rozenblit et al. fanden Li et al. in einer Studie mit 669 TNBC-Fällen die höchste PD-L1-Expression in LK-Metastasen und die geringste Expression in Lebermetastasen. Insgesamt war die PD-L1-Verteilung zwischen Primärtumoren und Metastasen jedoch ähnlich. Auch fand sich eine Korrelation zwischen PD-L1-Expression und TIL-Gehalt im Tumor, wobei das TIL-Vorkommen in den Metastasen verglichen mit den Primärtumoren geringer war. Lebermetastasen zeigten sich passend zu den vorigen Ergebnissen als am wenigsten von TILs infiltriert, während LK- und Lungenmetastasen ähnlich hohe TIL-Werte wie das Brustgewebe aufwiesen. Da die Konkordanz von PD-L1 in Primarius/Metastasen Paaren hoch ist, schlussfolgern Li et al., dass PD-L1-positive Immunzellen ein stabiler Biomarker sein könnten (143).

Auch Hutchinson et al. bestätigten in ihren Untersuchungen von 2020, dass es in gepaarten primären und metastasierten Tumorproben zu einer Herunterregulierung einiger Gene in den Metastasen kam. So fand sich eine verringerte Expression von immunmodulatorischen Gensignaturen und eine geringere Anzahl an stromalen TILs in den metastasierten Proben.

Auch wenn in dieser Studie nicht speziell die Konkordanz des PD-L1 zwischen Primarius und Metastase untersucht wurde, so konnte doch insgesamt eine Verschiebung der molekularen TNBC-Subtypen festgestellt werden. So fand sich eine Zunahme der basal-ähnlichen und mesenchymalen Phänotypen sowie eine gleichzeitige Abnahme des immunmodulatorischen Phänotyps. Die signifikant reduzierte Zahl an immunaktivierenden Genexpressionssignaturen und TILs bei rezidiviertem TNBC, die Hutchinson et al. feststellten, könnte die beobachtete geringere Wirksamkeit von Immuntherapeutika bei stark vorbehandelten fortgeschrittenen TNBC erklären (144).

Die Rolle der Tumormikroumgebung beim Tumorwachstum und der Metastasierung ist seit langem bekannt (136), und so besitzt das Microenvironment wichtige Implikationen nicht nur für die Expression von PD-L1, sondern auch für die Prognose und das Überleben der Patientinnen. Da sich zudem die Rate der PD-L1-Positivität zwischen Primarius und Metastase generell unterscheidet und zudem je nach Metastasierungsort variiert, lässt sich zum einen ein Unterschied in der Immunmikroumgebung zwischen Metastasierungsstellen vermuten, zum anderen sollte dieses Wissen in die Biopsierung und Therapie von metastasierten Tumoren einbezogen werden (16).

3 Fragestellung

Wie aus der Literatordiskussion hervorgeht, handelt es sich beim tripel-negativen Mammakarzinom um einen besonders aggressiven Brustkrebs-Subtyp mit schlechter Prognose und einem geringeren Spektrum an Therapieoptionen. Da sich das TNBC durch sein Fehlen von ER-, PR- und HER2-Rezeptoren auszeichnet, können diese nicht als therapeutisches Ziel genutzt werden und andere Strategien zur individualisierten „targeted therapy“ sind nötig.

Eine Möglichkeit dazu bietet der Programmed Cell Death-Ligand 1, welcher in den Krebszellen und den interstitiellen Lymphozyten des TNBC überdurchschnittlich häufig exprimiert wird. Da der PD-L1 zur Herunterregulation der Immunreaktion führt, kann durch seine Inhibition mit Hilfe von Checkpoint-Inhibitoren wie Atezolizumab oder Pembrolizumab die Potenz des Immunsystems im Kampf gegen den Krebs gestärkt werden.

Neue Forschungsergebnisse weisen jedoch darauf hin, dass die PD-L1-Expression in der Progression vom Primärtumor zur Metastase hin abnimmt. Dabei sind allerdings starke Unterschiede in der PD-L1-Expression je nach Lokalisation der Metastase zu beobachten. Das Microenvironment der Metastase hat große Auswirkungen auf die Exprimierung des PD-L1, und so weisen beispielsweise Metastasen in der Leber geringere Raten an PD-L1 auf als Metastasen in der Lunge oder in LK. Da die Zahl an Studien zu diesem Thema bisher jedoch überschaubar bleibt, ist weitere Forschung in diesem Feld essenziell für die optimale Behandlung von TNBC-Patientinnen mit PD-L1 positiven Tumoren.

Auf Grundlage dieser Daten und der Ergebnisse der bisherigen Forschung sollen diese Untersuchungen weitere Erkenntnisse zur Korrelation der PD-L1-Expression zwischen Primarius und Metastase erbringen. Dabei soll insbesondere auf die PD-L1-Expression von Metastasen unterschiedlicher Lokalisationen eingegangen werden. Durch den Vergleich der PD-L1 Konkordanz soll ein besseres Verständnis der Expressionstendenz vom Primarius zur Metastase hin erlangt werden. Dies könnte es ermöglichen, die PD-L1 Positivität von Metastasen prädiktiv einschätzen zu können, noch bevor eine Stanze entnommen wird. Solche Erkenntnisse hätten bei hoher Korrelation der PD-L1 Raten zwischen Primarius und Metastase nicht nur Auswirkungen auf eine frühzeitige Auswahl einer zielgerichteten Therapie, sondern könnten das invasive Verfahren einer Stanzbiopsie zur PD-L1-Bestimmung sogar überflüssig machen. Zudem könnte auch bei Metastasen an schlecht stanzbaren Lokalisationen trotzdem eine Einschätzung zur Wirksamkeit einer PD-L1 gerichteten Therapie, wie mit dem monoklonalen Antikörper Atezolizumab, abgegeben werden.

Somit soll sich diese Arbeit insbesondere mit folgenden Fragen beschäftigen:

1. Wie ist Verteilung der PD-L1-Expression in Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase?
2. Gibt es einen signifikanten Zusammenhang der PD-L1-Expression des Primärtumors mit der PD-L1-Expression der Lymphknotenmetastase und Fernmetastase?
3. Unterscheiden sich die PD-L1-Werte und die Konkordanz-Raten zwischen Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastase vom TNBC und den anderen Subtypen?
4. Gibt es einen Unterschied in der PD-L1-Expression je nach Metastasen-Lokalisation?

Nebenbefundlich ergab sich im Verlauf die explorative Frage nach der Bedeutung der PD-L1-Positivität für die Indikation der Therapie mit Pembrolizumab oder Atezolizumab und deren Korrelation.

4 Patienten, Material und Methoden

4.1 Gutachten der Ethikkommission

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Landesärztekammer Rheinland-Pfalz, Deutschland, genehmigt (Antragsnummer 2021-15657) und alle klinischen Untersuchungen wurden nach ethischen und rechtlichen Standards und in Übereinstimmung mit den Erklärungen von Helsinki durchgeführt.

4.2 Studiendesign und Vorgehen

Um die im vorigen Kapitel beschriebenen Fragen zu klären, wurde eine retrospektive klinische Studie eingesetzt. Aus der Patientendatenbank der Universitätsmedizin Mainz wurden die Daten (wie im Kapitel „Variablenbeschreibung“ dargestellt) erhoben. Anhand der erstellten Patientenliste wurden anschließend die PD-L1-Werte in Form von TPS, CPS und IC im Rahmen einer Nachbefundung vom pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz festgestellt (vgl. Kapitel „Histopathologische Begutachtung“). Auf Grund der deutlichen Abweichung der meisten Ergebnisvariablen von der Normalverteilung wurde auf eine Auswertung mittels parametrischer Verfahren verzichtet und die intervallskalierten Werte für TPS, CPS und IC in eine Ordinalskala mit zwei bis drei Stufen wurden umkodiert. Lediglich für die Beschreibung der Datenverteilung und zu Illustrationszwecken von Mittelwerten und Zusammenhängen wurden noch die intervallskalierten Originaldaten von TPS, CPS und IC in Balken- und Streudiagrammen verwendet. Die Auswertung der ordinalskalierten Daten wurde vorwiegend auf Basis von Kontingenztafel-Analysen und der Berechnung von Spearman-Korrelationen vorgenommen. Aufgrund des hohen Informationsverlustes bei der Umkodierung sind gefundene Signifikanzen aussagefähiger als bei Verwendung von Originalmesswerten.

4.3 Patientenkollektiv

Bei der Auswertung der Jahre von 2003 bis einschließlich 2020 fanden sich in der Datenbank 176 Brustkrebspatientinnen mit synchronen Fernmetastasen und von 2009 bis 2020 253 Patientinnen mit metachronen Fernmetastasen, die in Behandlung im Brustzentrum der Universitätsmedizin Mainz waren. Von diesen insgesamt 429 fernmetastasierten Patientinnen wurden alle in der klinikinternen SAP-Datenbank enthaltenen brustkrebspezifischen histopathologischen Berichte sowie relevante Arztbriefe über die Brustkrebs-Befunde gesammelt sowie zusammengefasst. So wurden nach den festgelegten Einschlusskriterien 208 Patientinnen ausgewählt, d.h. bei diesen 208 Patientinnen konnte in der SAP-Datenbank der Universitätsmedizin Mainz sowohl eine Histologie- oder Schnellschnittnummer zu einem Primarius als auch mindestens einer Metastase identifiziert werden. Die krankheitsrelevanten Daten dieser Patientinnen wurden aus den im SAP enthaltenen Berichten in eine Excel-Tabelle übertragen. Die Probennummern der Gewebsschnitte wurden an die Pathologie der Universitätsmedizin Mainz weitergegeben, damit dort per immunhistochemischer Färbungen der PD-L1 Status ermittelt werden konnte. Von den 208 Patientinnen waren jedoch nur 138 für die nötigen histopathologischen PD-L1 Färbungen verwendbar und erfüllten alle sonstigen Kriterien. Somit reduzierte sich die Zahl der in die Auswertung eingehenden Fälle auf 138 Datensätze von Primärtumoren und ihren zugehörigen Metastasen.

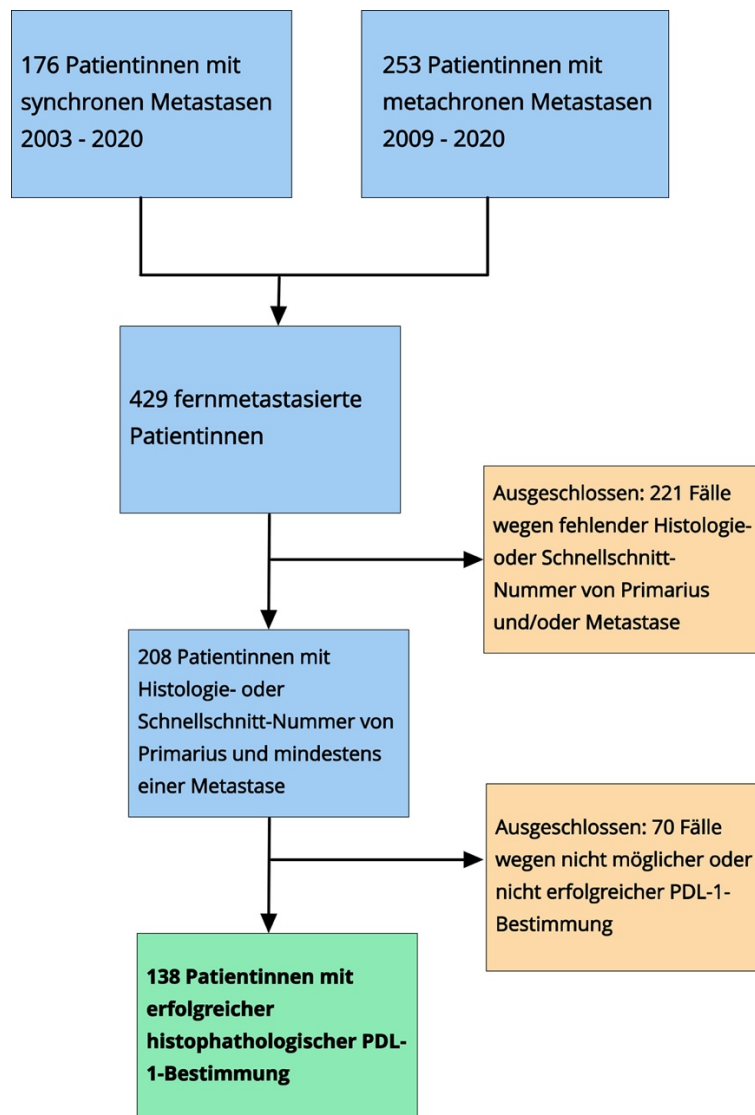


Abbildung 7: Flussdiagramm: Patientenkollektiv mit Ein- und Ausschlusskriterien

4.3.1 Einschlusskriterien

Für den Vergleich des PD-L1-Status zwischen Primarius und Metastase ist es notwendig, Gewebestanzungen aus jeweils diesen Lokalisationen vorliegen zu haben.

Ein erstes Kriterium für den Einschluss einer Patientin in diese retrospektive Studie war folglich das Vorliegen eines Mammakarzinoms mit mindestens einer LK- oder Fernmetastase. Als zweites Kriterium galt das Vorhandensein von Gewebeproben dieser zwei oder mehr Läsionen in der Universitätsmedizin Mainz.

4.3.2 Ausschlussgründe

Nach Erfüllung der ersten beiden Einschlusskriterien ergab sich ein Kollektiv von 208 Patientinnen und Patienten. Davon wurden im weiteren Verlauf nach Übermittlung der Fälle an die Pathologie allerdings einige weitere ausgeschlossen, da die Gewebeproben auch noch genug Material enthalten und immunhistochemisch anfärbbar sein mussten, um histopathologisch den PD-L1 Status ermitteln zu können. Ein Nichterfüllen dieses Kriteriums führte zum Ausschluss aus der Studie.

So konnte von 16 Patientinnen die Gewebeprobe des Primarius, von 7 die Probe der LK-Metastase (davon bei 3 die einzige Metastase) und von 14 die Probe der Fernmetastase (davon bei 3 die einzige Metastase) nicht im Archiv gefunden werden. Diese 22 Patientinnen

ohne vorhandene Primarius-Probe oder ohne Vorhandensein jeglicher Metastasen-Probe mussten somit ausgeschlossen werden. Bei 5 weiteren war die Gewebequalität mangelhaft (z.B. zu wenig Material vorhanden), weshalb sie von der Pathologie ausgeschlossen wurden. Bei 9 handelte es sich bei der einzig vorhandenen Fernmetastase um neuropathologische Präparate, die nicht bestimmt und somit ausgeschlossen wurden.

Von den nun noch 172 eingeschlossenen und durch die Pathologie angefärbten Datensätzen mussten einige weitere ausgeschlossen werden, da die Färbung nicht auswertbar war (z.B. zu wenige Tumorzellen enthalten, Tumor nicht mehr erfasst etc.). Dies war bei 8 Primarius-Proben sowie bei 10 Metastasen-Proben der Fall, bei denen nur eine einzige Metastase vorlag, welche nicht auswertbar war, oder wenn die LK- als auch die Fernmetastase bezüglich PD-L1 nicht auswertbar war. Zudem wurden 5 Patientinnen mit bilateralem Mammakarzinom, das rechts und links einen jeweils unterschiedlichen Subtyp aufwies, ausgeschlossen, wenn in diesen Fällen die Metastase nicht eindeutig einer Seite zuzuordnen war. 5 weitere Fälle wurden ausgeschlossen, da die zur Bestimmung verwendete Gewebeprobe des Primärtumors jünger war als die Probe der Metastase. 2 Fälle wurden ausgeschlossen, weil es sich um Lokalrezidive an der Haut der Thoraxwand und nicht um echte Fernmetastasen handelte, 2 weitere, weil Angaben zu den HR fehlten, welche zur Bestimmung des Subtypus notwendig sind, und 2 Fälle mussten aus sonstigen Gründen ausgeschlossen werden. Somit blieben 138 Datensätze von Patientinnen mit mindestens einer LK- oder Fernmetastase eingeschlossen und konnten für die statistische Auswertung verwendet werden.

4.4 Datenerfassung

Die retrospektiv erhobenen Daten der 208 Brustkrebspatientinnen in metastasiertem Stadium wurden zwischen 2020 und 2021 in einer Excel-Tabelle zusammengetragen. Dabei wurde neben dem Geburtsdatum, das Geschlecht und die betroffene Brust (rechts, links oder bilateral) vermerkt. Zudem wurde der histologische Typ (invasiv-duktral bzw. Mammakarzinom NST, invasiv-lobulär, muzinös, neuroendokrin oder nicht bekannt), der TNM-Status, das Grading (G1-G3) sowie die Lokalisation der (multiplen) Metastasen notiert. Für die Rezeptoren ER, PR, HER2 und den Proliferationsfaktor Ki-67 wurde der Status je für Primarius (links und rechts), LK- und Fernmetastasen separat erfasst, wenn vorhanden. Wenn die Rezeptoren zu mehreren Zeitpunkten bestimmt wurden, wurde auch das notiert. Die Ausprägung der ER- und PR-Positivität wurde mittels IRS als Zahlenwert von 0-12 angegeben. Dabei zählen Werte ab 2 als HR-positiv (36). HER2 wurde binär mit positiv/negativ angegeben. Ki-67 wurde in der Tabelle als Prozentwert angegeben und konnte Werte zwischen 0 und 100 annehmen. Zusätzlich wurden die Nummerierungen der Gewebeproben (zur späteren Untersuchung des PD-L1 durch die Pathologie) erfasst, welche auch das Jahr der Probeentnahme enthalten.

Neben den zusammengetragenen retrospektiven Daten wurden auch einige Daten in dieser Studie neu generiert. Dies waren die PD-L1-Werte der Brusttumore, d.h. TPS, CPS und IC, welche jeweils getrennt für den Primärtumor, die LK und die Fernmetastase angegeben wurden. Die PD-L1 Scorings nahmen Dr. Daniel-Christoph Wagner und sein Team aus dem pathologischen Institut der Universitätsmedizin zwischen 2022 und 2023 vor. Dafür wurden die im Kapitel „Histopathologische Begutachtung“ beschriebenen immunhistochemischen Färbungen und Vorgehensweisen angewendet.

Alle Datensätze, von denen die PD-L1-Werte vom Primärtumor und mindestens einer zugehörigen Metastase nicht erfolgreich ermittelt werden konnten, wurden folgend ausgeschlossen und konsekutiv aus der Tabelle gelöscht. Nachdem die Pathologie bei Patientinnen mit multiplen Fernmetastasen nach morphologischen Kriterien zudem immer nur eine Metastase zur PD-L1-Bestimmung ausgewählt hatte, wurden alle Daten über die nicht verwendeten Metastasen ebenfalls aus der Tabelle gelöscht. Neuropathologische Proben konnten von der Pathologie nicht ausgewertet werden, weshalb diese ebenfalls aus der Tabelle entfernt wurden.

Zudem war der intrinsische Subtyp des Mammakarzinoms bedeutsam, mit besonderem Augenmerk auf das TNBC. Um die 5 intrinsischen Subtypen zu unterscheiden, sind der HR-

und HER2-Status sowie die zugehörigen Ki-67-Werte nötig. Da diese Werte bereits in der auf histopathologischen Berichten basierenden Excel-Tabelle festgehalten worden waren, konnte retrospektiv aus der Zusammenschau dieser IHC-Werte der jeweilige angenommene intrinsische Subtyp korreliert werden. In einigen Fällen fehlte eine Bestimmung des Ki-67-Wertes allerdings, sodass zur Differenzierung zwischen Luminal-A und Luminal-B/HER2-negativ, bei denen der Unterschied nur in der Ausprägung des Proliferationsfaktors Ki-67 liegt, behelfsmäßig das Grading verwendet wurde. Ein stärker undifferenziertes histologisches Grading korreliert mit einem höheren Proliferationsindex, d.h. einem schnelleren Tumorwachstum (49, 145). Ein Grading G1-G2 spricht erfahrungsgemäß tendenziell eher für einen geringen Proliferationsfaktor und somit eher für einen Luminal-A-Subtyp, wohingegen ein hohes Grading G3 eher ein Anzeichen für einen sich schnell teilenden Tumor mit Ki-67 >14% und somit für einen Subtyp Luminal-B/HER2-negativ ist.

Eine Verblindung während der retrospektiven Datenerfassung aus dem SAP-System sowie während des PD-L1-Scorings fand nicht statt. Ein Patientenkontakt erfolgte ebenfalls nicht, die Namen der Patientinnen wurden nur zur klinikinternen Identifizierung der Gewebeproben genutzt. Vor der statistischen Auswertung wurden die Datensätze anonymisiert und durch IDs (001-138) gekennzeichnet.

4.5 Variablenbeschreibung

Aus den histopathologischen Berichten und Arztbriefen, die in der SAP-Datenbank der Universitätsmedizin Mainz enthalten waren, wurden die zuvor beschriebenen krankheitsrelevanten Informationen extrahiert und in eine Excel-Tabelle übertragen. Die folgende Tabelle fasst die krankheitsrelevanten Variablen, ihre Skalenart und den Messwertebereich zusammen.

Tabelle 7: Variablenbeschreibung

Variablen-Name	Inhalt	Skala	Ausprägungen
ID	Laufende Nummer zur Anonymisierung der Datensätze	nominal	1-138
Jahr_Geb	Geburtsjahr	nominal	1919-1987
Histo	Histologischer Typ: NST/ invasiv-lobulär/ muzinös/ neuroendokrin/ nicht bestimmt	nominal	1=NST 2=inv-lobulär 3=muzinös 4=neuroendokrin 5=nicht bestimmt
Jahr_T	Jahreszahl der Probenentnahme des Primarius	nominal	2004-2020
T_ER	Östrogenrezeptor des Primarius als IRS-Wert	ordinal	0-12
T_PR	Progesteronrezeptor des Primarius als IRS-Wert	ordinal	0-12
T_HER2	HER2-Status des Primarius	nominal	1=negativ 2=positiv
T_KI67	Proliferationsfaktor Ki-67 des Primarius (in %)	Intervall	0-100
Grading	Grad der Entartung der Zelle (G1-G3)	ordinal	1-3
Subtyp	Intrinsischer Subtyp, der Konstellation von HR, HER2 und Ki-67 folgend	nominal	1=Luminal-A 2=Luminal-B/HER2-neg 3=Luminal-B/HER2-pos 4=HER2-positiv 5=tripel-negativ

pT	Größe des Tumors nach TNM-Klassifikation	ordinal	1-4
pN	Anzahl und Größe der Lymphknoten nach TNM-Klassifikation	ordinal	0-3
pM	Vorhandensein der Metastase nach TNM-Klassifikation	nominal	0=keine Metastase 1=Metastase
Jahr_N	Jahreszahl der Lymphknotenprobe	nominal	2004-2020
N_Vorhanden	Lymphknotenprobe liegt vor	nominal	1=liegt vor
Jahr_M	Jahreszahl der Metastasenprobe	nominal	2008-2020
Lokalisation	Ort der Fernmetastase (M)	nominal	1=Leber 2=ossär 3=Lunge/ Pleura 4=Peritoneum 5=Haut 6=Sonstige
M_ER	Östrogenrezeptor der Metastase als IRS-Wert	ordinal	0-12
M_PR	Progesteronrezeptor der Metastase als IRS-Wert	ordinal	0-12
M_HER2	HER2-Status der Metastase	nominal	1=negativ 2=positiv
M_KI67	Proliferationsfaktor Ki-67 der Metastase (in %)	Intervall	0-100
T_TPS	(Anzahl der PD-L1-positiven Tumorzellen/Gesamtzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der Primarius-Probe	Intervall	0-100
T_CPS	(Anzahl der PD-L1-gefärbten Tumor- und Entzündungszellen/Anzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der Primarius-Probe	Intervall	0-100
T_IC	% der Bedeckung der Tumoroberfläche durch PD-L1-positive Immunzellen in der Primarius-Probe	Intervall	0-100
N_TPS	(Anzahl der PD-L1-positiven Tumorzellen/Gesamtzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der LK-Probe	Intervall	0-100
N_CPS	(Anzahl der PD-L1-gefärbten Tumor- und Entzündungszellen/Anzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der LK-Probe	Intervall	0-100
N_IC	% der Bedeckung der Tumoroberfläche durch PD-L-positive Immunzellen in der LK-Probe	Intervall	0-100
M_TPS	(Anzahl der PD-L1-positiven Tumorzellen/Gesamtzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der Fernmetastasen-Probe	Intervall	0-100
M_CPS	(Anzahl der PD-L1-gefärbten Tumor- und Entzündungszellen/Anzahl der Tumorzellen) * 100 (in %) in der Fernmetastasen-Probe	Intervall	0-100
M_IC	% der Bedeckung der Tumoroberfläche durch PD-L1-positive Immunzellen in der Fernmetastasen-Probe	Intervall	0-100
T_TPS_ord	TPS-Wert der Primarius-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
T_CPS_ord	CPS-Wert der Primarius-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=schwach positiv 2=stark positiv

T_IC_ord	IC-Wert der Primarius-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
N_TPS_ord	TPS-Wert der LK-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
N_CPS_ord	CPS-Wert der LK-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=schwach positiv 2=stark positiv
N_IC_ord	IC-Wert der LK-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
M_TPS_ord	TPS-Wert der Metastasen-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
M_CPS_ord	CPS-Wert der Metastasen-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=schwach positiv 2=stark positiv
M_IC_ord	IC-Wert der Metastasen-Probe ordinalskaliert	ordinal	0=negativ 1=positiv
IndikationP embrolizum ab	Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab mit einem CPS ≥ 10 in T und/oder N und/oder M	kategor ial	0=nein 1=ja
IndikationAt ezolizumab	Indikation zur Therapie mit Atezolizumab mit einem IC ≥ 1 in T und/oder N und/oder M	kategor ial	0=nein 1=ja

4.6 Histopathologische Begutachtung

Anschließend wurden die interessierenden Probennummern, Name und Geburtsdatum der entsprechenden Patientinnen an die klinikinterne Pathologie weitergegeben. Dabei wurden zugunsten der Materialqualität und -quantität Schnellschnitte gegenüber anderen Gewebeproben bevorzugt und jüngere Proben gegenüber weiter zurückliegenden Proben präferiert. Im pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz wurde dann der PD-L1 Status der Proben bestimmt, wobei nach den oben genannten Ausschlusskriterien einige Datensätze aus dem Kollektiv ausgeschlossen werden mussten.

In Fällen von bilateralem Brustkrebs, bei dem Probennummern von beiden Seiten an die Pathologie weitergegeben wurden oder in Fällen von multiplen Fernmetastasen an verschiedenen Lokalisationen, bei denen ebenfalls mehrere Probennummern weitergegeben wurden, entschied die pathologische Abteilung nach morphologischen und qualitativen Kriterien (Tumormenge, Vitalität, Artefakte etc.), welche Gewebeproben zur Färbung und PD-L1 Bestimmung genutzt wurden. So wurde bei bilateralem Brustkrebs immer nur das Gewebe einer Seite und bei multiplen Fernmetastasen immer nur eine Metastasen-Lokalisation für das PD-L1 Scoring berücksichtigt.

Zur immunhistochemischen Bestimmung der PD-L1 Werte wurde von den Pathologen der Universitätsmedizin Mainz der „PD-L1 IHC 22C3 pharm Dx“ Assay von Agilent/Dako verwendet. Dies ist ein immunhistochemischer Test mit monoklonalem Maus-Anti-PD-L1, Klon 22C3, für den Nachweis von PD-L1-Protein in formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebe. Der Assay wurde regulär mit dem Autostainer Link 48 gefärbt, was sich zur Visualisierung der PD-L1-Expression beim TNBC eignet (146).

Zur Bestimmung der Ausprägung der PD-L1-Expression wurden der „Tumor Proportion Score“ (TPS), der „Combined Positive Score“ (CPS) und die „tumor infiltrating immune cells“ (IC) bestimmt, wobei alle Angaben in Prozent erfolgen. TPS, CPS und IC sind verschiedene Scoring-Methoden, die PD-L1 Positivität von Tumoren anzugeben, wobei die Standard-Angabe von der Art des Tumors abhängt. Bei Brustkrebs wird für gewöhnlich der CPS angegeben, da zur Indikation von Pembrolizumab beim fortgeschrittenen tripel-negativen

Mammakarzinom ein cut-off Wert von CPS ≥ 10 gilt (130, 147). Es gibt allerdings Studien, die zeigen, dass neben einer hohen Interrater-Reliabilität bei den Scoring-Methoden auch eine hohe Übereinstimmung zwischen der TPS- und CPS-Bewertung besteht (147, 148). Zudem ist der IC-Wert von entscheidender Bedeutung, da der Tumor ab einem Wert von IC $\geq 1\%$ für Atezolizumab plus nab-Paclitaxel als Erstlinientherapie von der FDA und der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) für Patientinnen mit inoperablem oder metastasiertem TNBC zugelassen ist (147).

4.6.1 Bestimmung des TPS

Der TPS gibt an, wie viele Tumorzellen, bezogen auf die Gesamtheit der Tumorzellen, eine PD-L1 Ausprägung aufweisen. Für die Indikationsstellung für einen PD-L1-Blocker bei Brustkrebs hat der TPS aktuell keine Bedeutung. Für die Bestimmung wird der Prozentsatz der lebensfähigen Tumorzellen, die eine partielle oder vollständige Membranfärbung aufweisen, bewertet, wobei insgesamt mindestens 100 lebensfähige Tumorzellen auf dem Objektträger erforderlich sind, damit das Präparat als geeignet für die TPS-Bewertung gilt. Als PD-L1 positive Tumorzellen gelten alle immunhistologisch für PD-L1 angefärbte Tumorzellen. Um den TPS als Prozentwert auf einer Skala von 0 bis 100% angeben zu können, wird folgende Formel verwendet (148):

$$\text{TPS (in \%)} = (\text{Anzahl der PD-L1-positiven Tumorzellen} / \text{Anzahl aller Tumorzellen}) \times 100$$

4.6.2 Bestimmung des CPS

Der CPS gibt an, wie viele Tumor- und Entzündungszellen (d.h. Lymphozyten und Makrophagen), bezogen auf die Gesamtheit der Tumorzellen, eine PD-L1 Ausprägung aufweisen (148). Für die Indikationsstellung für den PD-L1-Blocker Pembrolizumab bei tripel-negativem Brustkrebs gilt ein positiver CPS von ≥ 10 (130, 147). Zudem nimmt die therapeutische Wirkung von PD-1-Inhibitoren wie Pembrolizumab in Kombination mit einer Chemotherapie mit der Anreicherung von PD-L1 zu (132), d.h. höhere CPS-Werte weisen in der Regel auf ein besseres Therapieansprechen hin. Beim Scoring des CPS wird die Anzahl der PD-L1-gefärbten Zellen (Tumorzellen, Lymphozyten, Makrophagen) ins Verhältnis zu allen lebensfähigen Tumorzellen gesetzt. Dabei sind auch hier für die Bestimmung mindestens 100 lebensfähige Tumorzellen auf dem Objektträger erforderlich, damit das Präparat als geeignet für die CPS-Bestimmung gilt. Das Ergebnis der CPS-Berechnung kann theoretisch über 100 liegen, der maximale Wert des CPS wird allerdings trotzdem auf 100 gesetzt. Für die Berechnung des CPS wird folgende Formel genutzt (147, 148):

$$\text{CPS (in \%)} = (\text{Anzahl der PD-L1-gefärbten Tumor- und Entzündungszellen}^* / \text{Anzahl aller Tumorzellen}) \times 100$$

*Mit Entzündungszellen sind hier Lymphozyten und Makrophagen gemeint

4.6.3 Bestimmung des IC

Der IC gibt den prozentualen Anteil der Tumoroberfläche, welcher von PD-L1 positiven Immunzellen (Lymphozyten, Granulozyten, Makrophagen und dendritische Zellen) bedeckt ist, an (149). Ab einem IC von $\geq 1\%$ ist der PD-L1 Blocker Atezolizumab zur Therapie des TNBC zugelassen (147), wobei ein erhöhter Wert an tumorinfiltrierenden Immunzellen sowie eine höhere IC-Positivität ein verbessertes Ansprechen des metastasierten TNBC auf Atezolizumab andeuten (150). Zur Bestimmung des IC wird eine PD-L1-Färbung der Immunzellen, die sich im Tumorbereich befinden und mit jeglicher Intensität angefärbt wurden, bewertet (149).

$$\text{IC (in \%)} = \text{von PD-L1-angefärbten Immunzellen bedeckter Anteil der Tumorfläche}$$

4.7 Statistische Analyse und graphische Darstellung der Daten

Die Patientendaten wurden in einer Excel-Tabelle von Microsoft Excel Version 16.69 (Microsoft, Redmond, USA) gesammelt und anonymisiert. Anschließend wurden sie statistisch mit Hilfe der Software IBM SPSS Statistics 27.0.0 (IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland) ausgewertet. Die Erstellung der Grafiken erfolgte mit der Software IBM SPSS Statistics 27.0.0 sowie mit Microsoft Office Word Version 16.70.

Die Häufigkeit der Variablen im Patientenkollektiv wurden mit Balkendiagrammen für kategoriale sowie mit Histogrammen für stetige Variablen dargestellt. Im Text und in den Tabellen wurden für kategoriale Variablen absolute und relative Häufigkeiten angegeben. Für stetige Variablen wurde der Mittelwert mit Standardabweichung, Minimum und Maximum angegeben. Zudem wurden deskriptiv Besonderheiten in der Verteilung beschrieben. Bei Variablen mit fehlenden Angaben wurden stets nur die gültigen Prozentwerte angegeben.

Für die Altersstruktur, die Ki-67-Werte und die PD-L1-Expression der Primärtumoren, der LK- und der Fernmetastasen wurde zur Testung auf Normalverteilung der Daten der Shapiro-Wilk-Test vorgenommen, welcher dem Kolmogorov-Smirnov-Test in seiner statistischen Power als überlegen gilt.

Auf Grund der nicht vorhandenen Normalverteilung der meisten Ergebnisvariablen wurde eine Auswertung mittels nonparametrischer Verfahren angewandt. Zudem wurden die intervallskalierten Werte von TPS, CPS und IC in eine Ordinalskala mit zwei bis drei Stufen umkodiert. Die Umkodierung hatte das Ziel, zuverlässigere Statistiken zu erhalten, da so die Zellen besser besetzt sind und die Ergebnisse durch den Verzicht an Informationen aussagekräftiger werden sowie der Effekt von Ausreißern kontrolliert werden kann.

Für TPS wurden die Kategorien TPS-negativ (d.h. alle Werte mit der Ausprägung 0) und TPS-positiv (d.h. alle Werte mit der Ausprägung ≥ 1) verwendet. Dabei wurde „negativ“ mit 0 und „positiv“ mit 1 kodiert.

Für CPS wurden die ordinalen Kategorien CPS-negativ (d.h. alle Werte mit der Ausprägung 0), CPS-schwach-positiv (d.h. alle Werte mit der Ausprägung 1-9) und CPS-stark-positiv (d.h. alle Werte mit der Ausprägung ≥ 10) eingerichtet. Dies soll die Tatsache widerspiegeln, dass zur Indikation von Pembrolizumab beim fortgeschrittenen tripel-negativen Mammakarzinom ein cut-off Wert von CPS ≥ 10 gilt (130, 147). Dabei wurde „negativ“ mit 0, „niedrig-positiv“ mit 1 und „stark-positiv“ mit 2 kodiert.

Für IC wurde zur Umwandlung der intervallskalierten in ordinalskalierte Daten in die Kategorien IC-negativ (d.h. alle Werte mit der Ausprägung 0) und IC-positiv (d.h. alle Werte mit der Ausprägung ≥ 1) eingeteilt. Diese Einteilung wurde gewählt, da Atezolizumab plus nab-Paclitaxel als Erstlinientherapie von der FDA und EMA für Patientinnen mit inoperablem oder metastasiertem TNBC mit einem IC von $\geq 1\%$ zugelassen ist (147). Dabei wurde „negativ“ mit 0 und „positiv“ mit 1 kodiert.

Lediglich für die Beschreibung der Datenverteilung und zu Illustrationszwecken von Mittelwerten und Zusammenhängen wurden noch die intervallskalierten Originaldaten von TPS, CPS und IC in den abgebildeten Balken- und Streudiagrammen verwendet.

Für die Berechnung des Zusammenhangs zwischen den PD-L1-Positivitätsraten in den Primärtumoren und deren Metastasen wurden Kreuztabellen und der χ^2 -Test verwendet. Für Korrelationen wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman verwendet. Für alle inferenzstatistischen Tests wurde das Signifikanzniveau mit $<0,05$ festgelegt.

4.8 Stichprobenbeschreibung

Bei den 138 Fällen handelte es sich um 135 weibliche und drei männliche Personen. Es wurde jeweils eine Primarius-Probe von der Pathologie auf die PD-L1 Werte hin untersucht. In 95 Fällen lag eine auswertbare LK-Probe und in 73 Fällen eine Fernmetastasen-Probe vor. In 30 Fällen lag sowohl eine auswertbare LK- als auch eine auswertbare Fernmetastasen-Probe vor. Somit ergab sich eine Gesamtzahl von 306 Proben, von welchen die PD-L1-Werte jeweils als TPS, CPS und IC bestimmt wurden. Bei 67 der 138 Fälle, lag der Primarius in der rechten Brust, bei 86 Fällen in der linken Brust. In 15 Fällen fand sich ein bilaterales Mammakarzinom,

bei dem der Subtyp rechts und links identisch war oder der Primarius einer Seite der Metastase eindeutig zuordenbar war.

4.8.1 Altersverteilung und zeitliche Entwicklung der Metastasierung

Bei der Probenentnahme des Primarius war das Gesamtkollektiv (N=138) im Mittelwert 60,38 Jahre (Standardabweichung (SD): ± 14) alt. Der Median lag bei 58,5 Jahren, der Modalwert mit 7 Fällen bei 56 Jahren. Die jüngste Patientin war bei Probenentnahme 30 Jahre alt, die beiden ältesten Patientinnen 89 Jahre. Die Ergebnisse des Tests auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk ($W=0,983$, $df=138$, $p=0,086$) sprechen nicht gegen die Annahme einer Normalverteilung.

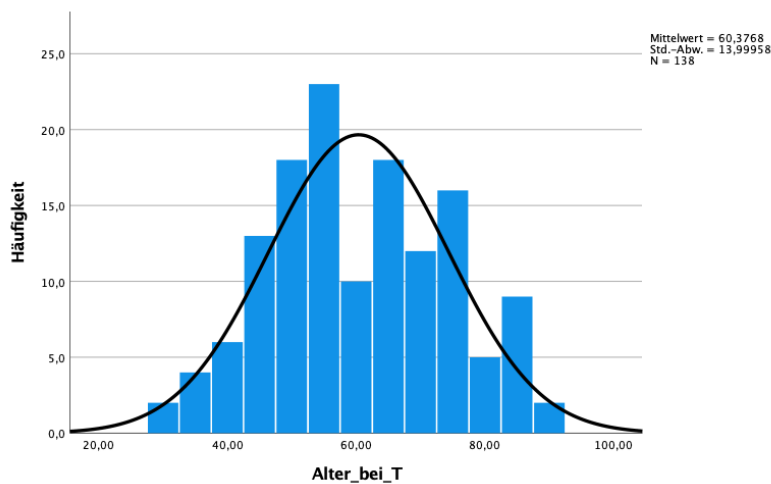


Abbildung 8: Alter (in Jahren) bei Entnahme der Primarius-Probe

Von den 95 Patientinnen, die eine auswertbare LK-Metastase besaßen, wurde die Probe des LK in 86 Fällen (90,5%) im selben Jahr entnommen wie die Probe des Primarius. Der größte zeitliche Unterschied zwischen Entnahme des Primarius und Entnahme des LK betrug 9 Jahre und betraf nur einen Fall. Der Mittelwert der LK-Entnahme lag bei 0,3 Jahren nach Entnahme der Primarius-Probe.

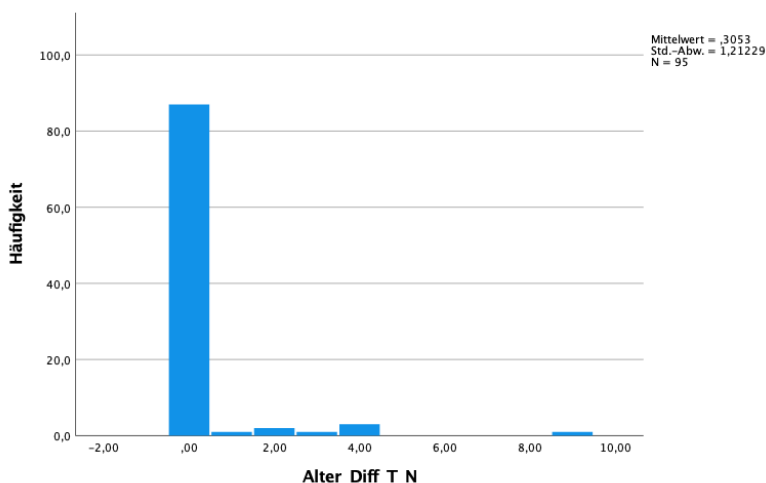


Abbildung 9: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und LK-Metastase

Die Probenentnahme aus der Fernmetastase lag im Mittel 3,3 Jahre nach der Probenentnahme des Primarius. Bei 22 der 73 Fälle (30,1%) wurde die Fernmetastasen-Probe im gleichen Jahr entnommen, bei 11 Fällen (15,1%) im folgenden Jahr und bei 9 Fällen (12,3%) zwei Jahre später. Die maximale zeitliche Differenz zwischen der Entnahme der Primarius- und der Fernmetastasen-Probe betrug 13 Jahre und betraf 2 Fälle (2,7%).

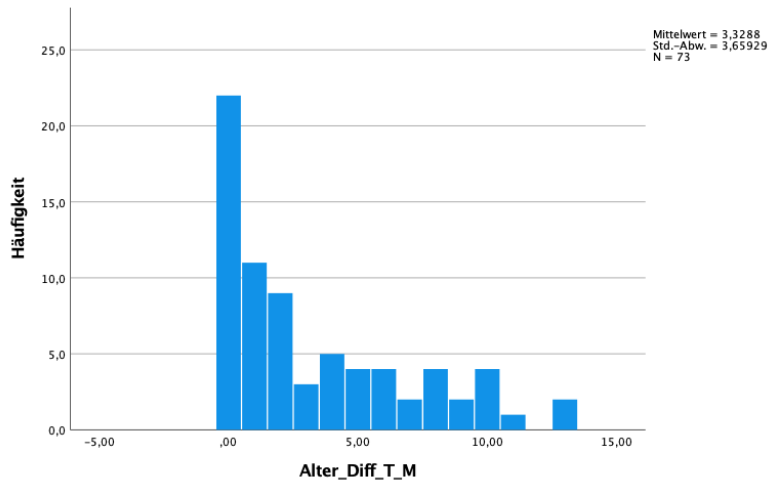


Abbildung 10: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und Fernmetastase

4.8.1.1 Altersverteilung und zeitliche Entwicklung der Metastasierung beim TNBC

Betrachtet man nun nur den Subtyp des tripeel-negativen Mammakarzinoms (n=25) innerhalb des Kollektivs, ergibt sich ein etwas anderes Bild: Der Mittelwert des Alters bei Probenentnahme des Primarius lag bei 55,9 Jahren (SD: $\pm 15,8$), die jüngste Patientin war 30 Jahre alt, die älteste 80. Alle 5 Patientinnen des Gesamtkollektivs, die 35 Jahre oder jünger waren, gehörten dem Subtyp des tripeel-negativen Mammakarzinoms an. Für die Altersverteilung im TNBC-Kollektiv ergibt sich eine dreigipflige Häufung um 35, 50 und 70-75 Jahre.

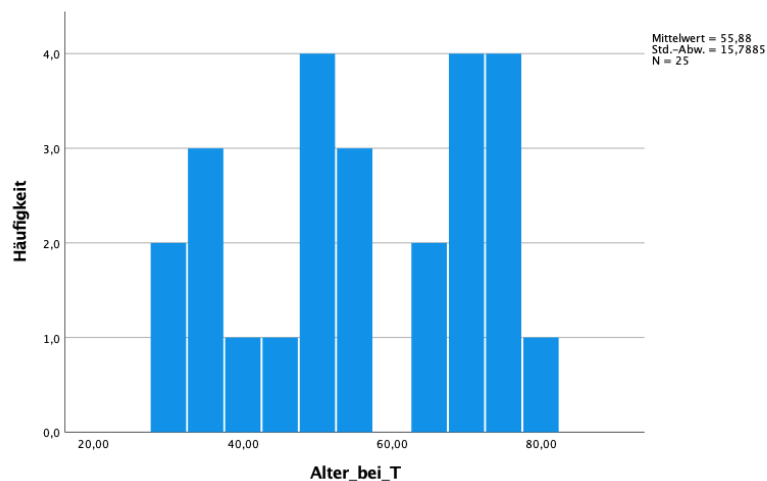


Abbildung 11: Alter (in Jahren) bei Entnahme der Primarius-Probe im TNBC-Kollektiv

Bei den 18 TNBC-Patientinnen mit LK-Metastase fand die Entnahme des Primarius und der LK-Probe zu 90% im gleichen Jahr statt. Der Mittelwert der LK-Entnahme lag bei 0,06 Jahren (entspricht 22 Tagen) nach der Primarius-Probe.

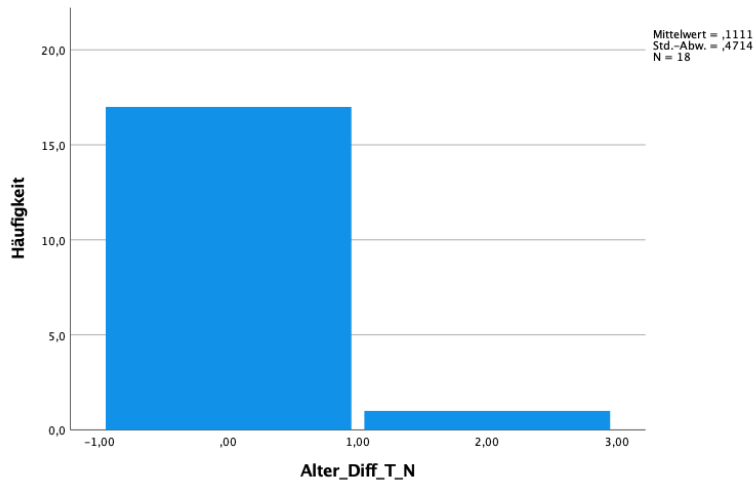


Abbildung 12: Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und LK-Metastase im TNBC-Kollektiv

Bei den 9 Patientinnen mit Fernmetastase wurde diese in 55,6% der Fälle im gleichen Jahr und in 44,4% der Fälle ein Jahr nach dem Primarius entnommen. Der Mittelwert lag bei 0,4 Jahren nach der Primarius-Probe. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv deutet dies auf ein verfrühtes Metastasierungsgeschehen beim TNBC hin.

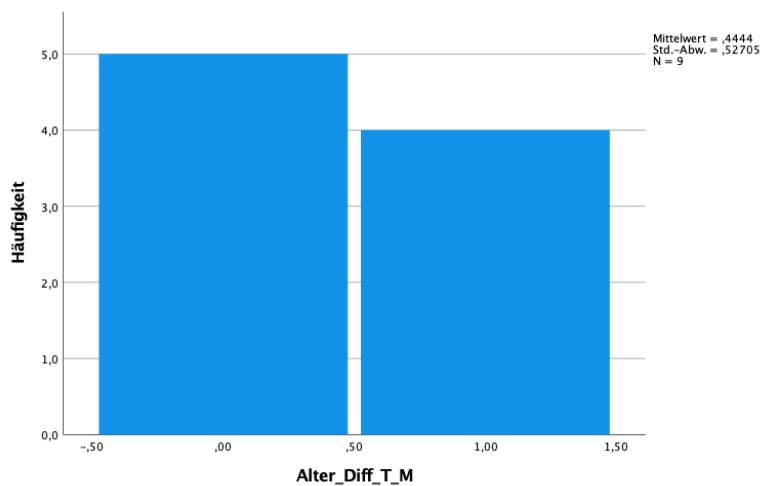


Abbildung 13 Zeitabstand zwischen Probe von Primarius und Fernmetastase im TNBC-Kollektiv

4.8.2 TNM-Status

Bei der statistischen Auswertung des TNM-Status wurden 122 pT-Fälle und 8 ypT-Fälle zusammengefasst (n=130). In 8 Fällen fehlte der gesamte TNM-Status in den im SAP befindlichen histopathologischen Berichten und ärztlichen Befunden.

In 9 Fällen lag kein T-Status vor; verbleibende Stichprobe n=129. Mit 63 Fällen (48,9%) kam das T-Stadium 2 am häufigsten vor, gefolgt von Stadium 3 mit 36 Fällen (27,9%). Stadium 1 mit 16 Fällen (12,4%) und Stadium 4 mit 14 Fällen (10,9%) waren in der Grundgesamtheit verhältnismäßig selten.

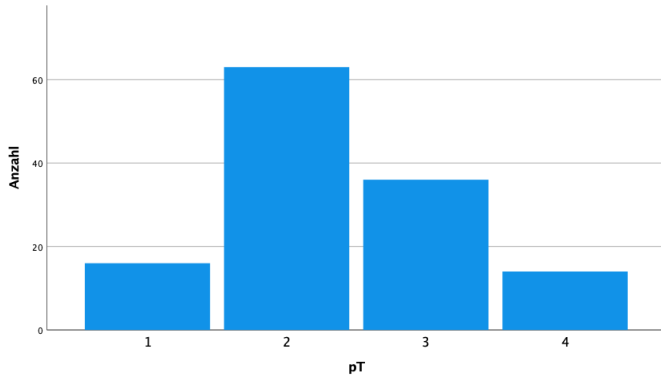


Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Tumorstadien (T1-T4) im TNM-System

Bei 12 Fällen lag kein N-Status vor; die verbleibende Stichprobe betrug $n=126$. Bei Betrachtung des N-Stadiums ergab sich, dass Stadium 1 mit 48 Fällen (38,1%) am häufigsten war. Stadium 2 machte 32 der Fälle (25,4%) aus, und Stadium 3 betraf 25 Fälle (19,8%). Nur 21 Fälle (16,7%) der Patientinnen mit gültigem N-Status hatten keinen LK-Befall, d.h. N0.

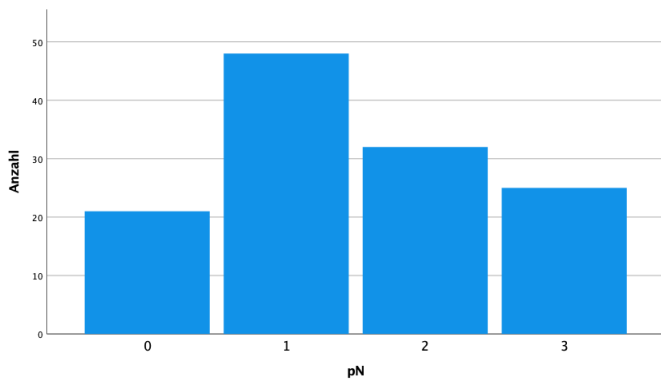


Abbildung 15: Häufigkeitsverteilung des Lymphknoten-Status (N0-N3) im TNM-System

Bei 36 Fällen lag für die Fernmetastase keine Status-Bestimmung vor; verbleibende Stichprobe $n=102$. Bei Betrachtung der Fälle mit gültigem M-Status zeigte sich, dass 77 Patientinnen (75,5%) bei Erhebung des TNM-Status keine vorliegende Fernmetastase besaßen. Bei 25 Personen (24,5%) lag eine Fernmetastasierung vor.

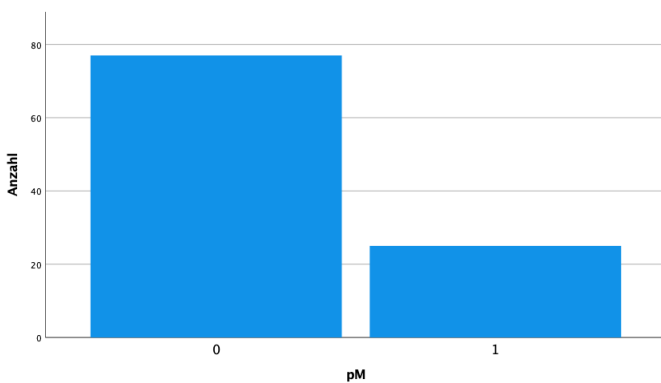


Abbildung 16: Häufigkeitsverteilung des Fernmetastasen-Status (M0-M1) im TNM-System

4.8.2.1 TNM-Status beim TNBC

Innerhalb des triplel-negativen Kollektivs ($n=25$) konnte in einem Fall in den im SAP befindlichen histopathologischen Berichten und sonstigen Befunden kein T-Status gefunden werden; verbleibende Stichprobe $n=24$. Von den Patientinnen mit erhobenem T-Stadium hatten 10 Fälle (41,7%) einen T2-Befund, 8 Fälle (33,3%) einen T3-, 4 Personen (16,7%) einen T4- und 2 Fälle (8,3%) einen T1-Befund. Diese Konstellation weicht nicht groß von der des

Gesamtkollektiv ab. T4 kommt allerdings im Vergleich 6% häufiger vor und T1 ist beim TNBC 4% seltener als bei der Zusammenschau aller Subtypen.

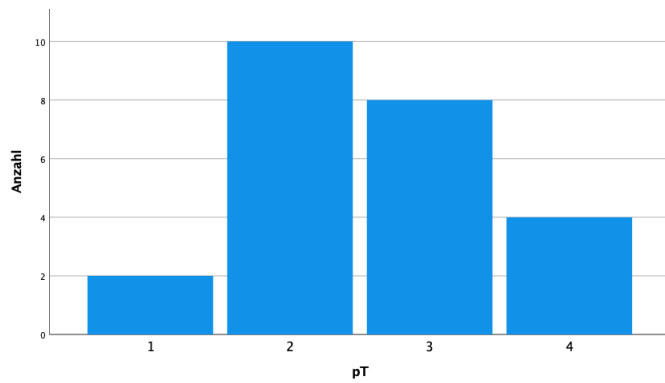


Abbildung 17: Häufigkeitsverteilung der Tumorstadien (T1-T4) im TNM-System im TNBC-Kollektiv

In einem Fall konnte in den im SAP befindlichen histopathologischen Berichten und sonstigen Befunden kein N-Status gefunden werden (n=24). Von den tripel-negativen Patientinnen mit erhobenem N-Stadium lag bei 12 Fällen (50%) ein N1-Status vor. 5 Patientinnen (20,8%) hatten bei Befundung keinen befallenen LK, also N0. 4 Fälle (16,7%) hatten einen ausgeprägten LK-Befall mit N3 und bei 3 Patientinnen (12,5%) wurde der LK-Befall mit N2 bewertet. Diese Werte zeigen im Vergleich zur Grundgesamtheit des Mammakarzinom-Kollektivs einen geringer ausgeprägten LK-Befall. Die Stadien N0 und N1 sind im TNBC-Kollektiv häufiger vertreten als im Gesamt-Kollektiv, wohingegen N2 und N3 prozentual betrachtet seltener vorkommen.

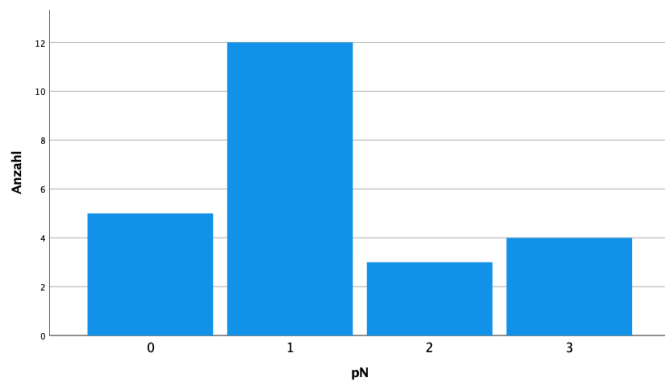


Abbildung 18: Häufigkeitsverteilung des Lymphknoten-Status (N0-N3) im TNM-System im TNBC-Kollektiv

In vier Fällen konnte in den im SAP befindlichen histopathologischen Berichten und sonstigen Befunden kein M-Status gefunden werden (n=21). Bei Betrachtung der Fälle mit gültigem M-Status waren 15 Personen (71,4%) der Fälle bei Befundung frei von Fernmetastasen. Bei 6 TNBC-Patientinnen (28,6%) lag bereits eine Fernmetastase vor. Diese Werte entsprechen in etwa denen der Grundgesamtheit des Mammakarzinom-Kollektivs, wobei eine Fernmetastasierung im TNBC-Kollektiv im Vergleich der Prozentwerte 4,1% häufiger vorkommt.

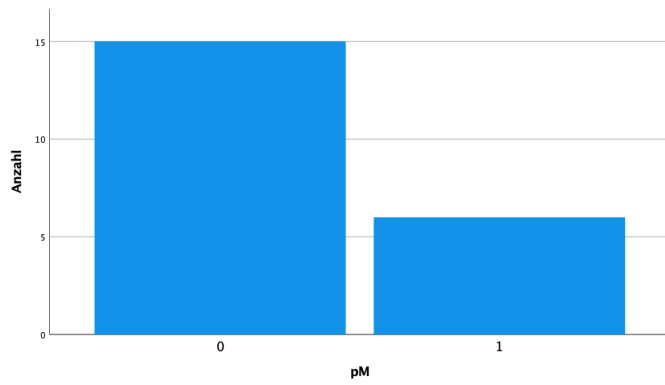


Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung des Fernmetastasen-Status (M0-M1) im TNM-System im TNBC-Kollektiv

4.8.3 Histologisches Grading

Bei 5 der 138 Patientinnen fehlte in den im SAP der Universitätsmedizin befindlichen Berichten eine Angabe des Gradings; verbleibende Stichprobe n=133. Bei Betrachtung des Gesamtkollektivs lag bei 70 Patientinnen (52,6%) ein schlecht differenzierter Tumor (G3) vor. Bei 58 Personen (43,6%) zeigte sich ein mäßig differenzierter Tumor (G2) und bei 5 Patientinnen (3,8%) lag ein gut differenzierter Tumor (G1) vor.

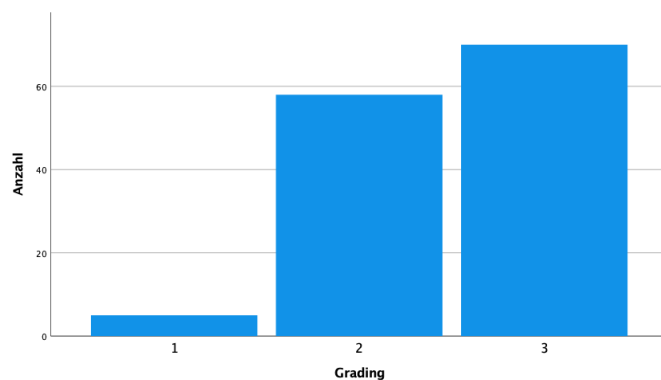


Abbildung 20: Häufigkeitsverteilung des histologischen Gradings (G1-G3)

4.8.3.1 Histologisches Grading beim TNBC

Von den 25 TNBC-Patientinnen fehlte bei einer eine Angabe des Gradings; verbleibende Stichprobe n=24. 20 Fälle (83,3%) waren als G3 Tumor, 3 Fälle (12,5%) als G2 und nur ein Fall (4,2%) als G1 eingestuft worden. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv zeigt sich also eine Häufung der schlecht differenzieren Tumoren. G1 ist zwar prozentual gesehen beim TNBC ähnlich häufig bzw. selten wie bei der Zusammenschau aller Subtypen, wohingegen G2-Tumoren zugunsten von G3-Tumoren deutlich seltener sind.

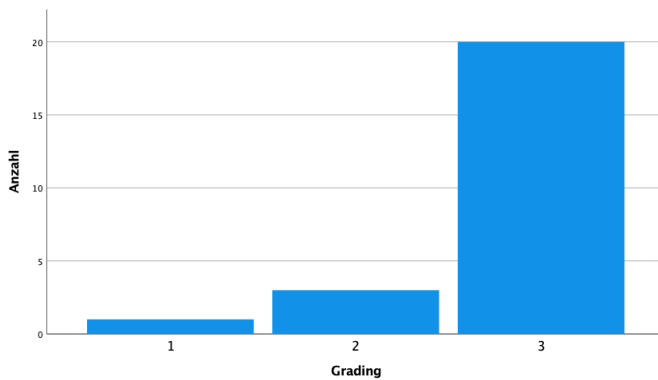


Abbildung 21: Häufigkeitsverteilung des histologischen Gradings (G1-G3) im TNBC-Kollektiv

Betrachtet man nun die Verteilung des Gradings bezogen auf die verschiedenen intrinsischen Subtypen, so erkennt man, dass beim TNBC der Anteil der Tumore, die als schlecht differenziert gelten, mit 83,3% deutlich über dem Anteil von G3-Tumoren bei allen anderen Subtypen liegt. Zwar ist der G3-Tumor bei allen Subtypen, außer bei dem Luminal-A Subtyp, am häufigsten, doch in keiner Entität ist die Differenz zwischen G2- und G3-Tumoren so hoch wie beim TNBC.

In der folgenden Kreuztabelle ist die Verteilung des Tumorgradings (G1-G3) innerhalb der intrinsischen Subtypen (1-5) dargestellt, wobei 1 für den Luminal-A, 2 für den Luminal-B/HER2-negativ, 3 für den Luminal-B/HER2-positiv, 4 für den HER2-positiv und 5 für den tripel-negativen Subtyp steht.

Tabelle 8: Kreuztabelle zur Darstellung der Verteilung des Tumorgradings innerhalb der intrinsischen Subtypen

		Subtyp					Gesamt	
		1	2	3	4	5		
Grading	1	Anzahl	3	1	0	0	1	5
		% von Subtyp	8,3%	1,7%	0,0%	0,0%	4,2%	3,8%
2	Anzahl	30	21	3	1	3	58	
	% von Subtyp	83,3%	35,0%	33,3%	25,0%	12,5%	43,6%	
3	Anzahl	3	38	6	3	20	70	
	% von Subtyp	8,3%	63,3%	66,7%	75,0%	83,3%	52,6%	
Gesamt	Anzahl	36	60	9	4	24	133	
	% von Subtyp	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

4.8.4 Histologische Subtypen

Von den 138 Fällen der Grundgesamtheit konnte in 5 Fällen keine endgültige Einordnung in einen histologischen Subtyp erfolgen; verbleibende Stichprobe n=133. Dabei entsprachen 109 (82%) einem invasiven Karzinom NST (früher auch: invasiv duktales Mammakarzinom). 22 Fälle (16,5%) waren als invasiv lobuläres Mammakarzinom klassifiziert worden. In jeweils einem Fall (0,8%) lag ein muzinöses bzw. ein neuroendokrines Mammakarzinom vor.

4.8.4.1 Histologische Subtypen bei TNBC

Im Kollektiv des tripel-negativen Mammakarzinoms konnte ein Fall keinem eindeutigen histologischen Subtyp zugeordnet werden; verbleibende Stichprobe n=24. 23 der gültigen Fälle (95,8%) entsprachen einem invasiven Karzinom NST. Ein Fall (4,2%) entsprach einem muzinösen Mammakarzinom. Im Gegensatz zur Grundgesamtheit fand sich bei den 25 TNBC-

Patientinnen kein einziger Fall von invasiv lobulärem Brustkrebs und das NST-Karzinom war prozentual betrachtet deutlich häufiger.

4.8.5 Intrinsische Subtypen

Die folgende Tabelle stellt die absoluten und relativen Häufigkeiten der intrinsischen Subtypen im untersuchten Kollektiv an Brustkrebs-Patientinnen dar.

Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeiten der intrinsischen Subtypen

Subtyp	Häufigkeiten	Prozent
Luminal A (1)	37	26,8%
Luminal B/HER2-negativ (2)	62	44,9%
Luminal B/HER2-positiv (3)	10	7,2%
HER2-positiv (4)	4	2,9%
Tripel-negativ (5)	25	18,1%
Gesamt	138	100%

4.8.6 Lokalisation der Fernmetastasen

Bei 73 der 138 Patientinnen fand sich eine durch die Histopathologie auswertbare Fernmetastasen-Probe, bei 65 Fällen lag keine Fernmetastase bzw. keine auswertbare Probe vor. Es zeigte sich bei 32 der 73 Patientinnen eine Fernmetastase in der Leber und bei 25 eine Metastase im Knochen (ossär). In 5 Fällen befand sich die Fernmetastase in der Lunge oder Pleura, in 4 Fällen im Gastrointestinaltrakt oder im Peritoneum. In 5 Fällen lag eine Hautmetastase vor, in zwei Fällen wurde die Fernmetastase als „sonstige“ klassifiziert. Dabei handelte es sich einmal um eine Metastase im Ovar sowie einmal um eine Metastase in der Nasennebenhöhle.

Im Vergleich zu den Fernmetastasen lag in 95 der 138 Fälle eine auswertbare regionäre LK-Metastase vor.

Tabelle 9: Absolute und relative Häufigkeiten der PD-L1 bestimmten Fernmetastasen nach Lokalisation

Lokalisation	Häufigkeiten	Prozent
Leber	32	43,8%
Skelettsystem/ossär	25	34,2%
Lunge oder Pleura	5	6,8%
Gastrointestinaltrakt oder Peritoneum	4	5,5%
Haut	5	6,8%
Sonstige (Ovar; Nasennebenhöhle)	2 (1;1)	2,7%
Gesamt	73	100%

4.8.6.1 Lokalisation der Fernmetastasen beim TNBC

In 16 der 25 TNBC-Fälle lag keine auswertbare Fernmetastasen-Probe vor; verbleibende Stichprobe n=9. Die vorliegenden Fernmetastasen setzten sich aus 6 (66,7%) Lebermetastasen, einer (11,1%) ossären Metastase und zwei (22,2%) Hautmetastasen zusammen. Leber- und Hautmetastasen waren somit im Vergleich zum Gesamtkollektiv deutlich überrepräsentiert, wohingegen Metastasen in Knochen, Lunge oder Pleura und dem Peritoneum deutlich unterrepräsentiert waren.

An regionären LK-Metastasen fanden sich 18 auswertbare Proben.

4.8.7 Vergleich von ER, PR, HER2 und Ki-67 zwischen Primarius und Fernmetastase

Für den Primarius wurde in fast allen Fällen der ER-, PR-, HER2- sowie Ki-67-Status erhoben. Für die LK-Probe, bei der man in der Regel von einem ähnlichen Rezeptorstatus wie beim Primarius ausgeht, war eine ER-, PR- und HER2-Bestimmung nur in 3 Fällen erfolgt. Ki-67 wurde in keiner LK-Probe untersucht. Der ER-Status wechselte in einem Fall vom Primarius

zum LK hin von positiv zu negativ. Der PR-Status wechselte in zwei Fällen von positiv zu negativ. Der HER2-Status blieb in allen drei Fällen identisch.

Von den Fernmetastasen wurde beim Großteil der Fälle der Rezeptorstatus bei Probenentnahme ermittelt. Der Unterschied in der ER-, PR-, HER2- und Ki67-Ausprägung zwischen Primarius und Fernmetastase soll in diesem Kapitel kurz dargestellt werden.

Der Mittelwert der Primarius-Fälle mit angegebenem ER-Wert (n=137) lag bei 7,66 (SD: $\pm 5,04$). Der niedrigste vorkommende Wert war 0, der höchste 12. Die Werte 12 (69 Fälle bzw. 50,4%) und 0 (27 Fälle bzw. 19,7%) kamen am häufigsten vor. Die Ausprägung des ER zeigte sich als nicht normalverteilt.

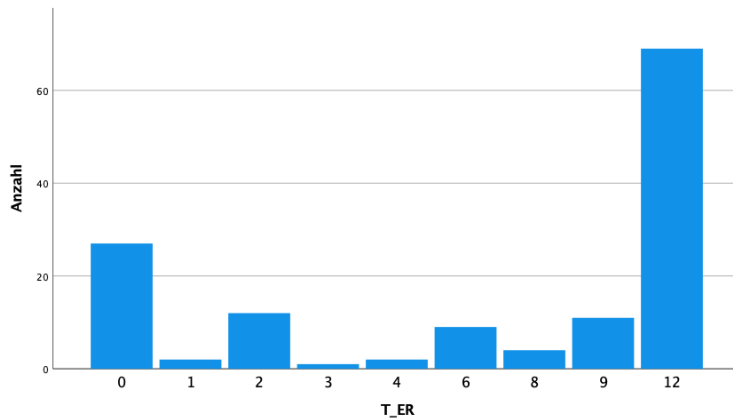


Abbildung 22: Häufigkeitsverteilung der Östrogen-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) im Primärtumor

Die Ausprägung des Östrogen-Rezeptors in den ER-bestimmten Fernmetastasen (n=69) ergab einen Mittelwert von 7,57 (SD: $\pm 5,2$). Der niedrigste vorkommende Wert war 0, der höchste 12. Auch hier waren die ER-Werte 12 (36 Fälle bzw. 52,2%) und 0 (16 Fälle bzw. 23,2%) am häufigsten vertreten und es zeigte sich keine Normalverteilung der Werte.

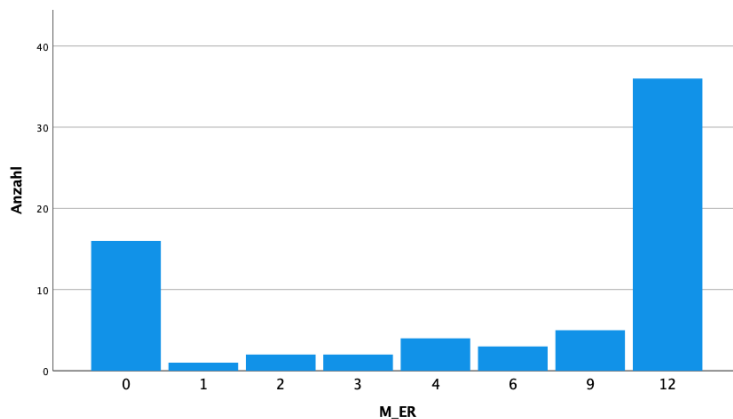


Abbildung 23: Häufigkeitsverteilung der Östrogen-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) in der Fernmetastase

Der Mittelwert der Primarius-Fälle mit angegebenem PR-Wert (n=137) lag bei 5,09 (SD: $\pm 4,77$). Der niedrigste vorkommende Wert war 0, der höchste 12. Mit 44 Fällen (32,1%) war die Ausprägung 0 am häufigsten, gefolgt von 31 Fällen (22,6%) mit Ausprägung 12. Auch diese Variable zeigte sich als nicht normalverteilt.

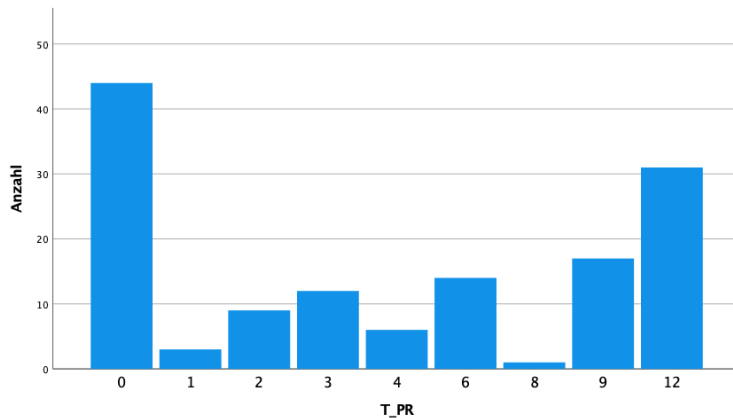


Abbildung 24: Häufigkeitsverteilung der Progesteron-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) im Primärtumor

Im Vergleich zum Primarius war die Ausprägung des PR in den PR-bestimmten Fernmetastasen (n=68) mit einem Mittelwert von 3,38 (SD: $\pm 4,52$) etwas niedriger. Der niedrigste vorkommende Wert war 0, der höchste 12. 35 Fälle (51,5%) waren PR-negativ, 10 Fälle (14,7%) hatten eine starke PR-Positivität mit einem IRS von 12. Auch hier lag keine Normalverteilung vor.

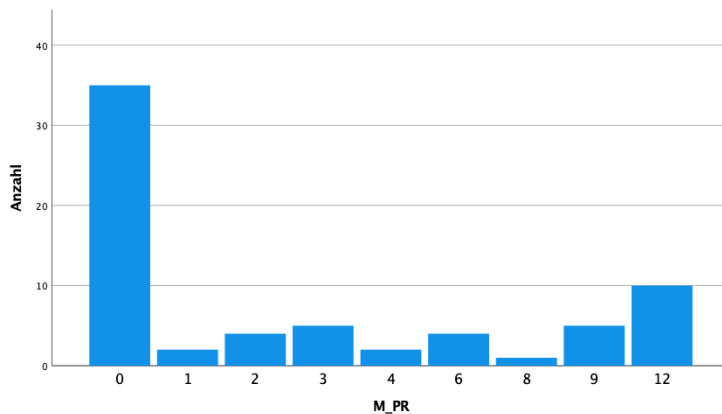


Abbildung 25: Häufigkeitsverteilung der Progesteron-Rezeptor-Positivität (IRS 0-12) in der Fernmetastase

Die Abwesenheit des HER2-Rezeptors im Primärtumor (N=138) betraf 123 Patientinnen (89,1%). Nur in 15 Primarius-Proben (10,9%) lag HER2-Positivität vor.

Bei Betrachtung der Fernmetastasen-Proben, bei denen eine HER2-Bestimmung durchgeführt worden war (n=65), zeigte sich in 54 Fällen (83,1%) eine HER2-Negativität und in 11 Fällen (16,9%) eine HER2-Positivität. Es liegt somit ein durchschnittlicher Switch von HER2-negativ zu HER2-positiv von 6% vor.

Ki-67, welches als Prozentwert angegeben wird, wies in den untersuchten Primarius-Proben (n=83) einen Mittelwert von 35,35% (SD: $\pm 24,63$) auf. Der niedrigste gemessene Wert war 1%, der höchste Wert war 95%. Der am häufigsten vorkommende Wert (Modus) war ein Wert von 20%, und betraf 18 Fälle (21,7%), der Median entsprach dem Ki-67-Wert von 30%. Die Ergebnisse des Tests auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk ($W=0,886$, $df=83$, $p<0,001$) sprechen für nicht normalverteilte Daten.

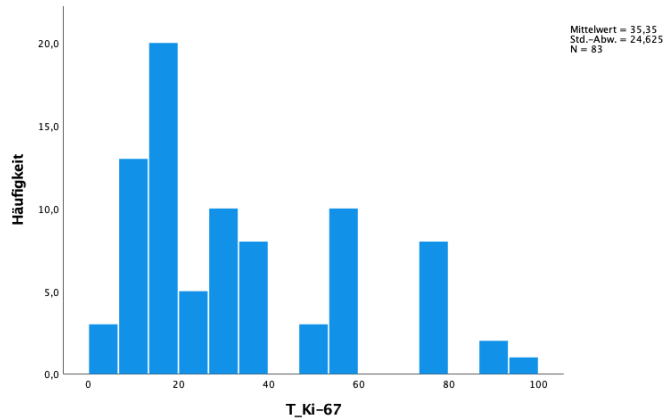


Abbildung 26: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den Primarius-Proben

Für die Fälle, in denen der Ki-67-Wert der Fernmetastasen-Probe bestimmt worden war (n=18), ergab sich ein Mittelwert von 37,78% (SD: $\pm 24,93$). Der niedrigste gemessene Wert war 5%, der höchste Wert war 90%. Für den Ki-67-Wert der Fernmetastasen zeigten sich zwei Modalwerte, welche einen Wert von 20% sowie von 70% annahmen, und jeweils 3 Fälle (16,7%) betrafen. Der Median entsprach dem Ki-67-Wert von 32,5%. Somit ist prozentual betrachtet sowohl für den Mittelwert als auch für den Modus und den Median eine leichte Zunahme der Ki-67-Werte vom Primarius hin zur Fernmetastase zu verzeichnen. Die Ergebnisse des Tests auf Normalverteilung Shapiro-Wilk ($W=0,917$, $df=18$, $p=0,115$) sprechen nicht gegen die Annahme einer Normalverteilung.

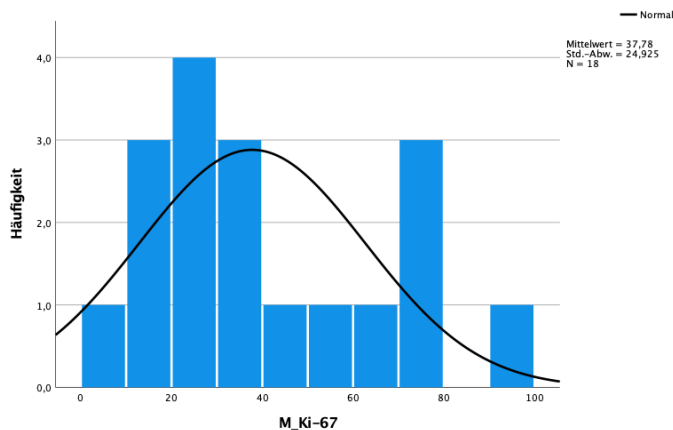


Abbildung 27: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den Fernmetastasen-Proben

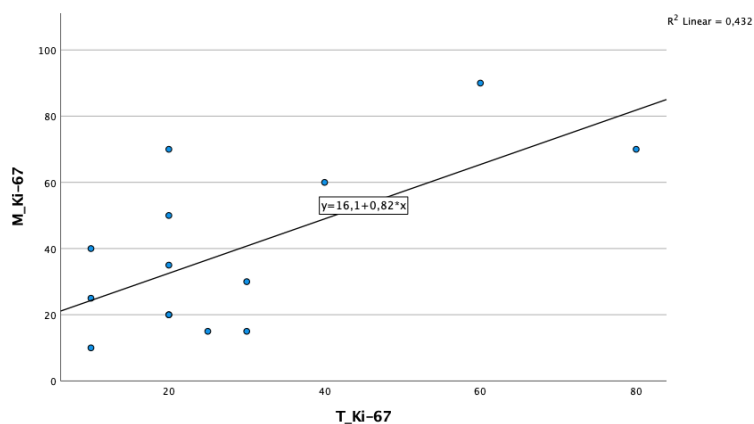


Abbildung 28: Streudiagramm zur Veranschaulichung des Zusammenhangs zwischen den Ki-67-Werten von Primarius und Fernmetastase

4.8.7.1 Vergleich von ER, PR, HER2 und Ki-67 zwischen Primarius und Fernmetastase beim TNBC

Das TNBC ist im Primärtumor definitionsgemäß für den ER-, PR- und HER2-Rezeptor negativ. Im Folgenden werden daher ausschließlich die Rezeptor-Ausprägungen in den zugehörigen Fernmetastasen betrachtet. Für die 9 Fernmetastasen, die in den 25 TNBC-Fällen vorlagen, wurde bei 7 Proben der ER-, PR- und HER2-Wert bestimmt (n=7). Dabei ergab sich für ER ein Mittelwert von 0,29; Modus und Median entsprachen jeweils 0. In 6 Fällen (85,7%) war die Fernmetastase negativ für ER geblieben, in einem Fall (14,3%) wies sie eine geringe Positivität mit einem IRS von 2 auf. Der PR-Wert lag im Mittel bei 0,14; Modus und Median lag bei 0. In 6 Fällen (85,7%) war die Fernmetastase bei einem IRS von 0 geblieben, in einem Fall (14,3%) wies sie einen IRS von 1 auf, welcher allerdings noch als PR negativ gewertet wird, da erst ein IRS von 2 als HR-positiv gilt (36, 37). HER2 war in 5 Fällen (71,4%) negativ geblieben, in 2 Fällen (28,6%) lag in der Fernmetastase nun eine HER2-Positivität vor.

Insgesamt waren 2 der Fernmetastasen von TNBC-Primärtumoren somit nun zum HER2-positiv-Subtyp und eine Fernmetastase zu einem Luminal-B/HER2-negativ-Subtyp gewechselt.

Von den 64 Fernmetastasen der Nicht-tripel-negativen Primärtumoren besaßen 57 eine Angabe sowohl über den ER- und den PR- als auch über den HER2-Rezeptor. Von diesen 57 Rezeptor-bestimmten Fernmetastasen waren 9 (15,8%) zu tripel-negativen Fernmetastasen geworden.

Ki-67 war in 20 der 25 tripel-negativen Primarius-Proben bestimmt worden (n=20). Es wies einen Mittelwert von 64,25% (SD: $\pm 21,96$) auf. Der niedrigste gemessene Wert war 20%, der höchste Wert war 95%. Es lagen zwei Modalwerte vor, welche den Werten 60% und 80% entsprachen und jeweils 6 Fälle (30%) betrafen. Der Median entsprach einem Ki-67-Wert von 60%. Im Vergleich zur Grundgesamtheit des Kollektivs zeigten sich fürs TNBC sowohl im Mittelwert als auch im Median etwa doppelt so hohe Ki-67 Werte. Da die Signifikanzgrenze im Shapiro-Wilk-Test nur knapp verfehlt wurde ($W=0,907$, $df=20$, $p=0,056$), ist davon auszugehen, dass eine Normalverteilung tendenziell eher nicht vorliegt.

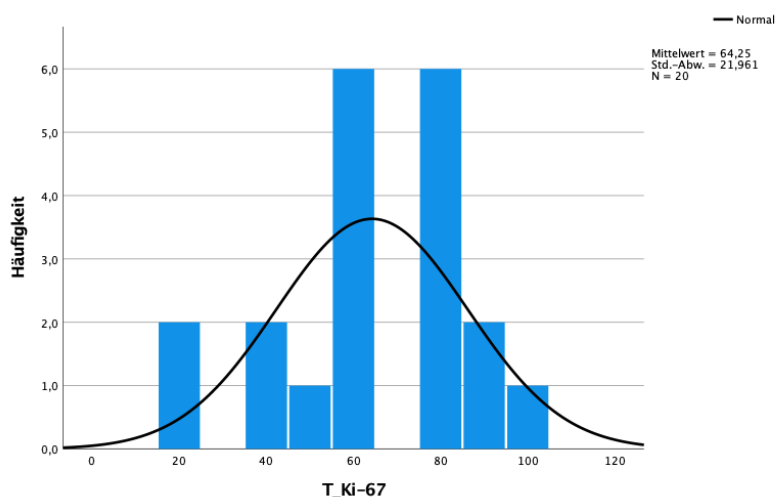


Abbildung 29: Häufigkeitsverteilung der Ki-67-Werte in den TNBC-Primarius-Proben

Nur bei 2 von den 9 Fernmetastasen der 25 TNBC-Fälle wurde der Ki-67-Wert bestimmt. Ein Wert betrug 35%, der andere 90%. Im Vergleich zu den zugehörigen Primärtumoren waren sie um 15 bzw. um 30 Prozentpunkte angestiegen.

5 Ergebnisse

5.1 Ergebnisse zur ersten Fragestellung: Wie ist die Verteilung der Ausprägung der PD-L1-Expression in Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase?

Die Ausprägung des PD-L1-Vorkommens in Primarius, LK- und Fernmetastase wurde vom Institut für Pathologie der Mainzer Universitätsmedizin jeweils als TPS, CPS und IC-Wert angegeben. Im Test auf Normalverteilung nach Shapiro-Wilk zeigte sich für den Primarius bei TPS ($W=0,98$, $df=138$, $p<0,001$), CPS ($W=0,189$, $df=138$, $p<0,001$) und IC ($W=0,204$, $df=138$, $p<0,001$) kein Hinweis auf Normalverteilung. Für die LK-Metastasen zeigte sich ebenfalls für TPS ($W=0,133$, $df=95$, $p<0,001$), CPS ($W=0,313$, $df=95$, $p<0,001$) und IC ($W=0,301$, $df=95$, $p<0,001$) keine Normalverteilung. Auch für die Fernmetastasen ergab der Shapiro-Wilk-Test für TPS ($W=0,095$, $df=73$, $p<0,001$), CPS ($W=0,138$, $df=73$, $p<0,001$) und IC ($W=0,218$, $df=73$, $p<0,001$) keine Normalverteilung.

5.1.1 Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC im Primarius

Innerhalb des Gesamtkollektivs ergab sich für den Primarius ($N=138$) ein TPS-Mittelwert von 1,3 (SD: $\pm 10,86$). Der höchste vorkommende Wert war 100, der niedrigste 0. In nur 2 Fällen (1,4%) fand sich ein positiver TPS.

Für den Mittelwert des CPS ließ sich ein Wert von 2,36 (SD: ± 12) ermitteln. Der höchste vorkommende Wert war 100, der niedrigste 0. Obwohl 33 Patientinnen (23,9%) in ihrem Primärtumor prinzipiell einen positiven CPS-Wert aufwiesen, lagen Werte über 10, welche für eine Indikation für Pembrolizumab relevant wären, nur bei 3 Patientinnen (2,2%) vor.

Für den IC der Primärtumore ließ sich ein Mittelwert von 0,8 (SD: $\pm 3,6$) errechnen. Der kleinste erreichte Wert lag bei 0, der größte bei 40. Bei insgesamt 33 Patientinnen (23,9%) lag ein positiver IC-Wert vor, was unter den entsprechenden Umständen (fortgeschrittenes oder metastasiertes TNBC ohne vorherige Chemotherapie) die Indikation zu einer Therapie mit Atezolizumab darstellen würde. Kleine IC-Werte waren insgesamt deutlich häufiger als hohe Werte.

5.1.2 Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC in den Lymphknotenmetastasen

Für die TPS-Werte der LK-Metastasen ($n=95$) lag der Mittelwert bei 1,18 (SD: $\pm 7,97$). Die Werte erstreckten sich von 0 bis 60. In 3 Fällen (3,2%) lag ein positiver TPS vor.

Der Mittelwert des CPS lag bei 2,96 (SD: $\pm 9,85$) mit Werten zwischen 0 und 65. 36 Fälle (37,9%) wiesen einen positiven Wert auf, wobei ein CPS von ≥ 10 (d.h. eine mögliche Indikation für eine Therapie mit Pembrolizumab) nur von 5 Proben (5,3%) erreicht wurde.

Der Mittelwert des IC lag bei 1,36 (SD: $\pm 4,39$) mit Werten von 0 bis 40. Dabei waren 35 Proben (36,8%) IC-positiv, wobei ein Wert von 1 mit einer Häufigkeit von 17 Fällen (17,9%) am häufigsten war.

5.1.3 Deskriptive Statistiken von TPS, CPS, IC in den Fernmetastasen

Bei Betrachtung der TPS-Werte der Fernmetastasen-Proben ($n=73$) lag der Mittelwert bei 1,37 (SD: $\pm 11,7$). Der niedrigste Wert war 0, der höchste 100. Nur ein Wert (1,4%) entsprach einem positiven TPS und erreichte die maximale Ausprägung von 100.

Der Mittelwert des CPS lag bei 1,78 (SD: $\pm 11,9$) mit Werten zwischen 0 und 100. 8 Werte (11%) zeigten eine positive Ausprägung. Relevanz für die Option einer Pembrolizumab-Therapie durch CPS-Werte ≥ 10 besaßen nur 2 der Proben (2,7%).

Für den IC ließ sich ein Mittelwert von 0,4 (SD: $\pm 1,9$) ermitteln. Der niedrigste Wert lag bei 0, der höchste bei 15. Dabei zeigten 8 Werte (11%) eine positive Ausprägung, wobei die Hälfte der positiven Fälle die kleinstmögliche IC-positive Ausprägung mit einem Wert von 1 zeigte.

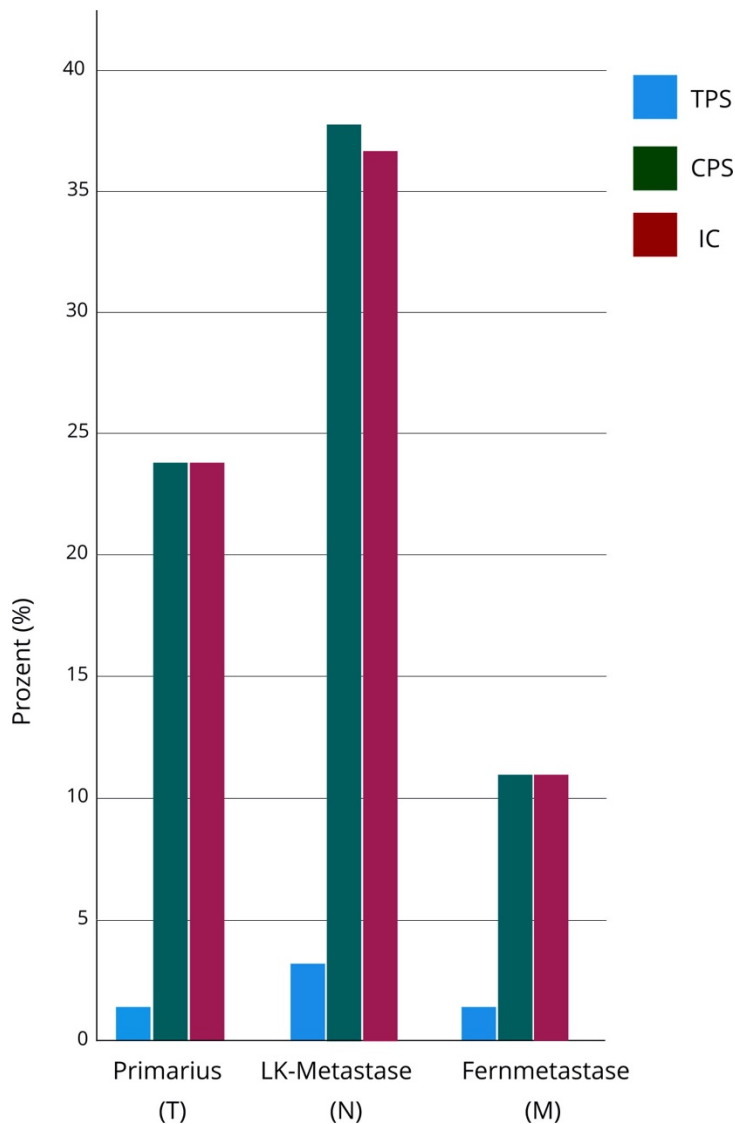


Abbildung 30: Anteil der PD-L1-positiven Proben von Primarius, LK- und Fernmetastasen

5.2 Ergebnisse zur zweiten Fragestellung: Gibt es einen signifikanten Zusammenhang zwischen der PD-L1-Expression des Primärtumors mit der PD-L1-Expression der Lymphknoten- und Fernmetastase?

Um die gewonnenen Daten auf Zusammenhänge und Korrelationen zu testen, wurden Kreuztabellen, der χ^2 -Test und Korrelationsberechnungen nach Spearman verwendet. In den Tabellen steht die Variable 0 stets für eine negative/nicht vorhandenen PD-L1-Expression, während 1 bei TPS und IC für positive Werte jeglicher Ausprägung steht. Bei CPS wird in schwach-positive Werte (mit 1 kodiert) und stark-positive Werte (mit 2 kodiert) differenziert.

5.2.1 Zusammenhang der TPS-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

Für TPS zeigte sich zwischen Primarius (T) und LK-Metastase (N) sowie zwischen Primarius und Fernmetastase (M) bereits durch die Kreuztabellen und den χ^2 -Test ein hochsignifikanter Zusammenhang. Für T und N ergab sich χ^2 (df=1, n=95) =30,993, $p < 0,001$, für T und M ließ sich χ^2 (df=1, n=73) =73, $p < 0,000$ bestimmen. Die meisten Tumore besaßen die Tendenz, sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Metastase TPS-negativ zu sein. Fälle, die bereits im Primarius TPS-positiv waren, blieben dies auch bei Metastasierung. In den LK-

Metastasen kam eine TPS-Positivität im Vergleich zum Primarius in zwei Fällen hinzu. Die Konkordanz der TPS-Werte zwischen T und N betrug 97,89% (93/95), zwischen T und M 100% (73/73).

Tabelle 10: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts)

Anzahl		N_TPS_ord			Anzahl		M_TPS_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	1,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	92	2	94	T_TPS_ord	,00	72	0	72
	1,00	0	1	1		1,00	0	1	1
Gesamt		92	3	95	Gesamt		72	1	73

Bei Betrachtung des Gesamtkollektivs ergab sich für die TPS-Werte des Primärtumors mit denen der LK-Metastase eine hochsignifikante starke Korrelation nach Spearman mit $r=0,571$ ($n=95$, $p<0,001$). Zwischen dem Primärtumor und der zugehörigen Fernmetastase lag für die TPS-Werte eine hochsignifikante starke Korrelation mit $r=1$ ($n=73$, $p<0,000$) vor. Eine Korrelation zwischen der LK- und der Fernmetastase ($n=30$) konnte nicht errechnet werden, da der einzige Fall mit einem positiven TPS der Fernmetastase keine zugehörige LK-Metastase besaß und somit die Ausprägung der TPS-Werte der Fernmetastasen, die zu einem LK-/Fernmetastasen-Paar gehörten, konstant war.

Tabelle 11: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

		T_TPS_ord	N_TPS_ord	M_TPS_ord
Spearman-Rho	T_TPS_ord	Korrelationskoeffizient	--	
		Sig. (2-seitig)	.	
		N	138	
N_TPS_ord		Korrelationskoeffizient	,571**	--
		Sig. (2-seitig)	<,001	.
		N	95	95
M_TPS_ord		Korrelationskoeffizient	1,000**	.
		Sig. (2-seitig)	,000	.
		N	73	30

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

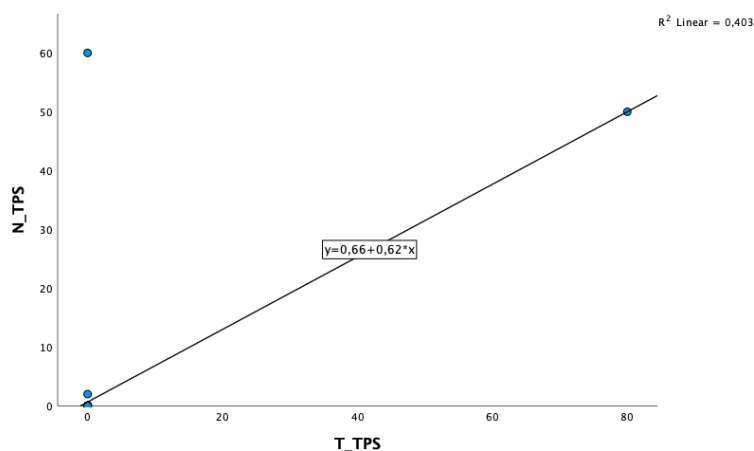


Abbildung 31: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase

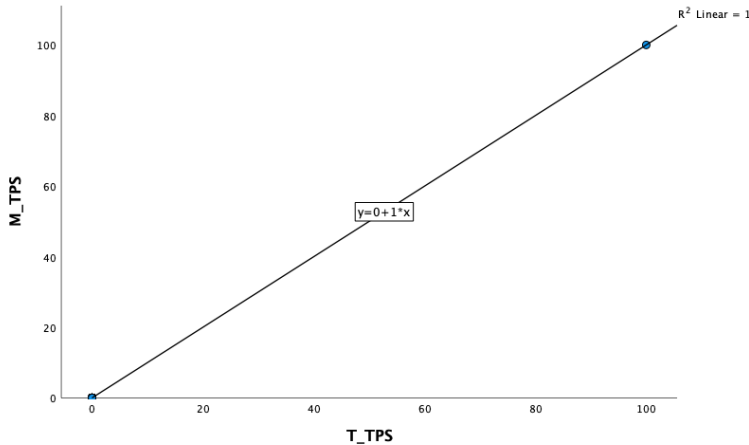


Abbildung 32: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Fernmetastase

5.2.2 Zusammenhang der CPS-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

Für die ordinalskalierten Werte von CPS zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase (χ^2 (df=4, n=95) =52,109, $p<0,001$) sowie zwischen Primarius und Fernmetastase (χ^2 (df=4, n=95) =52,109, $p<0,001$) ein hochsignifikanter Zusammenhang. Auch hier blieben die meisten CPS-negativen Primärtumore in der zugehörigen Metastase weiterhin CPS-negativ. Stark-positive ($\geq 10\%$ CPS-Positivität) Primärtumore waren immer auch in der LK- bzw. Fernmetastase stark-positiv. Die durch den CPS ermittelte Konkordanz des PD-L1-Status lag bei 73,68% (70/95) für Paare aus Primärtumoren und LK-Metastasen und bei 80,82% (59/73) für Primärtumore und Fernmetastasen.

Tabelle 12: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts)

Anzahl		N_CPS_ord			
		,00	1,00	2,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	51	15	2	68
	1,00	8	16	1	25
	2,00	0	0	2	2
Gesamt		59	31	5	95

Anzahl		M_CPS_ord			
		,00	1,00	2,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	57	5	1	63
	1,00	8	1	0	9
	2,00	0	0	1	1
Gesamt		65	6	2	73

Bei Betrachtung der ordinalskalierten CPS-Werte zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase eine hochsignifikante mittlere Spearman-Korrelation mit $r=0,438$ ($n=95$, $p<0,001$). Zwischen Primarius und Fernmetastase sowie zwischen LK- und Fernmetastase zeigte sich keine signifikante Spearman-Korrelation. Denn die Ungleichverteilung der Proben auf die unterschiedlichen Stufen der CPS-Positivität genügte für eine hohe Signifikanz des χ^2 -Test, aber die Kovariation von Primarius und Fernmetastase war nicht systematisch genug, um eine bedeutsame Spearman-Korrelation zu erreichen.

Tabelle 13: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

		T_CPS_ord	N_CPS_ord	M_CPS_ord
Spearman-Rho	T_CPS_ord	--		
	Korrelationskoeffizient	--		
	Sig. (2-seitig)	.		
N_CPS_ord	N	138		
	Korrelationskoeffizient	,438**	--	
	Sig. (2-seitig)	<,001	.	
M_CPS_ord	N	95	95	
	Korrelationskoeffizient	,137	,221	--
	Sig. (2-seitig)	,247	,240	.
	N	73	30	73

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

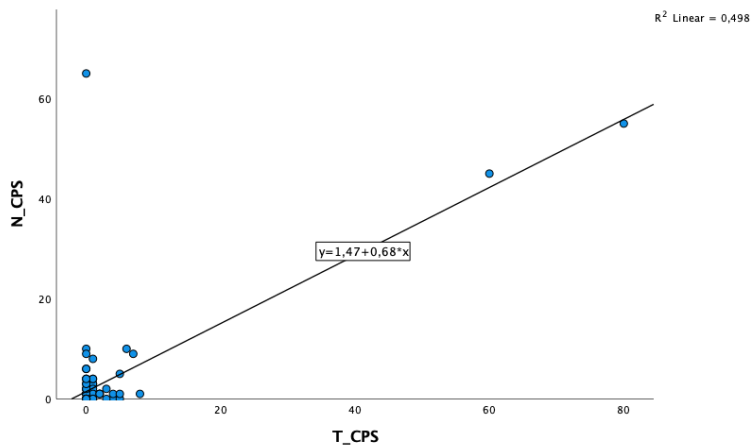


Abbildung 33: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Lymphknotenmetastase

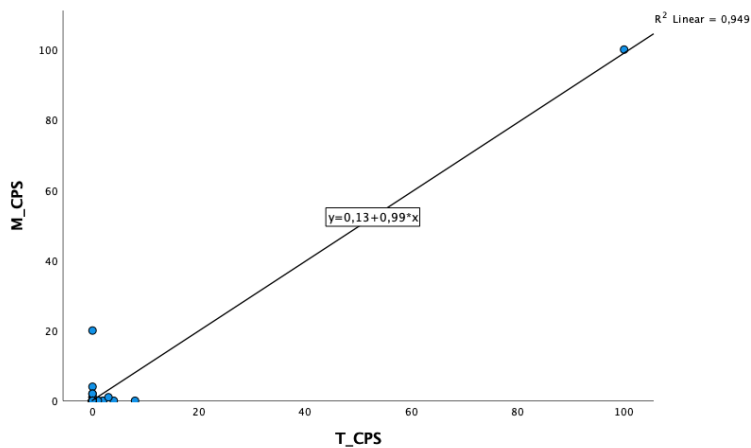


Abbildung 34: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Fernmetastase

5.2.3 Zusammenhang der IC-Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

Für IC zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastasen ein hochsignifikanter Zusammenhang mit χ^2 (df=1, n=95) =18,223, $p < 0,001$. Zwischen Primarius und Fernmetastase ließ sich kein signifikanter Zusammenhang beobachten (χ^2 (df=1, n=73) =0,971, $p=0,325$). In beiden Fällen blieben die meisten IC-negativen Primärtumore auch in der zugehörigen Metastase IC-negativ. Positive Primärtumore blieben meist auch in der LK-Metastase IC-positiv. 16 primär IC-negative Fälle erreichten in der LK-Metastase jedoch IC-Positivität. Vom Primarius zur Fernmetastase hin war es hingegen häufiger, dass primär IC-positive Tumore in der Fernmetastase IC-negativ wurden, als dass sie positiv blieben. Die

Konkordanz-Rate für IC zwischen Primärtumoren und ihren LK-Metastasen lag bei 74,74% (71/95) und zwischen Primärtumoren und zugehörigen Fernmetastasen bei 80,8% (59/73).

Tabelle 14: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts)

Anzahl	N_IC_ord			Gesamt	Anzahl	M_IC_ord			Gesamt
	,00	1,00				,00	1,00		
T_IC_ord	,00	52	16	68	T_IC_ord	,00	57	6	63
	1,00	8	19	27		1,00	8	2	10
Gesamt		60	35	95	Gesamt		65	8	73

Für die ordinalen IC-Werte zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase eine hochsignifikante mittlere Korrelation nach Spearman mit $r=0,438$ ($n=95$, $p<0,001$). Zwischen Primarius und Fernmetastase sowie zwischen LK- und Fernmetastase zeigte sich keine Korrelation.

Tabelle 15: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten IC-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase

		T_IC_ord	N_IC_ord	M_IC_ord	
Spearman-Rho	T_IC_ord	Korrelationskoeffizient	--		
		Sig. (2-seitig)	.		
		N	138		
	N_IC_ord	Korrelationskoeffizient	,438**	--	
		Sig. (2-seitig)	<,001	.	
		N	95	95	
M_IC_ord	Korrelationskoeffizient	,115	,015	--	
	Sig. (2-seitig)	,331	,935	.	
	N	73	30	73	

** . Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

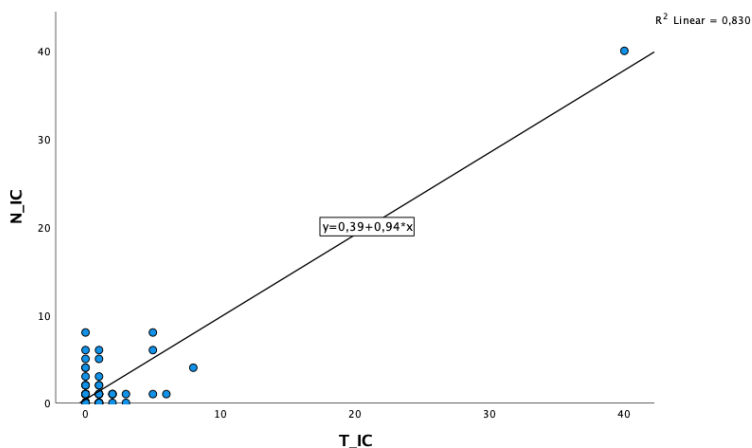


Abbildung 35: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Lymphknotenmetastase

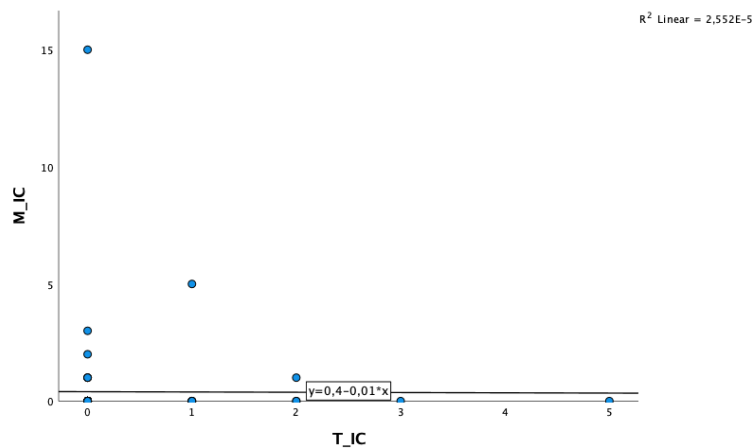


Abbildung 36: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Fernmetastase

5.3 Ergebnisse zur dritten Fragestellung: Unterscheiden sich die PD-L1-Werte und die Konkordanz-Raten zwischen Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastase vom TNBC und den anderen Subtypen?

5.3.1 Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS, IC beim TNBC

Für den TPS der TNBC- Primarius-Proben (n=25) ergab sich ein Mittelwert von 3,2 (SD: ±16). Der niedrigste Wert war 0, der höchste 80. Ein positiver Wert lag einmal (4%) vor. Der Mittelwert des CPS betrug 4,84 (SD: ±15,9) mit Werten zwischen 0 und 80. 8 Fälle (32%) erreichten einen positiven Wert, nur ein Fall (4%) besaß eine CPS-Ausprägung ≥10. Der Mittelwert des IC lag bei 1,4 (SD: ±2,38). Die beobachteten Werte lagen zwischen 0 und 8. Insgesamt 9 Fälle (36%) wiesen IC-positive Werte auf.

Für den TPS der zugehörigen LK-Metastasen (n=18) ergab sich ein Mittelwert von 6,11 (SD: ±17,87) mit Werten zwischen 0 und 60. 2 Fälle (11,1%) wiesen hohe positive TPS-Werte auf. Innerhalb der CPS-Werte, die sich von 0 bis 65 erstreckten, lag der Mittelwert bei 8,17 (SD: ±19,1). In 9 Fällen (50%) lag dabei ein positiver Wert vor. In 7 dieser Fälle (38,9%) handelte es sich um schwach-positive und in 2 Fällen (11,1%) um stark-positive CPS-Werte. Der Mittelwert des IC lag bei 1,56 (SD: ±2,06) mit Werten von 0 bis 6. In ebenfalls 9 Fällen (50%) lagen positive IC-Werte vor.

Die Mittelwerte von TPS, CPS und IC der LK-Metastasen waren somit jeweils höher als die Werte der Primärtumore und im Fall von TPS und CPS sogar fast doppelt so hoch.

Für den TPS der zugehörigen Fernmetastasen (n=9) ergab sich ein Mittelwert von 0 (SD: ±0). Alle 9 Fernmetastasen (100%) waren TPS-negativ. Für den CPS lag der Mittelwert bei 0,11 (SD: ±0,33) mit Werten zwischen 0 und 1. Nur ein Fall (11,1%) erreichte den schwach-positiven CPS-Wert von 1. Der Mittelwert des IC lag bei 0,11 (SD: ±0,33), ebenfalls mit Werten zwischen 0 und 1. In einem Fall (11,1%) lag ein positiver IC-Wert vor.

Die PD-L1-Positivität der Fernmetastasen war sowohl im Vergleich zu den Primärtumoren als auch zu den LK-Metastasen somit deutlich geringer ausgeprägt, bzw. im Falle von TPS gar nicht vorhanden.

5.3.2 Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS, IC bei den anderen intrinsischen Subtypen

5.3.2.1 Luminal-A

Der Mittelwert der Primärtumoren des Luminal-A-Subtyps (n=37) lag für TPS bei 0 (SD: ± 0). Alle 37 Fälle (100%) erwiesen sich als TPS-negativ. Für CPS lagen die Werte zwischen 0 und 3 während der Mittelwert 0,14 (SD: $\pm 0,536$) betrug. Nur 3 Proben (8,1%) waren schwach-positiv. Der Mittelwert für IC lag bei 0,11 (SD: $\pm 0,393$) mit Werten zwischen 0 und 2. Es ergaben sich ebenfalls 8,1% positive Fälle.

Bei den zugehörigen LK-Metastasen (n=22) lag der Mittelwert ebenfalls bei 0 (SD: ± 0), da alle 22 Proben (100%) negativ für TPS waren. Für CPS lagen die Werte zwischen 0 und 3 und der Mittelwert betrug 0,41 (SD: $\pm 0,854$). 5 Fälle (22,7%) waren schwach-positiv für CPS. Der Mittelwert für IC lag bei 0,23 (SD: $\pm 0,429$) mit Werten zwischen 0 und 1. Wie für CPS waren 22,7% positiv für IC.

Bei den Fernmetastasen (n=25) lag der Mittelwert für TPS bei 0 (SD: ± 0), da auch hier alle 25 Fälle (100%) negativ für TPS waren. Die Mittelwerte für CPS und IC lagen jeweils bei 0,4 (SD: $\pm 0,2$) mit Werten zwischen 0 und 1. Nur ein Fall (4%) war jeweils schwach-positiv für CPS bzw. positiv für IC.

5.3.2.2 Luminal-B/HER2-negativ

Der TPS-Mittelwert der Primärtumoren des Luminal-B/HER2-negativ-Subtyps (n=62) lag bei 1,61 (SD: $\pm 12,7$) mit Werten zwischen 0 und 100. Ein einziger Fall (1,6%) war TPS-positiv und erreichte dabei den Maximalwert 100. Auch für CPS lagen die Werte zwischen 0 und 100 und der Mittelwert betrug 2,97 (SD: $\pm 14,67$). 15 Proben (24,2%) wiesen CPS-positive Werte auf. Dabei waren 13 Proben (21%) schwach-positiv und 2 Proben (3,2%) stark-positiv mit Werten ≥ 10 . Der Mittelwert für IC lag bei 0,97 (SD: $\pm 5,099$) mit Werten zwischen 0 und 40. Es ergaben sich ebenfalls 15 (24,2%) positive Fälle.

Bei den zugehörigen LK-Metastasen (n=46) lag der Mittelwert bei 0,04 (SD: $\pm 0,295$) mit Werten zwischen 0 und 2. Ein Fall (2,2%) war positiv für TPS. Bei Betrachtung von CPS lagen die Werte zwischen 0 und 45 und der Mittelwert betrug 2,65 (SD: $\pm 6,993$). 16 Fälle (34,8%) waren schwach-positiv und 3 Fälle (6,5%) waren stark-positiv für CPS, was insgesamt 19 Fälle (41,3%) von CPS-Positivität ergibt. Der Mittelwert für IC lag bei 2,02 (SD: $\pm 6,105$) mit Werten zwischen 0 und 40. 18 Fälle (39,1%) zeigten sich als positiv für IC.

Bei den Fernmetastasen (n=32) lag der Mittelwert für TPS bei 3,13 (SD: $\pm 17,678$) mit Werten zwischen 0 und 100. Eine Fernmetastase (3,1%) war TPS-positiv. Sie war dem Primarius mit TPS 100 zuzuordnen. Der Mittelwert für CPS lag bei 4,03 (SD: $\pm 17,875$) mit Werten zwischen 0 und 100. 4 Proben (12,5%) waren schwach-positiv und 2 Fälle (6,3%) waren stark-positiv für CPS, womit sich eine CPS-Positivität von insgesamt 6 Fällen (18,8%) ergibt. Der Mittelwert für IC betrug 0,84 (SD: $\pm 2,795$) mit Werten zwischen 0 und 15. Ebenfalls 6 Proben (18,8%) waren positiv für IC. Somit liegen die TPS-, CPS- und IC-Positivitätsraten der Fernmetastasen über alle Subtypen hinweg am höchsten.

5.3.2.3 Luminal-B/HER2-positiv

Der Mittelwert für das TPS der Primärtumoren des Luminal-B/HER2-positiv-Subtyps (n=10) lag bei 0 (SD: ± 0). Alle 10 Fälle (100%) waren TPS-negativ. Für CPS lagen die Werte zwischen 0 und 4. Der Mittelwert betrug 0,7 (SD: $\pm 1,337$). 3 Proben (30%) waren CPS-schwach-positiv. Der Mittelwert für IC lag bei 0,6 (SD: $\pm 1,075$) mit Werten zwischen 0 und 3. Es ergaben sich ebenfalls 3 (30%) positive Fälle.

Bei den zugehörigen LK-Metastasen (n=5) lag der Mittelwert bei 0 (SD: ± 0). Alle 5 Proben (100%) waren negativ für TPS. Für CPS und IC lagen die Werte jeweils zwischen 0 und 1 und

die Mittelwerte betragen beide 0,4 (SD: $\pm 0,548$). Jeweils 2 Fälle (40%) waren schwach-positiv für CPS bzw. positiv für IC.

Bei den Fernmetastasen (n=7) lagen die Mittelwerte für TPS, CPS und IC jeweils bei 0 (SD: ± 0). Alle 7 Proben (100%) waren jeweils negativ für TPS, CPS und IC.

5.3.2.4 HER2-positiv

Der Mittelwert für das TPS der Primärtumoren des HER2-positiv-Subtyps (n=4) lag bei 0 (SD: ± 0). Alle 4 Fälle (100%) waren TPS-negativ. Für CPS lagen die Werte zwischen 0 und 5. Der Mittelwert betrug 2 (SD: $\pm 2,16$). 3 Proben (75%) waren CPS-schwach-positiv. Der Mittelwert für IC lag bei 1,25 (SD: $\pm 1,258$) mit Werten zwischen 0 und 3. Es ergaben sich ebenfalls 3 (75%) positive Fälle.

Bei den zugehörigen LK-Metastasen (n=4) lag der Mittelwert bei 0 (SD: ± 0). Alle 4 Proben (100%) waren negativ für TPS. Für CPS und IC lagen die Werte jeweils zwischen 0 und 1 und die Mittelwerte betragen beide 0,25 (SD: $\pm 0,5$). Jeweils ein Fall (25%) war schwach-positiv für CPS bzw. positiv für IC.

Für diesen Subtyp lagen keine Fernmetastasen-Proben vor.

In den folgenden Balkendiagrammen ist der Mittelwert jeweils für die TPS, CPS und IC-Werte der fünf intrinsischen Subtypen abgetragen (s. Legende).

Man sieht, dass sich je nach Subtyp ein deutlich unterschiedliches Bild ergibt. Das TNBC hat im Bereich des Primärtumors (T) im Mittel für alle drei Messverfahren die höchsten PD-L1-Expressionswerte.

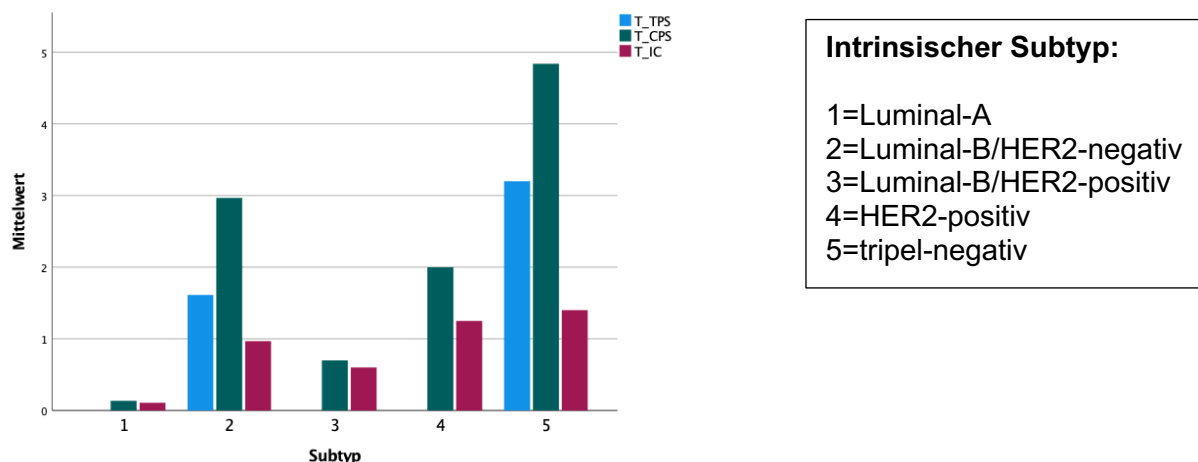


Abbildung 37: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC im Primärtumor zwischen den 5 intrinsischen Subtypen

Für die LK-Metastasen (N) ergibt sich im Vergleich zwischen den verschiedenen Subtypen eine noch deutlichere Differenz als bei den Primärtumoren. TPS kommt bei kaum einem Subtyp außer dem TNBC vor, und auch für CPS weisen alle Subtypen außer dem Luminal-B/HER2-negativ und dem tripel-negativen Subtyp einen Mittelwert von < 1 auf. Das TNBC mit einem Mittelwert von 8,17 weist eine deutlich stärkere Ausprägung der CPS-Werte auf. Lediglich der Mittelwert der IC-Werte (roter Balken) des Luminal-B/HER2-negativ Typs liegt leicht über dem des TNBC, wobei erneut diese beiden Subtypen, verglichen mit den übrigen Subtypen, in den LK-Metastasen im Mittel deutlich erhöhte Werte aufweisen.

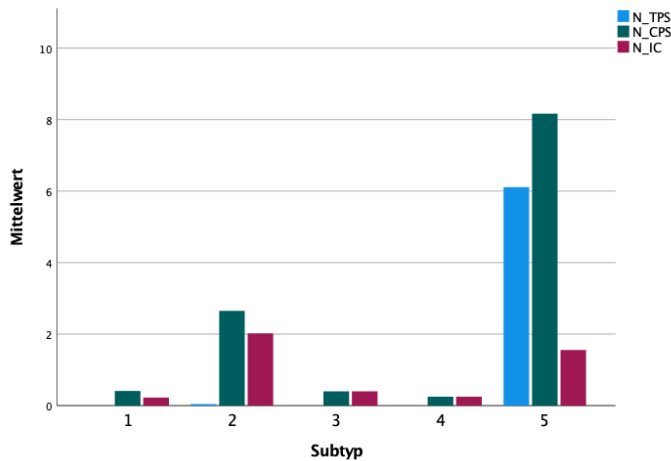


Abbildung 38: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC in den Lymphknotenmetastasen zwischen den 5 intrinsischen Subtypen

Beim Vergleich der PD-L1 Werte in den Fernmetastasen-Proben (M), zeigt sich, dass außer dem Luminal-B/HER2-negativ Typ kein Subtyp im Durchschnitt deutlich positive TPS, CPS oder IC-Werte aufweist. Beim Luminal-B/HER2-negativ Subtyp liegen die Mittelwerte von TPS und CPS sogar deutlich über denen von Primarius und LK-Metastase. Der IC-Wert entspricht in etwa dem des Primarius, während der IC-Wert im LK etwa dem doppelten des Fernmetastasen-Wertes entspricht. Die CPS- und IC-Mittelwerte des TNBC liegen im Vergleich mit allen Subtypen an zweiter Stelle, dennoch sind sie deutlich niedriger ausgeprägt als beim Luminal-B/HER2-negativ Typ. Außer diesem weist auch kein anderer Subtyp jegliche TPS-Werte in den Fernmetastasen auf.

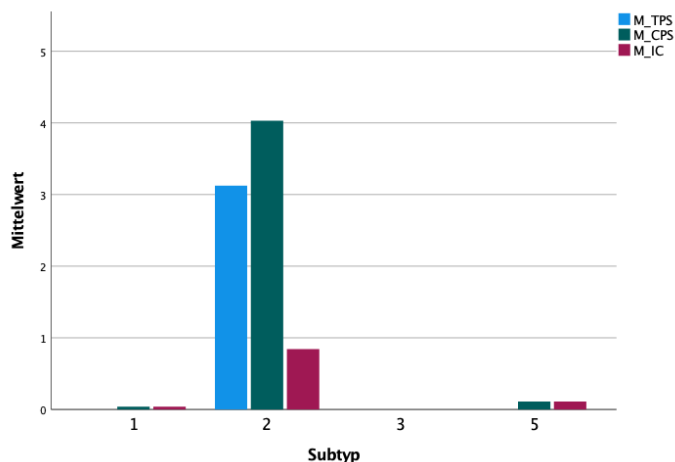


Abbildung 39: Vergleich der Mittelwerte von TPS, CPS und IC in den Fernmetastasen zwischen den 5 intrinsischen Subtypen

5.3.3 Zusammenhang der PD-L1 Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC

Auch für das TNBC-Kollektiv wurden Kreuztabellen angefertigt und mit Hilfe des χ^2 -Tests Zusammenhänge untersucht, sowie Spearman-Korrelationen errechnet. Dies geschah nach Umwandlung der intervallskalierten Werte von TPS, CPS und IC in ordinalskalierte Werte, um so den Effekt von Ausreißern zu minimieren.

Für TPS zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase im χ^2 -Test ein hochsignifikanter Zusammenhang mit χ^2 (df=1, n=18) =8,471, p=0,004), wobei die meisten Tumore die Tendenz besaßen, sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Metastase TPS-negativ zu sein.

Ein Fall, der bereits im Primarius TPS-positiv war, blieb dies auch bei Metastasierung in einen LK. Ein Fall wechselte von primärer TPS-Negativität zu TPS-Positivität, während ein Wechsel in die gegenteilige Richtung nie vorkam. Die Konkordanz-Rate zwischen Primarius und LK-Metastase lag somit bei 94,4% (17/18). Zwischen Primarius und Fernmetastase konnten keine Zusammenhangsmaße berechnet werden, da alle 9 Fälle in Primarius und Fernmetastase TPS-negativ und somit konstant waren. Bei ausschließlich negativen Fällen lag die Konkordanz-Rate zwischen Primarius und Fernmetastase somit bei 100% (9/9).

Tabelle 16: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC

Anzahl				Anzahl		
		N_TPS_ord		M_TPS_ord		
		,00	1,00	,00		Gesamt
T_TPS_ord	,00	16	1			
	1,00	0	1			
Gesamt		16	2			18

		M_TPS_ord			
		,00	Gesamt		
T_TPS_ord	,00	9			9
Gesamt		9			9

Bei Betrachtung des Kollektivs der im Primarius tripel-negativen Fälle ergab sich dabei für die TPS-Werte zwischen Primarius und LK-Metastase eine hochsignifikante starke Korrelation nach Spearman mit $r=0,686$ ($n=18$, $p=0,002$). Der Korrelationskoeffizient im TNBC-Kollektiv war somit um 0,115 höher als im Gesamtkollektiv. Eine Korrelation zwischen Primarius und Fernmetastase ($n=9$) sowie zwischen LK- und der Fernmetastase ($n=2$) konnte nicht errechnet werden, da die Variable nur mit der Ausprägung TPS-negativ vorlag und somit konstant war.

Tabelle 17: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC

		T_TPS_ord	N_TPS_ord	M_TPS_ord
Spearman-Rho	T_TPS_ord	Korrelationskoeffizient	--	
		Sig. (2-seitig)	.	
		N	25	
N_TPS_ord		Korrelationskoeffizient	,686**	--
		Sig. (2-seitig)	,002	.
		N	18	18
M_TPS_ord		Korrelationskoeffizient	.	.
		Sig. (2-seitig)	.	.
		N	9	2

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

Im Folgenden werden nur noch die Streudiagramme zur Darstellung des Zusammenhangs zwischen Primarius und LK-Metastase dargestellt, da sich nur für diese Konstellation bedeutsame Korrelationskoeffizienten ergaben.

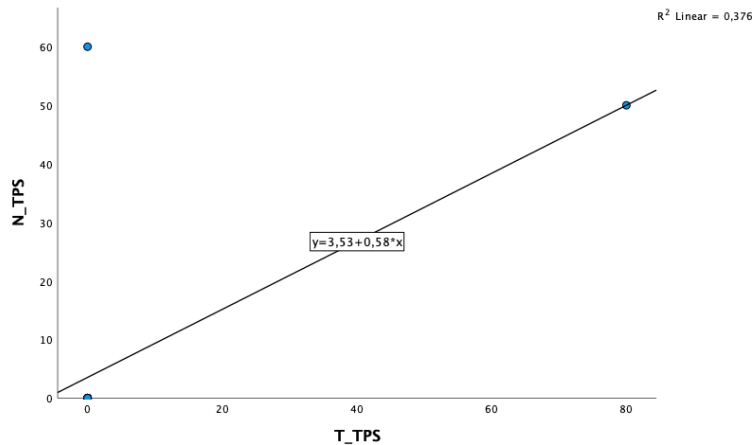


Abbildung 40: Zusammenhang der TPS-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase beim TNBC

Für CPS ließ sich zwischen Primarius und LK-Metastase ein hochsignifikanter Zusammenhang feststellen (χ^2 (df=4, n=18) = 18,964, $p < 0,001$). Die meisten Tumore wiesen in der zugehörigen Metastase den gleichen CPS-Status auf wie im Primarius. Drei von 18 Fällen wurden bei primärer CPS-Negativität in der LK-Metastase positiv. Kein einziger Fall wechselte hingegen von CPS-positiv zu CPS-negativ. Die Konkordanz zwischen Primarius und LK-Metastase war hoch und betrug 83,3% (15/18). Zwischen Primarius und Fernmetastase ergab sich kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=9) = 2,250, $p = 0,134$). Die meisten Fälle waren auch hier sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Fernmetastase CPS-negativ und die Konkordanz-Rate lag bei 77,78% (7/9).

Tabelle 18: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC

Anzahl					Anzahl					
		N_CPS_ord			Gesamt			M_CPS_ord		Gesamt
		,00	1,00	2,00				,00	1,00	
T_CPS_ord	,00	9	2	1	12	T_CPS_ord	,00	6	0	6
	1,00	0	5	0	5		1,00	2	1	3
	2,00	0	0	1	1		Gesamt	8	1	9
Gesamt		9	7	2	18					

Bei Betrachtung der ordinalskalierten CPS-Werte zeigte sich im TNBC-Kollektiv zwischen Primarius und LK-Metastase eine hochsignifikante starke Spearman-Korrelation mit $r = 0,664$ ($n = 18$, $p < 0,003$). Der Korrelationskoeffizient war im tripel-negativen Kollektiv um 0,226 höher als im Gesamtkollektiv. Zwischen Primarius und Fernmetastase ($n = 9$) zeigte sich keine signifikante Korrelation. Zwischen LK- und Fernmetastase ($n = 2$) ließ sich keine Korrelation errechnen, da mindestens eine der Variablen konstant war.

Tabelle 19: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC

		T_CPS_ord	N_CPS_ord	M_CPS_ord
Spearman-Rho	T_CPS_ord	--		
	Korrelationskoeffizient			
	Sig. (2-seitig)			
N_CPS_ord	N	25		
	Korrelationskoeffizient	,664**	--	
	Sig. (2-seitig)	,003	.	
M_CPS_ord	N	18	18	
	Korrelationskoeffizient	,500	.	--
	Sig. (2-seitig)	,170	.	.
	N	9	2	9

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

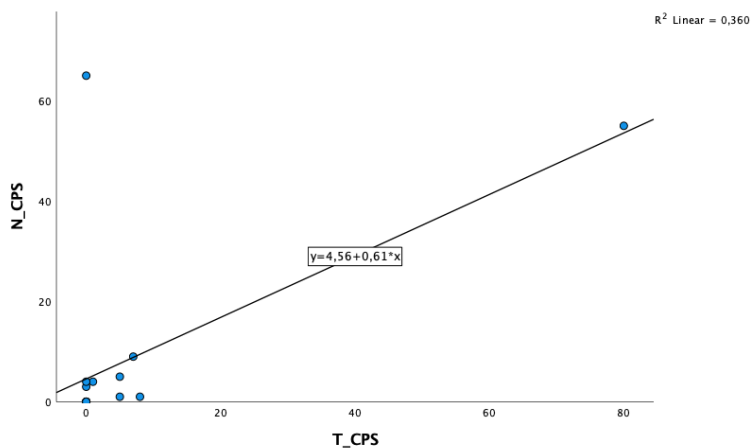


Abbildung 41: Zusammenhang der CPS-Werte in Primarius und Lymphknotenmetastase beim TNBC

Auch für IC zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=18) =9, p=0,003), wobei die Hälfte der Tumore konstant IC-negativ war. Ein Drittel zeigte sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen LK-Metastase positive IC-Werte. Drei von 18 Fällen wurden bei vorheriger IC-Negativität in der LK-Metastase IC-positiv. Kein einziger Fall wechselte von primärer IC-Positivität zu IC-Negativität. Die Konkordanz-Rate lag insgesamt bei 83,3% (15/18). Zwischen Primarius und Fernmetastase ergab sich kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=9) =2,250, p=0,134). Zwei Drittel der Fälle waren sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Fernmetastase IC-negativ. Unter den Fernmetastasen gab es zwei Fälle (22,22%) die von primärer IC-Positivität zu einer IC-Negativität wechselten, während kein einziger Fall eine IC-Positivität neu erwarb. Die Konkordanz lag somit bei 77,78% (7/9).

Tabelle 20: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim TNBC

Anzahl	N_IC_ord			Gesamt	Anzahl	M_IC_ord			Gesamt
	,00	1,00				,00	1,00		
T_IC_ord	,00	9	3	12	T_IC_ord	,00	6	0	6
	1,00	0	6	6		1,00	2	1	3
Gesamt		9	9	18	Gesamt		8	1	9

Für die ordinalskalierten IC-Werte des TNBC-Kollektivs ergab sich zwischen Primarius und LK-Metastase eine hochsignifikante starke Korrelation nach Spearman mit $r=0,707$ (n=18, $p<0,001$). Der Korrelationskoeffizient des TNBC-Kollektivs war damit um 0,261 höher als der

des Gesamtkollektivs. Zwischen Primarius und Fernmetastase (n=9) zeigte sich keine signifikante Korrelation. Zwischen LK- und Fernmetastase (n=2) ließ sich keine Korrelation errechnen.

Tabelle 21: Spearman-Korrelation der ordinalskalierten IC-Werte von Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase beim TNBC

		T_IC_ord	N_IC_ord	M_IC_ord	
Spearman-Rho	T_IC_ord	Korrelationskoeffizient	--		
		Sig. (2-seitig)	.		
		N	25		
	N_IC_ord	Korrelationskoeffizient	,707**	--	
		Sig. (2-seitig)	,001	.	
		N	18	18	
	M_IC_ord	Korrelationskoeffizient	,500	.	--
		Sig. (2-seitig)	,170	.	.
		N	9	2	9

** Die Korrelation ist auf dem 0,01 Niveau signifikant (zweiseitig).

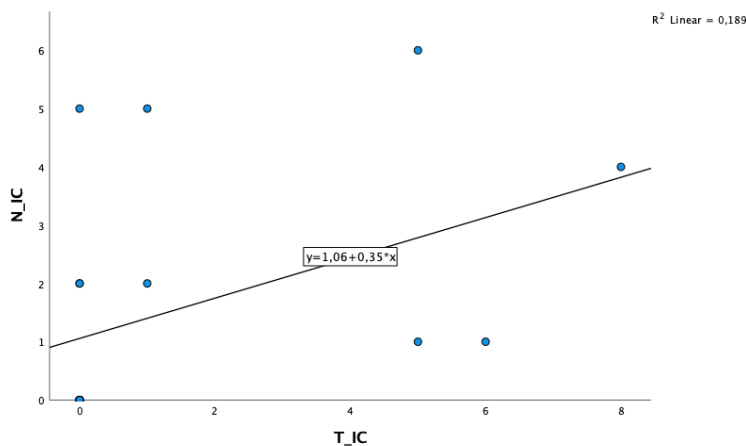


Abbildung 42: Zusammenhang der IC-Werte in Primarius und Lymphnotenmetastase beim TNBC

5.3.4 Zusammenhang der PD-L1 Werte zwischen Primarius, Lymphknoten- und Fernmetastase bei den anderen intrinsischen Subtypen

Für alle Subtypen wurden Kreuztabellen erstellt und der χ^2 -Test und die Korrelationsberechnung nach Spearman durchgeführt, um die Konkordanz-Raten und eventuelle Zusammenhänge der PD-L1-Expression zwischen Primarius und LK- bzw. Fernmetastasen aufzudecken.

5.3.4.1 Luminal-A

Für die TPS-Werte des Luminal-A Subtyps (n=37) konnten keine Zusammenhangsmaße berechnet werden, da alle Fälle sowohl in Primarius und LK- als auch in Primarius und Fernmetastase negativ und somit konstant waren. Die Konkordanz betrug damit 100% (22/22) zwischen T und N und 100% (25/25) zwischen T und M.

Tabelle 22: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A

Anzahl				Anzahl			
		N_TPS_ord				M_TPS_ord	
		,00	Gesamt			,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	22	22	T_TPS_ord	,00	25	25
Gesamt		22	22	Gesamt		25	25

Bei Betrachtung der CPS-Werte ergab sich zwischen T und N eine hohe Konkordanz von 86,3% (19/22) und zudem ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=22) =7,480, p=0,006) und eine hochsignifikante starke Spearman-Korrelation mit r=0,583 (n=22, p=0,004). Zwischen T und M zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=25) =0,043, p=0,835) und auch keine Korrelation (r=-0,042, n=25, p=0,843), obwohl die Konkordanz zwischen T und M 92% (23/25) betrug.

Tabelle 23: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A

Anzahl					Anzahl				
		N_CPS_ord					M_CPS_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	1,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	17	3	20	T_CPS_ord	,00	23	1	24
	1,00	0	2	2		1,00	1	0	1
Gesamt		17	5	22	Gesamt		24	1	25

Bei Betrachtung der IC-Werte ergab sich zwischen T und N ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=22) =7,480, p=0,006) und eine hochsignifikante starke Korrelation nach Spearman (r=0,583, n=22, p=0,004). Die Konkordanz-Rate betrug wie bei CPS 86,3% (19/22). Zwischen T und M zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=25) =0,043, p=0,835) und auch keine Korrelation nach Spearman (r=-0,042, n=25, p=0,843), trotz einer ebenfalls hohen Konkordanz mit 92% (23/25).

Tabelle 24: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-A

Anzahl					Anzahl				
		N_IC_ord					M_IC_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	1,00	Gesamt
T_IC_ord	,00	17	3	20	T_IC_ord	,00	23	1	24
	1,00	0	2	2		1,00	1	0	1
Gesamt		17	5	22	Gesamt		24	1	25

5.3.4.2 Luminal-B/HER2-negativ

Bei diesem Subtyp (n=62) konnte für die TPS-Werte von Primarius und zugehöriger LK-Metastase kein Zusammenhangsmaß berechnet werden, da alle TPS-Werte der Primärtumoren negativ und somit konstant waren. Die Konkordanz-Rate betrug 97,8% (45/46). Zwischen T und M lag ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=32) =32, p<0,001)

sowie eine hochsignifikante Spearman-Korrelation mit $r=1$ ($n=32$, $p<0,000$) vor. Die Konkordanz zwischen T und M betrug 100% (32/32).

Tabelle 25: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ

Anzahl		N_TPS_ord			Anzahl		M_TPS_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	1,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	45	1	46	T_TPS_ord	,00	31	0	31
T_TPS_ord	1,00				T_TPS_ord	1,00	0	1	1
Gesamt		45	1	46	Gesamt		31	1	32

Für die CPS-Werte ergab sich zwischen T und N ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 ($df=4$, $n=46$) =16,135, $p=0,003$), jedoch keine signifikante Korrelation ($r=0,258$, $n=46$, $p=0,084$). Die Konkordanz zwischen T und N lag bei 63% (29/46). Zwischen T und M zeigte sich ein hochsignifikanter Zusammenhang (χ^2 ($df=4$, $n=32$) =16,088, $p=0,003$), ebenfalls aber keine signifikante Korrelation ($r=0,116$, $n=32$, $p=0,529$), während die Konkordanz-Rate 75% (24/32) betrug.

Tabelle 26: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ

Anzahl		N_CPS_ord			Anzahl		M_CPS_ord				
		,00	1,00	2,00			Gesamt	,00	1,00	2,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	21	10	1	32	T_CPS_ord	,00	23	4	1	28
T_CPS_ord	1,00	6	6	1	13	T_CPS_ord	1,00	3	0	0	3
T_CPS_ord	2,00	0	0	1	1	T_CPS_ord	2,00	0	0	1	1
Gesamt		27	16	3	46	Gesamt		26	4	2	32

Bei Betrachtung der IC-Werte ergab sich zwischen T und N kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 ($df=1$, $n=46$) =2,741, $p=0,098$) und keine signifikante Spearman-Korrelation ($r=0,244$, $n=46$, $p=0,102$). Die Konkordanz der IC-Werte zwischen T und N betrug 65,2% (30/46). Zwischen T und M zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 ($df=1$, $n=32$) =0,117, $p=0,732$) und keine Korrelation ($r=0,061$, $n=32$, $p=0,742$). Die Konkordanz lag wie bei den CPS-Werten bei 75% (24/32).

Tabelle 27: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ

Anzahl		N_IC_ord			Anzahl		M_IC_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	1,00	Gesamt
T_IC_ord	,00	22	10	32	T_IC_ord	,00	23	5	28
T_IC_ord	1,00	6	8	14	T_IC_ord	1,00	3	1	4
Gesamt		28	18	46	Gesamt		26	6	32

5.3.4.3 Luminal-B/HER2-positiv

Auch bei diesem Subtyp ($n=10$) konnten für TPS keine Zusammenhangsmaße berechnet werden, da alle Fälle sowohl in Primarius und LK- als auch in Primarius und Fernmetastase

negativ und somit konstant waren, was bedeutet, dass die Konkordanz bei jeweils 100% (5/5 bei T/N bzw. 7/7 bei T/M) lag.

Tabelle 28: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-positiv

Anzahl				Anzahl			
		N_TPS_ord				M_TPS_ord	
		,00	Gesamt			,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	5	5	T_TPS_ord	,00	7	7
Gesamt		5	5	Gesamt		7	7

Innerhalb der CPS-Werte ergab sich zwischen T und N ein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=5) =5, p=0,025) und eine hochsignifikante starke Korrelation nach Spearman mit r=1 (n=5, p<0,001), da die Konkordanz-Rate bei 100% (5/5) lag. Zwischen T und M konnte kein Zusammenhangsmaß errechnet werden, da alle Fernmetastasen-Proben (n=7) CPS-negativ und somit konstant waren. Die Konkordanz zwischen T und M betrug 71,4% (5/7).

Tabelle 29: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ

Anzahl				Anzahl				
		N_CPS_ord				M_CPS_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	3	0	3	T_CPS_ord	,00	5	5
	1,00	0	2	2		1,00	2	2
Gesamt		3	2	5	Gesamt		7	7

Bei Betrachtung der IC-Werte ergab sich zwischen T und N ein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=5) =5, p=0,025), wie auch eine hochsignifikante starke Korrelation mit r=1 (n=5, p<0,001). Die Konkordanz-Rate lag erneut bei 100% (5/5). Zwischen T und M konnte auch innerhalb der IC-Werte kein Zusammenhangsmaß errechnet werden, da alle Fernmetastasen-Proben (n=7) einen negativen Wert aufwiesen und somit konstant waren. Die Konkordanz lag wie bei CPS bei 71,4% (5/7).

Tabelle 30: Kreuztabelle für die ordinalskalierten IC-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase (links) bzw. von Primarius und Fernmetastase (rechts) beim Subtyp Luminal-B/HER2-negativ

Anzahl				Anzahl				
		N_IC_ord				M_IC_ord		
		,00	1,00	Gesamt			,00	Gesamt
T_IC_ord	,00	3	0	3	T_IC_ord	,00	5	5
	1,00	0	2	2		1,00	2	2
Gesamt		3	2	5	Gesamt		7	7

5.3.4.4 HER2-positiv

Bei diesem Subtyp (n=4) lagen nur LK- und keine Fernmetastasen vor. Für TPS konnten keine Zusammenhangsmaße berechnet werden, da alle Fälle sowohl in Primarius und LK-Metastase negativ und somit konstant waren, was bedeutet, dass die Konkordanz 100% (4/4) betrug.

Tabelle 31: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lymphknotenmetastase beim Subtyp HER2-positiv

Anzahl	N_TPS_ord	
	,00	Gesamt
T_TPS_ord ,00	4	4
Gesamt	4	4

Für die CPS-Werte ergab sich zwischen T und N kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=4) =0,444, p=0,505), wie auch keine signifikante Spearman-Korrelation (r=0,333, n=4, p<0,667). Die Konkordanz betrug nur 50% (2/4). Die gleichen Ergebnisse gelten für die IC-Werte.

Tabelle 32: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lymphknotenmetastase beim Subtyp HER2-positiv

Anzahl	N_CPS_ord		
	,00	1,00	Gesamt
T_CPS_ord ,00	1	0	1
1,00	2	1	3
Gesamt	3	1	4

Anzahl	N_IC_ord		
	,00	1,00	Gesamt
T_IC_ord ,00	1	0	1
1,00	2	1	3
Gesamt	3	1	4

5.4 Ergebnisse zur vierten Fragestellung: Gibt es einen Unterschied in der PD-L1-Expression je nach Metastasen-Lokalisation?

5.4.1 Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Metastasen-Lokalisation

Wie in den Ergebnissen zur Beantwortung der ersten Fragestellung bereits beschreiben, ergaben sich für die LK-Metastasen (n=95) deutlich höhere PD-L1-Positivitätsraten als für die Fernmetastasen (n=73). Von den LK-Metastasen waren 3,2%, 37,9% bzw. 36,8% positiv für TPS, CPS und IC; von den Fernmetastasen-Proben waren es hingegen nur 1,4%, 11% und 11%. Die Mittelwerte der LK-Metastasen für CPS und IC lagen zudem deutlich über denen der Fernmetastasen. Nur für TPS erreichten letztere einen leicht höheren Mittelwert.

Bei Betrachtung der unterschiedlichen Lokalisationen der Fernmetastasen zeigt sich jedoch, dass sich die TPS-, CPS- und IC-Positivitätsraten und Mittelwerte je nach Metastasierungsart teils deutlich unterscheiden:

Von den Lebermetastasen (n=32) zeigte sich kein Fall (0%) TPS-positiv. 4 Fälle (12,5%) waren CPS-niedrig-positiv bzw. IC-positiv mit Werten von 0 bis 2 bzw. 0 bis 1.

Bei Betrachtung von ausschließlich ossären Metastasen (n=25) wiesen 0% TPS-positive Werte auf. Ein Fall (4%) wies einen stark-positiven CPS mit einem Wert von 20 auf und war zudem der einzige Fall mit IC-Positivität, welche eine Ausprägung von 15 zeigte. Die PD-L1-Positivität war in diesem Einzelfall im Vergleich zum Primarius neu erworben worden, es lagen

jedoch bereits 4 Jahre zuvor eine PD-L1-positive LK-Metastase vor, die zeitgleich mit dem Primarius entnommen worden war.

In Lunge und Pleura (n=5) waren erneut 0% TPS-positiv. Ein Fall (20%) war je CPS-schwach positiv bzw. IC-positiv. Die CPS- und IC-Werte lagen somit jeweils zwischen 0 und 2.

Bei Untersuchung der im Peritoneum lokalisierten Metastasen (n=4) wies kein Fall (0%) TPS- positive Werte auf. Je ein Fall (25%) war CPS-schwach positiv bzw. IC-positiv mit Werten von 4 bzw. 3.

Von den Hautmetastasen (n=5) war eine Probe (20%) TPS-positiv. Ebenso erwies sich diese eine Probe (20%) als CPS-stark-positiv bzw. IC-positiv. Der erreichte TPS und CPS betrug jeweils die maximale Ausprägung von 100, während IC mit einer Ausprägung von 5 vorlag.

Die beiden Fernmetastasen sonstiger Lokalisation (n=2) wiesen sowohl für TPS als auch für CPS und IC einheitlich negative Werte auf.

In der Abbildung sind die Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Lokalisation der Fernmetastase dargestellt (s. Legende). Die jeweiligen Mittelwerte mit ihrer Standardabweichung und der Anzahl der zu der entsprechenden Lokalisation gehörigen Fälle sind in der folgenden Tabelle aufgelistet. Der hohe Mittelwert in Lokalisation 5 (der Haut) beruht ausschließlich auf einer einzigen Probe des Subtyps 2 (Luminal-B/HER2-negativ), die für TPS und CPS in Primarius und Metastase die Werte 100 erreichte. Alle anderen vier Hautmetastasen waren TPS, CPS und IC-negativ.

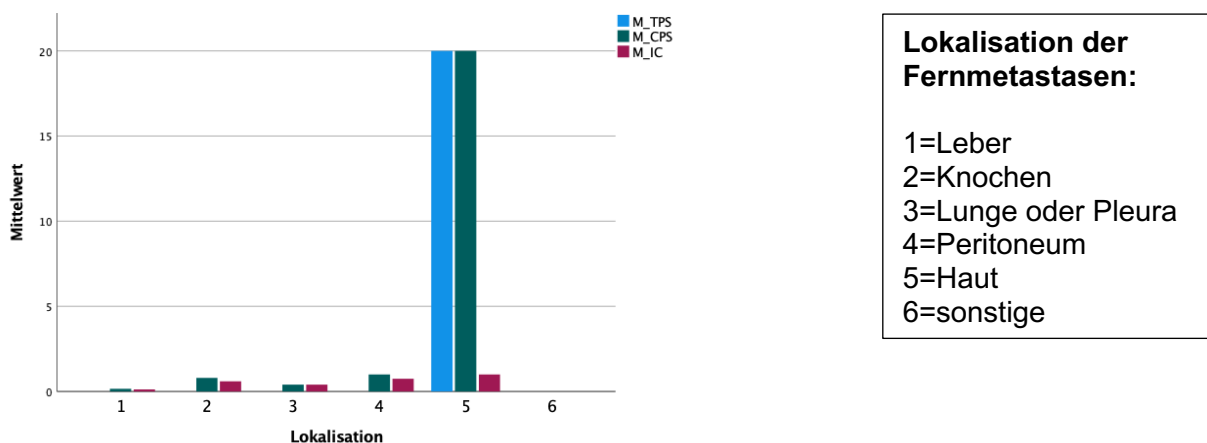


Abbildung 43: Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Lokalisation der Fernmetastase

Tabelle 33: Mittelwerte mit Standardabweichungen von TPS, CPS und IC je nach Lokalisation der Fernmetastase

Lokalisation		M_TPS	M_CPS	M_IC
1	Mittelwert	,00	,16	,13
	N	32	32	32
	Std.-Abweichung	,000	,448	,336
2	Mittelwert	,00	,80	,60
	N	25	25	25
	Std.-Abweichung	,000	4,000	3,000
3	Mittelwert	,00	,40	,40
	N	5	5	5
	Std.-Abweichung	,000	,894	,894
4	Mittelwert	,00	1,00	,75
	N	4	4	4
	Std.-Abweichung	,000	2,000	1,500
5	Mittelwert	20,00	20,00	1,00
	N	5	5	5
	Std.-Abweichung	44,721	44,721	2,236
6	Mittelwert	,00	,00	,00
	N	2	2	2
	Std.-Abweichung	,000	,000	,000
Insgesamt	Mittelwert	1,37	1,79	,40
	N	73	73	73
	Std.-Abweichung	11,704	11,898	1,884

5.4.1.1 Häufigkeiten und Mittelwerte von TPS, CPS und IC je nach Metastasen-Lokalisation beim TNBC

Im tripel-negativen Kollektiv lagen hohe PD-L1-Positivitätsraten der LK-Metastasen (n=18) vor. Im Vergleich zu den Fernmetastasen (n=9) waren sowohl die TPS-Werte (11,1% vs. 0%) als auch die CPS und IC-Werte (je 50% vs. 11,1%) der LK-Metastasen deutlich häufiger positiv. In den Ergebnissen zur dritten Fragestellung wurde die Verteilung der LK- und der zusammengefassten Fernmetastasen des TNBC-Kollektivs bereits eingehend beleuchtet.

Bei Unterteilung der 9 Fernmetastasen je nach ihren anatomischen Lokalisationen waren 6 Metastasen in der Leber lokalisiert, eine im Knochen (ossär) und zwei Fälle waren Hautmetastasen. 8 der 9 Fernmetastasen waren sowohl für TPS als auch für CPS und IC negativ. Eine Lebermetastase (in der Abbildung Lokalisation 1) wies für TPS zwar den Wert 0, für CPS und IC jedoch den Wert 1 auf. Somit liegt die CPS- und IC-Positivitätsrate der TNBC-Lebermetastasen bei 16,67% (1/6). Für die Knochen- (Lokalisation 2) und Hautmetastasen (Lokalisation 5) ergeben sich Positivitätsraten von je 0%, wobei die kleine Stichprobengröße keine repräsentativen Daten ermöglicht.

Die jeweiligen Mittelwerte je nach Lokalisation werden in der Abbildung dargestellt und mit der jeweiligen Standardabweichung und der Anzahl der Fälle in der folgenden Tabelle aufgelistet.

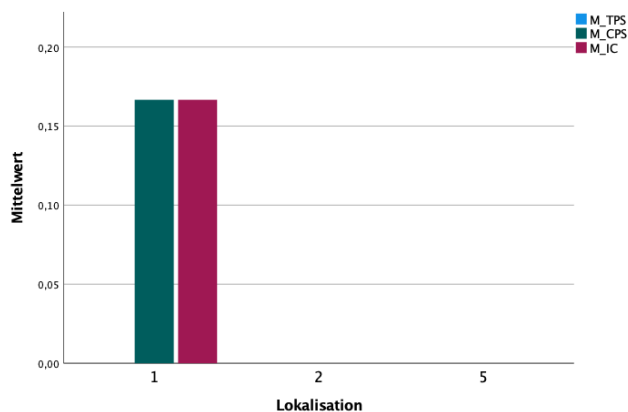


Abbildung 44: Mittelwerte von TPS, CPS und IC beim TNBC je nach Lokalisation der Fernmetastase

Tabelle 34: Mittelwerte mit Standardabweichungen von TPS, CPS und IC beim TNBC je nach Lokalisation der Fernmetastase

Lokalisation		M_TPS	M_CPS	M_IC
1	Mittelwert	,00	,17	,17
	N	6	6	6
	Std.-Abweichung	,000	,408	,408
2	Mittelwert	,00	,00	,00
	N	1	1	1
	Std.-Abweichung	.	.	.
5	Mittelwert	,00	,00	,00
	N	2	2	2
	Std.-Abweichung	,000	,000	,000
Insgesamt	Mittelwert	,00	,11	,11
	N	9	9	9
	Std.-Abweichung	,000	,333	,333

5.4.2 Zusammenhänge der PD-L1-Werte zwischen Primarius und Fernmetastasen je nach anatomischer Lokalisation

Auch für die ordinalskalierten PD-L1-Werte der unterschiedlichen Metastasen-Lokalisationen wurden Kreuztabellen angefertigt sowie der χ^2 -Test und die Korrelation nach Spearman berechnet. Insgesamt fanden sich außer bei den TPS-Werten der Hautmetastasen keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Primarius und Fernmetastase. Insgesamt sind die teils sehr geringen Fallzahlgrößen der jeweiligen Fernmetastasen-Lokalisationen zu beachten. Im Vergleich dazu lagen für die LK-Metastasen (n=95) signifikante Zusammenhänge sowie hochsignifikante Spearman-Korrelationen vor, wie in den Ergebnissen zur zweiten Fragestellung bereits beschrieben. Die Ergebnisse der Fernmetastasen je nach Lokalisation sind im Folgenden aufgeführt:

5.4.2.1 Lebermetastasen

Für die Fernmetastasen der Grundgesamtheit mit Lokalisation in der Leber (n=32) ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge:

Für die TPS-Werte von Primarius und zugehöriger Fernmetastase konnte kein Zusammenhangsmaß berechnet werden, da alle TPS-Werte der Primärtumoren und der Lebermetastasen negativ und somit konstant waren. Die Konkordanz der TPS-Werte betrug 100% (32/32).

Tabelle 35: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lebermetastasen

Anzahl		M_TPS_ord	
		,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	32	32
Gesamt		32	32

Bei Betrachtung der CPS-Werte ergab sich zwischen T und M kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=32) =1,314, p=0,252) und auch keine signifikante Korrelation (r=0,203, n=32, p=0,266). Die gleichen Zahlen gelten auch für die IC-Werte. Die Konkordanzen lagen jeweils bei 84,38% (27/32).

Tabelle 36: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lebermetastasen

Anzahl		M_CPS_ord		
		,00	1,00	Gesamt
T_CPS_ord	,00	26	3	29
	1,00	2	1	3
Gesamt		28	4	32

Anzahl		M_IC_ord		
		,00	1,00	Gesamt
T_IC_ord	,00	26	3	29
	1,00	2	1	3
Gesamt		28	4	32

5.4.2.2 Ossäre Metastasen

Für die Fernmetastasen der Grundgesamtheit mit Lokalisation in knöchernen Strukturen (n=25) fanden sich keine signifikanten Zusammenhänge:

Für die TPS-Werte zwischen T und M konnte kein Zusammenhangsmaß berechnet werden, da alle TPS-Werte der Primärtumoren und der ossären Metastasen negativ und somit konstant waren, weshalb die Konkordanz 100% (25/25) betrug.

Tabelle 37: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und ossären Metastasen

Anzahl		M_TPS_ord	
		,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	25	25
Gesamt		25	25

Bei Betrachtung der CPS-Werte ergab sich zwischen T und M kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=25) =0,198, p=0,656). In der Korrelation nach Spearman ergab sich ebenfalls keine Korrelation (r=-0,089, n=25, p=0,672). Die gleichen Zahlen gelten auch für die IC-Werte. Die Konkordanzen für CPS und IC lagen bei 80% (20/25).

Tabelle 38: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und ossären Metastasen

Anzahl				Anzahl					
		M_CPS_ord		Gesamt			M_IC_ord		Gesamt
		,00	2,00				,00	1,00	
T_CPS_ord	,00	20	1	21	T_IC_ord	,00	20	1	21
	1,00	4	0	4		1,00	4	0	4
Gesamt		24	1	25	Gesamt		24	1	25

5.4.2.3 Lungen- und Pleura-Metastasen

Auch für die Fernmetastasen der Grundgesamtheit mit Lokalisation in Lunge- und Pleura (n=5) ergaben sich keine signifikanten Zusammenhänge:

Für die TPS-Werte von Primarius und zugehöriger Fernmetastase konnte kein Zusammenhangsmaß berechnet werden, da alle TPS-Werte der Primärtumoren und der in Lunge- oder Pleura lokalisierten Metastasen negativ und somit konstant waren, womit die Konkordanz-Rate 100% (5/5) betrug.

Tabelle 39: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Lungen- oder Pleura-Metastasen

Anzahl			
		M_TPS_ord	Gesamt
		,00	
T_TPS_ord	,00	5	5
Gesamt		5	5

Innerhalb der CPS-Werte zeigte sich zwischen T und M kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=5) =0,313, p=0,576) und keine Spearman-Korrelation (r=-0,250, n=5, p=0,685). Hier lag die Konkordanz bei nur 60% (3/5). Die gleichen Zahlen gelten auch für die IC-Werte.

Tabelle 40: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und Lungen- oder Pleura-Metastasen

Anzahl				Anzahl					
		M_CPS_ord		Gesamt			M_IC_ord		Gesamt
		,00	1,00				,00	1,00	
T_CPS_ord	,00	3	1	4	T_IC_ord	,00	3	1	4
	1,00	1	0	1		1,00	1	0	1
Gesamt		4	1	5	Gesamt		4	1	5

5.4.2.4 Peritoneale Metastasen

Für die Fernmetastasen der Grundgesamtheit mit Lokalisation im Peritoneum (n=4) ergaben sich aus Kreuztabellen, χ^2 -Test und Spearman-Korrelation keine Ergebnisse:

Für die TPS-, CPS- und IC-Werte von Primarius und zugehöriger Fernmetastase konnte kein Zusammenhangsmaß berechnet werden, da alle TPS-, CPS- und IC-Werte der Primärtumoren und der im Peritoneum lokalisierten Metastasen negativ und somit konstant waren. Die Konkordanz beträgt somit 100% (4/4) für TPS und je 75% (3/4) für CPS und IC.

Tabelle 41: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und peritonealen Metastasen

Anzahl		M_TPS_ord	
		,00	Gesamt
T_TPS_ord	,00	4	4
Gesamt		4	4

Tabelle 42: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS- (links) und IC-Werte (rechts) von Primarius und peritonealen Metastasen

Anzahl		M_CPS_ord		Gesamt
		,00	1,00	
T_CPS_ord	,00	3	1	4
Gesamt		3	1	4

Anzahl		M_IC_ord		Gesamt
		,00	1,00	
T_IC_ord	,00	3	1	4
Gesamt		3	1	4

5.4.2.5 Hautmetastasen

Für die Fernmetastasen der Grundgesamtheit mit Lokalisation in der Haut (n=5) ergaben sich nur für die TPS-Werte signifikante Zusammenhänge zwischen T und M:

Für TPS lag ein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=5) =5, p=0,025) und eine hochsignifikante starke Korrelation mit r=1 (n=5, p<0,001) vor und die Konkordanz-Rate erreichte 100% (5/5).

Tabelle 43: Kreuztabelle für die ordinalskalierten TPS-Werte von Primarius und Hautmetastasen

Anzahl		M_TPS_ord		Gesamt
		,00	1,00	
T_TPS_ord	,00	4	0	4
	1,00	0	1	1
Gesamt		4	1	5

Bei Betrachtung der CPS-Werte ergab sich zwischen T und M kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=2, n=5) =5, p=0,082). In der Korrelation nach Spearman ergab sich eine starke, aber nicht signifikante Korrelation mit r=0,791 (n=5, p=0,111). Ebenso zeigte sich innerhalb der IC-Werte kein signifikanter Zusammenhang (χ^2 (df=1, n=5) =1,875, p=0,171). In der Korrelation nach Spearman ergab sich eine starke, jedoch nicht signifikante Korrelation mit r=0,612 (n=5, p=0,272). Die Konkordanzen für CPS und IC lagen bei je 80% (4/5).

Tabelle 44: Kreuztabelle für die ordinalskalierten CPS-(links) und IC-Werte (rechts) von Primarius Hautmetastasen

Anzahl		M_CPS_ord		Gesamt	Anzahl		M_IC_ord		Gesamt
		,00	2,00				,00	1,00	
T_CPS_ord	,00	3	0	3	T_IC_ord	,00	3	0	3
	1,00	1	0	1		1,00	1	1	2
	2,00	0	1	1		Gesamt	4	1	5
Gesamt		4	1	5			4	1	5

5.4.2.6 Sonstige Metastasen

Die beiden Fernmetastasen sonstiger Lokalisation wiesen sowohl im zugehörigen Primarius als auch in der Metastase selbst für TPS, CPS und IC nur negative Werte auf. Somit konnten keine Zusammenhangsmaße berechnet werden. Die Konkordanz-Raten betragen auf Grund der rein negativen Werte bei diesen beiden Fällen 100% (2/2).

5.4.3 Subtyp und Lokalisation

Auffällig ist bei Betrachtung der einzelnen Metastasen-Lokalisationen die Verteilung von PD-L1-positiven Fällen auf die intrinsischen Subtypen. Innerhalb der einzelnen Metastasen-Lokalisationen zeigten sich für den Subtyp Luminal-B/HER2-negativ über alle Lokalisationen hinweg die höchsten Mittelwerte für TPS, CPS und IC. Lediglich bei den Lebermetastasen waren die gemittelten IC-Werte vom tripel-negativen Subtyp geringgradig höher als die der Luminal-B/HER2-negativen Tumoren.

Die Lebermetastasen (n=32) bestanden aus 8 Metastasen (25%) von Subtyp 1 (Luminal-A), 14 Metastasen (43,8%) von Subtyp 2 (Luminal-B/HER2-negativ), 4 Metastasen (12,5%) von Subtyp 3 (Luminal-B/HER2-positiv) und 6 Metastasen (18,8%) von Subtyp 5 (tripel-negativ).

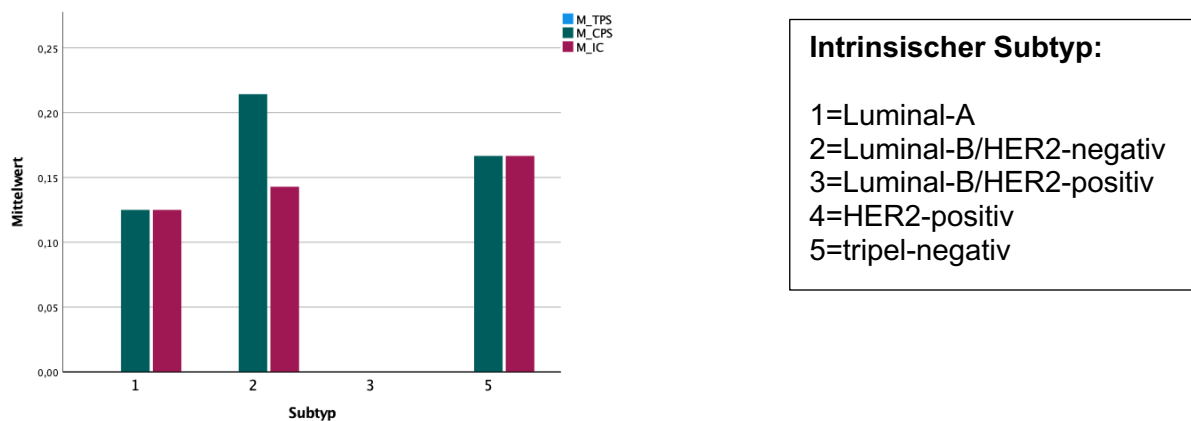


Abbildung 45: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Lebermetastasen

Die Metastasen mit Lokalisation in knöchernen Strukturen (n=25) setzten sich aus 10 Fällen (40%) von Subtyp 1, 12 Fällen (48%) von Subtyp 2, zwei Fällen (8%) von Subtyp 3 und einem Fall (4%) von Subtyp 5 zusammen.

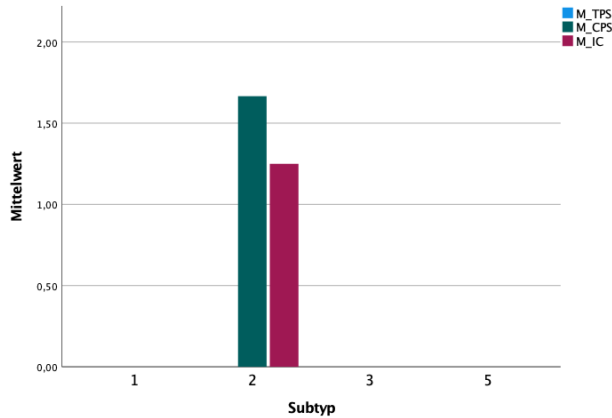


Abbildung 46: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den ossären Metastasen

Die Fernmetastasen in Lunge und Pleura (n=5) bestanden aus einer Metastase (20%) von Subtyp 1, drei Metastasen (60%) von Subtyp 2 und einer Metastase (20%) von Subtyp 3.

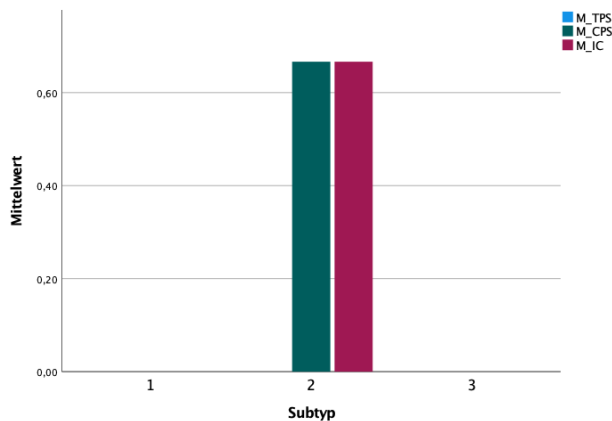


Abbildung 47: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Lungen- und Pleura-Metastasen

Die peritonealen Metastasen (n=4) setzen sich aus drei Fällen (75%) von Subtyp 1 und einem Fall (25%) von Subtyp 2 zusammen.

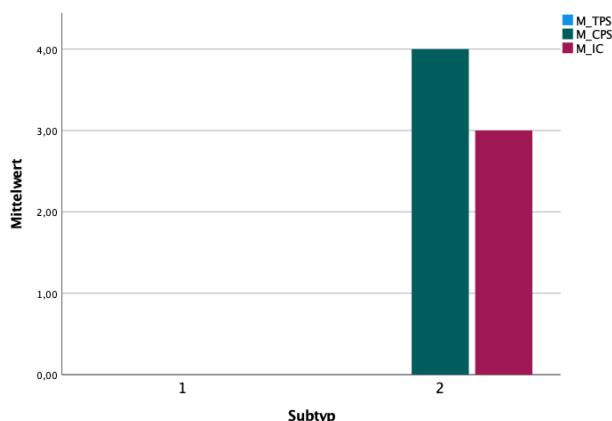


Abbildung 48: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den peritonealen Metastasen

Die Fälle von Hautmetastasen (n=5) bestanden zu einem Fall (20%) aus Subtyp 1 und zu je zwei Fällen (40%) aus Subtyp 2 und Subtyp 5. Hier fand sich ein Fall von Subtyp 2, bei dem sowohl im Primarius als auch in der Fernmetastase TPS und CPS jeweils mit dem Wert 100 angegeben wurden, was den sehr hohen Mittelwert verursachte.

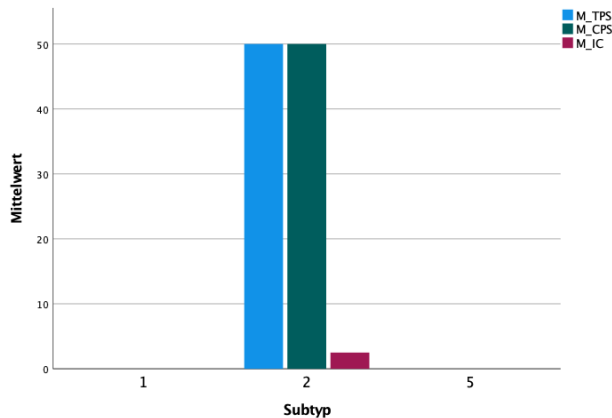


Abbildung 49: Mittelwerte von TPS, CPS und IC der intrinsischen Subtypen in den Hautmetastasen

Die zwei Metastasen sonstiger Lokalisation stammten beide von Subtyp 1 ab und wiesen keine PD-L1-positiven Werte auf.

5.5 Explorative Fragestellung: Bedeutung der PD-L1-Positivität für die Indikation der Therapie mit Pembrolizumab oder Atezolizumab

In der Gesamtpopulation (N=138) ergab sich ein CPS ≥ 10 bei 3 der Primärtumoren (n=138), 5 der LK-Metastasen (n=95) und 2 der Fernmetastasen (n=73). Insgesamt lag bei 7 Patientinnen somit ein CPS ≥ 10 in mindestens einer der drei Lokalisationen vor, wodurch sich für diese Fälle eine Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab ergäbe.

Ein IC ≥ 1 konnte innerhalb der Gesamtpopulation bei 33 der Primärtumoren, bei 35 der LK-Metastasen und bei 8 der Fernmetastasen beobachtet werden. Insgesamt erreichten 54 Fälle einen IC ≥ 1 in einer der drei Lokalisationen und würden somit die Therapieindikation für Atezolizumab erfüllen.

Tabelle 45: Kreuztabelle für die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab und Atezolizumab im Gesamtkollektiv

Anzahl	Indikation Atezolizumab			Gesamt
	,00	1,00		
Indikation Pembrolizumab	,00	84	47	131
	1,00	0	7	7
Gesamt		84	54	138

Nach dieser Beobachtung ergab sich die Frage nach der Überschneidung der beiden durch die jeweiligen cut-off-Werte definierten Therapieindikationen. Die Abweichung von der Zufallsverteilung zeigte sich im χ^2 -Test als hochsignifikant (χ^2 (df=1, n=138) =11,471, $p < 0,001$). Es ergab sich eine moderate Spearman-Korrelation mit $r=0,288$, welche sich als hochsignifikant erwies (n=138, $p < 0,001$).

Innerhalb der TNBC-Population (n=25) ergab sich ein CPS ≥ 10 bei einem Primärtumor (n=25), bei 2 LK-Metastasen (n=18) und bei einer Fernmetastase (n=9). Insgesamt lag bei 2 Patientinnen somit ein CPS ≥ 10 in mindestens einer der drei Lokalisationen vor, wodurch sich für diese Fälle eine Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab ergäbe.

Ein IC ≥ 1 konnte innerhalb des TNBC-Kollektivs bei 9 Primärtumoren, 9 LK-Metastasen und bei einer Fernmetastase festgestellt werden. Somit erreichten 12 Fälle einen IC ≥ 1 in mindestens einer der drei Lokalisationen und somit die Therapieindikation für Atezolizumab.

Tabelle 46: Kreuztabelle für die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab und Atezolizumab im TNBC-Kollektiv

Anzahl		IndikationAtezolizumab		Gesamt
		,00	1,00	
IndikationPembrolizuma b	,00	13	10	23
	1,00	0	2	2
Gesamt		13	12	25

Auf Grund der geringen Stichprobengröße wurde die Kovariation der beiden Variablen weder im χ^2 -Test (χ^2 (df=1, n=25) =2,355, $p < 0,125$) noch in der Spearman-Korrelation ($r=0,307$, $n=25$, $p < 0,136$) signifikant, obwohl die Verteilung der Fälle in der Vierfelder-Tafel das gleiche Muster aufweist wie in der Gesamtstichprobe.

Diskussion

5.6 Studienpopulation

Mit dieser Studienpopulation wurde ein repräsentatives Kollektiv an metastasierten Brustkrebspatientinnen aller Subtypen untersucht. In einigen Aspekten, u.a. bedingt durch die Einschlusskriterien, unterscheidet sich das hier untersuchte Kollektiv allerdings vom Durchschnitt an Brustkrebspatientinnen deutschland- bzw. weltweit. Diese Aspekte sollen im Folgenden kritisch beurteilt werden.

5.6.1 Altersverteilung

Im untersuchten Kollektiv lag das mittlere Alter bei Probenentnahme des Primarius bei 60,38 Jahren mit einer Spannweite von 30 bis 89 Jahren. Median und Modus lagen mit 58,5 bzw. 56 Jahren knapp unter dem Mittelwert. Damit befindet sich das durchschnittliche Alter der Mammakarzinom-Patientinnen leicht unter dem deutschlandweiten Durchschnittsalter von 64 Jahren bei Erstdiagnose, passt aber insgesamt gut zum üblichen Kollektiv (18). Berichten des Robert Koch Institutes zufolge sind etwa 30% der vom Mammakarzinom betroffenen Frauen bei Diagnosestellung jünger als 55 Jahre alt und rund 17% der Betroffenen erkranken sogar vor dem 50. Lebensjahr. Knapp 40% der an Brustkrebs erkrankten Frauen sind älter als 70 Jahre (17). Im Kollektiv dieser Studie waren 29% der Patientinnen bei Probenentnahme 50 Jahre oder jünger, 38,4% 55 Jahre oder jünger und nur 24,6% älter als 70 Jahre. Im untersuchten Studienkollektiv befand sich im Vergleich zu den Daten des RKI somit ein größerer Anteil verhältnismäßig junger Frauen, sowie ein kleinerer Anteil älterer Frauen. Der Großteil der Patientinnen befand sich jedoch im durchschnittlichen Alter der Erstdiagnose.

Das TNBC ist mit einem Erkrankungsbeginn in jüngeren Jahren assoziiert (28). Der Mittelwert des Alters bei Probenentnahme der TNBC-Primärtumore lag mit 55,9 Jahren somit wie zu erwarten noch unter den Werten des Gesamtkollektivs und es zeigte sich eine dreigipflige Häufung um 35, 50 und 70-75 Jahre. Minimum und Maximum lagen bei 30 bzw. 80 Jahren. In der Arbeit von Chen et al., in der 426 TNBC-Patientinnen eingeschlossen waren, reichte das Alter von 25 bis 84 Jahren, mit einem Durchschnittsalter von 53 Jahren (151). Diese Daten korrelieren mit den Ergebnissen des in dieser Arbeit untersuchten Studienkollektivs.

Beim TNBC liegt der Häufigkeitsgipfel des Auftretens von Fernmetastasen im dritten Jahr nach Diagnosestellung (77), bei den weniger aggressiven Subtypen können auch viele Jahre später noch Metastasen auftreten. Dahingegen zeigte sich im Kollektiv der TNBC-Patientinnen in dieser Arbeit, dass die Proben der zugehörigen Fernmetastasen in 55,6% der Fälle im gleichen Jahr und in 44,4% der Fälle ein Jahr nach dem Primarius entnommen wurde. Der Mittelwert lag bei 0,4 Jahren nach Entnahme der Primarius-Probe. Auch im Gesamtkollektiv lag die Entnahme der Fernmetastase über alle Subtypen hinweg im Mittel 3,3 Jahre nach der Entnahme der Primarius-Probe. Es ist also sowohl beim TNBC als auch im Gesamtkollektiv eine deutliche Abweichung von den in der Literatur genannten Werten zu beobachten. Dies könnte auf ein verfrühtes Metastasierungsgeschehen in dem durch diese Arbeit untersuchten Studienkollektiv hinweisen.

Allerdings ist das Alter bei Probenentnahme, wie in dieser Studie angegeben, nicht immer gleichzusetzen mit dem Alter bei Diagnose des Tumors bzw. der Metastase. Da in der Regel bei Erstdiagnose des Mammakarzinoms direkt eine Primarius-Probe entnommen wird, sind das Alter der Patientin bei Erstdiagnose und das Alter bei Entnahme der Primarius-Probe meist übereinstimmend. Doch von den Fernmetastasen-Proben wurde in dieser Arbeit nicht immer die erste vorhandene Probe verwendet, sondern zugunsten der Materialqualität der konservierten Gewebeproben wurden in einigen Fällen aktuellere oder besser erhaltene Proben bevorzugt. Durch dieses Vorgehen wäre eigentlich zu erwarten gewesen, dass der Zeitraum zwischen Primarius- und Metastasen-Probe in dieser Studie verlängert ist. Doch entgegen dieser Erwartung lässt sich ein verkürzter Zeitraum zwischen dem Auftreten von Primarius und Fernmetastase feststellen. Diese im Vergleich mit anderen Daten im Patientenkollektiv verkürzte Dauer bis zur Metastasierung sowie auch das leicht verfrühte

Auftreten eines Mammakarzinoms in der vorliegenden Studie könnte durch die Selektion des verwendeten Kollektivs mitbedingt sein:

Patientinnen, die nach Auftreten ihres Mammakarzinoms (ab 2009) bis spätestens 2020 keine metachrone Fernmetastase entwickelten, wurden nicht eingeschlossen. Durch dieses zeitliche Fenster wurde ein späteres Metastasierungsgeschehen nicht beachtet, wodurch miterklärt werden könnte, wieso im betrachteten Kollektiv der Abstand zwischen Primarius und Metastase im Vergleich mit anderen Studien verkürzt ist. Zudem ist durch die Tatsache, dass das Kollektiv ausschließlich metastasierte Brusttumore enthielt, eine Überrepräsentation von besonders aggressiven Tumoren wahrscheinlich, welche möglicherweise auch früher klinisch sichtbar werden. Insbesondere das aggressivere TNBC ist mit Auftreten in jüngerem Alter verbunden (28).

5.6.2 TNM-Status

Insgesamt wurden, auf Grund der Positivselektion von Patientinnen mit bereits erfolgter Metastasierung, in dieser Studie mehr Patientinnen in fortgeschrittenen Stadien eingeschlossen.

Der TNM-Status wird i.d.R. zwar bei Erstdiagnose, d.h. meist noch vor einer (Fern-) Metastasierung erhoben, doch da die in die Studie eingeschlossenen Patientinnen alle im Verlauf ihrer Erkrankung eine Metastasierung erlitten, ist ein aggressiveres Tumorverhalten und eine damit verbundene größere Tumorgröße zu erwarten (21). Ebenso waren viele der Patientinnen bei Erstdiagnose bereits nodal metastasiert. Denn mit nur einer einzigen (in Mainz entnommenen) LK-Metastase wurden bereits die ersten beiden Einschlusskriterien erfüllt. Dahingegen ist von einer Unterrepräsentation des TNM-Stadiums N0 auszugehen, da Patientinnen, die niemals eine Metastase aufwiesen, nicht in die Studie eingeschlossen wurden.

5.6.3 Tumorgrading

Innerhalb des Gesamtkollektivs fanden sich 3,8% G1-, 43,6% G2- und 52,6% G3-Tumore, womit mäßig und stark entdifferenzierte Tumore gegenüber gering entdifferenzierten Tumoren überproportional häufig vorhanden waren.

In der Studie von Elston und Ellis von 1991, die den prognostischen Wert des Gradings untersuchte und anhand derer das Grading als routinemäßig zu bestimmender Faktor eingeführt wurde, konnten 1830 Fälle von primärem Brustkrebs in 19% als G1-, in 34% als G2- und in 47% als G3-Tumor klassifiziert werden (26). Es zeigt sich also im Vergleich mit diesen Daten, dass G1-Tumore in dem hier betrachteten Kollektiv insgesamt seltener und G2- und G3-Tumoren überproportional häufig vertreten sind. In der Studie von Dill et al., die 245 primäre Mammakarzinome einschloss, waren 51 Fälle (20,8%) G1-, 112 Fälle (45,7%) G2- und 82 Fälle (33,4%) G3-Tumore. Bei diesem Vergleich zeigt sich noch deutlicher, dass innerhalb des untersuchten Gesamtkollektivs überdurchschnittlich viele G3 und unterdurchschnittlich wenig G1-Tumore zu finden sind.

Dieses Phänomen lässt sich gut erklären, da in dieser Studie nur Patientinnen eingeschlossen wurden, welche sich im metastasierten Stadium befanden. Wie bereits beschrieben, tendieren aggressive, stark entdifferenzierte Tumore eher zu einem Metastasierungsverhalten (21). Das bedeutet im Umkehrschluss, dass in der vorliegenden Studie, mit ausschließlich metastasierten Brusttumoren, G3 über- und G1 unterrepräsentiert ist, wenn ein Vergleich mit nicht bzw. nicht ausschließlich metastasierten Patientinnen vollzogen wird.

Bei einem Vergleich mit dem Kollektiv metachron fernmetastasierter Patientinnen von Mason et al. ergibt sich für G1 ein ähnlicher Wert mit 3% der Fälle. 35,6% der Fälle von Mason et al. waren G2- und 61,4% G3-Tumore (152). Diese Werte korrelieren gut mit den in dieser Arbeit erhobenen Daten, was den Zusammenhang zwischen Metastasierung und dem Grad der Entdifferenzierung der Tumorzellen verdeutlicht.

Innerhalb des untersuchten TNBC-Kollektivs waren 4,2% der Patientinnen als G1-, 12,5% als G2- und 83,3% als G3-Tumor eingestuft worden. Damit ist G3 der histologische Grad, der nicht nur im Gesamtkollektiv, sondern auch beim TNBC am häufigsten vertreten ist. Im Vergleich zum Gesamtkollektiv liegt beim TNBC noch eine zusätzliche Häufung der schlecht

differenzieren Tumoren vor. Zudem war das TNBC innerhalb des betrachteten Kollektivs der Subtyp mit dem höchsten Anteil an G3-Tumoren, und die anteilige Differenz zwischen G2- und G3-Tumoren war bei keinem Subtyp so ausgeprägt, wie beim TNBC.

Passend zu dieser Erkenntnis waren auch 95% der TNBC-Tumore in der Studie von Mittendorf et al. G3-Tumore (11). Insgesamt gilt, dass das TNBC mit einem höheren Tumorgrad assoziiert ist (34) und dieser Fakt zeigt sich in den durch diese Arbeit erhaltenen Ergebnissen deutlich.

Zudem besteht eine signifikante Assoziation zwischen PD-L1 positiven Immunzellen in den Primärtumoren und einem stark entdifferenzierten histologischen Tumorgrad (153). Dies passt zu der gewonnenen Erkenntnis, dass das TNBC von allen Subtypen nicht nur derjenige ist, der die höchsten Mittelwerte sowie hohe Raten an PD-L1-Expression in den Primärtumoren aufweist, sondern auch am häufigsten G3-Tumore ausbildet. Insgesamt weisen G3-Tumore eine deutlich schlechtere Prognose auf als weniger entdifferenzierte Tumore (27), was die schlechtere Prognose von TNBC-Patientinnen mitbedingt.

5.6.4 Histologische Subtypen

Im in der Studie eingeschlossenen Kollektiv waren 82% der Fälle der Grundgesamtheit als invasives Karzinom NST, 16,5% als invasiv lobuläres und je 0,8% als muzinöses bzw. neuroendokrines Mammakarzinom klassifiziert worden.

Diese Zahlen entsprechen denen von der American Cancer Society und der WHO angegebenen Zahlen. Dort wird das Karzinom NST mit 80% und das invasiv lobuläre Mammakarzinom mit 15% der Fälle angegeben (6, 24).

Innerhalb des TNBC-Kollektivs galten 95,8% als invasives Karzinom NST und 4,2% als muzinöses Mammakarzinom. Es lag kein einziger Fall von invasiv lobulärem Brustkrebs vor, was verglichen mit der Grundgesamtheit einen deutlichen Unterschied darstellt. Zudem war das NST-Karzinom im TNBC-Kollektiv prozentual betrachtet deutlich häufiger als in der Grundgesamtheit.

Im 426 TNBC-Fälle umfassenden Kollektiv von Chen et al. handelte es sich in 97,4% um invasive Karzinome NST, in 1,1% um invasiv lobuläre und in je 0,7% um adenoid-zystische bzw. um apokrin differenzierte Karzinome (151). Der Anteil der NST-Fälle von Chen et al. ähnelt dem in der vorliegenden Studie vorgefundenen. Unterschiede zeigen sich v.a. bei den selteneren Formen. So lag in dieser Studie kein invasiv lobuläres Karzinom innerhalb des TNBC-Kollektivs vor, während Chen et al. nicht von muzinösen Karzinomen berichten. Die Fallzahlen von Chen et al. sind verglichen mit den 25 TNBC-Fällen in der vorliegenden Studie beträchtlich höher, aber insgesamt zeigt sich, dass das Studienkollektiv dieser Arbeit hinsichtlich der histologischen Subtypen eine annähernd repräsentative Kohorte darstellt.

5.6.5 Intrinsische Subtypen

Innerhalb des untersuchten Kollektivs an metastasierten Patientinnen kam der Luminal B/HER2-negativ Typ mit 44,9% am häufigsten vor, gefolgt vom Luminal-A Subtyp mit 26,8%. Das TNBC stellte 18,1% und der Luminal B/HER2-positiv Typ 7,2% aller Fälle dar. Der HER2-positiv Subtyp machte nur 2,9% aller Fälle aus. Verglichen mit den Zahlen, die das deutsche Krebsforschungszentrum und die die American Cancer Society nennen, weist die Subtyp-Verteilung dieses Kollektivs einige Unterschiede auf:

So wird der Luminal-A Typ mit 40-60% bzw. Luminal-A und Luminal-B/HER2-negativ Typ zusammengenommen mit 73% aller Brustkrebsfälle angegeben. Für Luminal-B werden insgesamt 15-20% und für den Luminal-B/HER2-positiv Typ 11% als Häufigkeit genannt. In Deutschland macht der HER2-positiv Typ ebenfalls 15-20% aus, während für Amerika nur 4% angegeben werden. 10-20% gehören dem tripel-negativen Subtyp an (6, 7).

Es lässt sich somit feststellen, dass in dem hier eingeschlossenen Kollektiv der Luminal-A Typ geringer ausgeprägt ist, wohingegen der Luminal-B Typ mit insgesamt 52,1% einen deutlich größeren Anteil an der Grundgesamtheit ausmacht. Insbesondere der Luminal-B/HER2-negativ scheint überrepräsentiert zu sein. Der Anteil des HER2-positiv Subtyp liegt leicht unterhalb der deutschland- bzw. amerika-weiten Häufigkeit, während das TNBC den in der Literatur angegebenen Häufigkeiten gut entspricht.

Das seltenere Vorkommen des Luminal-A sowie das vermehrte Vorkommen des Luminal-B Subtyps in dem von dieser Studie untersuchten Kollektiv könnte dadurch bedingt sein, dass nur Patientinnen mit metastasiertem Brustkrebs eingeschlossen wurden. Der Luminal-A Subtyp besitzt einen geringen Proliferationsindex (d.h. ein langsames Wachstum) und die beste Prognose aller Mammakarzinome. Der Luminal-B Subtyp unterscheidet sich vom Luminal-A Subtyp durch eine hohe Proliferationsrate, ist also aggressiver. So ist anzunehmen, dass durch den Studieneinschluss von ausschließlich metastasierten Patientinnen, eine negative Selektion des Luminal-A Subtyps sowie eine positive Selektion von Subtypen mit einer schlechteren Prognose und einer somit höheren Wahrscheinlichkeit für Metastasierung stattfand.

In der Studie von Gupta et al., in der 60% der Patientinnen LK-Metastasen aufwiesen, zeigte sich ebenfalls, dass Luminal-A Tumore seltener und Luminal-B-Tumore häufiger vorkamen. Gupta et al. berichteten von 22% Luminal-A, 48% Luminal-B, 8% HER2-positiv und 22% TNBC-Fällen (154), was dem prozentualen Vorkommen der intrinsischen Subtypen im Kollektiv der vorliegenden Arbeit sehr ähnlich ist.

Es zeigt sich insgesamt, dass die Verteilung der intrinsischen Subtypen innerhalb des vorliegenden Kollektivs durchaus vergleichbar ist mit anderen Studien, die sich mit Patientinnen mit fortgeschrittenem oder metastasiertem Mammakarzinom beschäftigen. Insbesondere die 18,1% an TNBC-Tumoren innerhalb des untersuchten Gesamtkollektivs entspricht den in der Literatur beschriebenen 10-20% der Brustkrebspatientinnen (34, 82, 155).

5.7 Verteilung der Ausprägung der PD-L1-Expression in Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase

Für den Primarius (N=138) ergab sich innerhalb des vorliegenden Patientenkollektivs für den TPS ein Mittelwert von 1,3. Die Werte lagen zwischen 0 und 100, wobei nur 1,4% der Patientinnen positive TPS-Werte aufwiesen. Der Mittelwert des CPS betrug 2,36. Auch hier lagen die Werte zwischen 0 und 100. Obwohl 23,9% der Patientinnen im Primärtumor prinzipiell einen positiven CPS-Wert aufwiesen, lagen Werte ≥ 10 , welche für eine Therapieindikation mit Pembrolizumab relevant wären, nur bei 2,2% der Fälle vor. Für den IC der Primärtumore ergab sich ein Mittelwert von 0,8 mit Werten zwischen 0 und 40. Bei insgesamt 23,9% der Fälle lag ein positiver IC-Wert vor. Verglichen mit der aktuellen Literatur zeigen die gewonnenen Ergebnisse Übereinstimmung mit den bisherigen Erkenntnissen.

Matikas et al. kamen im Rahmen einer Metaanalyse zu dem Ergebnis, dass die PD-L1-Positivitätsrate der Tumorzellen bei 24% und der Immunzellen bei 33% liegt, betrachtet man die gepoolten Ergebnisse über alle Subtypen hinweg. Für den gemischten Tumor-/Immunzell-Score ergaben sich in 25% positive Werte (12). In den Untersuchungen von Qin et al. zeigte sich im Gesamtkollektiv eine PD-L1-Positivitätsrate der Tumorzellen von 21,7% (156) und im 650 Brustkrebsproben umfassenden Kollektiv von Muenst et al. wurde PD-L1 in 23,4% der Proben exprimiert (157). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelte Tumorzell-Positivitätsrate liegt zwar deutlich unter diesen Ergebnissen, doch die IC- und CPS-Werte mit Positivitätsraten von je 23,9% entsprechen den von Matikas et al. gefundenen Werten in etwa.

Etwas niedrigere Werte ergaben sich in der Studie von Ali et al., die 2015 die PD-L1-Daten von 3916 Brusttumoren analysierten. Dabei zeigte sich eine PD-L1-Expression von Tumorzellen in nur 1,7%, was beinahe identisch mit dem in dieser Arbeit gefundenen TPS-Wert ist, und eine PD-L1-Expression von Immunzellen in 6% der Fälle, wenn ein Cut-off von $>1\%$ verwendet wurde (158).

Die 47 Studien umfassende Metaanalyse von Huang et al. spiegelt diese Varianz in den gefundenen Positivitätsraten wider. Hier lag der Prozentsatz von PD-L1-Positivität in Tumorzellen zwischen 1,7% und 64% während die PD-L1-Positivität von tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TILs) zwischen 1,07% und 93% lag und insgesamt deutlich höher war als die Positivitätsraten der Tumorzellen (10). Diese teils großen Differenzen der Ergebnisse der einzelnen Studien sind durch die unterschiedlichen methodischen Vorgehensweisen der Studien zu erklären.

Insgesamt lässt sich aber erkennen, dass die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit kongruent mit der bereits bestehenden Literatur sind. Die festgestellte PD-L1-Gesamt-Positivitätsrate liegt bei über 20% und die Positivitätsraten der Tumorzellen sind niedriger als die der Immunzellen, was den Erkenntnissen von Huang, Matikas sowie Ali et al. entspricht. Auch wenn die ermittelte Rate an TPS-positiven Fällen niedriger als in den meisten Studien ist, entspricht sie doch in etwa den von Ali et al. in 3916 Brusttumoren gefundenen 1,7% (158).

Bei der Sichtung der Literatur zu den PD-L1-Positivitätsraten von Metastasen ergibt sich, dass LK-Metastasen i.d.R. höhere Positivitätsraten aufweisen als die Primärtumore. Fernmetastasen sind hingegen seltener PD-L1-positiv.

Passend dazu lag im untersuchten Kollektiv der Mittelwert von TPS der LK-Metastasen (n=95) bei 1,18 mit Werten zwischen 0 und 60. In 3,2% lag ein positiver TPS vor. Der Mittelwert des CPS lag bei 2,96 mit Werten zwischen 0 und 65. 37,9% wiesen einen positiven Wert auf, wobei ein CPS von ≥ 10 nur von 5,3% erreicht wurde. Der Mittelwert des IC lag bei 1,36 mit Werten zwischen 0 und 40. Dabei waren 36,8% IC positiv. Diese Ergebnisse zeigen somit eine Zunahme der PD-L1 Positivitätsraten vom Primarius zur LK-Metastase, sowohl für den TPS als auch für den CPS und IC. Zudem sind die Mittelwerte von CPS und insbesondere IC im Vergleich zu den Primärtumoren erhöht.

Im Gegensatz dazu besitzen Fernmetastasen die Tendenz, weniger PD-L1 als die Primärtumore zu exprimieren. In den Fernmetastasen-Proben (n=73) des vorliegenden Kollektivs lag der TPS-Mittelwert bei 1,37 mit Werten zwischen 0 und 100. Nur ein Wert (1,4%) war positiv und erreichte die maximale Ausprägung von 100. Der Mittelwert des CPS lag bei 1,78 mit Werten zwischen 0 und 100. 11% zeigten eine positive Ausprägung, wobei CPS-Werte ≥ 10 von nur 2,7% erreicht wurden. Für den IC wurde ein Mittelwert von 0,4 errechnet mit Werten zwischen 0 und 15. 11% zeigten eine positive Ausprägung. Die Positivitätsraten für CPS und IC haben sich im Vergleich zu den Primärtumoren somit mehr als halbiert, während der TPS-Wert konstant geblieben ist. Folglich deuten die gewonnenen Ergebnisse auf eine vorhandene Heterogenität der PD-L1-Expression zwischen Primarius, LK- und Fernmetastasen hin.

Auch Li et al. stellten eine räumliche Heterogenität sowohl in den Tumorzellen als auch in den Immunzellen zwischen Primarius und zugehörigen LK-Metastasen fest. Nicht nur war eine PD-L1-Expression in LK-Metastasen (59,41%) deutlich häufiger als in Primärtumoren (38,61%), sondern die PD-L1-Werte der LK-Metastasen waren auch signifikant höher als die der zugehörigen Primärtumore (153), so wie es auch die vorliegende Studie impliziert. Im Unterschied zu dieser Arbeit betrachteten Li et al. allerdings ein reines Kollektiv an synchron LK-metastasierten TNBC-Patientinnen ohne Hinweis auf Fernmetastasierung.

Dill et al. untersuchten 245 primäre und 40 metastasierte Mammakarzinome. Unter den Metastasen waren 20 LK- und 20 Fernmetastasen. Eine PD-L1-Positivität der Tumorzellen konnte bei 12,2% aller Primärtumore festgestellt werden, wobei eine Positivität bei dukталen Karzinomen mit medullären (54%), apokrinen (27%) und metaplastischen Merkmalen (40%) häufiger war. Eine starke Färbung von $>50\%$ der Zellen war insgesamt selten und kam bei nur 2% aller Proben und bei 20% der positiven Proben vor. Eine PD-L1-Positivität von Immunzellen wurde bei 29% aller Primärtumore beobachtet. Dabei zeigten die meisten Proben (40,8%) eine Färbung von 1-10% der Zellen, während 31% 10-25% gefärbte Zellen aufwiesen. Intensive Färbungen mit 25-25% der Zellen kamen bei 19,7% der Fälle vor und eine starke Färbung mit $>50\%$ der Zellen zeigte sich nur in 8,5% der Fälle (159). Damit entspricht die Rate an PD-L1-positiven Immunzellen etwa den in der vorliegenden Studie gefundenen 23,9%. Zudem waren bei Dill et al. wie auch in dieser Arbeit schwach PD-L1-positive Proben am häufigsten vertreten.

Sowohl von den LK- als auch von den Fernmetastasen aus dem Kollektiv von Dill et al. waren je 10% in den Tumorzellen PD-L1-positiv. Insgesamt ließ sich innerhalb der Proben allerdings eine nicht zu vernachlässigende Heterogenität der PD-L1-Expression erkennen (159), was durch die Verwendung von TMA mitbedingt sein könnte. Auch wenn die von Dill et al. berichteten PD-L1-Werte der Tumorzellen höher waren als in der vorliegenden Studie, so zeigt

sich doch übereinstimmend, dass die PD-L1-Expression der Tumorzellen zwischen Primärtumoren, LK- und Fernmetastasen nur leichte Differenzen aufweist.

Zu ähnlichen Ergebnisse kamen auch Boman et al. in ihrer Metaanalyse, in der anhand von 20 ausgewählten Studien 979 Primärtumore und 571 Metastasen auf ihre PD-L1-Expression in Tumorzellen, 1517 Primärtumore und 574 Metastasen auf ihre PD-L1-Expression in Immunzellen sowie 165 Primärtumore und 164 Metastasen auf ihre PD-L1-Expression in Tumor- oder Immunzellen untersucht wurden. Anhand dieser ausgedehnten Datenbasis stellten Boman et al. hochsignifikant höhere PD-L1-Positivitätsraten bei Primärtumoren als bei Metastasen fest, wenn die PD-L1-Expression von Immunzellen (51,2% vs. 37,1%) und von Tumor-/Immunzellen (30,1% vs. 14,6%) bewertet wurde. Es fand sich jedoch kein signifikanter Unterschied der PD-L1-Positivitätsraten von Tumorzellen (18,7% vs. 17,8%) (160). In dieser Analyse wurden allerdings LK- und Fernmetastasen zusammengefasst und die Primärtumore und Metastasen waren nicht immer zueinander gehörig. Trotzdem zeigt sich anhand dieser Ergebnisse, dass es zwar bei der PD-L1-Expression der Immunzellen (bzw. dem IC und dem CPS) zwischen Primarius und Metastase zu signifikanten Unterschieden kommt, die PD-L1-Expression der Tumorzellen (bzw. der TPS) jedoch unabhängig von der Lokalisation recht konstant zu bleiben scheint, so wie es auch in der vorliegenden Arbeit und von Dill et al. festgestellt wurde.

Die von Boman et al. ermittelten Werte sind insgesamt höher als die Positivitätsraten, die in dieser Arbeit festgestellt werden konnten, was u.a. dadurch erklärt werden kann, dass sich einige der von Boman et al. zusammengefassten Studien mit Brustkrebspatientinnen aller Subtypen beschäftigten, während andere nur TNBC-Fällen einschlossen. Da für das TNBC insgesamt höhere PD-L1-Positivitätsraten gelten, ist leicht ersichtlich, dass die von Boman et al. gefundenen Raten nach oben verschoben sind und nicht repräsentativ für ein alle Subtypen enthaltendes Kollektiv sind. Weiterhin wurden in den von Boman et al. betrachteten Arbeiten teils TMA, teils WTS zur Untersuchung der PD-L1-Expression verwendet. Die WTS zeigten verglichen mit den TMA im Durchschnitt für TPS höhere und für IC niedrigere Werte. Der CPS wurde in kaum einer Studie, die TMA verwendete, bestimmt und war somit nicht vergleichbar. In einer gesonderten Analyse der LK-Metastasen aus dem Kollektiv von Boman et al. ergab sich für die gepoolte PD-L1-Positivitätsrate von Immunzellen ein Wert von 60%, was die höchste Positivitätsrate aller Metastasen-Lokalisationen darstellte. Somit ergibt sich auch durch die Metaanalyse von Boman et al., dass die IC-Positivitätsrate von Fernmetastasen deutlich unter der von Primärtumoren liegt und die Rate an IC-positiven LK-Metastasen wiederum über der der Primärtumore angesiedelt ist. Für den TPS der LK-Metastasen ergab sich ein Wert von 27%, der somit um fast 10%-Punkte höher lag als der TPS der Primärtumore (160). Dieses Ergebnis stellt die zuvor beschriebene Konstanz der PD-L1-Expression der Tumorzellen unterschiedlicher Lokalisation in Frage und deutet darauf hin, dass auch die TPS-Werte von LK-Metastasen deutlich höher als die der Primärtumore (18,7%) liegen, während für die Fernmetastasen allein niedrigere TPS-Werte gelten als die 17,8%, die zusammengefasst mit den LK-Metastasen ermittelt wurden.

Szekely et al. forschten an 45 WTS und 42 TMA-Fällen von Primärtumoren mit gepaarten Fernmetastasen. Von 35 WTS- und 41 TMA-Proben konnten PD-L1-Ergebnisse ermittelt werden. Die mediane stromale PD-L1-Positivität von Tumor- und Immunzellen betrug 52% für die Primärtumore und 14% für die gepaarten Metastasen innerhalb des WTS-Kollektivs. Für die TMA-Proben ergaben sich hingegen Werte von 22% bzw. 7% für Primärtumore und Metastasen. In beiden Kohorten wechselten jeweils 2 Fälle von primär PD-L1-negativ zu PD-L1-positiv in der Metastase, doch die große Mehrheit der diskordanten Fälle veränderte sich von PD-L1-positiv zu -negativ (15). Insgesamt sieht man an diesen Daten, dass zum einen die PD-L1-Positivität vom Primärtumor zur Metastase hin abnimmt und zum anderen, dass die TMA-Fälle deutlich niedrige Werte aufwiesen. Eine geringere Genauigkeit der TMA-Ergebnisse ist anzunehmen (15).

Manson et al. untersuchten mit Hilfe von TMA die Expression von PD-L1 in 106 primären Brusttumoren und den dazugehörigen metachron aufgetretenen Fernmetastasen. Das Kollektiv bestand aus 65,7% Luminalen, 11,6% HER2-positiv und 22,9% TNBC-Tumoren. In den Primärtumoren ließ sich eine PD-L1-Positivität der Tumorzellen in 24% und der Immunzellen in 42,7% der Proben ermitteln. Von den Fernmetastasen zeigten sich 17,4% der

Proben in den Tumor- bzw. 44,9% in den Immunzellen PD-L1-positiv (152). Die von Manson et al. gefundenen Positivitätsraten liegen somit über den in dieser Arbeit festgestellten. Kongruent ist aber, dass die PD-L1-Positivität in Immunzellen häufiger ist als in Tumorzellen. Einen Unterschied zu den Ergebnissen der vorliegenden sowie der meisten anderen Studien stellt allerdings dar, dass die von Manson et al. genannten Positivitätsraten der Immunzellen zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen keinen großen Unterschied aufweisen und die Fernmetastasen sogar leicht PD-L1-positiver zu sein scheinen.

Gonzalez-Ericsson et al. beschreiben wiederum, wie auch die meisten anderen Studien, eine höhere Expression von PD-L1 (und ebenfalls von TILs) in Primärtumoren als in Metastasen. Trotz der geringeren Positivitätsraten in Metastasen war die PD-L1-Expression sowohl in den Proben des Primarius als auch der Metastasen prädiktiv für das Ansprechen auf die therapeutische Kombination aus Atezolizumab und nab-Paclitaxel (161).

Tabelle 47: PD-L1 Positivität (%) in Primarius, LK- und Fernmetastasen

Studie	Primarius	LK-Metastase	Fernmetastase
Krauthauser et al.	1,4 (TPS) 23,9 (CPS) 23,9 (IC)	3,2 (TPS) 37,9 (CPS) 36,8 (IC)	1,4 (TPS) 11 (CPS) 11 (IC)
Matikas et al.	24 (TPS) 25 (CPS) 33 (IC)		
Qin et al.	21,7 (TPS)		
Muenst et al.	23,4 (TPS)		
Ali et al.	1,7 (TPS) 6 (IC)		
Huang et al.	1,7-64 (TPS) 1,07-93 (IC)		
Li et al.	38,61 (CPS)	59,41 (CPS)	
Dill et al.	12,2 (TPS) 29 (IC)	10 (TPS)	10 (TPS)
Boman et al.	18,7 (TPS) 30,1 (CPS) 51,2 (IC)	27 (TPS) 60 (IC)	17,8 (TPS in N+M) 14,6 (CPS in N+M) 37,1 (IC in N+M)
Szekely et al.	52 (CPS in WTS); 22 (CPS in TMA)		14 (CPS in WTS); 7 (CPS in TMA)
Manson et al.	24 (TPS) 42,7 (IC)		17,4 (TPS) 44,9 (IC)

Um die genannten Unstimmigkeiten zu klären, wären weitere Studien zu diesem Thema notwendig und es gilt, die PD-L1-Positivität von Tumor- und Immunzellen nicht gleichzusetzen. Zudem zeigen sich große Unterschiede in der PD-L1-Expression zwischen LK- und Fernmetastasen. Bei einer undifferenzierten Analyse der PD-L1-Werte der Metastasen könnten sich die gegensätzlichen Effekte einer verstärkten bzw. abgeschwächten PD-L1-Expression von LK- und Fernmetastasen im Vergleich zum Primarius aufheben. Eine Unterscheidung der Metastasen-Lokalisationen ist folglich essenziell.

In der Zusammenschau der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sowie weiterer Studien zeigt sich, dass in einem alle Subtypen umfassenden Patientenkollektiv die PD-L1-Expression der Tumorzellen unter der der Immunzellen liegt. Zudem weisen LK-Metastasen sowohl in Tumoral als auch Immunzellen höhere PD-L1-Positivitätsraten auf als Primärtumore der Brust, während für Fernmetastasen die gegenteilige Tendenz besteht. Insgesamt besteht eine breite Varianz der berichteten PD-L1-Positivitätsraten, was sich teilweise durch die beschriebenen unterschiedlichen Methoden erklären lässt. Doch es kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die Ergebnisse dieser Arbeit innerhalb der von der Literatur beschriebenen Bereiche liegen, wenn auch eher im unteren Drittel. Wichtig ist, dass die in dieser Arbeit beschriebene Tendenz der LK-Metastasen mehr PD-L1 als die Primärtumoren zu exprimieren, während die Fernmetastasen hingegen seltener PD-L1-positiv sind, mit dem Konsens der Literatur übereinstimmt.

5.8 Zusammenhang zwischen der PD-L1-Expression von Primärtumor, Lymphknoten- und Fernmetastase

In dem von dieser Studie untersuchten Patientenkollektiv lagen die Konkordanz-Raten für TPS, CPS und IC zwischen Primarius und LK- bzw. Fernmetastasen zwischen 73,68% und 100%. Interessanterweise waren die Konkordanzen zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen höher als zwischen Primärtumoren und LK-Metastasen, obwohl die errechneten Korrelationen zwischen Primarius und LK-Metastase immer hochsignifikant waren und eine signifikante Korrelation zwischen Primarius und Fernmetastase bei CPS und IC nicht gefunden werden konnte.

Konkret zeigte sich für TPS zwischen Primarius und LK-Metastase sowie zwischen Primarius und Fernmetastase sowohl ein hochsignifikanter Zusammenhang durch Kreuztabellen und χ^2 -Test als auch eine hochsignifikante Spearman-Korrelation. Die Konkordanz-Rate der TPS-Werte lag zwischen Primarius und zugehöriger LK-Metastase bei 97,89% und zwischen Primarius und zugehöriger Fernmetastase bei 100%. Dabei waren die meisten Tumore sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Metastase TPS-negativ. Alle Fälle, die bereits im Primarius TPS-positiv waren, blieben dies auch bei Metastasierung. Die Diskordanz-Rate von 2,1% zwischen Primärtumoren und LK-Metastasen kommt ausschließlich durch eine in der LK-Metastase neu erworbene TPS-Positivität.

Für CPS zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastase sowie zwischen Primarius und Fernmetastase in den Kreuztabellen und dem χ^2 -Test ein hochsignifikanter Zusammenhang. Die Spearman-Korrelation war allerdings nur für die CPS-Werte von Primarius und LK-Metastase hochsignifikant; zwischen Primarius und Fernmetastase ergab sich keine signifikante Korrelation. Auch bei den CPS-Werten war über die Hälfte der Fälle CPS-negativ für Primarius und LK-Metastase. 8 Fälle wurden nach primär schwacher CPS-Positivität in der LK-Metastase CPS-negativ. 17 Fälle entwickelten in der LK-Metastase eine neue CPS-Positivität. Die Konkordanz des PD-L1-Status bei Betrachtung des CPS lag bei 73,68% (70/95). Von den Fernmetastasen verloren 8 die CPS-Positivität des Primarius, während in 6 Fällen eine neu erworbene CPS-Positivität beobachtet wurde. 78,08% der Fälle waren in Primarius und Fernmetastase CPS-negativ. Die Konkordanz-Rate lag bei 80,82% (59/73). In keinem Fall von LK- oder Fernmetastasen ging eine starke ($\geq 10\%$) CPS-Positivität des Primarius bei Metastasierung verloren. Die Metastasen dieser Fälle wiesen ebenfalls immer eine starke CPS-Positivität auf.

Für IC zeigte sich zwischen Primarius und LK-Metastasen durch Kreuztabellen und den χ^2 -Test ein hochsignifikanter Zusammenhang sowie eine hochsignifikante mittlere Spearman-Korrelation. Zwischen Primarius und Fernmetastase ergab sich weder ein signifikanter Zusammenhang noch eine Korrelation. 54,73% der Tumore mit LK-Metastase waren primär und in der LK-Metastase IC-negativ. Ein Verlust der IC-Positivität fand in 8 Fällen statt, ein Neuauftreten in 16 Fällen. Die Konkordanz-Rate lag somit bei 74,74% (71/95). Von den Primärtumoren mit Fernmetastase ging in 8 Fällen die IC-Positivität des Primarius verloren, während sie in 6 Fällen in der Metastase neu auftrat. Nur bei 2 Fällen blieb die primäre PD-L1-Positivität in der Metastase erhalten. Die Konkordanz-Rate für IC zwischen Primarius und zugehöriger Fernmetastase lag bei 80,8% (59/73).

Die insgesamt hohen Konkordanz-Raten zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen lassen sich somit hauptsächlich drauf zurückführen, dass die meisten Fälle negativ waren und auch blieben. Bei Betrachtung von ausschließlich in Primarius oder Fernmetastase CPS- oder IC-positiven Fällen zeigte sich jedoch eine große Diskordanz. Während nur 2 Primarius/Fernmetastasen-Paare positiv/positiv für CPS und IC waren, zeigten sich 6 Paare als positiv/negativ und 8 Paare als negativ/positiv. Eine Veränderung des PD-L1-Status in beide Richtungen war somit häufiger als das Beibehalten einer primären PD-L1-Positivität.

Auch bei den LK-Metastasen war es häufig, dass Primarius und Metastase beide PD-L1-negativ waren. Es bestand jedoch die verstärkte Tendenz der LK-Metastasen, eine CPS- oder IC-Positivität neu zu entwickeln. Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse implizieren, dass in den LK-Metastasen nur in wenigen Fällen (2/95) eine PD-L1-Expression der Tumorzellen neu erworben wird und die Zunahme der PD-L1-Expression in den LK-Metastasen

hauptsächlich durch PD-L1-exprimierende Immunzellen verursacht wird, die sich im LK befinden oder dort einwandern.

Diese Erkenntnis wird gestützt durch Dill et al., die in 94% der Primarius/Metastasen-Paare (n=40) eine Konkordanz der PD-L1-Expression der Tumorzellen feststellten. Die Konkordanz der PD-L1-Expression der Immunzellen betrug 70,6%. Laut Dill et al. wurde eine PD-L1-Positivität der Immunzellen in den übrigen Fällen von der Metastase neu erworben. Dabei handelte es sich v.a. um LK-Metastasen und eine Lungen-Metastase. Insgesamt besteht folglich eine hohe Übereinstimmung der PD-L1-Expression bei bislang unbehandelten Tumoren zwischen Brusttumoren und ihren Metastasen. V.a. in LK-Metastasen kommt es zu einem Neuerwerb einer PD-L1-Expression der Immunzellen (159). Die Ergebnisse von Dill et al. stehen damit im Einklang mit den vorliegenden Erkenntnissen. Auch hier zeigt sich, dass die Konkordanz-Rate der Tumorzellen höher als die der Immunzellen zwischen Primarius und Metastase ist und dass insbesondere LK-Metastasen einen Zugewinn an PD-L1-Positivität aufweisen.

Diese Erkenntnis wird weiterhin durch die Metaanalyse von Boman et al. gestützt. Wie im vorangehenden Kapitel beschrieben, beobachteten Boman et al. signifikant geringere PD-L1-Positivitätsraten in LK- und Fernmetastasen zusammengenommen als in den zugehörigen Primärtumoren. Bei Betrachtung der LK-Metastasen allein zeigten sich allerdings höhere IC-Positivitätsraten der LK-Metastasen als der Primärtumore (160). Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit handelte es sich allerdings nicht nur um gepaarte Proben und das TNBC war durch die Auswahl an Studien deutlich überrepräsentiert. Bei einer Untersuchung von ausschließlich Studien mit gepaarten Primärtumoren und Metastasen stellten Boman et al. eine bidirektionale Diskordanz fest, die signifikant höher war, wenn die PD-L1-Expression in Immunzellen im Vergleich zu Tumorzellen bewertet wurde. So hatten 13,6% (n=156) der gepaarten Proben einen zwischen Primarius und Metastase nicht übereinstimmenden TPS-Status, während die Diskordanz des IC-Status 39,5% (n=191) betrug. Bei Betrachtung des CPS ergab sich sogar eine Diskordanz-Rate von 47,6% (n=174) (160). Die von Boman et al. gefundenen Konkordanz-Raten betragen somit für TPS 86,4%, für IC 60,5% und für CPS 52,4%. Diese Werte liegen sowohl unter den von der vorliegenden Arbeit als auch den von Dill et al. festgestellten Konkordanz-Raten. Doch die höhere Konkordanz der PD-L1-Expression von Tumorzellen konnte auch von Boman et al. gezeigt werden. Der Unterschied der Diskordanzen in der Studie von Boman et al. zwischen TPS und CPS ist hochsignifikant, zwischen CPS und IC hingegen besteht kein signifikanter Unterschied.

Bei bestehender Diskordanz kam es häufiger zur Veränderung eines PD-L1-positiven Primärtumors hin zu einer PD-L1-Negativität der Metastase als in umgekehrter Richtung. Diese Tendenz des häufigeren Verlusts der PD-L1-Expression im Vergleich zu einer in der Metastase neu erworbenen PD-L1-Expression fand sich sowohl für TPS (59,8% vs. 12%) als auch für IC (50,7% vs. 33,4%) und CPS (58,8% vs. 33,4%). Den Untersuchungen von Boman et al. zufolge hatte rund die Hälfte der Frauen mit PD-L1-positiven Primärtumoren PD-L1-negative Fernmetastasen, während ein Drittel der primär PD-L1-negativen Patientinnen später PD-L1-positive Metastasen aufwies (160). Übereinstimmend dazu konnte auch in dieser Arbeit bei mehr Fernmetastasen ein Verlust der PD-L1-Expression als einen Zugewinn derer gefunden werden. Da für die LK-Metastasen allerdings die umgekehrte Tendenz festzustellen war, ist es problematisch, dass Boman et al. in ihren Konkordanz-Angaben LK- und Fernmetastasen zusammenfassen.

Manson et al. untersuchten nur den Zusammenhang zwischen Primärtumoren und ihren Fernmetastasen. In 71,5% der Fälle konnten sie eine Konkordanz für eine PD-L1-Expression der Tumorzellen nachweisen. 6,1% erwarben erst in den Metastasen eine PD-L1-Positivität und 22,4% verloren die primäre PD-L1-Positivität. Bezogen auf den PD-L1-Status der Immunzellen zeigten sich 59,2% als konkordant. 20,4% erwarben eine PD-L1-Positivität neu und 20,4% verloren sie. Dabei verhielt sich die PD-L1-Expression von Tumor- und Immunzellen im Einzelfall nicht immer gleich (152). Folglich stützt auch die Arbeit von Manson et al. die Feststellung dieser Arbeit, dass die Konkordanz der Tumorzellen höher als die der Immunzellen ist. Die hier beschriebenen Konkordanzen sind deutlich niedriger als in der vorliegenden Studie und in den Fernmetastasen kommt es gleich häufig zu einem Verlust wie

zu einem Hinzugewinn einer PD-L1-Expression der Immunzellen. Diese Unterschiede könnten evtl. dadurch bedingt sein, dass Manson et al. ausschließlich metachrone Fernmetastasen beobachteten. Die vorgestellten Ergebnisse werfen daher weiterführende Fragen auf. So könnte weitere Forschung den Einfluss der zeitlichen Komponente auf die PD-L1-Expression der Metastasen klären.

Tabelle 48: Konkordanz der PD-L1 Positivität in Primarius, LK- und Fernmetastasen

Studie	Konkordanz zwischen Primarius und LK-Metastase (%)	Konkordanz zwischen Primarius und Fernmetastase (%)
Krauthauser et al.	97,89 (TPS) 73,68 (CPS) 74,74 (IC)	100 (TPS) 80,82 (CPS) 80,8 (IC)
Dill et al.	94 (TPS) (N+M) 70,6 (IC) (N+M)	
Boman et al.	86,4 (TPS) (N+M) 52,4 (CPS) (N+M) 60,5 (IC) (N+M)	
Manson et al.		71,5 (TPS) 59,2 (IC)

Die Ursache der in dieser sowie den anderen genannten Studien beobachteten Diskordanz des PD-L1-Status zwischen Primarius und zugehöriger Metastase ist noch nicht abschließend geklärt.

Innerhalb ein und desselben Tumors kann eine PD-L1-Heterogenität bestehen (159, 162), und selbst in PD-L1-positiven Primärtumoren weisen meist nicht alle Tumorzellen eine PD-L1-Expression auf. Eine PD-L1-Expression von $\geq 1\%$ der Tumorzellen reicht bereits aus, um einen Tumor als PD-L1-positiv zu bezeichnen. Da eine Metastase immer nur aus einzelnen, stark entarteten Tumorzellen des Primarius hervorgeht, welche besondere Fähigkeiten besitzen, um sich in einem anderen Gewebe ansiedeln und dort wachsen zu können, ist es folglich nicht überraschend, dass zwischen Primarius und Metastase eine gewisse Diskordanz vorliegt. So ist es möglich, dass eine Metastase sich aus einer primär PD-L1-negativen Zelle bildet und die Fähigkeit, PD-L1 zu exprimieren, im Verlauf auch nicht erwirbt.

Zudem könnte die festgestellte Diskordanz, wie bereits durch die Studie von Manson et al. angedeutet, durch die zeitliche Komponente der metastatischen Progression bedingt sein. Dies wird durch die Unterschiede von synchronen und asynchronen Metastasen impliziert (152, 163). Eine Rezeptordiskordanz, welche im zeitlichen Verlauf der systemischen Ausbreitung des Primarius entstehen kann, ist bereits für ER, PR und HER2 mehrfach beschrieben worden (118, 137) und wäre folglich für PD-L1 ebenfalls denkbar.

Zum anderen ist eine räumliche Heterogenität der PD-L1-Expression während der metastatischen Progression eine mögliche Ursache für die PD-L1-Diskordanz zwischen Primarius und Metastase. Die Immunmikroumgebung beeinflusst die Tumorzellentwicklung (16, 136, 137) und unterscheidet sich in ihren Eigenschaften zwischen verschiedenen anatomischen Lokalisationen. Die Unterschiede der PD-L1-Expression zwischen Primarius und den verschiedenen Lokalisationen der Metastasen könnten somit durch die unterschiedlichen Eigenschaften der Tumor-Immun-Mikroumgebungen und die unterschiedliche Immunogenität der anatomischen Lokalisationen verursacht werden. Dies könnte auch eine Erklärung für die Unterschiede der PD-L1-Expression zwischen LK- und Fernmetastasen sein. LK sind sehr immunogene Gewebe und da insbesondere die PD-L1-Expression der Immunzellen in LK-Metastasen höher als in Primärtumoren und Fernmetastasen liegt, ist ein Zusammenhang stark anzunehmen.

5.9 Unterschied der PD-L1-Expression und der Konkordanz-Raten zwischen Primarius und Lymphknoten- bzw. Fernmetastase vom TNBC verglichen mit den anderen Subtypen

Die Zahl der Studien, die neben dem Primarius auch für die LK- oder Fernmetastasen die PD-L1-Werte bestimmt, ist insgesamt relativ begrenzt. Insbesondere werden diese Daten für das TNBC ermittelt, während die anderen Subtypen nicht gezielt untersucht werden. Aktuell sind PD-L1-gerichtete Therapien nur für das TNBC zugelassen, doch theoretisch könnten auch die anderen Subtypen bei PD-L1-Expression von dieser Therapie-Möglichkeit profitieren. Daher legt diese Arbeit zwar ein besonderes Augenmerk auf die PD-L1-Expression des TNBC, doch die Positivitätsraten wurden auch für die anderen Subtypen berechnet, um bisher unerforschte Therapie-Möglichkeiten auch für die Nicht-TNBC-Subtypen aufzudecken.

Im untersuchten Studienkollektiv ergab sich für den TPS der TNBC-Primarius-Proben (n=25) eine Positivitätsrate von 4%, während 36% der Proben positive CPS-Werte erreichten. Nur 4% besaßen dabei eine starke CPS-Ausprägung. Ebenfalls 36% wiesen IC-positive Werte auf.

Für den TPS der zugehörigen LK-Metastasen (n=18) wiesen 11,1% deutlich positive TPS-Werte auf. 50% der Proben waren CPS-positiv. Dabei lag in 11,1% ein stark-positiver CPS-Wert vor. Für den IC lagen ebenfalls 50% IC-positive Proben vor.

Für den TPS der zugehörigen Fernmetastasen (n=9) ergaben sich 0% TPS-positive Proben. Für den CPS ergaben sich je 11,1% schwach CPS-positiv bzw. IC-positive Fälle.

Im Vergleich zu den Positivitätsraten des Gesamtkollektivs mit 1,4% TPS-positiven und je 23,9% CPS- und IC-positiven Primärtumoren zeigte sich, dass das TNBC in allen drei Scores eine verstärkte PD-L1-Expression aufweist. Auch bei den LK-Metastasen des TNBC zeigte sich die Tendenz einer deutlich häufiger zu beobachtenden PD-L1-Expression als im gemischten Kollektiv. Nur bei den Fernmetastasen ergab sich kein großer Unterschied in der PD-L1-Expression zwischen dem TNBC- und dem Gesamtkollektiv.

Weiterhin besaßen auch im TNBC-Kollektiv die LK-Metastasen im Vergleich zum Primarius eine verstärkte und die Fernmetastasen eine verminderte PD-L1-Expression.

Auch Huang et al. berichteten in ihrer Metaanalyse von hohen PD-L1-Positivitätsraten im TNBC (10) und Zhang et al. erkannten in 42,1% eine IC- und in 41,3% eine CPS-Positivität in 259 TNBC-Primärtumoren. Dabei hatten sie die immunhistologischen Assays SP142 und 22C3 und einen Cut-off-Wert von $\geq 1\%$ genutzt (164). Sowohl die Methodik als auch die gemessenen Werte sind der vorliegenden Studie somit sehr ähnlich.

In der Studie von Pang et al. reichte die PD-L1-Positivität, gemessen als IC, der 447 TNBC-Proben bei Untersuchung durch den SP142-Assay von 0-60 % (Median: $< 1\%$). Mit einem Cut-off von 1% waren 34,2% der Fälle somit PD-L1-positiv. Dabei wiesen 60,8% der positiven Fälle einen Wert von $< 5\%$ auf (162), was die Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit ebenfalls unterstützt.

Emens et al. beschrieben in der IMpassion130-Studie eine geringere PD-L1-Positivität von TNBC-Metastasen im Vergleich zu primärem TNBC, welche mittels SP142-Assay festgestellt wurde. Die IC-Raten der Primärtumore lagen in dieser Untersuchung bei 44%, während die zusammengefassten Metastasen eine IC-Positivitätsrate von 35,6% aufwiesen. Die LK-Metastasen allein betrachtet erreichten sogar in 51,3% der Fälle IC-Positivität (165), was den ermittelten Werten der vorliegenden Studie sehr ähnlich ist. Die von Emens et al. gefundene höhere IC-Positivität der Metastasen erklärt sich dadurch, dass die LK-Metastasen hier miteingerechnet wurden. Für die Fernmetastasen allein zeigten sich niedrigere Werte. Die PD-L1-Positivität der Primärtumore befindet sich somit zwischen der der Fern- und LK-Metastasen, was auch die vorliegende Studie verdeutlicht.

In einer 2021 erschienenen Studie von Li et al. untersuchte das Forscherteam mittels SP142-Assay 670 metastasierte TNBC-Fälle. Dabei lagen die Positivitätsraten für TPS bei 13,5% in den Primärtumoren vs. 18,3% in LK- und 15,8% in Fernmetastasen und unterschieden sich damit nicht signifikant. Die IC-Positivitätsraten lagen bei 57,1%, 65% und 42,1% für Primärtumoren, LK- und Fernmetastasen (163), was zwar höher als die ermittelten Werte der

vorliegenden Arbeit ist, aber dennoch die Staffelung der PD-L1-Ausprägung von Fernmetastase zu Primarius zu LK-Metastase widerspiegelt.

Gonzalez-Ericsson et al. fassten in ihrer Arbeit die Ergebnisse mehrerer Studien zur PD-L1-Expression im TNBC mittels unterschiedlicher Assays zusammen. Mit dem SP142-Assay ergaben sich in zehn Studien positive IC-Werte bei 32-58% der Proben. Der CPS wurde in nur einer einzigen Studie bestimmt und war in 35% der Fälle positiv (≥ 1). Der TPS wurde von vier Studien bestimmt und hatte in 9-17% der Fälle positive Werte.

In den Studien, die die PD-L1-Werte mittels anderer Assays wie dem SP263, 22C3 oder weiteren bestimmten, lagen die IC-, CPS- und TPS-Werte deutlich über denen des SP142. In allen Studien, die den SP263 verwendeten, lagen positive IC-Werte bei 54-87%, positive CPS-Werte bei 64% und positive TPS-Werte bei 53-87% der Fälle vor. Ähnlich hohe Werte ließen sich bei der PD-L1-Testung durch den 22C3 und den übrigen Assays erkennen (161).

Der in der vorliegenden Studie ermittelte TPS liegt also deutlich unter den berichteten Werten, doch die 36% an CPS- und IC-positiven Proben liegen im Vergleich mit der Literatur etwa im Mittelfeld. Es zeigt sich jedoch, dass je nach verwendetem Assay sehr große Unterschiede in den PD-L1-Positivitätsraten zu verzeichnen sind, was in der Interpretation der Ergebnisse und im Vergleich der Studien stets beachtet werden sollte. Obwohl in dieser Studie der 22C3-Assay verwendet wurde, sind die gefundenen Werte allerdings eher mit den i.d.R. niedrigeren per SP142-Assay ermittelten Werten vergleichbar.

Tabelle 49: PD-L1 Positivität (%) in Primarius, LK- und Fernmetastasen im TNBC

Studie und verwendeter Assay	Primarius	LK-Metastase	Fernmetastase
Krauthauser et al. (22C3)	4 (TPS) 36 (CPS) 36 (IC)	11,1 (TPS) 50 (CPS) 50 (IC)	0 (TPS) 11,1 (CPS) 11,1 (IC)
Zhang et al. (SP142&22C3)	41,3 (CPS) 42,1 (IC)		
Pang et al. (SP142)	34,2 (IC)		
Emens et al. (SP142)	44 (IC)	51,3 (IC)	35,6 (IC in N+M)
Li et al. (SP142)	13,5 (TPS) 57,1(IC)	18,3 (TPS) 65 (IC)	15,8 (TPS) 42,1 (IC)
Gonzalez-Ericsson et al. (SP142)	9-17 (TPS) (v.a. T, aber auch N+M) 35 (CPS) 32-58 (IC)		
Gonzalez-Ericsson et al. (SP263)	53-87 (TPS) (v.a. T, aber auch N+M) 64 (CPS) 54-87 (IC)		

Neben Studien, die nur die PD-L1-Werte von tripel-negativen Brusttumoren berichten, existieren weiterhin einige Studien, die die PD-L1-Positivitätsrate des TNBC ins Verhältnis zu einem alle Subtypen umfassenden Gesamtkollektiv setzen.

So fanden Mittendorf et al. in 19% aller TNBC-Tumore eine vorhandene PD-L1-Expression, was eine hochsignifikant häufigere PD-L1-Expression verglichen mit Nicht-TNBC darstellte (11).

Matikas et al. berichteten in ihrer Metaanalyse sogar etwa die doppelten Positivitätsraten. Sie fanden für das TNBC 41% der Fälle mit PD-L1-positiven Tumorzellen, während sich für die Immunzellen 48% und für den gemischten Tumor-/Immunzell-Score 46% positive Proben ergaben. Zudem lagen die Werte des TNBC deutlich über den PD-L1-Positivitätsraten über alle Subtypen hinweg (TPS 24%, IC 33%, CPS 25%) (12).

Sabatier et al. analysierten mit Hilfe von DNA-Mikroarrays die PD-L1-mRNA-Expression in 5454 Brustkrebs-Proben, wobei eine PD-L1-Expression in 20% der Proben und in 38% der TNBC festgestellt werden konnte (166).

Auch in der Studie von Ali et al. exprimierte das TNBC am häufigsten PD-L1. In der Subtypisierung der Tumore durch eine Genexpressionsanalyse zeigten sich 39% der basal-like Tumore als PD-L1-Immunzell-positiv. Bei Verwendung eines IHC-basierten Surrogat-Klassifikators ergab sich für 19% der basalähnlichen Tumore IC-Positivität (vs. 6% in der

Gesamtkohorte) (158). Diese Ergebnisse spiegeln sowohl die Unterschiede in der Subtypisierung als auch die verstärkte PD-L1-Expression von TNBC-Tumoren wider.

Dill et al. stellten in 12% der Primärtumore des Gesamtkollektivs eine PD-L1-Positivität der Tumorzellen fest, während es innerhalb des TNBC-Kollektivs sogar 31,6% waren. Eine starke Färbung von >50% der Zellen war jedoch selten und kam bei 2% aller Proben bzw. bei 5% der tripel-negativen Tumore vor. Eine PD-L1-Positivität von Immunzellen wurde bei 29% aller Primärtumore und bei 61,4% der TNBC-Proben beobachtet (159), was eine rund doppelt so häufige PD-L1-Expression der Immunzellen gegenüber den Tumorzellen sowie eine doppelt so häufige PD-L1-Positivität des TNBC im Vergleich zum Gesamtkollektiv ergibt.

Dies wird ebenfalls verdeutlicht durch die Studie von Guo et al., in der 470 Proben von primärem Brustkrebs, der bisher keiner Anti-PD-1/PD-L1-Behandlung ausgesetzt war, erfolgreich untersucht wurden. Dazu wurde, wie in der vorliegenden Studie, der 22C3 PharmDx-Assay von Dako verwendet. Das Gesamtkollektiv wurde nach dem HR- und dem HER2-Status in drei Gruppen unterteilt. 348 Patientinnen waren ER/PR-positiv und HER2-negativ. 46 Patientinnen waren HER2-positiv, unabhängig vom HR-Status und 99 Patientinnen gehörten der TNBC-Gruppe an. Guo et al. fanden in ihrem Gesamtkollektiv 20% CPS-, 16% IC- und 10% TPS-positive Fälle. Weiterhin untersuchte das Forscherteam die PD-L1-Expression innerhalb des rein tripel-negativen Kollektivs. 35% wiesen positive CPS-Werte auf, 31% positive IC- und 16% positive TPS-Werte (167).

Im Vergleich mit diesen Studien zeigt sich erneut, dass die in dieser Arbeit beschriebenen PD-L1-Positivitätsraten im TNBC in etwa den in der Literatur zu findenden Werten entsprechen. Je nach Assay und Methodik gibt es Abweichungen in den prozentualen Werten, doch in der Zusammenschau liegen die ermittelten IC- und CPS-Werte im mittleren Bereich. Lediglich die berichteten TPS-Werte liegen deutlich unterhalb der in der Literatur berichteten Werte. Wichtig ist, dass die neuen Ergebnisse den bereits bestehenden Erkenntnissen darin entsprechen, dass das TNBC eine stärkere PD-L1-Expression aufweist als der Durchschnitt aller Subtypen. Dabei waren die PD-L1-Positivitätsraten des TNBC 1,45 bis 3,17-fach so hoch wie die Positivitätsraten der Kollektive, die alle Subtypen oder ausschließlich Nicht-TNBC-Proben umfassten. Knapp doppelt so hohe PD-L1-Expressionraten des TNBC im Vergleich zu einem gemischten Kollektiv sind am häufigsten. Im hier betrachteten Kollektiv lag der CPS- und IC-Wert der TNBC-Proben 1,5-fach so hoch wie im Gesamtkollektiv. Für TPS war der Wert 2,86-fach so hoch.

Tabelle 50: Vergleich der PD-L1-Positivität (%) in TNBC- und gemischten Kollektiven

Studie	TNBC	Gemischtes Kollektiv
Krauthauser et al.	4 (TPS) 36 (CPS) 36 (IC)	1,4 (TPS) 23,9 (CPS) 23,9 (IC)
Matikas et al.	41 (TPS) 46 (CPS) 48 (IC)	24 (TPS) 25 (CPS) 33 (IC)
Sabatier et al.	38 (mRNA-Expression)	20 (mRNA-Expression)
Ali et al.	39 in Genexpressionsanalyse bzw. 19 (IC)	6 (IC)
Dill et al.	31,6 (TPS) 61,4 (IC)	12 (TPS) 29 (IC)
Guo et al	16 (TPS) 35 (CPS) 31 (IC)	10 (TPS) 20 (CPS) 16 (IC)

Weiterhin zeigen die neu gewonnenen Ergebnisse, dass auch im TNBC-Kollektiv die Tendenz der LK-Metastasen bestand, mehr PD-L1 zu exprimieren als die zugehörigen Primärtumore, während Fernmetastasen die gegenteilige Tendenz aufwiesen. Diese Unterschiede in der PD-L1-Expression je nach Lokalisation zeigen sich somit im Gesamt- und TNBC-Kollektiv gleichermaßen.

Chen et al. führten in ihrer 2022 veröffentlichten Arbeit einen Vergleich der Expression des PD-L1 in 426 TNBC-Fällen und 85 zugehörigen LK-Metastasen durch, wofür der SP142-Assay verwendet wurde. Es zeigte sich auch in dieser Studie, dass die Prävalenz der positiven PD-L1-Expression von tumorinfiltrierenden Immunzellen in LK-Metastasen (49,4%) höher als in den zugehörigen Primärtumoren (38,9%) war. Zudem erwies sich die Konkordanz der IC-Werte zwischen den untersuchten TNBC-Primärtumoren und den zugehörigen LK-Metastasen als hochsignifikant und mittelstark (151).

Li et al. untersuchten die PD-L1-Werte von Primärtumoren und zugehörigen LK-Metastasen in einem Kollektiv von 101 TNBC-Patientinnen. Dabei wiesen 38,61% jegliche PD-L1-Positivität in den Primärtumoren auf. Insgesamt 30,69% waren PD-L1-positiv für Immunzellen, wobei die Werte zwischen 5 und 60% und der Median bei 10% lag. 25,74% waren PD-L1-positiv für Tumorzellen. Hier lagen die Werte zwischen 5 und 70% und der Median bei 15%. Wie auch in den Untersuchungen dieser Arbeit zeigte sich eine häufigere PD-L1-Positivität der LK-Metastasen. Dies betraf insgesamt 59,41%, wobei 53,45% PD-L1 positive nodale Lymphozyten und 40,59% PD-L1-positive Tumorzellen aufwiesen. Die Werte der Lymphozyten lagen zwischen 5 und 80% mit einem Median von 20%, während die Tumorzellen Werte zwischen 5 und 80% und einen Median von 10% aufwiesen. 20,79% des Kollektivs wiesen trotz PD-L1-negativer Primärtumore eine PD-L1-Positivität in den zugehörigen LK-Metastasen auf (153).

Die in diesen beiden Studien ermittelten Raten der PD-L1-Positivität der Immunzellen in Primärtumoren und LK-Metastasen sind beinahe identisch mit den in der vorliegenden Studie gefundenen IC-Werten. Einzig die PD-L1-Positivitätsraten der Tumorzellen unterscheiden sich deutlich. Dies könnte evtl. dadurch erklärt werden, dass Li et al. nicht den TPS und IC berechneten, sondern ihre Bestimmung der PD-L1-Positivitätsraten an die Berechnung von Ki-67 anlehnten. Der prozentuale Anteil der PD-L1-Expression wurde durch Quantifizierung der Gesamtzahl positiver Zellen innerhalb der angefärbten Hot Spots und die invasiven Tumorränder berechnet (153). Insbesondere die Fokussierung auf Hot-Spots und Tumorränder könnte die von Li et al. festgestellten höheren Positivitätsraten der Tumorzellen erklären. Nichtsdestotrotz besteht Übereinstimmung darin, dass die LK-Metastasen sowohl in den Tumor- als auch in den Immunzellen mehr PD-L1 exprimieren als die zugehörigen tripel-negativen Brusttumore.

Auch Rozenblit et al. beschäftigten sich mit den Unterschieden der PD-L1-Expression zwischen Primärtumoren und LK- sowie Fernmetastasen. Mit dem SP142-Assay wurden 179 primäre TNBC-Fälle und 161 nicht gepaarte Metastasen untersucht. Wie auch in der vorliegenden Studie wurden Zusammenhänge mit Hilfe des χ^2 -Tests und der Korrelation nach Spearman aufgedeckt. So stellten Rozenblit et al. fest, dass Primärtumore signifikant häufiger als Metastasen IC-positiv waren (63,7% vs. 42,2%). Dabei ergaben sich je nach Lokalisation große Unterschiede zwischen den Metastasen. Die 45 LK-Metastasen wiesen mit 51,1% höhere IC-Positivitätsraten auf als der Durchschnitt der Fernmetastasen mit 39,7% (16), was mit den Erkenntnissen dieser Arbeit übereinstimmt. Doch im Gegensatz zu dieser und den meisten anderen Studien lag die PD-L1-Positivitätsrate der LK-Metastasen von Rozenblit et al. unter der der Brusttumore. Im Vergleich der Ergebnisse ist jedoch zu beachten, dass die von Rozenblit et al. untersuchten Metastasen nicht zu den Primärtumoren zugehörig waren, was einen wichtigen Unterschied zu der vorliegenden Arbeit darstellt und die höhere PD-L1-Positivität der Primärtumore miterklären könnte.

Tabelle 51: Unterschiede der PD-L1-Expression (%) zwischen Primarius und LK-Metastase im TNBC

Studie	Primarius	LK-Metastase
Krauthauser et al.	4 (TPS) 36 (CPS) 36 (IC)	11,1 (TPS) 50 (CPS) 50 (IC)
Chen et al.	38,9 (IC)	49,4 (IC)
Li et al.	25,74 (TPS) 30,69 (IC)	40,59 (TPS) 53,45 (IC)
Rozenblit et al.	63,7 (IC)	51,1 (IC)

In der Berechnung der Konkordanzen ergaben sich große Übereinstimmungen der PD-L1-Werte zwischen den Primärtumoren und Metastasen des untersuchten TNBC-Kollektivs. Für die TPS-Werte der Primärtumore und zugehörigen LK-Metastasen zeigte sich eine hohe Konkordanz von 94,4%. Die 5,6% Diskordanz waren ausschließlich durch eine in den LK-Metastasen zunehmende TPS-Positivität zu erklären. Zwischen Primarius und Fernmetastase lag die TPS-Konkordanz bei 100%, da alle Fälle TPS-negativ waren. Auch für die CPS-Werte ergab sich zwischen Primärtumoren und LK-Metastasen eine hohe Konkordanz von 83,3%, wobei die Hälfte der Fälle auch in der LK-Metastase negativ blieb, ein Drittel konstant positive Werte aufwies und ein Sechstel in der LK-Metastase eine CPS-Positivität neu erwarb. Zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen betrug die Konkordanz 77,78%. Die Diskordanz wurde ausschließlich durch einen Verlust an CPS-Positivität in den Fernmetastasen verursacht. Die gleichen Verteilungen und Konkordanz-Raten ergaben sich auch für die IC-Werte.

Die Forschungsgruppen um Li und Chang sowie Emens et al. führten Konkordanz-Analysen bei synchronen und asynchronen gepaarten TNBC-Proben durch. Die Konkordanz des IC-Status betrug dabei 82% bzw. 92,6% bei den synchronen Paaren und 75% bzw. 54,1% bei den asynchronen Paaren (143, 165). Auch dieses Ergebnis verdeutlicht die insgesamt hohe Übereinstimmung der TNBC-Primarius/Metastasen-Paare und liegt nahe an den in dieser Arbeit ermittelten Konkordanz-Raten. Jedoch zeigen auch diese Studien, dass der Zeitpunkt des Metastasierungsgeschehens zusätzlichen Einfluss auf die Konkordanz-Raten besitzt und die Übereinstimmung des PD-L1-Status bei synchronen Metastasen höher ist als bei später auftretenden Metastasen.

Auch Li et al. untersuchten die Konkordanz-Raten von synchron oder asynchron entnommenen gepaarten Proben. Die Übereinstimmung des IC-Status lag dabei bei 80% der synchronen bzw. bei 75% der asynchronen Proben. Bei den asynchronen Paaren lag die Übereinstimmung der TPS-Werte sogar bei 85%. So konnten Li et al. zeigen, dass der Zeitpunkt der Entnahme die Expression von PD-L1 in Immunzellen beeinflussen kann und eine höhere Übereinstimmung der PD-L1-Expression der Tumorzellen als der Immunzellen besteht (163). Allerdings handelte es sich bei 7 von 10 synchronen Paaren um Primarius/Primarius-Proben und bei einer weiteren um eine LK/LK-Probe. Nur in einem Fall war eindeutig ein Primarius/Metastasen-Paar vorhanden. Auch von den asynchronen Paaren (n=20) waren nur zwei eindeutige Primarius/Metastasen-Paare. Somit wurde durch die Angabe der Konkordanz-Raten dieser Paare eher die zeitliche Entwicklung des PD-L1-Status untersucht als die PD-L1-Expression vom Primarius zur Metastase hin, wie es in der vorliegenden Arbeit der Fall ist. 50% der asynchronen Paare waren übereinstimmend in ihrer IC-Positivität, 25% waren konkordant in ihrer PD-L1-Negativität. Von den 25% der diskordanten Paare waren 80% nach primärer PD-L1-Positivität später PD-L1-negativ, während es nur in einem Fall (20%) zu einer neu entwickelten IC-Positivität kam (163).

Ein Vergleich der Daten der vorliegenden Studie mit solchen Konkordanz-Raten zwischen synchronen und asynchronen Paaren, welche sich nicht ausschließlich aus Primärtumoren und zugehörigen Metastasen, sondern auch aus Primärtumoren und Rezidiven oder verschiedenen Metastasen zusammensetzen, ist nur eingeschränkt möglich. Eine Unterscheidung der Konkordanzen je nach Zeitpunkt der Metastasierung wurde in den

Untersuchungen nicht durchgeführt, doch die Ergebnisse der oben genannten Studien weisen große Übereinstimmung auf und verdeutlichen weiteren Forschungsbedarf, um den Einfluss des Metastasierungs-Zeitpunktes auf die PD-L1-Expression zu klären.

Tabelle 52: Konkordanz (%) der PD-L1-Expression in Primarius-Metastasen-Paaren

Studie	Konkordanz zwischen Primarius und LK-Metastase	Konkordanz zwischen Primarius und Fernmetastase
Krauthauser et al.	94,4 (TPS) 83,3 (CPS) 83,3 (IC)	100 (TPS) 77,78 (CPS) 77,78 (IC)

Studie	Synchrone Paare	Asynchrone Paare
Li, Chang et al.	82 (IC)	75 (IC)
Emens et al.	92,6 (IC)	54,1 (IC)
Li et al. (nicht nur Primarius-Metastasen-Paare)	80 (IC)	85 (TPS) 75 (IC)

Passend zu den insgesamt hohen Konkordanz-Raten der Primarius/Metastasen-Paare ergaben sich starke und hochsignifikante Spearman-Korrelationen zwischen Primarius und LK-Metastase für TPS ($r=0,686$, $n=18$, $p=0,002$), CPS ($r=0,664$, $n=18$, $p<0,003$) und IC ($r=0,707$, $n=18$, $p<0,001$). Zwischen Primarius und Fernmetastase lag kein signifikanter Zusammenhang vor, bzw. im Fall von TPS war eine Berechnung nicht möglich.

Unterstützt werden diese Ergebnisse durch Li et al., die zwischen Primarius und LK-Metastase hochsignifikante starke Spearman-Korrelationen für die PD-L1-Expression von Lymphozyten ($r=0,564$, $p<0,001$) sowie von Tumorzellen ($r=0,582$, $p<0,001$) errechneten (153). Wie auch in der vorliegenden Arbeit wurde die Diskordanz durch eine stärkere PD-L1-Expression der LK-Metastasen hervorgerufen. Als Unterschied ist allerdings herauszustellen, dass Li et al. an einem größeren TNBC-Kollektiv forschten und alle Patientinnen ausschließlich invasiv-duktales Karzinome aufwiesen, noch keine Fernmetastasen entwickelt und noch keine Therapie erhalten hatten. Trotzdem ist die Übereinstimmung der Daten sowohl bezüglich der PD-L1-Positivitätsraten als auch der Korrelationen groß.

Nach dieser ausführlichen Analyse der PD-L1-Expression im tripel-negativen Subtyp soll es abschließend um die PD-L1-Expression der anderen intrinsischen Subtypen gehen. Ein ausführlicher Literaturvergleich gestaltete sich allerdings schwieriger als beim TNBC, da zu dem Thema nur wenige Studien vorliegen. In der Metaanalyse von 20 verschiedenen Studien über die PD-L1-Positivität bei Brustkrebs war Boman et al. nur für den Subtyp des TNBC eine weitere Untergruppenanalyse möglich, da für die anderen Subtypen zu wenig Daten verfügbar waren (160). Das TNBC wird am häufigsten auf seine PD-L1-Expression untersucht, da eine Immuntherapie für diesen Subtyp als am essenziellsten und erfolgversprechendsten angesehen wird und da für die anderen Subtypen bereits andere etablierte Therapien vorliegen, welche auf ER/PR oder HER2 abzielen. Dies ist auch laut Stovgaard et al. der Hauptgrund dafür, warum in ihrer Metaanalyse für die anderen Subtypen deutlich weniger Erkenntnisse bezüglich der PD-L1-Expression gefunden werden konnten (168). Da sich der Großteil an Studien zur PD-L1-Expression nur auf das TNBC fokussiert, bietet die vorliegende Studie einen großen Mehrwert bezüglich des Wissens um die PD-L1-Expression in den anderen intrinsischen Subtypen.

Von den Primärtumoren des Luminal-A-Subtyps ($n=37$) lagen innerhalb des untersuchten Studienkollektivs 0% TPS-positive und je 8,1% CPS- sowie IC-positive Fälle vor. Bei den zugehörigen LK-Metastasen ($n=22$) lagen 0% TPS-, 22,7% CPS- sowie IC-positive Fälle vor. Bei den Fernmetastasen ($n=25$) lagen erneut 0% TPS-positive Proben vor. Nur jeweils 4% waren positiv für CPS und IC.

In der Subgruppe des Luminal-B/HER2-negativ-Subtyps (n=62) lagen 1,6% TPS- und je 24,2% CPS- sowie IC-positive Fälle vor. Bei den LK-Metastasen dieses Subtyps (n=46) waren 2,2% TPS- und 41,3% CPS-positiv. 39,1% waren positiv für IC. Bei Betrachtung der Fernmetastasen (n=32) ergaben sich 3,1% TPS- und 18,8% CPS- sowie IC-positive Fälle.

Von den Primärtumoren des Luminal-B/HER2-positiv-Subtyps (n=10) waren 0% TPS-positiv und je 30% CPS- sowie IC-positiv. Bei den zugehörigen LK-Metastasen (n=5) waren erneut 0% positiv für TPS. Für CPS und IC waren jeweils 40% positiv. Von den Fernmetastasen-Proben (n=7) waren je 0% positiv für TPS, CPS und IC.

Von den Primärtumoren des HER2-positiv-Subtyps (n=4) waren 0% TPS-positiv und je 75% CPS- und IC-positiv. Von den zugehörigen LK-Metastasen (n=4) waren 0% positiv für TPS. Jeweils 25% waren positiv für CPS und IC. Fernmetastasen lagen bei diesem Subtyp nicht vor.

Es zeigt sich somit, dass das TNBC im Vergleich mit den anderen Subtypen deutlich die höchsten TPS-Positivitätsraten in Primarius und LK-aufweist. In den Fernmetastasen zeigte hingegen der Luminal-B/HER2-negativ Typ die höchsten TPS-Werte. Außer bei diesem Subtyp waren die Tumorzellen aller Fernmetastasen-Proben negativ für PD-L1.

Für CPS und IC hatte der HER2-positiv Subtyp die höchsten Positivitätsraten im Primarius, wobei jedoch die sehr geringe und somit nicht repräsentative Stichprobe von nur 4 Fällen zu beachten ist. Das TNBC besaß für CPS und IC die höchsten CPS- und IC-Positivitätsraten in den LK-Metastasen sowie die zweithöchsten Positivitätsraten in Primarius und Fernmetastasen. Obwohl der Luminal-B/HER2-negativ-Subtyp von allen Subtypen die zweitniedrigsten CPS- und IC-Positivitätsraten im Primarius aufwies, lagen neben den TPS- auch seine CPS- und IC-Positivitätsraten der Fernmetastasen höher als die aller anderen Subtypen. So wiesen die Fernmetastasen dieses Subtyps überraschenderweise sogar eine stärkere PD-L1-Expression in Tumor- und Immunzellen auf als die TNBC-Fernmetastasen. Luminal-A Tumore wiesen im Primarius und in den LK-Metastasen die geringsten CPS- und IC-Werte auf. In den Fernmetastasen zeigte der Luminal-B/HER2-Typ keinerlei PD-L1-Expression und war somit der Subtyp mit den geringsten CPS- und IC-Werten in den Fernmetastasen.

Auch wenn es gilt, die PD-L1-Expression von Tumor- und Immunzellen sowie den Primärtumor von seinen Metastasen und LK- von Fernmetastasen zu unterscheiden, so zeigte sich in dieser Untersuchung, dass der HER2-positiv und der tripel-negative Subtyp die insgesamt höchsten PD-L1-Positivitätsraten im Primärtumor aufwiesen, während das TNBC in den LK-Metastasen die höchste Tumor- sowie Immunzell-PD-L1-Expression zeigte. In den Fernmetastasen besaß hingegen der Luminal-B/HER2-negativ-Subtyp höhere Positivitätsraten als das TNBC.

Studien am HER2-positiv Typ stehen aus, um repräsentativere Stichproben zu erhalten und die PD-L1-Expression der zugehörigen Fernmetastasen zu erforschen, was in der vorliegenden Studie nicht möglich war.

Auch andere Studien belegen deutlich die Unterschiede in der PD-L1-Expression, die sich zwischen den intrinsischen Subtypen in dieser Arbeit gezeigt haben.

Gatalica et al. wiesen in ihrem Gesamtkollektiv eine PD-L1-Tumorzell-Positivitätsrate von 45% nach. Dabei war das TNBC im Gesamtkollektiv jedoch überdurchschnittlich häufig vertreten und machte fast die Hälfte aller Fälle aus. Mit einer Positivitätsrate von 59% lag das TNBC signifikant über den anderen Subtypen. Luminal-A und Luminal-B wiesen je 33% und HER2-positiv 20% PD-L1-positive Proben auf (169). Diese PD-L1-Tumorzell-Positivitätsraten liegen insgesamt deutlich über denen der vorliegenden Arbeit, doch die deutlich häufigere PD-L1-Positivität des TNBC ist in beiden Studien gut zu erkennen.

Qin et al. fanden in ihren Untersuchungen der Tumorproben von 870 asiatischen Patientinnen innerhalb des Gesamtkollektivs eine PD-L1-Positivität der Tumorzellen in 21,7%. Auch dies liegt über dem TPS-Wert, der in der vorliegenden Arbeit festgestellt werden konnte, entspricht aber in etwa der beschriebenen Gesamt-Positivitätsrate an PD-L1-positiven Proben. Von den Luminal-A-Patientinnen waren 11,5%, von den Luminal-B/HER2-negativ Fällen 8,6% und von den Luminal-B/HER2-positiv Fällen 7,7% PD-L1-positiv. Innerhalb des TNBC-Kollektivs fanden sich 55,9% PD-L1-positive Fälle, womit sich das TNBC in den Untersuchungen von Qin et al. in seiner PD-L1-Expression deutlich von den anderen Subtypen unterscheidet (156).

Diese PD-L1-Positivitätsraten der Tumorzellen sind, verglichen mit der vorliegenden Studie, somit deutlich höher. In dieser Arbeit konnten lediglich für das TNBC und den Luminal-B/HER2-negativ-Subtyp positive TPS-Werte festgestellt werden. Kongruent ist jedoch, dass die TNBC-Primärtumore deutlich mehr PD-L1-Positivität in den Tumorzellen aufwiesen als alle anderen Subtypen.

Ein etwas anderes Ergebnis fand sich in der Studie von Muenst et al., die 650 Brustkrebs-Proben mittels Histo-Score erfolgreich auf eine PD-L1-Expression der Tumorzellen untersuchten. Im Gesamtkollektiv ergaben sich 12,8% Luminal-A, 47,4% Luminal-B/HER2-negativ, 11,3% Luminal-B/HER2-positiv, 8,6% HER2-positiv und 19,6% TNBC-Fälle, was der in der vorliegenden Studie festgestellten Verteilung der intrinsischen Subtypen recht nahekommt. Innerhalb des Gesamtkollektivs konnte eine PD-L1-Positivität in 23,4% der Fälle dargestellt werden, was deutlich über den vorbeschriebenen TPS-Werten liegt, jedoch gut der in dieser Arbeit beobachteten Gesamt-Positivitätsrate entspricht. Von den Luminal-A-Proben waren 12,1% PD-L1-positiv, beim Luminal-B/HER2-negativ waren es 20,4%, beim Luminal-B/HER2-positiv 28,8%, beim HER2-positiv 33,9% und beim TNBC 30,7%, die eine PD-L1-Positivität aufwiesen (157). Im Gegensatz zu den vorliegenden Untersuchungen wäre das TNBC hierbei erst nach dem HER2-positiv der Subtyp mit den meisten PD-L1-positiven Tumorzellen. Jedoch lässt sich auch anhand der vorliegenden Arbeit feststellen, dass der HER2-positiv Typ bezüglich IC und CPS den Positivitätsraten des TNBC überlegen ist. Die Unterschiede der PD-L1-Expression zwischen den intrinsischen Subtypen im Kollektiv von Muenst et al. waren allerdings nicht statistisch signifikant.

Ähnliche Ergebnisse zeigten sich in der Studie von Dill et al.. Bei Betrachtung der einzelnen intrinsischen Subtypen ergaben sich in ihrer Studie für Luminal-A die geringsten Werte mit 5% PD-L1-Positivität der Tumorzellen und 16,1% der Stromalen Immunzellen. Für Luminal-B lag die Positivitätsrate der Tumorzellen bei 15% und die der Immunzellen bei 35%. Für HER2-positiv ergaben sich für Tumor- und für Immunzellen je 50%, auch wenn die Aussagekraft dieses Ergebnisses mit nur 4 Fällen sehr begrenzt ist. Innerhalb des TNBC-Kollektivs wurde eine PD-L1-Positivität von 31,6% der Tumor- und 61,4% der Immunzellen festgestellt (159). Auch in der Studie von Dill et al. zeigt sich damit, dass HER2-positiv und das TNBC die Subtypen mit den höchsten PD-L1-Positivitätsraten sind. Dabei weist HER2-positiv bei Betrachtung der Tumorzellen die höheren Raten auf, während das TNBC bei Betrachtung der Immunzellen die häufigste PD-L1-Positivität besitzt. Dieser Befund entspricht genau den Ergebnissen von Muenst et al.. Im Vergleich zu der hier vorliegenden Arbeit ist dieser Befund allerdings grade umgekehrt, da diese für HER2-positiv die höchsten PD-L1-Immunzell- und für das TNBC die höchsten PD-L1-Tumorzell-Positivitätsraten aufzeigt.

Gupta et al. konnten in ihrer Studie hingegen keinen statistisch signifikanten Unterschied in der PD-L1-Expression zwischen den intrinsischen Subtypen feststellen. Es bestand jedoch ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen PD-L1-Expression und ER-Positivität, HER2-Negativität und einem hohen Ki-67-Proliferationsindex (154). Dies würde somit eine vermehrte PD-L1-Expression beim Luminal-B/HER2-positiv Typ implizieren. Das Forscherteam merkt in seiner Arbeit selbst an, dass ihr Ergebnis im Widerspruch zu vielen anderen Studien steht, die nachweisen, dass v.a. der tripel-negative Subtyp mit einer PD-L1-Positivität assoziiert ist, und führt dies auf ihre geringe Stichprobengröße von nur 50 Patientinnen zurück (154).

In der Literatur besteht also kein einheitliches Ergebnis bezüglich der PD-L1-Expression der verschiedenen Subtypen. Dies wird auch in der Metaanalyse von Stovgaard et al. aus dem Jahr 2019 deutlich. Dabei lag die PD-L1-Expression im Luminal-A-Subtyp bei 2,3-37%, bei Luminal-B bei 9-46% und bei HER2-positiv zwischen 0% und 33%. Das TNBC zeigte Positivitätsraten von 5% bis 80%. Auch wenn die PD-L1-Expression über alle Subtypen hinweg zwischen 0% und 83 % lag, ermittelte die große Mehrheit der von Stovgaard et al. untersuchten Studien Werte <50% (168).

Insgesamt zeigt sich bei Betrachtung der von Stovgaard et al. zusammengefassten Studien zudem, dass insbesondere bezüglich des HER2-positiv Subtyps große Uneinigkeit über die PD-L1-Expression besteht. In einigen Studien, wie in denen von Muenst sowie Dill et al., ist der HER2-positiv der Subtyp mit den höchsten PD-L1-Positivitätsraten. In anderen Studien ist er hingegen der Subtyp mit der geringsten PD-L1-Expression oder exprimiert sogar gar kein

PD-L1. Diese großen Differenzen könnten dadurch verursacht werden, dass in vielen Studien der HER2-positiv der seltenste Subtyp ist und oft nur wenige Fälle analysiert wurden. In diesem Bereich wäre weiterer Forschungsbedarf nötig, um die beschriebenen Unklarheiten auszuräumen und repräsentativere Daten zu erhalten. In der Metaanalyse von Stovgaard et al. besteht zwischen den Studien jedoch Einigkeit darüber, dass das TNBC der Subtyp ist, der die höchsten PD-L1-Expressions-Raten aufweist oder zumindest die gleichen Positivitätsraten besitzt, wie der HER2-positiv Subtyp. Lediglich die Studien von Muenst sowie Dill et al. stellen hierbei Ausnahmen dar.

Matikas et al. unterschieden im Gegensatz zu Stovgaard et al. in ihrer Metaanalyse die PD-L1-Expression der Tumor- von der der Immunzellen bzw. dem gemischten Positivitäts-Score. Sie kamen zu dem Schluss, dass ER-positiv/HER2-negativ Tumore in 24% der Fälle eine PD-L1-Positivität in den Tumorzellen aufwiesen, während dies bei 30% der HER2-positiven und bei 41% der TNBC-Proben der Fall war. Die PD-L1-Positivität der Immunzellen konnte nur beim TNBC analysiert werden und ergab 48% positiver Proben. Für die anderen Subtypen lagen keine bzw. nicht ausreichend Daten vor, die sich mit der PD-L1-Positivität der Immunzellen beschäftigten. Für den gemischten Tumor-/Immunzell-Score ergab sich für die HER2-positiven Proben in 30% und für das TNBC in 46% der Fälle PD-L1-Positivität. Für ER-positiv/HER2-negativ Tumore lagen erneut nicht genügend Studien vor (12).

Dies unterstreicht erneut, dass das TNBC der Subtyp mit den höchsten PD-L1-Positivitätsraten ist, aber auch, dass bezüglich der anderen Subtypen weiterer Forschungsbedarf besteht. Der HER2-positiv Subtyp weist mitunter ebenfalls eine häufige PD-L1-Expression auf, wobei insbesondere bezüglich der PD-L1-Expression der Immunzellen nicht viel bekannt ist und die PD-L1-Positivitätsraten dieses Subtyps zwischen den einzelnen Studien große Differenzen aufweisen. Die Luminalen Subtypen weisen in den meisten Studien die geringsten PD-L1-Positivitätsraten auf, wobei die Werte von Luminal-B i.d.R. über denen von Luminal-A liegen.

Tabelle 53: PD-L1-Expression (%) der verschiedenen intrinsischen Subtypen

Studie	PD-L1 (%)	Luminal-A			Luminal-B/HER2-negativ			Luminal-B/HER2-positiv			HER2-positiv			TNBC		
		T	N	M	T	N	M	T	N	M	T	N	M	T	N	M
Krauthauser et al.	TPS	0	0	0	1,6	2,2	3,1	0	0	0	0	0	/	4	11,1	0
	CPS	8,1	22,7	4	24,2	41,3	18,8	30	40	0	75	25	/	36	50	11,1
	IC	8,1	22,7	4	24,2	39,1	18,8	30	40	0	76	25	/	36	50	11,1

Studie	Luminal-A	Luminal-B/HER2-negativ	Luminal-B/HER2-positiv	HER2-positiv	TNBC
Gatalica et al.	33 (TPS)	33 (TPS)		20 (TPS)	59 (TPS)
Qin et al.	11,5 (TPS)	8,6 (TPS)	7,7 (TPS)	/	55,9 (TPS)
Muenst et al.	12,1 (TPS)	20,4 (TPS)	28,8 (TPS)	33,9 (TPS)	30,7 (TPS)
Dill et al.	5 (TPS)	15 (TPS)		50 (TPS)	31,6 (TPS)
	16,1 (IC)	35 (IC)		50 (IC)	61,4 (IC)
Stovgaard et al.	2,3-37	9-46		0-33	5-80
Matikas et al.	24 (TPS)		30 (TPS)		41 (TPS)
			30 (CPS)		46 (CPS)
					48 (IC)

Den erfolgten Recherchen nach hat bislang keine Studie die PD-L1-Expression der zu den unterschiedlichen Subtypen zugehörigen Metastasen untersucht. Die Erkenntnis dieser Arbeit, dass die Fernmetastasen des Luminal-B/HER2-negativ-Subtyps sogar höhere PD-L1-Positivitätsraten aufweisen als die des TNBC, kann somit nicht mit der Literatur verglichen werden. Zudem wäre es interessant, mehr Erkenntnisse über den PD-L1-Status der Fernmetastasen des HER2-positiv Subtyps zu gewinnen, da in der vorliegenden Studie keine Fernmetastasen dieses Subtyps vorlagen.

Weiterhin deckt diese Arbeit auf, dass die Konkordanz-Raten zwischen Primärtumoren und LK- bzw. Fernmetastasen sich zwischen den Subtypen teils deutlich unterscheiden und insbesondere der Luminal-B/HER2-negativ und der HER2-positiv Subtyp zwischen Primarius und LK-Metastase geringere Konkordanzen aufweisen als die anderen Subtypen.

Bei Luminal-A lagen zwischen Primarius und LK-Metastase hohe Konkordanzen von 86,3-100% bei Betrachtung von TPS, CPS und IC vor. Ebenso zwischen Primarius und Fernmetastase mit 92-100%. Signifikante Zusammenhänge und Korrelationen ließen sich jedoch nur zwischen Primarius und LK-Metastase feststellen (CPS sowie IC: $r=0,583$, $n=22$, $p=0,004$). Eine Berechnung der Zusammenhangsmaße war bei TPS insgesamt nicht möglich. Beim Luminal-B/HER2-negativ Subtyp war die Konkordanz der CPS und IC-Werte zwischen Primarius und LK-Metastasen mit 63-65,2% verhältnismäßig niedrig und es lagen keine signifikanten Korrelationen vor. Für TPS war die Konkordanz zwar hoch (97,8%), doch eine Berechnung von Zusammenhangsmaßen war nicht möglich. Zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen lagen die Konkordanz-Raten zwischen 75% und 100%, während nur für TPS eine signifikante Korrelation ($r=1$, $n=32$, $p<0,000$) der Werte vorlag.

Beim Luminal-B/HER2-positiv Subtyp ergaben sich zwischen Primarius und LK-Metastase für TPS, CPS und IC jeweils Konkordanzen von 100% und für CPS und IC signifikante Korrelationen ($r=1$, $n=5$, $p<0,001$), wobei jedoch die geringe Anzahl der Proben zu beachten ist. Die Konkordanz der Primärtumore und ihrer Fernmetastasen lag bei 71,4-100%, während eine Berechnung von Korrelationen nicht möglich war.

Der HER2-positiv Subtyp besaß in dieser Studie ausschließlich LK-Metastasen, die ein heterogenes Konkordanz-Muster aufwiesen. Für TPS lag die Konkordanz-Rate bei 100%, während sie bei CPS und IC nur je 50% betrug. Für CPS und IC lag zudem keine Korrelation vor, während sie sich für TPS auf Grund der einheitlich negativen Fälle nicht berechnen ließ. Auch bei diesem Subtyp ist allerdings die geringe Stichprobengroße zu beachten, was u.a. zu den inhomogenen Ergebnissen beigetragen haben könnte.

Tabelle 54: Konkordanz (%) der PD-L1-Expression (TPS, CPS, IC) zwischen Primarius und LK- bzw. Fernmetastase

Luminal-A		Luminal-B/HER2-negativ		Luminal-B/HER2-positiv		HER2-positiv	
T/N	T/M	T/N	T/M	T/N	T/M	T/N	T/M
86,3-100	92-100	63-65,2	75-100	100	71,4-100	50-100	/

Über alle Subtypen hinweg zeigen sich also Konkordanz-Raten zwischen Primarius und LK-Metastase von 50-100%, wobei die Konkordanz der TPS-Werte stets höher als die Konkordanz der CPS- und IC-Werte war. Dies bedingte sich durch die meist negativen TPS-Werte. Der Luminal-B/HER2-positiv Subtyp wies insgesamt die höchsten Konkordanzen zwischen Primarius und LK-Metastasen auf, gefolgt vom Luminal-A und tripel-negativem Subtyp. Der HER2-positiv Typ wies die geringsten Konkordanz-Raten auf.

Beim Luminal-A Subtyp wurde, wie auch beim TNBC, die vorhandene Diskordanz ausschließlich durch einen Zugewinn an PD-L1-Positivität der LK-Metastasen verursacht, während beim HER2-positiv Typ ausschließlich ein Verlust des primär PD-L1-positiven Status in den LK-Metastasen zu beobachten war. Beim Luminal-B/HER2-negativ Subtyp war sowohl ein Zugewinn als auch ein Verlust der PD-L1-Positivität vom Primarius zur LK-Metastase hin zu verzeichnen, wobei eine in der LK-Metastase neu erworbene PD-L1-Positivität knapp doppelt so häufig vorkam, wie ein Verlust der Positivität. Insgesamt war eine Änderung des PD-L1-Status von negativ zu positiv (16/95) und umgekehrt (8/95) etwas häufiger, als dass ein primär PD-L1-positiver Status in der LK-Metastase beibehalten wurde (19/95).

Die Konkordanzen zwischen Primärtumoren und Fernmetastasen lagen über alle Subtypen hinweg zwischen 71,4% und 100%. Auch hier wurden die höchsten Konkordanzen durch die TPS-Werte erreicht, bei denen fast immer in beiden Proben negative Werte vorlagen. Insgesamt zeigte sich die Übereinstimmung des PD-L1-Status zwischen Primarius und Fernmetastase über die Subtypen hinweg einheitlicher und der Luminal-A Typ erreichte die höchsten Konkordanz-Raten, gefolgt vom TNBC, dem Luminal-B/HER2-negativ und

schließlich dem Luminal-B/HER2-positiv Subtyp. Außer bei dem übereinstimmenderen Luminal-A lagen die Konkordanz-Raten von CPS und IC der anderen Subtypen mit 71,4% bis 77,78% alle dicht beieinander.

Während die Diskordanzen beim TNBC und beim Luminal-B/HER2-positiv Subtyp ausschließlich durch einen Verlust an PD-L1-Positivität in der Fernmetastase verursacht wurden, kam es beim Luminal-A Typ zu einem seltenen, aber ausgewogenen Verhältnis von Verlust und Hinzugewinn einer PD-L1-Expression in der Fernmetastase. Der Luminal-B/HER2-negativ Typ hingegen wies einen häufigeren Hinzugewinn an PD-L1-Positivität auf. 62,5% seiner diskordanten Fälle wurden in der Fernmetastase neu PD-L1 positiv, während nur 37,5% die PD-L1-Positivität ihres Primärtumors in der Fernmetastase verloren. Über alle Subtypen hinweg war eine Veränderung des PD-L1-Status vom Primarius zur Fernmetastase von positiv zu negativ sowie von negativ zu positiv häufiger als das Beibehalten einer primären PD-L1-Positivität. Das Vorkommen von PD-L1-positiv/positiven Paaren war insgesamt sehr selten und lag je nach Subtyp bei 0% (0/25 Fällen bei Luminal-A) bis 25% (1/4 Fällen bei HER2-positiv).

Nur beim TNBC, dem Luminal-A und dem Luminal-B/HER2-positiv Subtyp lagen zwischen den PD-L1-Werten von Primarius und LK-Metastase signifikante Korrelationen vor. Die CPS- und IC-Werte keines Subtyps korrelierten signifikant zwischen Primarius und Fernmetastase, während für die TPS-Werte außer beim Luminal-B/HER2-negativ Typ keine Korrelations-Berechnung möglich war. In diesem einen Fall lag eine starke, signifikante Korrelation vor. Da insgesamt die meisten Fälle sowohl im Primarius als auch in der zugehörigen Metastase PD-L1-negativ waren, hatten die Fälle, die PD-L1-positiv waren oder wurden, einen großen Einfluss auf die Korrelationen, was die teils nicht signifikanten Korrelationen trotz der insgesamt hohen Konkordanzen erklärt.

Da in der vorliegenden Studie auch Patientinnen mit systemischer Therapie des Mammakarzinoms eingeschlossen wurden, ist es möglich, dass die unterschiedlich gerichteten Änderungen des PD-L1-Status vom Primarius zur Metastase dadurch mitbedingt wurden. Ein Einfluss des Subtyps auf die Konkordanz-Rate und auf die Richtung der Veränderung des PD-L1-Status vom Primarius zur Metastase hin ist jedoch anzunehmen. Der Luminal-A, der Luminal-B/HER2-positiv und der tripel-negative Subtyp scheinen insgesamt die höchste Übereinstimmung des PD-L1-Status zwischen Primarius und Metastase zu besitzen, wobei es jedoch auch einen Unterschied macht, ob es sich um eine LK- oder eine Fernmetastase handelt. In LK-Metastasen kommt es in den meisten, aber nicht in allen Subtypen, häufiger zu einer neu erworbenen PD-L1-Expression als zu einem Verlust dessen. In den Fernmetastasen kommt es dahingegen häufiger zu einem Verlust der PD-L1-Expression, wobei der Luminal-B/HER2-negativ Typ eine Ausnahme darstellt und in den Fernmetastasen, wie auch in den LK-Metastasen, ein häufigeres Neuauftreten von PD-L1-Expression aufweist. Da bislang keine vergleichende Literatur besteht, ist weitere Forschung zu dieser Thematik dringend nötig.

5.10 Unterschied in der PD-L1-Expression nach Metastasen-Lokalisation

In dieser Arbeit wurde insgesamt die Tendenz festgestellt, dass LK-Metastasen häufiger PD-L1 positiv waren als ihre Primärtumore oder jegliche Fernmetastasen des Mammakarzinoms. Die Fernmetastasen waren eher PD-L1-negativ, auch wenn der zugehörige Primarius positive PD-L1-Werte aufwies. Insgesamt ließen sich deutliche Unterschiede der PD-L1-Expression je nach Lokalisation feststellen.

Die LK-Metastasen des beobachteten Kollektivs waren in 3,2% TPS-, in 37,9% CPS- und in 36,8% IC-positiv. Von den Fernmetastasen waren insgesamt 1,4% TPS-positiv und je 11% CPS- sowie IC-positiv. Bei Unterscheidung der Fernmetastasen nach anatomischer Lokalisation zeigte sich, dass bis auf eine Hautmetastase keine einzige Fernmetastasen-Probe eine TPS-Positivität aufwies. Die Metastasen-Lokalisationen, die häufig vorkamen (Leber und Knochen) wiesen recht niedrige CPS- und IC-Werte mit nur 4-12,5% an positiven Proben auf, während die anatomischen Lokalisationen, die selten mit nur jeweils 4-5 Proben

(Lunge/Pleura, Haut, Peritoneum) vertreten waren, deutlich höhere CPS- und IC-Positivitätsraten mit 20-25% erkennen ließen.

Von den Lebermetastasen waren 0% TPS- und je 12,5% CPS- sowie IC- positiv. Ebenfalls 0% der ossären Metastasen (n=25) waren TPS-positiv. Ein einziger Fall (4%) wies einen positiven CPS-Wert auf und war zudem IC-positiv. Dabei handelte es sich in diesem Einzelfall um eine neu erworbene PD-L1-Positivität. In Lunge und Pleura (n=5) waren 0% TPS-positiv und je 20% CPS- sowie IC-positiv. Bei Untersuchung der im Peritoneum lokalisierten Metastasen (n=4) wiesen 0% eine TPS-Positivität und je 25% eine CPS- bzw. IC-Positivität auf. Von den Hautmetastasen (n=5) war eine Probe (20%) sowohl für TPS- als auch für CPS- und IC-positiv. Die beiden Fernmetastasen sonstiger Lokalisation (n=2) wiesen für TPS, CPS und IC ausschließlich negative Werte auf.

Für die LK-Metastasen lagen neben den hohen PD-L1-Positivitätsraten hochsignifikante Korrelationen mit den Werten der zugehörigen Primärtumore vor. Zwischen Primarius und Fernmetastase fanden sich hingegen außer für die TPS-Werte der Hautmetastasen (n=5) keine signifikanten Korrelationen. Die Konkordanzen der PD-L1-Werte der jeweiligen Metastasen-Lokalisationen mit ihren Primärtumoren waren insgesamt hoch (60-100%), mit den geringsten Konkordanz-Raten für Lunge/Pleura- und LK-Metastasen. Über alle Lokalisationen hinweg wiesen die TPS-Werte höhere Konkordanzen auf als die CPS- und IC-Werte.

Auch Manson et al. analysierten die PD-L1-Positivitätsraten von 106 Fernmetastasen. Beim Vergleich der verschiedenen Metastasen-Lokalisationen wurde die geringste PD-L1-Expression von Tumorzellen in Metastasen im Knochen (0%) und im weiblichen Genital (0%) festgestellt. Gehirn- (11%) und Hautmetastasen (18,8%) lagen im Mittelfeld und die häufigste PD-L1-Tumorzell-Expression kam in Lungen- oder Pleura- (38,5%) sowie in gastrointestinalen Metastasen (50%) vor. Diese Unterschiede waren allerdings nicht statistisch signifikant. Für die PD-L1-Expression in Immunzellen ergaben sich hingegen signifikante Unterschiede für die verschiedenen Metastasen-Lokalisationen. 0% der Knochenmetastasen, 33,3% der gynäkologischen, 37,5% der Haut- und 40,7% der Gehirnmetastasen wiesen eine PD-L1-Expression auf. Die höchsten Positivitätsraten zeigten sich in Lunge/Pleura mit 76,9% und gastrointestinalen Metastasen mit 100% (152).

Die in der vorliegenden Arbeit beobachteten TPS-Werte für Knochen und Haut entsprechen somit den von Manson et al. gefundenen Tumorzell-Positivitätsraten. Doch alle anderen Werte liegen deutlich unter denen, die von Manson et al. berichtet werden. Die PD-L1-Expression der Immunzellen lag in den untersuchten Knochenmetastasen der vorliegenden Studie etwas höher, doch für alle anderen Lokalisationen ergeben sich im Vergleich geringere Positivitätsraten. Für Lebermetastasen, die in der vorliegenden Studie am häufigsten vorkamen, werden von Manson et al. keine PD-L1-Werte angegeben, wohingegen diese Arbeit keine Proben von Gehirn und den weiblichen Geschlechtsorganen einschloss. Zudem sind in der Studie von Manson et al. die geringen Fallzahlen von je nur zwei bis drei Proben von ossären, gynäkologischen und gastrointestinalen Metastasen zu beachten. Auch wenn die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Werte insgesamt deutlich unter denen aus der Studie von Manson et al. liegen, so zeigt sich doch eine Übereinstimmung darin, dass im Knochen eine geringere PD-L1-Expression zu beobachten ist als in Haut-, Lungen/Pleura- und gastrointestinalen bzw. peritonealen Metastasen und das letztere zudem die stärkste PD-L1-Expression der Immunzellen aufweisen.

Auch in der Metaanalyse von Boman et al. ergaben sich für die gepoolten IC-Positivitätsraten in Knochen- (12%) und Lebermetastasen (19%) die niedrigsten Werte. Die Positivitätsraten in LK- (60%) und Lungenmetastasen (52%) waren am höchsten. Im Mittelfeld lagen Haut- (39%), Weichgewebs- (41%) und Gehirnmetastasen (44%) (160).

Damit erweist sich der Knochen erneut als die Metastasen-Lokalisation mit der geringsten PD-L1-Expression von Immunzellen, was die Befunde der vorliegenden Studie sowie der Studie von Manson et al. stützt. Zudem weisen Lebermetastasen die zweitgeringsten IC-Positivitätsraten auf, während die der LK-Metastasen am höchsten liegen. Haut, Lunge/Pleura und Weichgewebe bzw. Peritoneum liegen mit ihren Werten dazwischen. Auch wenn die in der vorliegenden Arbeit ermittelten PD-L1-Werte geringer sind, entspricht diese Staffelung der

PD-L1-Werte genau den gewonnenen Erkenntnissen. Interessant ist, dass in der Analyse von Boman et al. die Metastasen in Haut, Weichgewebe, Gehirn und Lunge recht ähnliche IC-Positivitätsraten aufwiesen wie die Primärtumore (51,2%). Die in der vorliegenden Arbeit festgestellten Werte liegen zwar insgesamt niedriger, doch auch hier fand sich eine Ähnlichkeit der IC-Positivitätsraten zwischen Primärtumoren und Haut-, Lungen/Pleura- und Peritoneal-Metastasen (23,9% vs. 20-25%).

Nur wenige der von Boman et al. analysierten Studien berichteten über die PD-L1-Expression in Tumorzellen, aufgeschlüsselt nach Metastasen-Lokalisation. Nur für LK- und Gehirnmastasen lagen TPS-Werte in ausreichender Zahl vor. Dabei ergaben sich Positivitätsraten von 27% für LK- und 21% für Gehirnmastasen (160), womit sich für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten LK-Metastasen erneut deutlich niedrigere TPS-Werte abzeichnen. Alle von Boman et al. analysierten Metastasen stammten von TNBC-Tumoren, da für die anderen Subtypen zu wenige vergleichbare Daten verfügbar waren und die Ergebnisse von TMA und WTS-Proben wurden zusammengefasst. Dies könnte die im Vergleich zu dieser Arbeit deutlich höheren PD-L1-Positivitätsraten miterklären. Auf Grund der signifikanten Unterschiede der PD-L1-Positivität in Abhängigkeit von der Metastasen-Lokalisation stellten Boman et al. insgesamt eine intertumorale räumliche Heterogenität der PD-L1-Expression fest, was den HR- und HER2-Expressions-Unterschieden je nach Metastasierungsart ähnelt (160).

Viele Studien vergleichen nur beim tripel-negativen Subtyp die PD-L1-Expression von Metastasen nach ihren anatomischen Lokalisationen miteinander. Wie bereits beschrieben, steht das TNBC im Fokus des Interesses der PD-L1-Forschung im Mammakarzinom, da hierfür bereits Immuntherapeutika zugelassen sind.

Im TNBC-Kollektiv dieser Studie erwiesen sich von den LK-Metastasen (n=18) 11,1% als TPS- und 50% als CPS- sowie IC-positiv. Von den Fernmetastasen (n=9) waren 6 in der Leber, eine im Knochen (ossär) und zwei in der Haut lokalisiert. Es erwiesen sich 0% der Fälle als TPS-positiv. 11,1% waren CPS- sowie IC-positiv. Die CPS- und IC-positiven Werte wurden durch eine Lebermetastase bedingt; alle anderen Fernmetastasen waren PD-L1-negativ. Da die Zahl der TNBC-Fernmetastasen, insbesondere mit Lokalisation in Haut und Knochen, so gering ist, ist die Vergleichbarkeit sehr eingeschränkt. Die IC- und CPS-Positivität der Lebermetastasen (1/6 bzw. 16,67%) im TNBC-Kollektiv entspricht in etwa den Werten der Lebermetastasen aller Subtypen zusammengenommen. Doch zu den anderen Lokalisationen sind innerhalb des TNBC-Kollektivs kaum Aussagen zu treffen. Daher ist ein Vergleich der PD-L1-Expression der Fernmetastasen innerhalb des Gesamtkollektivs sinnvoller, auch wenn in der Literatur meist über die Metastasen von tripel-negativen Tumoren berichtet wird.

Bockstal et al. untersuchten die PD-L1-Positivität und die Anzahl an TILs in TNBC-Metastasen und fanden dabei eine große Variation der Werte, je nach anatomischer Lokalisation (170).

Diese Heterogenität bestätigt auch die IMpassion 130-Studie, bei der Emens et al. eine IC-Positivitätsrate der Primärtumore von 44% und der zusammengefassten Metastasen von 35,6% aufdeckten. Die LK-Metastasen (n=109) allein waren sogar in 51,3% der Fälle IC-positiv, wohingegen die Lebermetastasen (n=47) mit 12,8% die geringste IC-Positivität erreichten (165). Die IC-Werte der LK- und Lebermetastasen sind denen des TNBC-Kollektivs der vorliegenden Arbeit sehr ähnlich und ebenfalls vergleichbar mit dem untersuchten Gesamtkollektiv, auch wenn letzteres etwas niedrigere Werte aufweist. Weichgewebe (n=39) und sonstige Lokalisationen (n=46) erreichten in der IMpassion-130-Studie mit 28,2% bzw. 37% die nächstgeringsten IC-Positivitätsraten. Lunge (n=54), Gehirn (n=9) und Haut (n=21) waren mit 42,8%, 44,4% bzw. 47,6% die Metastasen-Lokalisationen, die den IC-Positivitätsraten der Brust am nächsten kamen (165).

Dieser Befund weist große Ähnlichkeit zu den Ergebnissen dieser sowie der von Boman et al. durchgeführten Studie auf. Knochen- und Lebermetastasen lassen stets die geringste und LK-Metastasen die höchste PD-L1-Expression erkennen. Die anderen Metastasen-Lokalisationen liegen mit ihren PD-L1-Expressionsraten dazwischen und sind den Werten der Primärtumore recht ähnlich.

Ein Grund für die häufig höheren PD-L1-Positivitätsraten, von denen Emens et al. berichten, könnte sein, dass bei mehreren von einer Patientin vorliegenden Proben immer die Probe mit dem höchsten IC-Wert für die Bestimmung des PD-L1-Status herangezogen wurde. Krankheitsstadium und Zeitpunkt der Probenentnahme wurden dabei nicht berücksichtigt (165).

Passend zu den bisherigen Erkenntnissen fanden Rozenblit et al. insbesondere in Knochen- (16,7%) und Leber- (17,4%) und Hautmetastasen (23,8%) geringe IC-Positivitätsraten. Die Positivitätsraten von Lungen- (68,8%), Weichgewebs- (65,2%) und LK-Metastasen (51,1%) waren den Ergebnissen der Primärtumore (63,7%) ähnlich. Eine PD-L1-Expression der Tumorzellen war hingegen selten und betrug 8,3% in den Primärtumoren und 4,3% in den Metastasen. Ein signifikanter Unterschied war dabei nicht vorhanden. Von nur 7 TPS-positiven Metastasen zeigte eine LK-Metastase TPS-Positivität bei gleichzeitiger IC-Negativität. Alle anderen TPS-positiven Metastasen waren gleichzeitig auch IC-positiv. Das Kollektiv von Rozenblit et al. umfasste im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit nicht-gepaarte Primarius/Metastasen-Proben. Für die einzelnen Lokalisationen der TNBC-Metastasen waren jeweils >10 Gewebeproben vorhanden (16).

Auch in der Studie von Rozenblit et al. zeigten sich folglich die geringsten IC-Positivitätsraten in Knochen und Leber, während die anderen Lokalisationen in ihrer PD-L1-Immunezell-Expression mit den Primärtumoren vergleichbar waren. Jedoch war die PD-L1-Positivität der LK-Metastasen im Vergleich zu den anderen Metastasen-Lokalisationen verhältnismäßig niedrig. Dies könnte dadurch mitbedingt sein, dass die Proben nicht gepaart waren, stellt jedoch ein ungewöhnliches und dieses sowie den anderen besprochenen Studien widersprechendes Ergebnis dar.

In der Studie von Li et al. besaßen LK-Metastasen mit 65% im Vergleich mit den anderen Metastasen-Lokalisationen die höchste IC-Positivität. Diese war zudem ausgeprägter als in den Primärtumoren (57,1%), was in Übereinstimmung mit den meisten anderen Studien steht. Fernmetastasen waren im Durchschnitt in 42,1% der Fälle IC-positiv. Auch in der Studie von Li et al. hatten Knochen- (25%) und Lebermetastasen (26,9%) die geringste IC-Prävalenz aufzuweisen. In Metastasen im Weichgewebe zeigten sich IC-Positivitätsraten von 42,9%, in Gehirn, Lunge und Haut lagen die Positivitätsraten bei 50%, 53,3% bzw. 57,1% (163).

Tabelle 55: PD-L1-Expression (%) nach Metastasen-Lokalisation

Studie	LK-Metastasen	Fernmetastasen gesamt	Leber	Knochen	Lunge/Pleura	Peritoneum/Weichgewebe	Haut
Gemischtes Brustkrebskollektiv							
Krauthaus et al.	3,2 (TPS) 37,9 (CPS) 36,8 (IC)	1,4 (TPS) 11 (CPS) 11 (IC)	0 (TPS) 12,5 (CPS) 12,5 (IC)	0 (TPS) 4 (CPS) 4 (IC)	0 (TPS) 20 (CPS) 20 (IC)	0 (TPS) 25 (CPS) 25 (IC)	20 (TPS) 20 (CPS) 20 (IC)
Manson et al.				0 (TPS) 0 (IC)	38,5 (TPS) 76,9 (IC)	50 (TPS) 100 (IC)	18,8 (TPS) 37,5 (IC)
Reines TNBC-Kollektiv:							
Krauthaus et al.	11,1 (TPS) 50 (CPS) 50 (IC)	0 (TPS) 11,1 (CPS) 11,1 (IC)	0 (TPS) 16,67 (CPS) 16,67 (IC)	0 (TPS, CPS, IC)	0 (TPS, CPS, IC)	0 (TPS, CPS, IC)	0 (TPS, CPS, IC)
Boman et al.	27 (TPS) 60 (IC)		19 (IC)	12 (IC)	52 (IC)	41 (IC)	39 (IC)
Emens et al.	51,3 (IC)	35,6 (IC)	12,8 (IC)		42,8 (IC)	28,2 (IC)	47,6 (IC)
Rozenblit et al.	51,1 (IC)	4,3 (TPS)	17,4 (IC)	16,7 (IC)	68,8 (IC)	65,2 (IC)	23,8 (IC)
Li et al.	65 (IC)	42,1 (IC)	26,9 (IC)	25 (IC)	53,3 (IC)	42,9 (IC)	57,1 (IC)

Auch die Auswertung der intervallskalierten IC-Werte von Li et al. zeigte, dass der mediane Prozentsatz von IC in Knochen- (Median: 0,25%, n=4), Weichteilgewebs- (Median: 0,5%, n=7) und Lebermetastasen (Median: 0,5%, n=26) am niedrigsten war. Die mediane IC-Prävalenz in Haut- (Median: 1%, n=14) und Gehirnmetastasen (Median: 1,75%, n=4) lag im Mittelfeld, während die mediane Prävalenz von Lungen- (Median: 2%, n=15) und LK-Metastasen

(Median: 3%, n=60) am höchsten war. Die Primärtumore (Median: 1%, n=303) lagen mit ihren IC-Werten etwa in der Mitte des Spektrums (163).

Dies impliziert, dass Leber- und Knochenmetastasen nicht nur am seltensten eine IC-positive Probe aufweisen, sondern dass zudem die Stärke bzw. Ausprägung der PD-L1-Expression recht gering ist. Der Median des TPS lag hingegen bei 0%, unabhängig von der anatomischen Lokalisation und unabhängig davon, ob es sich um einen Primarius oder eine Metastase handelte. Passend dazu unterschied sich die TPS-Positivität nicht signifikant zwischen Primärtumoren, LK- und Fernmetastasen (163).

Die PD-L1-Expression der Tumorzellen scheint damit insgesamt weniger heterogen zu sein als die PD-L1-Werte der Immunzellen.

Auch die Arbeitsgruppe um Li und Chang fand die höchste PD-L1-Expression von Immunzellen in LK-Metastasen (Median: 3%) und die geringste Expression in Lebermetastasen (Median: 0,5%). Die Primärtumore lagen mit einem Median von 1% dazwischen. Die PD-L1-Verteilung zwischen Primärtumoren und zusammengefassten Metastasen war jedoch ähnlich, mit einem Median von 1% für IC und 0% für TPS (143).

Da die Expression von PD-L1 in Immunzellen und das Vorkommen von TILs deutlich miteinander korrelieren, ist es zudem interessant, die Unterschiede der TIL-Infiltration in Metastasen unterschiedlicher Lokalisationen zu betrachten. Die Zahl der TILs in den Primärtumoren liegt insgesamt höher als in den Metastasen (139, 141, 143). Dabei wiesen Lebermetastasen in den Untersuchungen von Li, Chang et al. mit nur 5% die geringste TIL-Infiltration auf, während Primärtumore, LK- und Lungenmetastasen mit je 10% ähnlich hohe Werte aufwiesen (143).

Die Unterschiede der PD-L1-Expression von Immunzellen werden also ebenfalls durch die unterschiedlichen TIL-Infiltrations-Raten widerspiegelt. Dies und der Fakt, dass die Heterogenität in der PD-L1-Positivität von Immunzellen zwischen den einzelnen anatomischen Lokalisationen stärker ausgeprägt ist als die der PD-L1-Positivität von Tumorzellen, deutet darauf hin, dass die unterschiedlich ausgeprägte Immunogenität und die verschiedenen Tumor-Immun-Mikroumgebungen der anatomischen Lokalisationen Ursachen für die Diskordanzen der PD-L1-Expression darstellen.

Auch Rozenblit et al. sehen echte immunologische Unterschiede zwischen Primärtumoren und Metastasen als die wahrscheinlichste Erklärung für die Diskordanz der PD-L1-Expression. So zeigt der Primärtumor i.d.R. eine stärkere Immunzellinfiltration und eine höhere Expression von Immunaktivierungsmarkern als die zugehörigen Fernmetastasen, was die geringere PD-L1-Expression in Fernmetastasen mitverursachen könnte. Die Variabilität der PD-L1-Expression zwischen den verschiedenen Metastasen-Lokalisationen könnte laut Rozenblit et al. ihren Grund darin haben, dass bestimmte anatomische Lokalisationen immunschwächer sind als andere (16).

Insbesondere Brustkrebsmetastasen in Leber und Knochen scheinen immunschwächer zu sein und daher eine geringere PD-L1-Immunzell-Positivität auszubilden. Da in der vorliegenden Studie der Großteil der untersuchten Fernmetastasen aus Leber- und Knochenmetastasen bestand, welche in allen Studien die geringste PD-L1-Expression aufweisen, könnte dies erklären, warum die PD-L1-Positivitätsrate des betrachteten Kollektivs an Fernmetastasen im Vergleich zu anderen Studien so viel niedriger war. Der Grund für die im Vergleich zu anderen Lokalisationen niedrigen PD-L1-Werte in der Leber könnte sein, dass die Leber eine Toleranz gegenüber zirkulierenden Antigenen und Endotoxinen aus dem Darm und somit intrinsische immuntolerante Eigenschaften besitzt. Aus dieser intrinsischen immunsuppressiven Mikroumgebung der Leber könnten die sehr geringen Prävalenzen von PD-L1-positiven Immunzellen in Lebermetastasen resultieren (163).

Szekely et al. stellten bereits fest, dass metastasierter Brustkrebs insgesamt immunologisch inaktiver ist als die entsprechenden Primärtumore. In ihren Untersuchungen wiesen Metastasen eine signifikant geringere Anzahl an TILs, eine signifikant geringere Expression von vielen immunonkologischen therapeutischen Zielen sowie zahlreicher chemotaktischer und immunaktivierender Zytokine und deren Rezeptoren auf. Diese Immunzell-depletierte Mikroumgebung der Metastasen wurde weiterhin verstärkt durch eine Hochregulation von

inhibitorischen Komplementrezeptoren sowie einer erhöhten Produktion immunsuppressiver Moleküle (15).

Da es wahrscheinlich ist, dass eine PD-L1-Expression durch eine adaptive Immunantwort, bzw. Entzündungsreaktionen verursacht wird und Entzündungsmediatoren in der Tumormikroumgebung zur Hochregulation von PD-L1 in Tumoren beitragen (9, 136), ist es nicht verwunderlich, dass die PD-L1-Positivitätsrate in weniger immunogenen Metastasen geringer ist als in den Primärtumoren.

Im Gegensatz zu Fernmetastasen weisen LK-Metastasen im Durchschnitt eine PD-L1-Expression auf, welche häufiger und ausgeprägter ist als die des Primarius. Eine Ursache hierfür könnte sein, dass Lymphknoten stark immunogene Gewebe sind. In lymphogenem Gewebe findet sich insgesamt eine erhöhte Anzahl an Immunzellen, wodurch auch die Zahl PD-L1-positiver Immunzellen erhöht sein könnte. Dies würde insbesondere die hohen IC- und CPS-Werte der LK-Metastasen erklärt.

Insgesamt implizieren die durch die vorliegende Arbeit gewonnenen Daten, dass das Microenvironment des Tumors nicht nur große Auswirkungen auf dessen Wachstum und Metastasierung hat, wie Jiang et al. bereits feststellten (136), sondern auch, dass die Tumor-Immun-Mikroumgebung sich je nach anatomischer Lokalisation stark unterscheidet und damit eine unterschiedlich starke PD-L1-Expression bedingt.

Eine letzte, sehr interessante Erkenntnis dieser Studie ist, dass das TNBC im Bereich der LK-Metastasen der Subtyp mit den durchschnittlich höchsten TPS- und CPS-Werten ist, während der der Luminal-B/HER2-negativ Subtyp mit seinen IC-Werten leicht über denen des TNBC liegt.

Ganz anders stellt sich diese Verteilung jedoch bei Betrachtung der Fernmetastasen dar. Über alle Lokalisationen hinweg erreicht der Luminal-B/HER2-negativ Subtyp die höchsten Mittelwerte für TPS, CPS und IC. Nur die Lebermetastasen bilden eine Ausnahme. Hier liegen die gemittelten IC-Werte des TNBC geringgradig höher als die der Luminal-B/HER2-negativen Tumore. Diese Erkenntnis ist einzigartig, da es kaum Studien gibt, die in ihren PD-L1-Analysen nach Metastasen-Lokalisation und intrinsischem Subtyp zugleich unterscheiden.

Auf Grundlage der neu gewonnenen Daten lässt sich schlussfolgern, dass TNBC-Primärtumore mit der stärksten PD-L1-Expression einhergehen, dies aber nicht für den Großteil der Fernmetastasen gilt. Bestärkt wird diese Erkenntnis von der Feststellung von Manson et al., dass die PD-L1-Expression von Immunzellen bei Primärtumoren mit ER-Negativität assoziiert ist, dies aber nicht für Fernmetastasen gilt (152).

Die Ursache für die überdurchschnittlich häufige PD-L1-Expression der Fernmetastasen des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps ist bislang unklar. Er war in der vorliegenden Studie der Subtyp, der insgesamt am häufigsten vorkam und machte daher auch bei den meisten Metastasen-Lokalisationen den Großteil der Fälle aus. Doch auch von den Primärtumoren und LK-Metastasen stellte er die meisten Fälle und erreichte dabei trotzdem nicht die höchsten PD-L1-Werte. Daher ist davon auszugehen, dass in den Fernmetastasen des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps im Vergleich zu den anderen Subtypen ein Unterschied im Microenvironment vorliegt. Es wäre auf Grund der neu ermittelten Daten anzunehmen, dass die Tumor-Mikroumgebung von Luminal-B/HER2-negativen Fernmetastasen immunogener und reicher an Entzündungsmediatoren ist, was eine PD-L1-Expression begünstigt.

Cimino-Mathews et al. entdeckten bereits, dass metastasierte TNBC-Proben weniger TILs als die Metastasen luminaler Brusttumore enthielten (139). Dies könnte erklären, weshalb sich innerhalb des TNBC-Kollektivs nur 1/9 (11%) der Fernmetastasen als CPS- und IC-positiv herausstellte, während eine PD-L1-Positivität bei den Luminal-B/HER2-negativen Fernmetastasen mit 6 von 32 Fällen (18,8%) häufiger vorkam.

5.11 Diskussion der Methodik

5.11.1 Limitationen dieser Studie

Bei der durchgeführten Studie handelte es sich um eine retrospektive Studie. Daraus ergeben sich einige Einschränkungen für die Interpretation der Daten. Die Aspekte, welche die Aussagekraft der vorliegenden Arbeit limitieren, sollen im Folgenden näher beleuchtet werden.

Zunächst ist die geringe Stichprobengröße von insgesamt 138 Patientinnen zu beachten. Da sich für einige Untergruppen (die Subtypen HER2-positiv und Luminal B/HER2-positiv sowie die Fernmetastasen in Lunge/Pleura, Peritoneum und Haut) Fallzahlen von teils deutlich unter 20 Fällen ergaben, sind die für diese Untergruppen ermittelten Ergebnisse mit Zurückhaltung zu interpretieren. Die in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse können allerdings auch für diese kleinen Untergruppen wichtige Hinweise auf Besonderheiten der PD-L1-Expression liefern und wären durch größere, prospektive Studien zu bestätigen.

Ein weiterer Aspekt ist, dass manche der eingeschlossenen Patientinnen mehrere LK- oder Fernmetastasen aufwiesen. Auf Grund des aufwendigen Prozesses, PD-L1 immunhistochemisch zu bestimmen, wurde jeweils maximal eine Probe einer LK- sowie einer Fernmetastase für die Diagnostik ausgewählt. Bei einer Betrachtung der PD-L1-Werte aller zu einem Primarius gehörenden Metastasen wäre die Aussagekraft sowohl über die Korrelation des PD-L1-Status zwischen Primarius und Metastase als auch über die zeitliche Entwicklung der PD-L1-Expression gestiegen. Weiterhin wären aufschlussreiche Erkenntnisse über die Korrelation der PD-L1-Werte der Metastasen untereinander möglich gewesen. Eine zukünftige Erforschung dieses Zusammenhangs könnte weitere Erkenntnisse mit sich bringen.

Ähnlich hierzu wurde bilateraler Brustkrebs nur in die Studie eingeschlossen, wenn die Metastase dem Primarius einer Seite zeitlich eindeutig zuzuordnen war, oder wenn der Brustkrebs auf beiden Seiten denselben Subtyp aufwies. Dabei ist jedoch nicht ganz auszuschließen, dass sich die PD-L1-Werte in den beiden Mammakarzinomen unterschieden. Der Vergleich der PD-L1-Werte bei bilateralem Brustkrebs wäre ein weiteres interessantes Forschungsthema.

Weiterhin mussten alle neuropathologischen Proben ausgeschlossen werden. Über die Entwicklung des PD-L1-Status vom Primarius hin zu einer ZNS-Metastase lässt sich durch diese Studie keine Aussage treffen.

Ein weiterer zu beachtender Aspekt der vorliegenden Studie ist, dass nicht immer die bei Erstdiagnose des Mammakarzinoms entnommene Gewebeprobe verwendet werden konnte, sondern in wenigen Fällen auf Grund der Materialquantität und -qualität Proben auf PD-L1 untersucht wurden, die zu einem späteren Zeitpunkt entnommen worden waren. Auch bei den Metastasen wurden aus Qualitäts- und Quantitätsgründen häufig jüngere Proben verwendet. Da sich der Rezeptorstatus innerhalb eines Tumors über die Zeit verändern kann, sollte dieser Aspekt bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden.

Zudem sollte bedacht werden, dass in dieser Studie nicht zwischen synchronen und metachronen Metastasen unterschieden wird. Da die zeitliche Komponente, wie beschrieben, eine Auswirkung auf den PD-L1-Status hat, sollte weiterführende Forschung mit Unterscheidung des Zeitpunkts der Metastasierung angeschlossen werden.

Wichtig ist auch zu beachten, dass die Werte von ER, PR, HER2 und Ki-67 in dieser Studie nicht neu bestimmt, sondern retrospektiv aus ärztlichen und pathologischen Befunden zusammengetragen wurden. Die Ausprägung dieser Rezeptoren und des Proliferationsindex war über mehrere Jahre und von unterschiedlichen Pathologen erhoben worden, was weitere Limitationen mit sich bringt. So sind die Inter- und Intrarater-Reliabilität zu beachten. Eine prospektive Studie mit qualitativ und zeitlich kontrollierter Rezeptor-Diagnostik könnte weitere, tiefere Erkenntnisse liefern.

Zusätzlich waren die vorliegenden Daten bezüglich Ki-67 nicht immer vollständig. Diese werden jedoch zur Differenzierung zwischen den Subtypen Luminal-A und Luminal-B/HER2-negativ benötigt. Wenn Ki-67 fehlte, wurde stattdessen das histologische Grading als alternativer Marker genutzt. Wenn der Tumor als G1 oder G2 klassifiziert war, wurde (bei ER- und/oder PR-Positivität) das Vorliegen eines Luminal-A-Subtyps vermutet. Bei Diagnose eines

G3-Tumors wurde die Probe als Luminal-B/HER2-negativ subtypisiert. Denn ein stark undifferenzierter Tumor spricht eher für einen höheren Proliferationsindex und damit für ein schnelles Tumorstadium (49, 145). Dies ist allerdings nicht gleichzusetzen und spiegelt den Versuch wider, anhand des klinisch-pathologischen Gesamtbildes des Tumors die Probe behelfsmäßig einem der intrinsischen Subtypen zuzuteilen. Eine Auswirkung dieses Vorgehens auf die Häufigkeitsverteilung der Subtypen ist nicht auszuschließen und weitere Studien mit vollständigen Daten bezüglich des Ki-67-Wertes könnten exaktere Ergebnisse mit sich bringen.

Schließlich sollte auch beachtet werden, dass in der vorliegenden Arbeit der intrinsische Subtyp des Primarius verwendet wird, um diesen und seine Metastasen einem der fünf Subtypen zuzuordnen. In der Regel geht man von ähnlichen HR- und HER2-Werten zwischen Primarius und LK-Metastase aus, weshalb der Rezeptor-Status der LK-Metastasen nicht routinemäßig bestimmt wird. Im Vergleich von zueinander gehörenden Paaren geht man in der Literatur von Diskordanz-Werten zwischen 10 und 30% aus, wobei die Primärtumoren i.d.R. leicht höhere ER- und PR-Werte aufweisen als die LK-Metastasen, während bei HER2 eher ein Wechsel von negativ zu positiv zu beobachten ist (171-173). Auch in der untersuchten Kohorte war nur bei drei von 95 LK-Metastasen der ER, PR und HER2-Wert bestimmt worden, was einen statistisch sinnvollen Vergleich unmöglich machte. Von den Fernmetastasen wurde der Rezeptorstatus hingegen im Großteil der Fälle (69-mal ER, 68-mal PR und 65-mal HER2) bestimmt. In einigen Fällen lag eine Rezeptordiskordanz zwischen Primarius und Fernmetastase vor, sodass letztere nicht mehr dem Subtyp des Primarius entsprach, aber dennoch aus Gründen der Übersichtlichkeit als Metastase dieses Subtyps gelistet wurde.

5.11.2 Einschränkungen im Vergleich der PD-L1-Werte mit den Ergebnissen anderer Studien

Insgesamt ist es schwierig, die in der Literatur gefundenen Daten fundiert miteinander zu vergleichen, da unterschiedliche methodische Vorgehensweisen existieren.

Bei Durchsicht der Studien, die sich mit dem PD-L1-Status bei Brustkrebs befassen, zeigten sich verschiedene Arten, die PD-L1-Werte zu ermitteln und zu interpretieren. Die wichtigsten Unterschiede sind die Art des verwendeten Gewebes, verschiedene Assays bzw. Antikörper, die zur Anfärbung der PD-L1-positiven Zellen genutzt werden können, die Interpretation, ob eine Zelle als positiv anzusehen ist, wenn sie sich zytoplasmatisch oder an der Zellmembran anfärben ließ und unterschiedlich gesetzte Cut-offs, ab welchem Wert ein PD-L1-positiver Status erreicht wird. Zudem betrachten manche Studien nur die PD-L1-Expression der Tumorzellen, andere fokussieren sich auf die PD-L1-Expression der tumorinfiltrierenden Immunzellen und in manchen Studien wird auch der kombinierte PD-L1-Wert aus Tumor- und Immunzellen betrachtet.

Auf Grund dieser methodischen Differenzen ist die Vergleichbarkeit der ermittelten Ergebnisse mit anderen Studien wie auch die Vergleichbarkeit der in der Literatur existierenden Studien untereinander limitiert. Bei der Interpretation der Daten müssen die jeweils verwendeten Methodiken mitberücksichtigt werden.

In den gesichteten Studien wurden vor allem zwei Arten von Gewebe verwendet: Tissue microarrays (TMA) und whole tissue sections (WTS). TMA enthalten i.d.R. nur einen begrenzten Gewebeausschnitt und werden oft nicht nahe genug an der invasiven Tumorfront entnommen, wo PD-L1 häufiger nachgewiesen werden kann. So werden bei TMA im Vergleich zu WTS falsch hohe PD-L1-Negativitätsraten festgestellt. Im untersuchten Gesamtkollektiv befanden sich 16,67% (23/138) WTS von Primärtumoren, 12,63% (12/95) WTS von LK-Metastasen und 82,19% (60/73) WTS von Fernmetastasen. Der Rest der Proben bestand aus TMA. Der hohe Anteil an WTS-Proben unter den Fernmetastasen-Proben impliziert, dass die festgestellten PD-L1-Positivitätsraten höher sein müssten als in Studien, die hauptsächlich TMA verwenden. Dahingegen wären durch die vergleichsweise große Menge an TMA unter den Primarius- und LK-Proben niedrigere PD-L1-Positivitätsraten als in Studien mit hohem WTS-Anteil zu erwarten. Zudem könnte durch die gehäufte Verwendung von TMA die ermittelte Rate an PD-L1-Positivität von Primärtumoren und LK-Metastasen falsch niedrig sein.

Zudem ist die PD-L1-Expression heterogen im Tumorgewebe verteilt (159), was eine generelle Schwierigkeit bei der Ermittlung des PD-L1-Status darstellt. Da bei der histologischen Untersuchung immer nur Ausschnitte des gesamten Tumors beurteilt werden, die bei TMA im Vergleich zu WTS noch begrenzter sind, ist die Aussage über die PD-L1-Expression im gesamten Tumorgebiet limitiert. Auf Grund der durch TMA ungenauer ermittelten PD-L1-Werte (10, 15, 160) empfehlen Huang et al. in der klinischen Praxis den Nachweis von PD-L1 mittels WTS (10) und Dill et al. stellten die Eignung der perkutanen Stanzbiopsie zur Bestimmung des PD-L1-Status insgesamt in Frage (159).

In TMA-Untersuchungen zeigte sich die PD-L1-Expression mehrerer Zellen aus demselben Tumor heterogen und erbrachte in 54,4% der Fälle einen unterschiedlichen PD-L1-Status (162). Somit könnte man sowohl in Studien als auch in der Klinik bei ausschließlicher Betrachtung eines kleinen Tumorausschnittes zu unterschiedlichen Ergebnissen gelangen. Dies beeinträchtigt die Aussagekraft der Ergebnisse und damit auch den Vergleich der Studienergebnisse miteinander.

Im Vergleich der IC-Werte von jeweils zwei WTS-Proben ein und desselben TNBC konnte hingegen eine hochsignifikante starke Übereinstimmung der PD-L1-Expression mit einer Konkordanz-Rate von 83,1% festgestellt werden (151). Die beschriebene intratumorale Heterogenität könnte somit durch die Art der Probe (TMA vs. WTS) bedingt sein und scheint nur in TMA-Proben ein nennenswertes Problem darzustellen. In diesem Gebiet besteht somit weiterer Forschungsbedarf, um die Unklarheiten auszuräumen. Durch den hohen Anteil von WTS-Proben im von dieser Arbeit untersuchten Kollektiv sollte die intratumorale Heterogenität jedoch nach dem aktuellen Forschungsstand keine Beeinträchtigung der gewonnenen Ergebnisse darstellen.

Neben den verschiedenen Arten von Gewebe, die für die PD-L1-Diagnostik verwendet werden, existieren verschiedene Antikörper bzw. Assays, um die PD-L1-positiven Zellen immunhistochemisch anzufärben und damit sichtbar und auszählbar zu machen. Wie Huang et al. durch die Analyse von 47 Studien zeigten, werden in den bereits zum Thema existierenden Studien mindestens 16 verschiedene Antikörper zum Nachweis von PD-L1 angewandt. Dabei wurde der Klon SP142 am häufigsten eingesetzt, gefolgt von Klon E1L3N, Klon 28-8 und Klon SP263 (10).

Die Vielfalt der PD-L1-Antikörper, welche in den existierenden Studien verwendet werden, verringert die Vergleichbarkeit der Ergebnisse, doch zwischen SP263, 28-8 und 22C3 konnte insgesamt eine hohe Übereinstimmung festgestellt werden. Die Übereinstimmung der anderen Antikörper mit SP142 zeigte sich als etwas schwächer und die mit diesem Antikörper ermittelten Positivitätsraten scheinen insgesamt etwas geringer ausgeprägt zu sein (168, 174). Pang et al. verglichen 2021 den SP142-Assay von Ventana mit dem SP263- von Ventana und dem immunhistochemischen 22C3-Assay von Dako. Dabei stellten sie erhebliche analytische Unterschiede in den PD-L1-Ergebnissen derselben mit den drei Assays untersuchten Proben fest. Die PD-L1-Positivität der 447 TNBC-Proben bei Untersuchung durch den SP142-Assay lag bei 34,2%, während sich mit dem SP263-Assay 42,5% und mit dem 22C3-Assay 35,2% PD-L1-positive Fälle ergaben. Auch diese Studie kam zu dem Schluss, dass mit dem SP142-Assay im Schnitt die geringsten Positivitätsraten ermittelt werden (162). In der vorliegenden Studie wurde für die Bestimmung von TPS, CPS und IC der 22C3-Assay verwendet, was somit eine recht gute Vergleichbarkeit mit anderen Studien und tendenziell höhere PD-L1-Werte als in Studien mit Verwendung des SP142-Assay impliziert. Im Vergleich der ermittelten PD-L1-Werte mit anderen Studien fällt auf, dass die festgestellten CPS- und IC-Werte denen vieler anderer Studien ähneln, während die TPS-Scores jedoch deutlich unterhalb der in der Literatur berichteten Werte liegen. Dies steht im Widerspruch zu der Verwendung des 22C3-Assays und der hauptsächlichlichen Untersuchung von WTS-Proben, was beides auf eine Feststellung höherer PD-L1-Positivitätsraten schließen lassen würde. Eine Erklärung der in dieser Arbeit festgestellten niedrigen TPS-Scores durch die Art der verwendeten Gewebeprobe oder des Assays ist somit nicht möglich. Somit ist davon auszugehen, dass die Präanalytik das TPS-Ergebnis mit beeinflusst haben könnte. So haben die kalte Ischämiezeit (175), die Fixierungszeit, das Fixierungsmittel, die Lagerdauer des Paraffinblocks oder der Zeitraum zwischen Anfertigung des Schnitts und der Färbung Einfluss auf die immunhistochemischen

Ergebnisse (176) und könnten zu den eher geringen TPS-Scores beigetragen haben. Insgesamt ist die Empfindlichkeit der PD-L1-Färbung gegenüber dem präanalytischen Vorgehen zur immunhistochemischen Diagnostik nicht gut bekannt (16, 175), was die Vergleichbarkeit und Einschätzung der Reliabilität der gemessenen Werte erschwert.

Neben der Präanalytik und der Verwendung unterschiedlicher Assays existieren weitere Unterschiede in der Methodik der in der Literatur zu findenden Studien. In der Mehrheit wird die membranöse PD-L1-Färbung betrachtet, wohingegen einige Studien nur die zytoplasmatische Färbung oder sowohl die membranöse als auch die zytoplasmatische Färbung betrachten, um eine PD-L1-Expression nachzuweisen. Zudem werden unterschiedliche Zelltypen (Tumorzellen, Immunzellen, ausschließlich Lymphozyten etc.) auf eine PD-L1-Expression untersucht und es werden unterschiedliche cut-off-Werte dafür verwendet, ab wann eine Probe als PD-L1-positiv gilt. Teils werden auch zusammengesetzte Werte für die Färbeintensität und den Prozentsatz der positiven Zellen genutzt (10, 168). Durch diese methodischen Differenzen in der Bewertung der PD-L1-Expression könnte die breite Varianz an PD-L1 Ergebnissen in der Literatur zu erklären sein. Durch die Uneinheitlichkeit in der PD-L1-Diagnostik wird somit die Vergleichbarkeit von Studienergebnissen erschwert, was auch von anderen Autoren kritisiert wird (163). Um PD-L1 als prädiktiven Marker für eine Immuntherapie mit Immun-Checkpoint-Inhibitoren erfolgreich nutzen zu können, wäre es wichtig, in Zukunft einen Konsens bezüglich der immunhistochemischen Färbung zu finden (168), und eine einheitliche Methodik würde die Vergleichbarkeit der Ergebnisse unterschiedlicher Studien verbessern und so zu einem tieferen Verständnis der Besonderheiten der PD-L1-Expression beitragen.

Neben der reinen Methodik stellt aber auch die Interrater-Reliabilität ein Problem bei der Bestimmung der PD-L1-Werte und damit beim Vergleich von Studien dar.

In der Studie von Chen et al. betrug die Interobserver-Übereinstimmung der PD-L1-Bewertung 78,2% bei Bewertung der TNBC-Primärtumore und 61,4% bei Bewertung der zugehörigen LK-Metastasen (151). Dies lässt bereits auf eine erschwerte Bewertung der metastatischen Proben und auf einen Verbesserungsbedarf in diesem Bereich schließen. Zudem deuten die 20-50% der nicht übereinstimmenden PD-L1-Werte auf einen nicht zu vernachlässigenden Teil an TNBC-Patientinnen hin, dem fälschlicherweise eine Anti-PD-L1-Therapie verabreicht wird oder dem sie auf Grund einer ungenauen Diagnostik fälschlich vorenthalten wird.

Bockstal et al. untersuchten die Interobserver-Übereinstimmung bei der Beurteilung der PD-L1/SP142-Immunhistochemie. Dabei ergab sich eine hohe Übereinstimmung für den PD-L1-Status (positiv vs. negativ) und die entsprechenden prozentualen Werte zeigten eine gute Übereinstimmung mit der Konsensdiagnose. Erhebliche Unterschiede im PD-L1-Status ergaben sich jedoch für TNBC-Metastasen. Bei 20% der Patientinnen wäre die aus der PD-L1-Diagnostik folgende Behandlung im Wesentlichen zufällig, da die Hälfte der Pathologen die Probe als positiv und die andere Hälfte als negativ bezeichnete. Auch die Bewertung der Stärke der PD-L1-Ausprägung in TNBC-Metastasen zeigte eine geringe bis mäßige Übereinstimmung. Nach einer Schulung, die sich auf metastatische Proben konzentrierte, konnte eine Interrater-Reliabilität von 93% bis 100% erzielt werden (170). Insgesamt zeigen Bockstal et al., dass die PD-L1-Bewertung ein robuster Marker ist, wenn sie auf Gruppenebene betrachtet wird. Aber für einzelne Patienten, insbesondere für metastasierte TNBC-Patientinnen, könnte die Therapieentscheidung auf Grund von Interrater-Variabilität falsch getroffen werden (170).

Auch in anderen Studien wurden hohe Gesamtübereinstimmungsraten zwischen den Pathologen festgestellt, wobei erfahrenen Pathologen höhere Übereinstimmungsraten erbrachten. Insbesondere bei TNBC-Fällen machte die Erfahrung der Pathologen einen Unterschied aus (177). Auch Pang et al. fanden bei TNBC-Proben eine Interobserver-Übereinstimmung, die bei erfahrenen Pathologen (93,7%) deutlich höher lag als bei unerfahrenen Pathologen (81,5%). Dabei hatte ein Videotraining der unerfahrenen Pathologen einen positiven Effekt und verbesserte die Übereinstimmung auf 85,7% (162).

Die Intrarater-Reliabilität war unabhängig von der Erfahrung hoch (177). In der Studie von Pang et al. lag die Intraobserver-Übereinstimmung bis zu 95% (162). Erfahrene Pathologen

erbrachten in der Bewertung des prozentualen Anteils der Färbung jedoch homogenere Ergebnisse. Die Diskordanzen traten v.a. bei Fällen mit geringer Färbung um den 1%-Wert auf (177).

Es zeigt sich insgesamt, dass die Erfahrung der Pathologen einen wichtigen Einflussfaktor darstellt, was impliziert, dass Schulungen zu einer Verbesserung der Reliabilität sinnvoll wären. Zudem scheinen die Schwierigkeiten insbesondere in der Bewertung von TNBC und metastatischen Proben sowie in der Bewertung von schwach-positiven Proben zu liegen. Auf diese Spezialfälle sollte somit in den Schulungen besonderer Wert gelegt werden. Gonzalez-Ericsson et al. schlussfolgern, dass Fehler bei der Therapieentscheidung auf Grund einer schlechten Interrater-Reliabilität nicht nur ein Risiko für die Patientinnen selbst darstellen, sondern auch zusätzliche Kosten für die Gesundheitssysteme verursachen. Eine Verbesserung der Interrater-Übereinstimmung könnte auch laut Gonzalez-Ericsson et al. durch eine Schulung der Pathologen bezüglich der Bewertung von PD-L1-Assays erreicht werden (161).

Das PD-L1-Scoring für die vorliegende Arbeit stammt von einem Facharzt für Pathologie, welcher 7 ½ Jahre Erfahrung im Bereich des PD-L1-Scorings hat und regelmäßig Schulungen zu diesem Thema besucht. Es ist somit von einer hohen Intrarater-Reliabilität, auch bei gering PD-L1-positiven Proben auszugehen. Da die Untersuchungen alle vom gleichen Pathologen durchgeführt wurden, ist die Interrater-Variabilität in der vorliegenden Arbeit nicht von Relevanz. Es ist jedoch davon auszugehen, dass auf Grund der mehrjährigen Erfahrung im Bereich der PD-L1-Untersuchung eine gute Übereinstimmung der Scorings mit anderen Studien erreicht werden konnte.

Ein letzter Aspekt, den es bei der Interpretation und dem Vergleich der Daten zu beachten gilt, ist, dass sich die Einteilung in intrinsische Subtypen nach Genexpressionsanalysen und phänotypischen bzw. klinisch-pathologischen Merkmalen unter Verwendung von ER, PR, HER2 und Ki-67 nicht absolut entsprechen (70, 71). Wie Stovgaard et al. feststellten, existieren Diskordanzen zwischen den IHC- und Genexpressionsklassifizierungen. In den meisten Studien, die die PD-L1-Expression untersuchen und einen Vergleich zwischen den Subtypen ziehen (wie auch in dieser Studie), wird die Einteilung in die intrinsischen Subtypen anhand der Ausprägungen von ER, PR, HER2 und Ki-67 vollzogen (168). Dadurch können Abweichungen der PD-L1-Ergebnisse von durch Genexpressionsanalysen eingeteilten Subtypen entstehen.

In der Zusammenschau der methodischen Limitationen und Unterschiede lässt sich sagen, dass sich sowohl die PD-L1-Bewertung durch gezielte Schulungen von Pathologen verbessern ließe und dass eine einheitliche Methodik in der PD-L1-Diagnostik die Vergleichbarkeit der verschiedenen Studienergebnisse erleichtern würde. Dies könnte zu einem tiefergreifenden Verständnis der PD-L1-Expression im Mammakarzinom beitragen und die korrekte Auswahl von Patientinnen für eine PD-L1-gerichtete Therapie erleichtern.

5.12 Klinische Relevanz

5.12.1 Bedeutung für Diagnostik und Therapie

Die Diskordanz der PD-L1-Expression zwischen Primärtumoren und ihren Metastasen sowie der Unterschied zwischen den verschiedenen Metastasen-Lokalisationen liefern wichtige Information für die Auswahl von Biopsie-Stellen (16).

Die Erkenntnis dieser Arbeit, dass LK-Metastasen nie die TPS-Positivität des Primarius und in nur 8,4% (8/95) der Fälle die primär vorhandene CPS- und IC-Positivität verloren, während ein Neuerwerb einer PD-L1-Expression rund doppelt so häufig vorkam, besitzt somit großen Wert für die Diagnostik und Therapie des metastasierten Mammakarzinoms. Insbesondere beim TNBC kam es in den LK-Metastasen weder für TPS noch für CPS oder IC zu einem Verlust der primären PD-L1-Positivität, sondern ausschließlich in bis zu 16,67% der Fälle zu einer neu erworbenen PD-L1-Expression. Somit sollte eine PD-L1-gerichtete Therapie, die auf Grund

eines PD-L1-positiven TNBC-Primarius verabreicht wird, i.d.R. auch für die zugehörige LK-Metastase wirken.

In Fällen von primär PD-L1-negativem tripel-negativem Brustkrebs, der erst in den LK-Metastasen eine PD-L1-Expression entwickelt, ist neben der Biopsie und histopathologischen Untersuchungen des Primarius jedoch zudem eine Untersuchung der LK-Metastase erforderlich, um eine mögliche Wirksamkeit einer Atezolizumab- oder Pembrolizumab-Therapie erkennen zu können.

Um das Ansprechen auf eine PD-L1-gerichtete Therapie vorherzusagen, scheint die PD-L1-Diagnostik an LK-Metastasen ein größeres Spektrum an Patientinnen in Betracht für die Therapie kommen zu lassen. Insofern könnte eine PD-L1-Diagnostik der LK-Metastasen in Zukunft eine noch stärkere Aussagekraft bezüglich der Therapieoptionen mit Immuncheckpoint-Inhibitoren besitzen als die reine PD-L1-Diagnostik an Primärtumoren. Auch Li et al. schlussfolgern, dass bei TNBC-Patientinnen auf Grund der höheren PD-L1-Positivitätsraten in LK-Metastasen deren PD-L1-Expression als Indikator dafür dienen könnte, ob auch bei dem zugehörigen Primarius eine PD-L1-gerichtete Therapie wirksam ist (153). Denn obwohl sich die PD-L1-Expression zwischen Primärtumoren und ihren Metastasen unterscheidet, ist eine PD-L1-Positivität, egal welcher Lokalisation, als prädiktiv für das Ansprechen auf die therapeutische Kombination aus Atezolizumab und nab-Paclitaxel anzusehen (161).

Auch durch das mehrfach beschriebene Phänomen der von Fernmetastasen neu erworbenen PD-L1-Positivität, könnte es zu Fällen von metastasiertem TNBC kommen, die zwar im Primarius PD-L1-negativ, aber in der Metastase PD-L1-positiv sind und durch die fehlende PD-L1-Testung der Metastase fälschlich keine zielgerichtete PD-L1-Therapie erhalten.

In der vorliegenden Studie lassen sich allerdings mehr Fernmetastasen beobachten, in denen sich die anfängliche PD-L1-Positivität des Primarius verlor. Insbesondere im TNBC-Kollektiv kam es nie zu einer in der Fernmetastase neu auftretenden PD-L1-Positivität, sondern ausschließlich zum Verlust einer primären PD-L1-Expression. Doch in einigen anderen Subtypen war eine Diskordanz in umgekehrter Richtung vorhanden. Einige Studien belegen, dass es selbst beim TNBC zu einem Neuerwerb einer PD-L1-Expression in Fernmetastasen kommen kann, auch wenn dies nur in geringem Umfang zu beobachten ist, wie in 20% der 25% diskordanten Paare in der Studie von Li et al. (163).

Insgesamt lässt sich anhand dieser Arbeit feststellen, dass zwischen der PD-L1-Expression zwischen Primarius und Fernmetastase kein signifikanter Zusammenhang besteht, weshalb die Fernmetastase nicht einfach nach dem Schema des zugehörigen Primarius behandelt werden sollte. Auch Patientinnen mit primär PD-L1-negativem TNBC sollten nicht ohne weitere Prüfung der Metastasen von einer Immuntherapie ausgeschlossen werden, um eine zielgerichtete Therapie nicht fälschlicherweise vorzuenthalten (160). Eine routinemäßige PD-L1-Bestimmung bei Auftreten einer TNBC-Metastase wäre daher sinnvoll, um nicht die Möglichkeit einer erfolgreichen Atezolizumab- oder Pembrolizumab-Therapie für die Metastase zu verpassen.

Passend zu dieser Feststellung belegte die IMpassion-130 Studie einen größeren relativen Nutzen einer PD-L1-gerichteten Therapie, wenn auch in den Metastasen eine PD-L1-Dignostik durchgeführt wurde (165). Da eine PD-L1-Testung bei metastasiertem TNBC in den meisten Ländern nicht regelmäßig, sondern hauptsächlich auf gezielte Anforderung durchgeführt wird (161), fordern Boman et al. eine routinemäßige PD-L1-Diagnostik bei der Erstdiagnose von metastasiertem Brustkrebs (160). Diese Forderung wird von den in dieser Studie gewonnenen Erkenntnissen stark unterstützt. Über alle Subtypen hinweg ergab sich, dass Primarius und zugehörige Fernmetastase nur selten, je nach Subtyp in 0-25% der Fälle, beide PD-L1-positiv sind. Das Vorkommen eines positiv/positiven Primarius/Fernmetastasen-Paares war seltener als die Veränderung des PD-L1-Status von positiv zu negativ oder umgekehrt. Dies unterstreicht eindrücklich die Wichtigkeit einer PD-L1-Diagnostik der Fernmetastasen.

Da bislang Daten bezüglich der prädiktiven Werte der PD-L1-Diagnostik an unterschiedlichen Metastasen-Lokalisationen fehlen, bleibt die optimale Stelle für die Entnahme einer Biopsie zur PD-L1-Bestimmung aktuell noch unklar (160). Daher und weil sich ausgehend vom PD-

L1-Status des Primarius keine eindeutigen Rückschlüsse auf den PD-L1-Status der zugehörigen Fernmetastase ziehen lassen, sollten in Zukunft von allen neu auftretenden (Fern-)Metastasen routinemäßig Gewebeproben für eine PD-L1-Diagnostik entnommen werden. Dieses Vorgehen würde insbesondere bei PD-L1-negativem metastasierten Brustkrebs die Möglichkeit maximieren, eine zielgerichtete Therapie mit Checkpoint-Inhibitoren zu erhalten.

Jedoch ist nicht immer und nicht von jeder Metastasen-Lokalisation eine Probenentnahme möglich. Da eine PD-L1-Positivität nach neuen Erkenntnissen unabhängig von der anatomischen Lokalisation als prädiktiv für das Ansprechen auf eine PD-L1-gerichtete Therapie anzusehen ist (161), wäre es sinnvoll, die Metastasen-Lokalisation auszuwählen, die die höchste Wahrscheinlichkeit einer PD-L1-Positivität aufweist. In Fällen, bei denen es nicht möglich ist, alle Metastasen einer Patientin auf PD-L1 zu untersuchen, sollten folglich vorrangig LK-Metastasen verwendet werden. Wenn diese nicht vorliegen, könnten alternativ Lungen-/Pleura-, Weichgewebs-, Darm- oder Hautmetastasen verwendet werden, welche in der Zusammenschau aller Ergebnisse einander ähnliche Positivitätsraten aufweisen. Knochen- oder Lebermetastasen sollten möglichst nicht als einzige Metastasen zur PD-L1-Diagnostik verwendet werden, da die Wahrscheinlichkeit einer Positivität in diesen Lokalisationen am geringsten ist.

Bei vorliegenden TNBC-Lebermetastasen besitzt die PD-L1-Diagnostik des Primarius oder anderer Metastasen zudem große Bedeutung. Denn nicht nur bei PD-L1-positiven Lebermetastasen kann eine PD-L1-gerichtete Therapie wirken. Wie die IMpassion130-Studie zeigte, kann auch bei PD-L1-negativen Lebermetastasen mit vorhandener IC-Positivität des Primarius oder einer anderen zugehörigen Metastase ein klinischer Nutzen aus der Zugabe von Atezolizumab zu nab-Paclitaxel gezogen werden (178). Der Grund für die im Vergleich zu anderen Lokalisationen niedrigen PD-L1-Werte in der Leber trotz des Ansprechens auf eine PD-L1-gerichtete Therapie könnte die intrinsische Immuntoleranz der Leber sein (163).

Mit Ausnahme der Lebermetastasen gilt allerdings, dass eine Therapie mit Atezolizumab bei Patientinnen mit einer reicheren immunologischen Tumor-Mikroumgebung wirksamer ist (165). Dies gilt auch für eine Therapie mit Pembrolizumab zusätzlich zu einer Chemotherapie. Das Therapieansprechen ist um so besser, je höher der CPS-Wert ist. Bei Patientinnen mit $CPS > 20$ liegt es über dem der Patientinnen mit $CPS > 10$, welche wiederum ein besseres Ansprechen aufwiesen als Patientinnen mit $CPS \geq 1$ (132). Ein klinischer Nutzen einer Checkpoint-Therapie ist jedoch nur vorhanden, wenn der Tumor PD-L1-positive Immunzellen aufweist (165). Tomioka et al. beschrieben kürzlich, dass selbst eine geringe Anzahl von PD-L1-positiven Immunzellen ($< 1\%$) in der Tumorregion auf ein Therapieansprechen hindeutet. Ihrer 2023 erschienenen Studie zufolge ist die Anzahl der PD-L1-positiven Immunzellen ein quantitativ günstiger prognostischer Marker für TNBC mit axillären LK-Metastasen, selbst wenn der IC-Wert $< 1\%$ beträgt (179).

Aus den Daten der explorativen Fragestellung lässt sich weiterhin erkennen, dass ein $CPS \geq 10$ in entweder Primarius, LK- oder Fernmetastase und somit die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab deutlich seltener vorliegt als ein $IC \geq 1$ in einer dieser drei Lokalisationen, der die Indikation zur Therapie mit Atezolizumab begründet. In den vorliegenden Daten hatten alle Fälle, die die Indikation zur Therapie mit Pembrolizumab erreichten, ebenfalls einen $IC \geq 1$. Umgekehrt hatte jedoch nur die Minderheit der Fälle, welche für eine Therapie mit Atezolizumab in Frage kämen, einen $CPS \geq 10$. Diese Ergebnisse zeigten sich sowohl für die Gesamtpopulation als auch für das TNBC-Kollektiv, wobei bei letzterem die geringe Stichprobengröße und die dadurch begrenzte Aussagekraft zu beachten ist. Auf Grund der großen Gruppe an Patientinnen, welche für eine Therapie mit Atezolizumab, nicht aber für Pembrolizumab qualifiziert sind, ergibt sich keine bedeutsame Korrelation. Daraus folgt die Frage, ob der cut-off-Wert von $CPS \geq 10$ zu stark selektiert, oder ob der cut-off $IC \geq 1$ zu viele Fälle inkludiert.

Nach der aktuellen FDA-Zulassung kommen nur PD-L1-positive tripel-negative Mammakarzinome im metastasierten oder fortgeschrittenen Stadium für eine Therapie mit Atezolizumab oder Pembrolizumab in Frage. Da in der vorliegenden Arbeit allerdings

festzustellen war, dass insbesondere bei Luminal-B/HER2-negativem Brustkrebs häufiger eine PD-L1-Positivität in Fernmetastasen vorliegt, wäre eine routinemäßige Bestimmung des PD-L1-Status und eine mögliche PD-L1-gerichtete Therapie der Metastasen dieses Subtyps denkbar. Weitere Forschung und prospektive Studien zu diesem Thema wären nötig, um diese neue Entdeckung zu verifizieren.

Insgesamt ist zudem anzumerken, dass zur PD-L1-Diagnostik in vielen Studien unterschiedliche Assays verwendet wurden. Da unterschiedliche Assays zu unterschiedlichen PD-L1-Werten führen (161), wird durch diese methodische und diagnostische Heterogenität der Vergleich von Ergebnissen erschwert.

Für die klinische Diagnostik von PD-L1 wurde von den Zulassungsbehörden in den Vereinigten Staaten, Japan, Schweden, Peru und Argentinien ausschließlich der SP142-Assay zugelassen. In der Europäischen Union, China und Brasilien hingegen gibt es solch eine Regulierung nicht und es kann jeder validierte PD-L1-Test verwendet werden. Zahlreiche Leitlinien sehen die PD-L1-Diagnostik als Voraussetzung der Behandlung von rezidiviertem oder metastasiertem TNBC, doch durch die verschiedenen Assays ergibt sich auch in der klinischen Anwendung das Problem der erschwerten Vergleichbarkeit (161). Diese könnte durch eine einheitlichere Methodik in der PD-L1-Diagnostik erreicht werden, was zudem die Aussagekraft von Studien in diesem Bereich verbessern würde.

5.12.2 Bedeutung für die Prognose

Der PD-L1-Status besitzt eine eigene prognostische Aussagekraft, wobei eine Unterscheidung zwischen PD-L1-exprimierenden Tumor- und Immunzellen essenziell ist. In verschiedenen Studien an TNBC-Patientinnen ließ sich erkennen, dass die PD-L1-Expression von Tumorzellen mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet ist (153, 156, 157, 167), während die PD-L1-Expression von Immunzellen als Indikator für eine günstigere Prognose dienen kann (10, 158, 164-166, 179).

Da die vorliegende Studie nicht die Auswirkung der PD-L1-Expression auf die Prognose oder das Therapieansprechen untersucht, ist es notwendig, für die Interpretation der gewonnenen Daten in diesem Bereich auf die Literatur zurückzugreifen.

In der Metaanalyse von Stovgaard et al. zeigten sich insgesamt uneinheitliche Ergebnisse für den Zusammenhang einer PD-L1-Expression und der Prognose der Patientinnen. Die Mehrheit der untersuchten Studien fand allerdings eine positive Korrelation zwischen der PD-L1-Expression und einer günstigeren Prognose bei Patientinnen mit adjuvanter oder neoadjuvanter Chemotherapie. Außerdem wurde in keiner der Studien ein Zusammenhang zwischen PD-L1-Expression und einer schlechteren pCR-Rate festgestellt (168). Allerdings war der positive prognostische Effekt meist mit einer TIL-Infiltration des Tumors oder mit der PD-L1-Expression von Immunzellen verbunden. Die Studien, die von einer ungünstigen Prognose für PD-L1-positive Patientinnen berichteten, bezogen sich meist auf die PD-L1-Expression von Tumorzellen (156) oder auf eine hohe PD-L1-Expression in Verbindung mit geringem Vorkommen von TILs. Diese Kombination scheint sich besonders negativ auf die Prognose auszuwirken (180, 181).

Qin et al. sowie Guo et al. entdeckten einen signifikanten Zusammenhang der PD-L1-Expression mit einem geringeren krankheitsfreien und Fernmetastasen-freien Überleben sowie einem kürzeren Gesamtüberleben. Dies galt sowohl für ein alle Subtypen umfassendes Gesamtkollektiv als auch für ein reines TNBC-Kollektiv. Patientinnen mit positiver PD-L1-Expression hatten ein fast doppelt so hohes Risiko für Tumorrezidive, Metastasierung und krebisbedingten Tod (156). Für die HR- oder HER2-exprimierenden Subtypen fand sich hingegen kein signifikanter Zusammenhang zwischen PD-L1-Expression und Überleben (167). Beide Studien schlussfolgerten, dass die Expression von PD-L1 als prognostischer Marker genutzt werden kann. Dabei hatten sich Qin et al. allerdings mit der PD-L1-Expression von Tumorzellen beschäftigt (156), während Guo et al. den IC als am aussagekräftigsten für eine schlechte Prognose ansahen. Aber auch positive CPS und TPS-Werte zeigten einen

Zusammenhang mit einem schlechteren Überleben, insbesondere in Kombination mit geringen TIL-Werten (167).

Im Gegensatz zu Guo et al. kamen Zhang et al. jedoch zu dem Schluss, den IC als unabhängigen prognostischen Faktor für ein krankheitsfreies Überleben von TNBC-Patientinnen zu betrachten. In ihrer Studie waren Fälle von Rezidiven oder Metastasierung bei IC-positiven Patientinnen signifikant seltener und diese wiesen zudem ein längeres krankheitsfreies Überleben auf. Zudem war das Gesamtüberleben verlängert, jedoch nicht signifikant (164). Laut Ali et al. lag eine hochsignifikante Korrelation der PD-L1-Expression sowohl von Tumor- als auch von Immunzellen mit der Infiltration durch zytotoxische und regulatorische T-Zellen vor (158). Durch eine verstärkte zytotoxische Immunantwort der T-Zellen bei PD-L1-Positivität im TNBC bzw. in ER-negativen Tumoren kommt es zu einem besseren Ansprechen auf die Chemotherapie und einer damit verbundenen verbesserten Überlebensrate (158, 166).

Es liegen somit Studien mit teils widersprüchlichen Ergebnissen vor. Jedoch lässt sich die Tendenz erkennen, dass v.a. PD-L1-exprimierende Tumorzellen auf eine negative Prognose hindeuten, während eine IC-Positivität zwar in Kombination mit niedrigen TILs auf eine schlechte Prognose hindeutet, allein betrachtet jedoch für eine verbesserte Reaktion des Immunsystems auf den Tumor und damit für eine bessere Prognose spricht.

Auch in der differenzierten Metaanalyse von Huang et al., die 47 Studien mit insgesamt 14.367 Patientinnen einschloss, ergab sich, dass PD-L1-positive Tumorzellen signifikant mit einem kürzeren krankheitsfreien Überleben sowie kürzerem Gesamtüberleben assoziiert waren. Eine PD-L1-Expression von Tumorzellen steht somit nicht nur in Zusammenhang mit klinisch-pathologischen Hochrisikoparametern, sondern auch mit einer schlechten Prognose. Dahingegen waren PD-L1-positive TILs mit einem längeren krankheitsfreien Überleben sowie einem verbesserten Gesamtüberleben verbunden. Daher könnten PD-L1-positive TILs als neuer Indikator für eine günstige Prognose dienen (10).

Diese Erkenntnisse bezüglich der Prognose bezogen sich alle auf den PD-L1-Status von Primärtumoren. Dies würde bedeuten, dass in dem von dieser Arbeit untersuchten Studienkollektiv 33 Patientinnen (23,9%) mit positivem IC-Wert eine verbesserte Prognose erwarten könnten.

Jedoch spielt auch der PD-L1-Status der Metastasen eine wichtige Rolle.

Li et al. stellten in ihren Untersuchungen fest, dass insbesondere Patientinnen mit LK-Metastasen, welche PD-L1-exprimierende Lymphozyten aufwiesen, eine signifikant schlechtere krankheitsfreie, aber keine signifikant kürzere Gesamt-Überlebenszeit besaßen. Zudem erkannten sie, dass Patientinnen, die sowohl im Primarius als auch in der LK-Metastase PD-L1-negativ waren, ein längeres krankheitsfreies Überleben aufwiesen als Patientinnen mit PD-L1-positiven LK-Metastasen. Dabei war es für das krankheitsfreie Überleben sowie für das Gesamtüberleben unerheblich, ob der Primarius PD-L1-negativ oder -positiv war, solange die LK-Metastase PD-L1-Positivität aufwies (153).

Dies impliziert große individuelle Unterschiede. Da im Kollektiv dieser Studie 36 Patientinnen mit LK-Metastasen (37,9%) IC-positive Werte aufwiesen, wäre bei diesen laut Li et al. eine schlechtere Prognose zu erwarten.

Von 27 Patientinnen mit LK-Metastase (28,4%) und IC-positivem Primarius, die nach den Ergebnissen von Huang, Zhang, Ali und Sabatier eine bessere Prognose zu erwarten hätten, wäre somit der Überlebensvorteil bei 19 Fällen durch eine IC-Positivität der LK-Metastasen wiederum eingeschränkt und laut Li et al. zu einer schlechteren Prognose geworden. Da in 8 der 27 Fälle die PD-L1-Expression in der LK-Metastase verloren ging, hätten diese 29,6% (8/27) der Primarius-positiven Fälle einen Vorteil für das krankheitsfreie Überleben.

23,5% (16/68) der primär PD-L1-negativen Fälle entwickelten jedoch in der LK-Metastase IC-Positivität, womit sich ihre Prognose bezüglich des krankheitsfreien Überlebens verschlechtern würde. Insbesondere diese Patientinnen, die einen nicht zu vernachlässigenden Anteil der Mammakarzinom-Patientinnen darstellen, sollten auf Grund

dieser Überlegungen engmaschiger bezüglich eines Rezidivs oder einer Metastasierung überwacht werden.

Die Zusammenschau der IC-Positivitätsraten von Primarius und zugehöriger LK-Metastase in dieser Studie sowie das Wissen um die prognostische Implikation bringt einen wichtigen Wissenszugewinn für die klinische Praxis mit sich.

Im Gegensatz zu der verschlechterten Prognose bei Auftreten von IC-positiven LK-Metastasen erkannten Manson et al. ein signifikant besseres Gesamtüberleben für Patientinnen mit PD-L1-negativen Primärtumoren, die im Verlauf PD-L1-positive Fernmetastasen entwickelten. Eine verstärkte Expression von PD-L1 in Fernmetastasen scheint somit auf ein längeres Überleben hinzuweisen (152).

Eine in der Fernmetastase neu erworbene PD-L1-Expression betraf im betrachteten Gesamtkollektiv 9,5% (6/63) der im Primarius IC-negativen Fälle. Diese würden nach den Ergebnissen von Manson et al. von einer verbesserten Prognose profitieren.

Zudem war die Immunzell-PD-L1-Expression nur bei Primärtumoren mit ER-Negativität assoziiert, nicht aber bei Fernmetastasen (152). Eine PD-L1-Diagnostik der Fernmetastasen würde also für alle Subtypen einen prognostischen Wert mit sich bringen und wäre nicht nur auf das TNBC-Kollektiv begrenzt.

Neben der prognostischen Aussagekraft des PD-L1-Status besitzt dieser zusätzlich einen Wert als prädiktiver Marker. Insgesamt gelten positive PD-L1-Werte als Voraussetzung für eine PD-L1-gerichtete Therapie, da sie auf ein Therapieansprechen und eine damit mögliche Verbesserung der Prognose hindeuten.

Ein verbessertes Therapieansprechen sowie eine signifikant verbesserte Prognose von TNBC-Patientinnen scheinen dabei unabhängig davon zu sein, ob sich die PD-L1-positiven Immunzellen in der Tumormikroumgebung eines Primarius oder einer Metastase befinden (179). Unter einer Therapie mit Atezolizumab und nab-Paclitaxel hatte eine IC-Positivität sowohl in primärem als auch in metastatischem Gewebe positiven Einfluss auf das progressionsfreie sowie das Gesamt-Überleben (165).

Neben dem Wert der PD-L1-Expression als prognostischer und prädiktiver Marker ist ein positiver PD-L1-Status zudem mit einigen klinisch-pathologischen Merkmalen assoziiert. Bereits 2015 fanden Sabatier et al. heraus, dass eine hohe PD-L1-Expression mit negativen prognostischen Faktoren, wie einer großen Tumorgroße, einem hohen histologischen Grad, ER- und PR-Negativität, HER2-Positivität, einem hohen Proliferationsindex und den Subtypen TNBC und HER2-positiv in Verbindung steht (166). Diese Zusammenhänge wurden von vielen weiteren Studien bestätigt, die zusätzlich signifikante Zusammenhänge der PD-L1-Expression mit dem Alter, dem Tumorstadium, einem positiven LK-Status (157), duktalem Karzinomen und einer großen Anzahl an TILs (10) und einer geringeren Wahrscheinlichkeit für eine vaskuläre Invasion (164) belegten.

In der Zusammenschau der gesichteten Studien wird die Annahme gestützt, dass primärer Brustkrebs mit PD-L1-positiven Tumorzellen aggressiver sein kann und mit mehreren klinisch-pathologischen Hochrisikofaktoren wie einem hohen Tumorgrad und dem tripel-negativen Subtyp zusammenhängt, die auf eine schlechte Prognose hindeuten (10, 152).

Insgesamt lässt sich schlussfolgern, dass eine frühzeitige Diagnose und ein schneller Therapiestart die Diagnose von Brustkrebs-Patientinnen verbessern. Hilfreich wäre eine routinemäßig und von geschulten Pathologen durchgeführte PD-L1-Diagnostik von TNBC-Patientinnen, aber auch von Brustkrebspatientinnen anderer Subtypen, die nicht gut auf ihre Therapie ansprechen oder die Metastasen entwickelt haben, welche nicht auf das Therapie-Regime des Primarius ansprechen. So könnten die Fälle identifiziert werden, welche von der Option einer PD-L1-Therapie profitieren könnten. Durch eine frühe Diagnosestellung könnte diese hinzukommende Therapieoption frühzeitig eingesetzt werden, um das rezidivfreie Überleben sowie das Gesamtüberleben dieser Frauen zu verbessern.

6 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit dient dem Vergleich der PD-L1-Expression zwischen primärem Brustkrebs und zugehörigen Lymphknoten- sowie Fernmetastasen. Dabei wurde sowohl der Subtyp des Mammakarzinoms als auch die Lokalisation der (Fern-)Metastasen berücksichtigt. Mit Hilfe des immunhistologischen 22C3 PharmDx-Assays wurden die Gewebeproben der Primarius/Metastasen-Paare von 208 Patientinnen und Patienten auf das Vorhandensein von PD-L1 im Tumor untersucht. Die Zusammenhänge der PD-L1-Positivitätsraten zwischen Primärtumoren und zugehörigen Metastasen wurden durch Kreuztabellen, χ^2 -Tests und dem Korrelationskoeffizient nach Spearman ermittelt.

Das in dieser Studie untersuchte Gesamtkollektiv wies im Primarius eine PD-L1-Positivität von 23,9% auf. 18,1% der Primärtumore entsprachen dem tripel-negativen Subtyp, welcher mit insgesamt 36% PD-L1-positiver Proben eine deutlich häufigere PD-L1-Positivität erkennen ließ als das Gesamtkollektiv. Diese Erkenntnisse stehen in Einklang mit dem aktuellen Stand der Forschung und dem allgemeinen Konsensus der veröffentlichten Literatur.

Eine Auffälligkeit in den vorliegenden Ergebnissen war, dass der HER2-positiv-Subtyp zwar keine PD-L1-positiven Tumorzellen, jedoch viele PD-L1-positive tumorinfiltrierende Immunzellen besaß und somit sogar höhere CPS- und IC-Werte (75%) aufwies als das TNBC. In diesem Punkt besteht in der Literatur Uneinigkeit.

Bis auf den HER2-positiv-Typ wiesen die LK-Metastasen innerhalb jedes Subtyps häufiger eine PD-L1-Positivität auf als die Primärtumore. Die Fernmetastasen innerhalb des Gesamtkollektivs, aber auch innerhalb jedes Subtyps, waren hingegen durchschnittlich seltener PD-L1-positiv als der Primarius.

Bei Betrachtung der unterschiedlichen anatomischen Lokalisationen der Fernmetastasen zeigte sich in der vorliegenden Arbeit, in Übereinstimmung mit der Literatur, dass Knochen- (4%) und an zweiter Stelle Lebermetastasen (12,5%) am seltensten eine PD-L1-Expression besitzen. Haut- (20%), Peritoneal- (25%), und Lungen-/Pleura-Metastasen (20%) waren hingegen etwa gleich häufig PD-L1-positiv wie die Primärtumore. Die PD-L1-Positivitätsrate der LK-Metastasen (37,9%) liegt somit sowohl deutlich über dem Durchschnitt der Fernmetastasen (11%) als auch über den Positivitätsraten jeder anderen einzelnen Metastasen-Lokalisation.

In der Analyse der in dieser Arbeit ermittelten Daten ergeben sich in der Zusammenschau vier vorrangige Erkenntnisse:

1. Innerhalb des TNBC-Kollektivs erwarben LK-Metastasen in einigen Fällen (3/18 bzw. 16,67%) eine PD-L1-Positivität, welche im Primarius nicht vorhanden gewesen war, während eine primäre PD-L1-Positivität in der LK-Metastase nie verloren ging. Eine PD-L1-Expression war in LK-Metastasen somit häufiger und stärker ausgeprägt als in den zugehörigen Primärtumoren. Folglich könnte eine PD-L1-Diagnostik in den LK-Metastasen von PD-L1-negativen TNBC-Primärtumoren zusätzliche Informationen über die PD-L1-Expression liefern und zu einer individualisierteren Anti-PD-L1-Therapie führen. Denn auch die TNBC-Fälle von primär PD-L1-negativen, jedoch in der LK-Metastase -positiven Tumoren könnten von einer Anti-PD-L1-Therapie profitieren, was durch die alleinige Primarius-Untersuchung nicht ersichtlich ist. Eine PD-L1-Untersuchung der LK-Metastasen von TNBC-Tumoren ist in Hinblick auf eine Maximierung der Therapiemöglichkeiten somit essenziell, da mehr LK-Metastasen eine PD-L1-Positivität aufweisen als die Primärtumore.
2. Bei den Fernmetastasen des untersuchten TNBC-Kollektivs zeigte sich hingegen der gegenteilige Effekt, da diese eine PD-L1-Positivität nie neu erwarben und eine primäre PD-L1-Positivität häufig (2/9 bzw. 22,22%) während der Fernmetastasierung verloren ging. Im Fall von rein fernmetastasiertem TNBC ist es bezüglich der Therapieoptionen mit PD-L1-Inhibitoren folglich wichtiger, den Primarius auf PD-L1 zu testen, da dieser innerhalb des TNBC-Kollektivs häufiger eine PD-L1-Expression aufwies als die zugehörigen Fernmetastasen. Da die begrenzte Größe des betrachteten TNBC-

Kollektivs allerdings nur eine limitierte Aussagekraft zulässt, wäre weitere Forschung in diesem Gebiet zu betreiben und idealerweise alle Tumor-Lokalisationen einzeln auf PD-L1 zu testen, um die Möglichkeit einer Checkpoint-Inhibitor-Therapie nicht zu übersehen.

3. Im Gegensatz zum TNBC kam es in den Fernmetastasen des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps häufiger zu einem Neuerwerb (5/32 bzw. 15,63%) einer PD-L1-Expression als zu ihrem Verlust (3/32 bzw. 9,38%). Der Anteil an PD-L1-positiven Fernmetastasen des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps war zudem größer als der des TNBC. Die Möglichkeit einer Anti-PD-L1-Therapie bei PD-L1-positiven Fernmetastasen dieses Subtyps sollte daher in Betracht gezogen werden, da den gewonnenen Ergebnissen nach bis zu 18,8% der fernmetastasierten Patientinnen von dieser neuen Therapieoption profitieren könnten. Es gilt für Fälle des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps somit, insbesondere die Fernmetastasen von primär PD-L1-negativen Tumoren auf PD-L1 zu testen, um keine Fälle mit einer neu erworbenen PD-L1-Expression zu übersehen. Eine weitere Erforschung des PD-L1-Expressionsmodells des Luminal-B/HER2-negativ Subtyps könnte weitere wichtige Erkenntnisse liefern und die Option einer Anti-PD-L1-Therapie evaluieren.
4. Zudem verdeutlicht die in dieser sowie bereits in anderen Studien festgestellte geringe, aber dennoch vorhandene Diskordanz des PD-L1-Status zwischen Primärtumoren und zugehörigen Metastasen die Bedeutung einer Gewebeentnahme und -untersuchung auf PD-L1. Durch gezielte Analysen der IMPassion130-Studie zeigte sich bereits ein größerer relativer Nutzen einer Therapie mit Checkpoint-Inhibition, wenn auch in den Metastasen eine Untersuchung auf PD-L1 stattfindet (160, 165). Durch eine regelhafte histopathologische Untersuchung von Metastasen, insbesondere bei primär PD-L1-negativem TNBC, sowie durch zusätzliche Schulungen der untersuchenden Pathologen zur Steigerung der Interrater-Reliabilität, könnte eine verbesserte Auswahl von Patientinnen für eine PD-L1-gerichtete Therapie stattfinden.

7 Literaturverzeichnis

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68(6):394-424.
2. Deutsche Gesellschaft für Senologie DGfGuG, Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, Institut für Frauengesundheit. In Kooperation mit den wissenschaftlichen Fachgesellschaften AGO, SGS, ÖGS. *Brustkrebs Studien. Klinische Forschung für Betroffene.* Ratgeber Brustkrebs. 2022 [30.03.2022]. Available from: <http://www.brustkrebs-studien.de/ratgeberbrustkrebs.php>.
3. AGO KMd. Diagnostik und Therapie früher und fortgeschrittener Mammakarzinome. Prognostische und prädiktive Faktoren. : Kommission Mamma (vertreten durch Wolfgang Janni) derArbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie e.V. (AGO) in der Deutschen Gesellschaft für Gynäkologie und Geburtshilfe e.V. sowie der Deutschen Krebsgesellschaft e.V.; 2021 [27.08.2021]. Available from: https://www.ago-online.de/fileadmin/ago-online/downloads/leitlinien/kommission_mamma/2021/Einzeldateien_Literatur/2021D_05_Prognostische_und_praediktive_Faktoren_MASTER_final_20210302_inklRef.pdf.
4. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *The Journal of Clinical Investigation.* 2011;121(7):2750-67.
5. Diaz LK, Cryns VL, Symmans WF, Sneige N. Triple Negative Breast Carcinoma and the Basal Phenotype: From Expression Profiling to Clinical Practice. *Advances in Anatomic Pathology.* 2007;14(6):419-30.
6. Inc. ACS. *Breast Cancer Facts & Figures 2019-2020.* 2019 [28.08.2021]. Available from: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf>.
7. Krebsforschungszentrum D. *Luminaler Brustkrebs: Was ist das eigentlich? Bedeutung molekularer Subtypen für die klinische Praxis: Internet-Redaktion des Krebsinformationsdienstes;* 2021 [11.04.2023]. Available from: <https://www.krebsinformationsdienst.de/fachkreise/nachrichten/2021/fk13-was-ist-luminaler-brustkrebs.php>.
8. Fares J, Fares MY, Fares Y. Immune checkpoint inhibitors: Advances and impact in neuro-oncology. *Surg Neurol Int.* 2019;10:9.
9. Guan J, Lim KS, Mekhail T, Chang CC. Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) Expression in the Programmed Death Receptor-1 (PD-1)/PD-L1 Blockade: A Key Player Against Various Cancers. *Arch Pathol Lab Med.* 2017;141(6):851-61.
10. Huang W, Ran R, Shao B, Li H. Prognostic and clinicopathological value of PD-L1 expression in primary breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* 2019;178(1):17-33.
11. Mittendorf EA, Philips AV, Meric-Bernstam F, Qiao N, Wu Y, Harrington S, et al. PD-L1 expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol Res.* 2014;2(4):361-70.
12. Matikas A, Zerdes I, Lövrot J, Richard F, Sotiriou C, Bergh J, et al. Prognostic Implications of PD-L1 Expression in Breast Cancer: Systematic Review and Meta-analysis of Immunohistochemistry and Pooled Analysis of Transcriptomic Data. *Clin Cancer Res.* 2019;25(18):5717-26.
13. Gemeinsamer Bundesausschuss B. *Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie: Anlage XII – Nutzenbewertung von Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen nach § 35a des SGB V: Pembrolizumab (Neues Anwendungsgebiet: Mammakarzinom, triple-negativ, PD-L1-Expression ≥ 10 (CPS), Kombination mit Chemotherapie) 2022 [24.04.2024].* Available from: https://www.g-ba.de/downloads/40-268-9304/2022-05-05_AM-RL-XII_Pembrolizumab_D-752_ZD.pdf.
14. Gemeinsamer Bundesausschuss B. *Beschluss des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Arzneimittel-Richtlinie (AM-RL): Anlage XII – Nutzenbewertung von Arzneimitteln mit neuen Wirkstoffen nach § 35a SGB V Atezolizumab*

(neues Anwendungsgebiet: Mammakarzinom, triple-negativ, PD-L1- Expression $\geq 1\%$) 2020 [24.04.2024]. Available from: https://www.g-ba.de/downloads/39-261-4236/2020-04-02_AM-RL-XII_Atezolizumab_D-470_BAnz.pdf.

15. Szekely B, Bossuyt V, Li X, Wali VB, Patwardhan GA, Frederick C, et al. Immunological differences between primary and metastatic breast cancer. *Ann Oncol.* 2018;29(11):2232-9.
16. Rozenblit M, Huang R, Danziger N, Hegde P, Alexander B, Ramkissoon S, et al. Comparison of PD-L1 protein expression between primary tumors and metastatic lesions in triple negative breast cancers. *J Immunother Cancer.* 2020;8(2).
17. Robert Koch Institut ZfKD. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12. Ausgabe. Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.. Kapitel Brustdrüse. . 2019:78-81.
18. Robert Koch Institut ZfKD. Krebs in Deutschland für 2015/2016. 12. Ausgabe. Gemeinsame Publikation des Zentrums für Krebsregisterdaten und der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. 2019.
19. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26 Suppl 5:v8-30.
20. McTiernan A. Behavioral Risk Factors in Breast Cancer: Can Risk Be Modified? *The Oncologist.* 2003;8(4):326-34.
21. Tao Z, Shi A, Lu C, Song T, Zhang Z, Zhao J. Breast Cancer: Epidemiology and Etiology. *Cell Biochem Biophys.* 2015;72(2):333-8.
22. Degenhardt TH, N.; Würstlein, R. Individuelle Tumorthherapie beim Mammakarzinom *Deutsche Zeitschrift für Onkologie* 2015; 47: 57-65. 2015.
23. Braun S, Kiechle M, Harbeck N. [Breast carcinoma. Biological principles, classification and prognostic factors]. *Internist (Berl).* 2002;43(3):329-30, 33-9.
24. Weigelt B, Geyer FC, Reis-Filho JS. Histological types of breast cancer: how special are they? *Mol Oncol.* 2010;4(3):192-208.
25. Wang T, Ma Y, Wang L, Liu H, Chen M, Niu R. Strong adverse effect of epidermal growth factor receptor 2 overexpression on prognosis of patients with invasive lobular breast cancer: a comparative study with invasive ductal breast cancer in Chinese population. *Tumour Biol.* 2015;36(8):6113-24.
26. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology.* 1991;19(5):403-10.
27. Christgen M, Länger F, Kreipe H. [Histological grading of breast cancer]. *Pathologe.* 2016;37(4):328-36.
28. Dunnwald LK, Rossing MA, Li CI. Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients. *Breast Cancer Res.* 2007;9(1):R6.
29. Costa SD, Lange S, Klinga K, Merkle E, Kaufmann M. Factors influencing the prognostic role of oestrogen and progesterone receptor levels in breast cancer--results of the analysis of 670 patients with 11 years of follow-up. *Eur J Cancer.* 2002;38(10):1329-34.
30. Bentzon N, Düring M, Rasmussen BB, Mouridsen H, Kroman N. Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer. *Int J Cancer.* 2008;122(5):1089-94.
31. M Clarke RC, S Darby, C Davies, V Evans, J Godwin, R Gray, P McGale, R Peto, and Y Wang. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet.* 2005;365(9472):1687-717.
32. Banerjee M, George J, Song EY, Roy A, Hryniuk W. Tree-based model for breast cancer prognostication. *J Clin Oncol.* 2004;22(13):2567-75.
33. MacGrogan G, de Mascarel I, Sierankowski G, Mauriac L, Debled M, Durand M, et al. Time for reappraisal of progesterone-receptor testing in breast cancer management. *J Clin Oncol.* 2005;23(12):2870-1; author reply 1.
34. Kumar P, Aggarwal R. An overview of triple-negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet.* 2016;293(2):247-69.
35. Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. American Society of Clinical Oncology/College Of American Pathologists guideline recommendations for

-
- immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28(16):2784-95.
36. Fedchenko N, Reifenrath J. Different approaches for interpretation and reporting of immunohistochemistry analysis results in the bone tissue - a review. *Diagn Pathol*. 2014;9:221.
 37. Remmele W, Stegner HE. [Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]. *Pathologe*. 1987;8(3):138-40.
 38. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.
 39. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(1):118-45.
 40. Li J, Chen Z, Su K, Zeng J. Clinicopathological classification and traditional prognostic indicators of breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(7):8500-5.
 41. Taguchi T. [Trend to adjuvant systemic treatment regimens for patients with early breast cancer--meeting highlights of St. Gallen Conference 2005]. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2006;33(5):567-83.
 42. Payne SJ, Bowen RL, Jones JL, Wells CA. Predictive markers in breast cancer--the present. *Histopathology*. 2008;52(1):82-90.
 43. Joensuu H, Isola J, Lundin M, Salminen T, Holli K, Kataja V, et al. Amplification of erbB2 and erbB2 expression are superior to estrogen receptor status as risk factors for distant recurrence in pT1N0M0 breast cancer: a nationwide population-based study. *Clin Cancer Res*. 2003;9(3):923-30.
 44. Almstedt K, Krauthauser L, Kappenberg F, Wagner D-C, Heimes A-S, Battista MJ, et al. Discordance of HER2-Low between Primary Tumors and Matched Distant Metastases in Breast Cancer. *Cancers*. 2023;15(5):1413.
 45. Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, Andrulis IL, Tu D, Bramwell VH, et al. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med*. 2006;354(20):2103-11.
 46. Konecny GE, Thomssen C, Lück HJ, Untch M, Wang HJ, Kuhn W, et al. Her-2/neu gene amplification and response to paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2004;96(15):1141-51.
 47. Ahn S, Woo JW, Lee K, Park SY. HER2 status in breast cancer: changes in guidelines and complicating factors for interpretation. *J Pathol Transl Med*. 2020;54(1):34-44.
 48. Lombardi A, Lazzeroni R, Bersigotti L, Vitale V, Amanti C. The Proper Ki-67 Cut-Off in Hormone Responsive Breast Cancer: A Monoinstitutional Analysis with Long-Term Follow-Up. *Breast Cancer (Dove Med Press)*. 2021;13:213-7.
 49. Hashmi AA, Hashmi KA, Irfan M, Khan SM, Edhi MM, Ali JP, et al. Ki67 index in intrinsic breast cancer subtypes and its association with prognostic parameters. *BMC Res Notes*. 2019;12(1):605.
 50. Penault-Llorca F, Radosevic-Robin N. Ki67 assessment in breast cancer: an update. *Pathology*. 2017;49(2):166-71.
 51. Denkert C, Budczies J, Regan MM, Loibl S, Dell'Orto P, von Minckwitz G, et al. Clinical and analytical validation of Ki-67 in 9069 patients from IBCSG VIII + IX, BIG1-98 and GeparTrio trial: systematic modulation of interobserver variance in a comprehensive in silico ring trial. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;176(3):557-68.
 52. Foulkes WD, Reis-Filho JS, Narod SA. Tumor size and survival in breast cancer--a reappraisal. *Nat Rev Clin Oncol*. 2010;7(6):348-53.
 53. Sopik V, Narod SA. The relationship between tumour size, nodal status and distant metastases: on the origins of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;170(3):647-56.
 54. Weissenbacher TM, Zschage M, Janni W, Jeschke U, Dimpfl T, Mayr D, et al. Multicentric and multifocal versus unifocal breast cancer: is the tumor-node-metastasis classification justified? *Breast Cancer Res Treat*. 2010;122(1):27-34.

-
55. Lobbezoo DJ, van Kampen RJ, Voogd AC, Dercksen MW, van den Berkmortel F, Smilde TJ, et al. Prognosis of metastatic breast cancer: are there differences between patients with de novo and recurrent metastatic breast cancer? *Br J Cancer*. 2015;112(9):1445-51.
 56. Radecka B, Litwiniuk M. Breast cancer in young women. *Ginekol Pol*. 2016;87(9):659-63.
 57. Shiovitz S, Korde LA. Genetics of breast cancer: a topic in evolution. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1291-9.
 58. Siegmund-Schultze N. Mammakarzinom bei jüngeren Patientinnen: Prognose bei Frauen mit BRCA-Mutation ist nicht schlechter als ohne Mutation. *Dtsch Arztebl International*. 2018;115(25):A-1223.
 59. Subramani R, Nandy SB, Pedroza DA, Lakshmanaswamy R. Role of Growth Hormone in Breast Cancer. *Endocrinology*. 2017;158(6):1543-55.
 60. Nandi S, Guzman RC, Yang J. Hormones and mammary carcinogenesis in mice, rats, and humans: a unifying hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(9):3650-7.
 61. Stingl J. Estrogen and progesterone in normal mammary gland development and in cancer. *Horm Cancer*. 2011;2(2):85-90.
 62. Hsieh CC, Trichopoulos D, Katsouyanni K, Yuasa S. Age at menarche, age at menopause, height and obesity as risk factors for breast cancer: associations and interactions in an international case-control study. *Int J Cancer*. 1990;46(5):796-800.
 63. Coradini D, Daidone MG, Boracchi P, Biganzoli E, Oriana S, Bresciani G, et al. Time-dependent relevance of steroid receptors in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2000;18(14):2702-9.
 64. Albain KS, Allred DC, Clark GM. Breast cancer outcome and predictors of outcome: are there age differentials? *J Natl Cancer Inst Monogr*. 1994(16):35-42.
 65. Chang J, Clark GM, Allred DC, Mohsin S, Chamness G, Elledge RM. Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer*. 2003;97(3):545-53.
 66. Freedman OC, Verma S, Clemons MJ. Pre-menopausal breast cancer and aromatase inhibitors: Treating a new generation of women. *Breast Cancer Res Treat*. 2006;99(3):241-7.
 67. Cserni G, Chmielik E, Cserni B, Tot T. The new TNM-based staging of breast cancer. *Virchows Arch*. 2018;472(5):697-703.
 68. Eliyatkin N, Yalçın E, Zengel B, Aktaş S, Vardar E. Molecular Classification of Breast Carcinoma: From Traditional, Old-Fashioned Way to A New Age, and A New Way. *J Breast Health*. 2015;11(2):59-66.
 69. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF). S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms, Version 4.4, 2021, AWMF Registernummer: 032-045OL 2021 [22.03.2022]. 385-90]. Available from: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/mammakarzinom/>
 70. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.
 71. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736-47.
 72. Harbeck N. Frühes Mammakarzinom: Exzellente Heilungsraten bei wenig aggressiver Therapie. *Deutsches Ärzteblatt International*. 2015;112(20):[16].
 73. Prat A, Cheang MCU, Martín M, Parker JS, Carrasco E, Caballero R, et al. Prognostic Significance of Progesterone Receptor-Positive Tumor Cells Within Immunohistochemically Defined Luminal A Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2013;31(2):203-9.
 74. Ades F, Zardavas D, Bozovic-Spasojevic I, Pugliano L, Fumagalli D, Azambuja Ed, et al. Luminal B Breast Cancer: Molecular Characterization, Clinical Management, and Future Perspectives. *Journal of Clinical Oncology*. 2014;32(25):2794-803.
 75. Harbeck N, Thomssen C, Gnant M. St. Gallen 2013: brief preliminary summary of the consensus discussion. *Breast Care (Basel)*. 2013;8(2):102-9.
 76. Alluri P, Newman LA. Basal-like and triple-negative breast cancers: searching for positives among many negatives. *Surg Oncol Clin N Am*. 2014;23(3):567-77.

-
77. Yin L, Duan JJ, Bian XW, Yu SC. Triple-negative breast cancer molecular subtyping and treatment progress. *Breast Cancer Res.* 2020;22(1):61.
 78. Prat A, Pineda E, Adamo B, Galván P, Fernández A, Gaba L, et al. Clinical implications of the intrinsic molecular subtypes of breast cancer. *Breast.* 2015;24 Suppl 2:S26-35.
 79. Zhao S, Zuo WJ, Shao ZM, Jiang YZ. Molecular subtypes and precision treatment of triple-negative breast cancer. *Ann Transl Med.* 2020;8(7):499.
 80. Sørlie T. Molecular portraits of breast cancer: tumour subtypes as distinct disease entities. *Eur J Cancer.* 2004;40(18):2667-75.
 81. Ignatov A, Eggemann H, Burger E, Ignatov T. Patterns of breast cancer relapse in accordance to biological subtype. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2018;144(7):1347-55.
 82. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama.* 2006;295(21):2492-502.
 83. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013;24(9):2206-23.
 84. Trümper L EH, de Wit M, Tamm I. Stellungnahme zur Nutzenbewertung gemäß § 35a SGB V. Atezolizumab (neues Anwendungsgebiet: Mammakarzinom, triple-negativ) IQWiG Bericht Nr 860. 2020.
 85. Stark A, Kleer CG, Martin I, Awuah B, Nsiah-Asare A, Takyi V, et al. African ancestry and higher prevalence of triple-negative breast cancer: findings from an international study. *Cancer.* 2010;116(21):4926-32.
 86. Vona-Davis L, Rose DP, Hazard H, Howard-McNatt M, Adkins F, Partin J, et al. Triple-negative breast cancer and obesity in a rural Appalachian population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(12):3319-24.
 87. Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008;109(1):123-39.
 88. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol.* 2008;26(15):2568-81.
 89. Reis-Filho JS, Tutt AN. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology.* 2008;52(1):108-18.
 90. Xu J, Footman A, Qin Y, Aysola K, Black S, Reddy V, et al. BRCA1 Mutation Leads to Deregulated Ubc9 Levels which Triggers Proliferation and Migration of Patient-Derived High Grade Serous Ovarian Cancer and Triple Negative Breast Cancer Cells. *Int J Chronic Dis Ther.* 2016;2(3):31-8.
 91. Li X, Yang J, Peng L, Sahin AA, Huo L, Ward KC, et al. Triple-negative breast cancer has worse overall survival and cause-specific survival than non-triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;161(2):279-87.
 92. Zhang W, Xu GX, Li JJ, Liu X, Chen YJ, Zhang F. [Expression of PD-1/PD-L1 in triple-negative breast carcinoma and its significance]. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2017;46(1):20-4.
 93. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* 2011;121(7):2750-67.
 94. Lehmann BD, Jovanović B, Chen X, Estrada MV, Johnson KN, Shyr Y, et al. Refinement of Triple-Negative Breast Cancer Molecular Subtypes: Implications for Neoadjuvant Chemotherapy Selection. *PLoS One.* 2016;11(6):e0157368.
 95. Alexandrov LB, Nik-Zainal S, Wedge DC, Aparicio SAJR, Behjati S, Biankin AV, et al. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature.* 2013;500(7463):415-21.
 96. Adams S, Gray RJ, Demaria S, Goldstein L, Perez EA, Shulman LN, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J Clin Oncol.* 2014;32(27):2959-66.

-
97. Jiang YZ, Ma D, Suo C, Shi J, Xue M, Hu X, et al. Genomic and Transcriptomic Landscape of Triple-Negative Breast Cancers: Subtypes and Treatment Strategies. *Cancer Cell*. 2019;35(3):428-40.e5.
 98. He Y, Jiang Z, Chen C, Wang X. Classification of triple-negative breast cancers based on Immunogenomic profiling. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(1):327.
 99. Saleh SMI, Bertos N, Gruosso T, Gigoux M, Souleimanova M, Zhao H, et al. Identification of Interacting Stromal Axes in Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res*. 2017;77(17):4673-83.
 100. Kim IS, Gao Y, Welte T, Wang H, Liu J, Janghorban M, et al. Immuno-subtyping of breast cancer reveals distinct myeloid cell profiles and immunotherapy resistance mechanisms. *Nat Cell Biol*. 2019;21(9):1113-26.
 101. Xiao Y, Ma D, Zhao S, Suo C, Shi J, Xue MZ, et al. Multi-Omics Profiling Reveals Distinct Microenvironment Characterization and Suggests Immune Escape Mechanisms of Triple-Negative Breast Cancer. *Clin Cancer Res*. 2019;25(16):5002-14.
 102. Schmidt M, Böhm D, von Törne C, Steiner E, Puhl A, Pilch H, et al. The humoral immune system has a key prognostic impact in node-negative breast cancer. *Cancer Res*. 2008;68(13):5405-13.
 103. Schmidt M, Hengstler JG, von Törne C, Koelbl H, Gehrman MC. Coordinates in the universe of node-negative breast cancer revisited. *Cancer Res*. 2009;69(7):2695-8.
 104. Panoff JE, Hurley J, Takita C, Reis IM, Zhao W, Sujoy V, et al. Risk of locoregional recurrence by receptor status in breast cancer patients receiving modern systemic therapy and post-mastectomy radiation. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;128(3):899-906.
 105. Eiermann W, Vallis KA. Locoregional treatments for triple-negative breast cancer. *Ann Oncol*. 2012;23 Suppl 6:vi30-4.
 106. Kyndi M, Sørensen FB, Knudsen H, Overgaard M, Nielsen HM, Overgaard J. Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: the Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J Clin Oncol*. 2008;26(9):1419-26.
 107. Metzger-Filho O, Tutt A, de Azambuja E, Saini KS, Viale G, Loi S, et al. Dissecting the heterogeneity of triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(15):1879-87.
 108. Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2005;11(16):5678-85.
 109. Berry DA, Cirincione C, Henderson IC, Citron ML, Budman DR, Goldstein LJ, et al. Estrogen-receptor status and outcomes of modern chemotherapy for patients with node-positive breast cancer. *Jama*. 2006;295(14):1658-67.
 110. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, André F, Tordai A, Mejia JA, et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2008;26(8):1275-81.
 111. Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*. 2007;13(8):2329-34.
 112. Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, et al. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet*. 2014;384(9938):164-72.
 113. Loibl S, Weber KE, Timms KM, Elkin EP, Hahnen E, Fasching PA, et al. Survival analysis of carboplatin added to an anthracycline/taxane-based neoadjuvant chemotherapy and HRD score as predictor of response-final results from GeparSixto. *Ann Oncol*. 2018;29(12):2341-7.
 114. Von Minckwitz G, Schneeweiss A, Loibl S, Salat C, Denkert C, Rezai M, et al. Neoadjuvant carboplatin in patients with triple-negative and HER2-positive early breast cancer (GeparSixto; GBG 66): a randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2014;15(7):747-56.
 115. Ghosh S. Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorg Chem*. 2019;88:102925.
 116. Kelland L. The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(8):573-84.

-
117. Kanwal B. Untangling Triple-Negative Breast Cancer Molecular Peculiarity and Chemo-Resistance: Trailing Towards Marker-Based Targeted Therapies. *Cureus*. 2021;13(7):e16636.
118. Amir E, Miller N, Geddie W, Freedman O, Kassam F, Simmons C, et al. Prospective study evaluating the impact of tissue confirmation of metastatic disease in patients with breast cancer. *J Clin Oncol*. 2012;30(6):587-92.
119. Kennecke H, Yerushalmi R, Woods R, Cheang MC, Voduc D, Speers CH, et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J Clin Oncol*. 2010;28(20):3271-7.
120. File DM, Pascual T, Deal AM, Wheless A, Perou CM, Claire Dees E, et al. Clinical subtype, treatment response, and survival in De Novo and recurrent metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2022;196(1):153-62.
121. Lyons TG. Targeted Therapies for Triple-Negative Breast Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2019;20(11):82.
122. Sakach E, O'Regan R, Meisel J, Li X. Molecular Classification of Triple Negative Breast Cancer and the Emergence of Targeted Therapies. *Clin Breast Cancer*. 2021;21(6):509-20.
123. Tutt ANJ, Garber JE, Kaufman B, Viale G, Fumagalli D, Rastogi P, et al. Adjuvant Olaparib for Patients with BRCA1- or BRCA2-Mutated Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2021;384(25):2394-405.
124. Ettl J, Quek RGW, Lee KH, Rugo HS, Hurvitz S, Gonçalves A, et al. Quality of life with talazoparib versus physician's choice of chemotherapy in patients with advanced breast cancer and germline BRCA1/2 mutation: patient-reported outcomes from the EMBRACA phase III trial. *Ann Oncol*. 2018;29(9):1939-47.
125. Robson M, Ruddy KJ, Im SA, Senkus E, Xu B, Domchek SM, et al. Patient-reported outcomes in patients with a germline BRCA mutation and HER2-negative metastatic breast cancer receiving olaparib versus chemotherapy in the OlympiAD trial. *Eur J Cancer*. 2019;120:20-30.
126. Goldenberg DM, Stein R, Sharkey RM. The emergence of trophoblast cell-surface antigen 2 (TROP-2) as a novel cancer target. *Oncotarget*. 2018;9(48):28989-9006.
127. Waldmann TA. Immunotherapy: past, present and future. *Nat Med*. 2003;9(3):269-77.
128. Heimes AS, Schmidt M. Atezolizumab for the treatment of triple-negative breast cancer. *Expert Opin Investig Drugs*. 2019;28(1):1-5.
129. Keenan TE, Tolaney SM. Role of Immunotherapy in Triple-Negative Breast Cancer. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network J Natl Compr Canc Netw*. 2020;18(4):479-89.
130. Heeke AL, Tan AR. Checkpoint inhibitor therapy for metastatic triple-negative breast cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2021;40(2):537-47.
131. Brunner-Weinzierl MC, Rudd CE. CTLA-4 and PD-1 Control of T-Cell Motility and Migration: Implications for Tumor Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*. 2018;9.
132. Ren Y, Song J, Li X, Luo N. Rationale and Clinical Research Progress on PD-1/PD-L1-Based Immunotherapy for Metastatic Triple-Negative Breast Cancer. *Int J Mol Sci*. 2022;23(16).
133. Wang Y, Zhou S, Yang F, Qi X, Wang X, Guan X, et al. Treatment-Related Adverse Events of PD-1 and PD-L1 Inhibitors in Clinical Trials: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol*. 2019;5(7):1008-19.
134. Zerdes I, Matikas A, Bergh J, Rassidakis GZ, Foukakis T. Genetic, transcriptional and post-translational regulation of the programmed death protein ligand 1 in cancer: biology and clinical correlations. *Oncogene*. 2018;37(34):4639-61.
135. Dong Y, Sun Q, Zhang X. PD-1 and its ligands are important immune checkpoints in cancer. *Oncotarget*. 2017;8(2):2171-86.
136. Jiang X, Wang J, Deng X, Xiong F, Ge J, Xiang B, et al. Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape. *Mol Cancer*. 2019;18(1):10.
137. Roulot A, Héquet D, Guinebretière JM, Vincent-Salomon A, Lerebours F, Dubot C, et al. Tumoral heterogeneity of breast cancer. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2016;74(6):653-60.
138. Ilgun S, Sarsenov D, Erdogan Z, Ordu C, Celebi F, Nur Pilanci K, et al. Receptor discordance rate and its effects on survival in primary and recurrent breast cancer patients. *J buon*. 2016;21(6):1425-32.

-
139. Cimino-Mathews A, Ye X, Meeker A, Argani P, Emens LA. Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: a pilot study. *Hum Pathol.* 2013;44(10):2055-63.
140. Cimino-Mathews A, Thompson E, Taube JM, Ye X, Lu Y, Meeker A, et al. PD-L1 (B7-H1) expression and the immune tumor microenvironment in primary and metastatic breast carcinomas. *Hum Pathol.* 2016;47(1):52-63.
141. Ogiya R, Niikura N, Kumaki N, Bianchini G, Kitano S, Iwamoto T, et al. Comparison of tumor-infiltrating lymphocytes between primary and metastatic tumors in breast cancer patients. *Cancer Sci.* 2016;107(12):1730-5.
142. Rugo HS, Loi S, Adams S, Schmid P, Schneeweiss A, Barrios CH, et al. LBA20 - Performance of PD-L1 immunohistochemistry (IHC) assays in unresectable locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): Post-hoc analysis of IMpassion130. *Annals of Oncology.* 2019;30:v858-v9.
143. Li Y, Chang C-W, Tran D, Denker M, Hegde P, Molinero L. Abstract PD6-01: Prevalence of PDL1 and tumor infiltrating lymphocytes (TILs) in primary and metastatic TNBC. *Cancer Research.* 2018;78(4_Supplement):PD6-01-PD6-.
144. Hutchinson KE, Yost SE, Chang CW, Johnson RM, Carr AR, McAdam PR, et al. Comprehensive Profiling of Poor-Risk Paired Primary and Recurrent Triple-Negative Breast Cancers Reveals Immune Phenotype Shifts. *Clin Cancer Res.* 2020;26(3):657-68.
145. Wang B, Wang X, Wang J, Xuan L, Wang Z, Wang X, et al. [Expression of Ki67 and clinicopathological features in breast cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2014;36(4):273-5.
146. Agilent Technologies IH. Home, Products, Companion Diagnostics, PD-L1 IHC 22C3 pharmDx, PD-L1 IHC 22C3 pharmDx for Autostainer Link 48 2023 [22.04.2023]. Available from: <https://www.agilent.com/en/product/pharmdx/pd-l1-ihc-22c3-pharmdx/pd-l1-ihc-22c3-pharmdx-for-autostainer-link-48-1760224>.
147. Noske A, Wagner DC, Schwamborn K, Foersch S, Steiger K, Kiechle M, et al. Interassay and interobserver comparability study of four programmed death-ligand 1 (PD-L1) immunohistochemistry assays in triple-negative breast cancer. *Breast.* 2021;60:238-44.
148. De Marchi P, Leal LF, Duval da Silva V, da Silva ECA, Cordeiro de Lima VC, Reis RM. PD-L1 expression by Tumor Proportion Score (TPS) and Combined Positive Score (CPS) are similar in non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Pathol.* 2021;74(11):735-40.
149. Noske A, Ammann JU, Wagner DC, Denkert C, Lebeau A, Sinn P, et al. A multicentre analytical comparison study of inter-reader and inter-assay agreement of four programmed death-ligand 1 immunohistochemistry assays for scoring in triple-negative breast cancer. *Histopathology.* 2021;78(4):567-77.
150. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, Sinn BV, Gade S, Kronenwett R, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol.* 2015;33(9):983-91.
151. Chen C, Ma X, Li Y, Ma J, Yang W, Shui R. Concordance of PD-L1 expression in triple-negative breast cancers in Chinese patients: A retrospective and pathologist-based study. *Pathol Res Pract.* 2022;238:154137.
152. Manson QF, Schrijver W, Ter Hoeve ND, Moelans CB, van Diest PJ. Frequent discordance in PD-1 and PD-L1 expression between primary breast tumors and their matched distant metastases. *Clin Exp Metastasis.* 2019;36(1):29-37.
153. Li M, Li A, Zhou S, Xu Y, Xiao Y, Bi R, et al. Heterogeneity of PD-L1 expression in primary tumors and paired lymph node metastases of triple negative breast cancer. *BMC Cancer.* 2018;18(1):4.
154. Gupta A, Chandra S, Chauhan N, Arora A. Study of PD-L1 Expression with Association of Pathological Factors and Molecular Subtypes in Breast Carcinoma. *J Lab Physicians.* 2022;14(4):491-6.
155. Jia H, Truica CI, Wang B, Wang Y, Ren X, Harvey HA, et al. Immunotherapy for triple-negative breast cancer: Existing challenges and exciting prospects. *Drug Resist Updat.* 2017;32:1-15.

-
156. Qin T, Zeng YD, Qin G, Xu F, Lu JB, Fang WF, et al. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(32):33972-81.
157. Muenst S, Schaerli AR, Gao F, Däster S, Trella E, Droeser RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146(1):15-24.
158. Ali HR, Glont SE, Blows FM, Provenzano E, Dawson SJ, Liu B, et al. PD-L1 protein expression in breast cancer is rare, enriched in basal-like tumours and associated with infiltrating lymphocytes. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1488-93.
159. Dill EA, Gru AA, Atkins KA, Friedman LA, Moore ME, Bullock TN, et al. PD-L1 Expression and Intratumoral Heterogeneity Across Breast Cancer Subtypes and Stages: An Assessment of 245 Primary and 40 Metastatic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(3):334-42.
160. Boman C, Zerdes I, Mårtensson K, Bergh J, Foukakis T, Valachis A, et al. Discordance of PD-L1 status between primary and metastatic breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Treat Rev*. 2021;99:102257.
161. Gonzalez-Ericsson PI, Stovgaard ES, Sua LF, Reisenbichler E, Kos Z, Carter JM, et al. The path to a better biomarker: application of a risk management framework for the implementation of PD-L1 and TILs as immuno-oncology biomarkers in breast cancer clinical trials and daily practice. *J Pathol*. 2020;250(5):667-84.
162. Pang JB, Castles B, Byrne DJ, Button P, Hendry S, Lakhani SR, et al. SP142 PD-L1 Scoring Shows High Interobserver and Intraobserver Agreement in Triple-negative Breast Carcinoma But Overall Low Percentage Agreement With Other PD-L1 Clones SP263 and 22C3. *Am J Surg Pathol*. 2021;45(8):1108-17.
163. Li Y, Vennapusa B, Chang CW, Tran D, Nakamura R, Sumiyoshi T, et al. Prevalence Study of PD-L1 SP142 Assay in Metastatic Triple-negative Breast Cancer. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2021;29(4):258-64.
164. Zhang J, Yuan P, Lei HZ, Liu XY, Li X, Ying JM, et al. [Expression comparison and clinical significance of PD-L1 (22C3) and PD-L1 (SP142) in triple negative breast cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2022;44(3):260-7.
165. Emens LA, Molinero L, Loi S, Rugo HS, Schneeweiss A, Diéras V, et al. Atezolizumab and nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer: Biomarker Evaluation of the IMpassion130 Study. *J Natl Cancer Inst*. 2021;113(8):1005-16.
166. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(7):5449-64.
167. Guo H, Ding Q, Gong Y, Gilcrease MZ, Zhao M, Zhao J, et al. Comparison of three scoring methods using the FDA-approved 22C3 immunohistochemistry assay to evaluate PD-L1 expression in breast cancer and their association with clinicopathologic factors. *Breast Cancer Res*. 2020;22(1):69.
168. Stovgaard ES, Dyhl-Polk A, Roslind A, Balslev E, Nielsen D. PD-L1 expression in breast cancer: expression in subtypes and prognostic significance: a systematic review. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;174(3):571-84.
169. Gatalica Z, Snyder C, Maney T, Ghazalpour A, Holterman DA, Xiao N, et al. Programmed cell death 1 (PD-1) and its ligand (PD-L1) in common cancers and their correlation with molecular cancer type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2014;23(12):2965-70.
170. Van Bockstal MR, Cooks M, Nederlof I, Brinkhuis M, Dutman A, Koopmans M, et al. Interobserver Agreement of PD-L1/SP142 Immunohistochemistry and Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) in Distant Metastases of Triple-Negative Breast Cancer: A Proof-of-Concept Study. A Report on Behalf of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group. *Cancers (Basel)*. 2021;13(19).
171. Khande TA, Joshi AR, Khandeparkar SGS, Kulkarni MM, Gogate BP, Kakade AR, et al. Study of ER, PR, HER2/neu, p53, and Ki67 expression in primary breast carcinomas and synchronous metastatic axillary lymph nodes. *Indian J Cancer*. 2020;57(2):190-7.
172. Sujarittanakarn S, Himakhun W, Worasawate W, Prasert W. The Case to Case Comparison of Hormone Receptors and HER2 Status between Primary Breast Cancer and Synchronous Axillary Lymph Node Metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020;21(6):1559-65.

-
173. Yao ZX, Lu LJ, Wang RJ, Jin LB, Liu SC, Li HY, et al. Discordance and clinical significance of ER, PR, and HER2 status between primary breast cancer and synchronous axillary lymph node metastasis. *Med Oncol*. 2014;31(1):798.
174. Huang X, Ding Q, Guo H, Gong Y, Zhao J, Zhao M, et al. Comparison of three FDA-approved diagnostic immunohistochemistry assays of PD-L1 in triple-negative breast carcinoma. *Hum Pathol*. 2021;108:42-50.
175. Barberà A, González J, Martín M, Mate JL, Oriol A, Martínez-Soler F, et al. Impact of Prolonged Ischemia on the Immunohistochemical Expression of Programmed Death Ligand 1 (PD-L1). *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2023;31(9):607-12.
176. Hicks DG, Boyce BF. The challenge and importance of standardizing pre-analytical variables in surgical pathology specimens for clinical care and translational research. *Biotech Histochem*. 2012;87(1):14-7.
177. Zaakouk M, Van Bockstal M, Galant C, Callagy G, Provenzano E, Hunt R, et al. Inter- and Intra-Observer Agreement of PD-L1 SP142 Scoring in Breast Carcinoma-A Large Multi-Institutional International Study. *Cancers (Basel)*. 2023;15(5).
178. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2108-21.
179. Tomioka N, Hatanaka KC, Okuyama D, Watanabe KI, Yamamoto M, Maeda H, et al. Programmed death ligand 1-positive immune cells in primary tumor or metastatic axillary lymph nodes can predict prognosis of triple-negative breast cancer even when present at < 1% in the tumor region. *Breast Cancer*. 2023.
180. Tsang JY, Au WL, Lo KY, Ni YB, Hlaing T, Hu J, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2017;162(1):19-30.
181. Mori H, Kubo M, Yamaguchi R, Nishimura R, Osako T, Arima N, et al. The combination of PD-L1 expression and decreased tumor-infiltrating lymphocytes is associated with a poor prognosis in triple-negative breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(9):15584-92.

8 Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. M. Schmidt für die Bereitstellung des interessanten Themas, die erfahrene Unterstützung und die konstruktiven Hinweise sowie die wissenschaftlichen Anregungen danken. Darüber hinaus bin ich Frau Dr. med. K. Stewen für die hilfreichen Ratschläge und Impulse sowie für ihre sachkundige Unterstützung meiner Arbeit sehr dankbar.

Großer Dank gilt auch Herrn PD Dr. med. Daniel-Christoph Wagner aus dem pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz, der mit großer Geduld die immunhistochemischen Färbungen sowie das PD-L1 Scoring der vielen Gewebeproben übernommen hat. Zudem danke ich Herrn Prof. Dr. med. Matthias Gaida aus dem pathologischen Institut der Universitätsmedizin Mainz, dass er die Aufgabe des Zweitgutachters übernommen hat.

Außerdem danke ich herzlich Frau C. Diehl, die mich während meiner Recherche in der SAP-Datenbank mit motivierenden Worten, Kaffee und wertvollen Hinweisen unterstützt und mir einen Arbeitsplatz bereitgestellt hat. Ebenfalls geht mein Dank an Frau M. Seehase für die freundliche Unterstützung mit der Datenbank.

Mein besonderer Dank gilt meinem Verlobten Johannes sowie meinen Eltern Barbara und Helmut, die immer für mich da sind, mir Rückhalt geben und mich sowohl im Studium als auch bei der Promotion emotional unterstützt und ermutigt haben. Die Geduld und das Verständnis, die ich erhalten habe, haben die Zeit, die in diese Dissertation geflossen ist, deutlich versüßt. Zudem danke ich ihnen für das hilfreiche Korrekturlesen meiner Arbeit, die anregenden Fragen und Diskussionen zu dem Thema sowie für das Ermöglichen eines Freisemesters zum Schreiben dieser Arbeit.

9 Tabellarischer Lebenslauf