



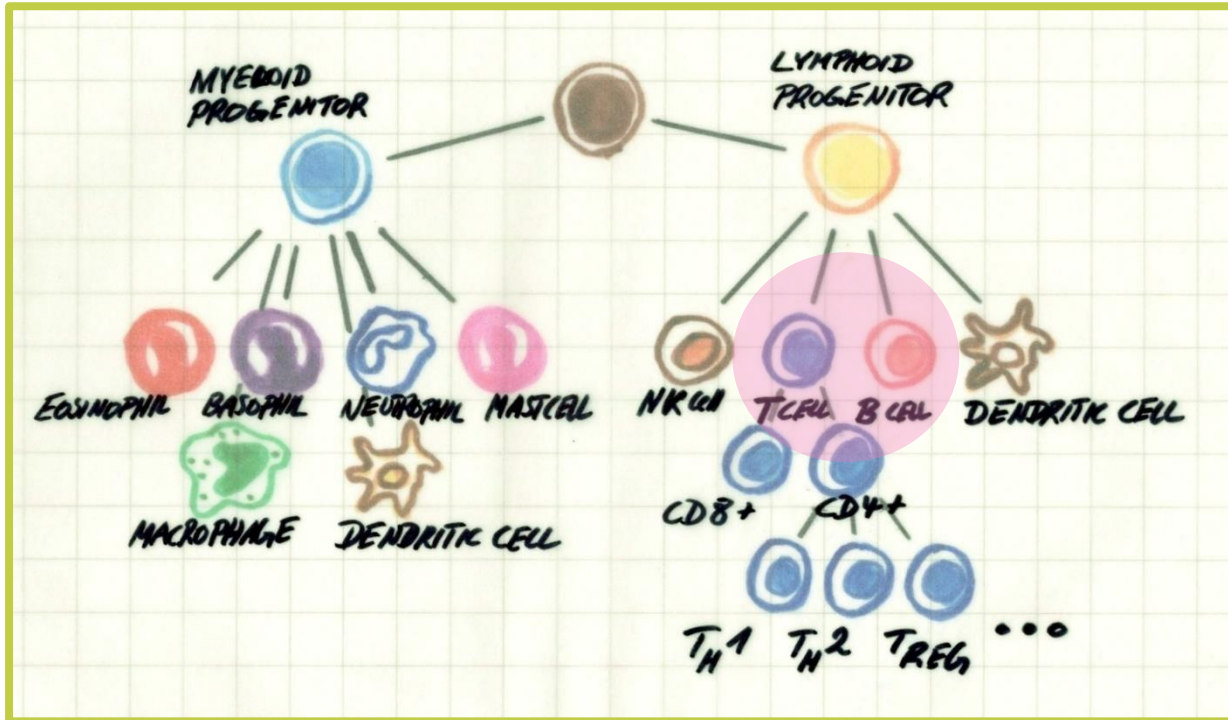
Translationale Projekte zur Immunoonkologie

Prof. Dr. Thomas Karn
Universitätsfrauenklinik
J.W.Goethe-Universität
Frankfurt am Main

TraFo – Immunoonkologie

- Hintergrund Immunologie
- Immunoonkologie und Checkpoint-Blockade
- Translationale Forschungsprojekte bei GeparNuevo

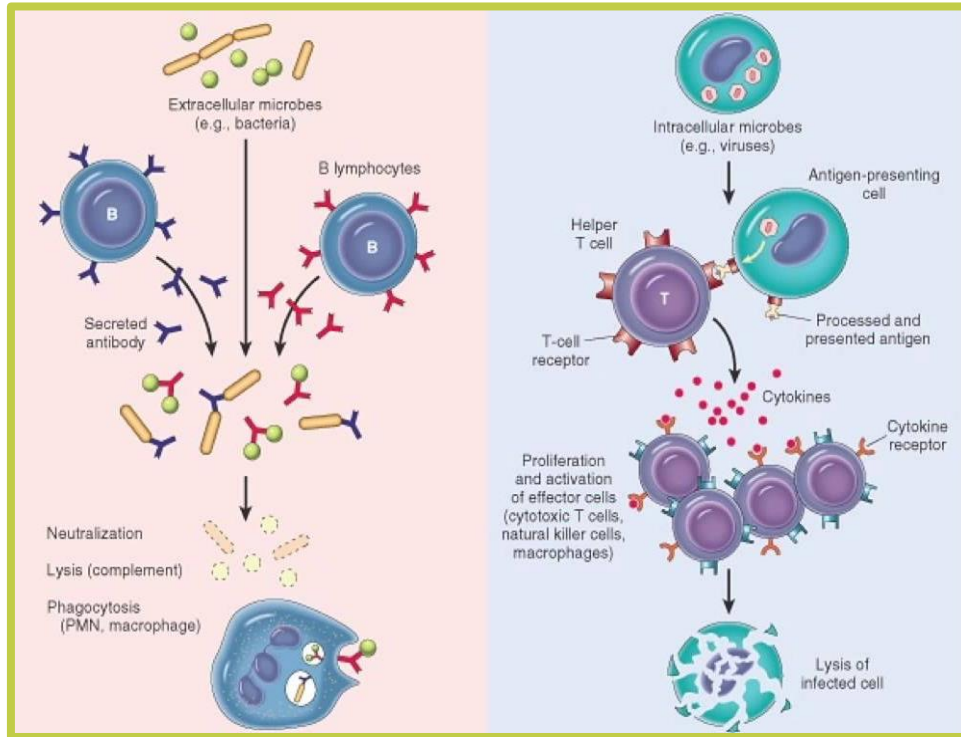
Hintergrund Immunologie: Immunzelltypen



Erworbene Immunantwort

B-Zellen / humoral

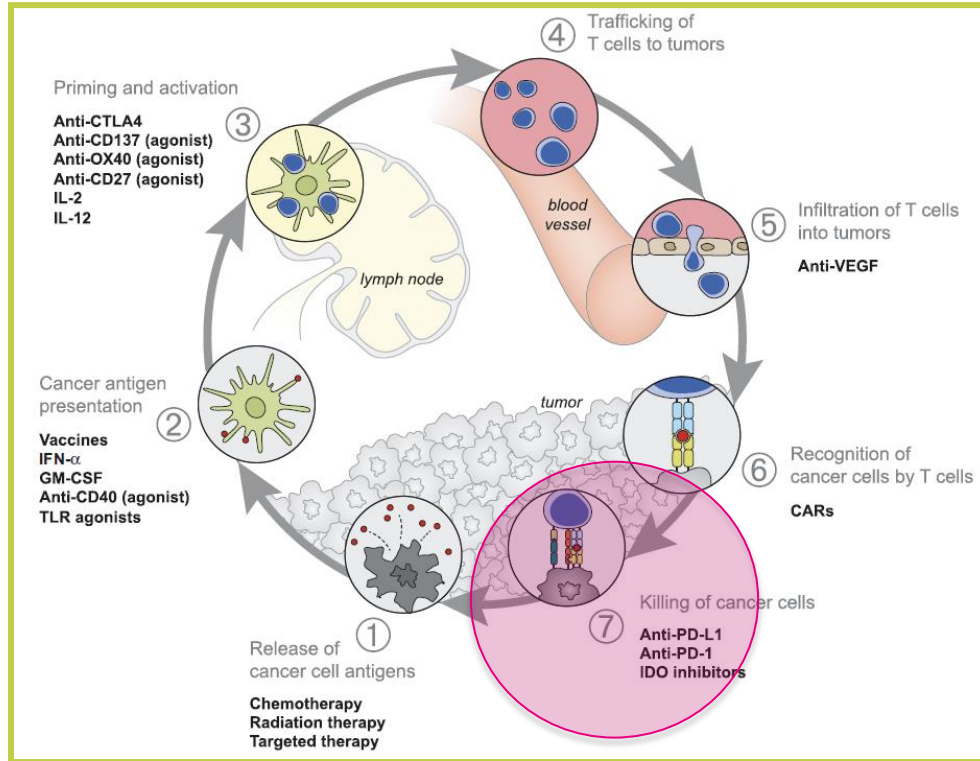
T-Zellen / zellulär



2002, Elsevier Science (USA)

This presentation is the intellectual property of GBG.

Cancer immunity cycle



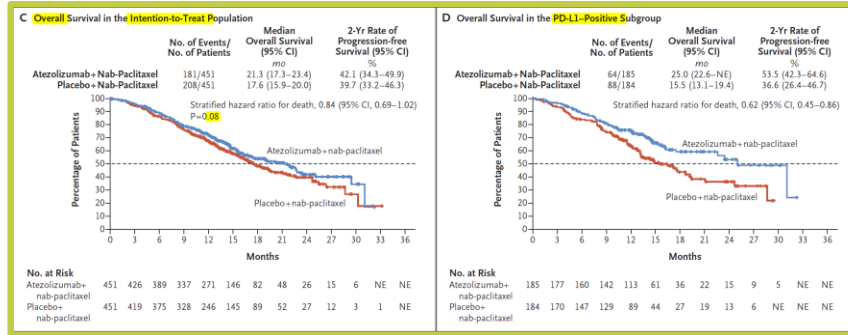
Chen et al. 2013 Immunity, PMID 23890059

Immun-Checkpoint-Blockade (ICB)

- Sehr lang anhaltende ICB-Response
 - Nur ein Bruchteil von Patienten spricht an
 - Wie lassen sich diese Patienten identifizieren?
- ➔ Suche nach prädiktiven Faktoren für Response

Predictive Factors for ICB-Response

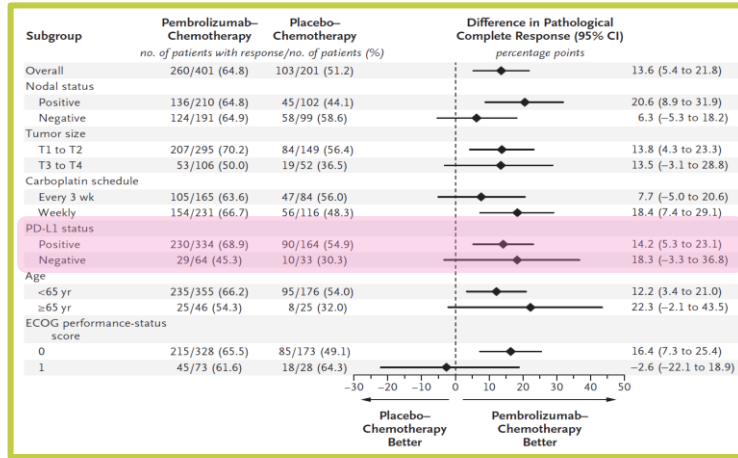
- Schmid 2018 NEJM:
Metast. BC
Atezolizumab



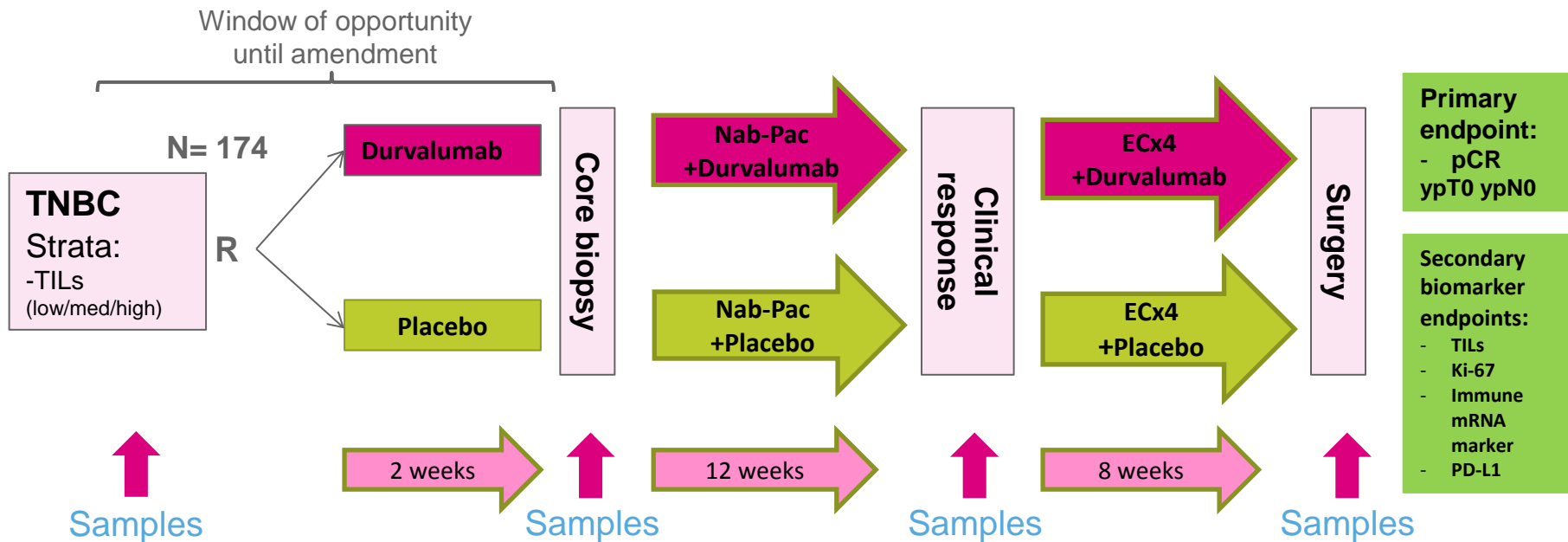
PD-L1



- Schmid 2020 NEJM:
Early BC, neoadjuvant
Pembrolizumab



GeparNUEVO Study Design



Tissue: FFPE, fresh frozen
Liquid biopsies: full blood, plasma, serum

GeparNuevo: Translationale Forschungsprojekte

■ Samples:

– FFPE:

- TILs, PD-L1, TMAs for IHC
- Genexpression durch RNA-Seq (HTG-EdgeSeq)
- Multicolour-IF von Immunzellen

– Frozen tissue (baseline biopsy):

- Whole Exome Sequencing: Mutationsprofile, Tumor Mutational Burden (TMB)

– Blut:

- Immunzell-Profile im peripheren Blut durch FACS-Analysen

– Serum:

- ctDNA u.a.

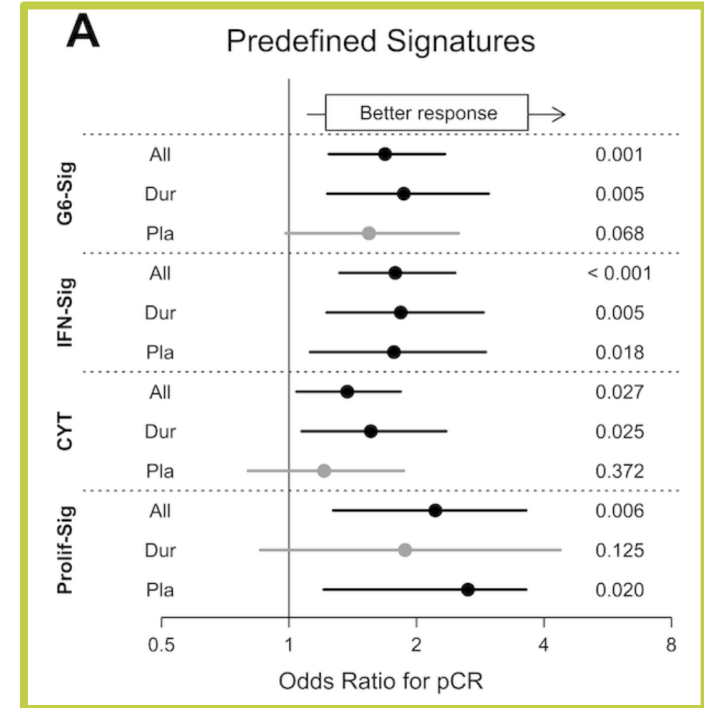
GeparNuevo TraFo-2020

- **Genexpression durch RNA-Seq**
- **Tumor Mutational Burden (TMB) durch Whole Exome Seq (WES)**
- **Immunzellprofil im peripheren Blut durch FACS**

Genexpressionsanalysen in GeparNuevo

Sinn et al. *Clinical Cancer Res*, 2021 Feb 16,
PMID 33593886:

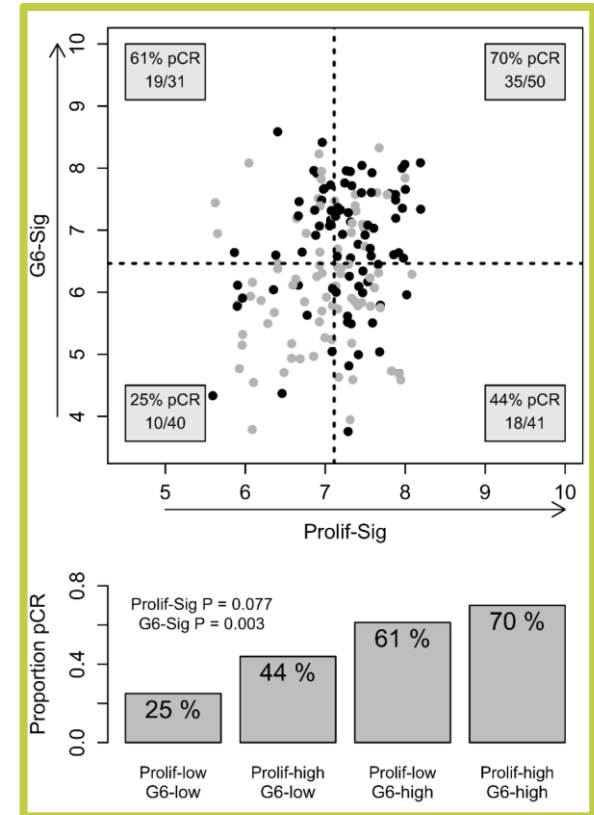
- prätherapeutische Biopsien
- Validierung von 4 vordefinierten Gensignaturen als mögliche Prädiktoren für Ansprechen
- Immunsignaturen prädiktiv in beiden Armen. Ebenso PD-L1 mRNA.



Genexpressionsanalysen in GeparNuevo

Sinn et al. 2021, PMID 33593886:

- Unabhängiger prädiktiver Wert von Immun- und Proliferations-Signaturen für Ansprechen auf neoadjuvante Chemotherapie
- prädiktiv in beiden Armen



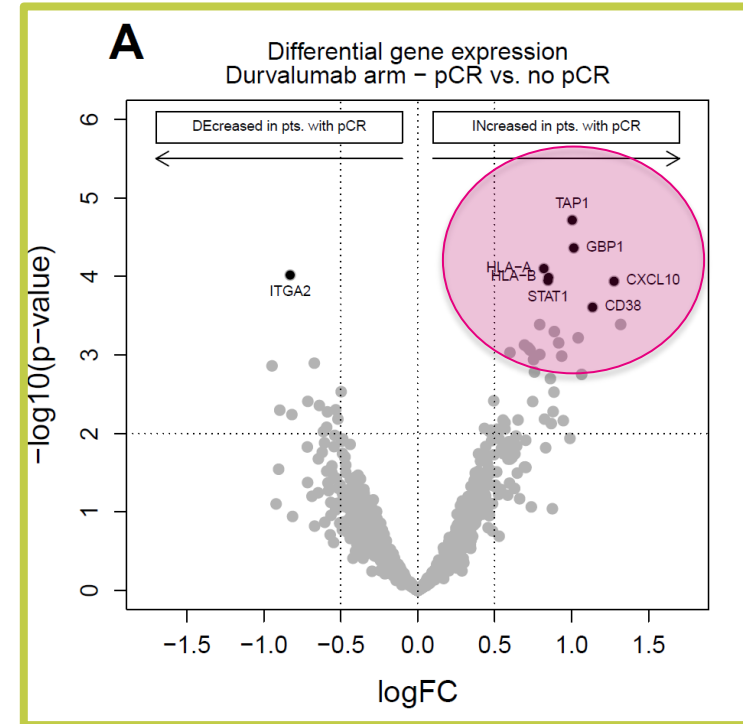
Genexpressionsanalysen in GeparNuevo

- Explorative Analyse: Durvalumab-spezifische Gene mit Bezug zu Antigenpräsentation

Schlussfolgerung:

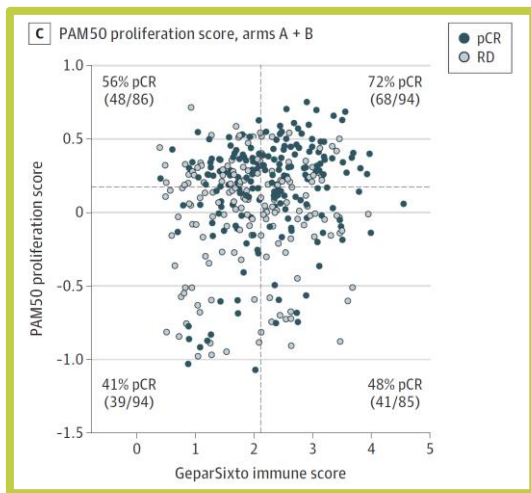
- Immun-Gensignaturen mit pCR nach Chemotherapie assoziiert doch nur bedingt verwendbar zur Prädiktion zusätzlichen Checkpoint-Blockade-Benefits.
- Antigenpräsentation: Kandidaten für weitere Untersuchungen.

Sinn et al. 2021 Clinical Cancer Res, PMID 33593886

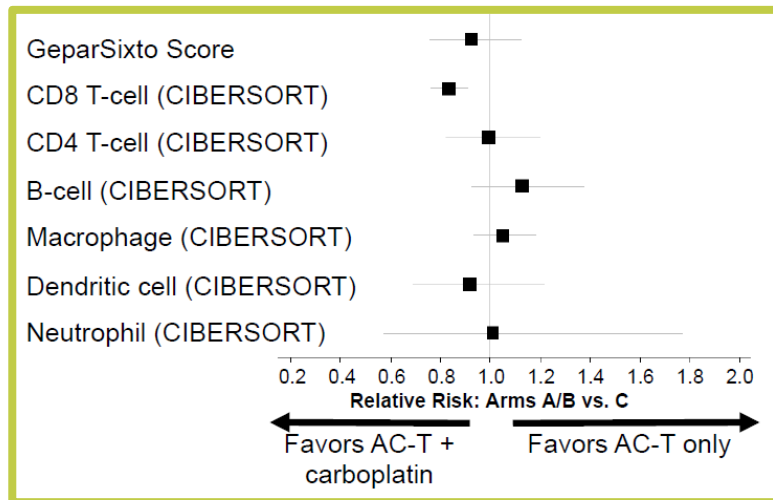


BrighTNess Genexpressionsanalysen

Metzger Filho et al. *JAMA Onc*, 2021 Feb 18, PMID 33599688:

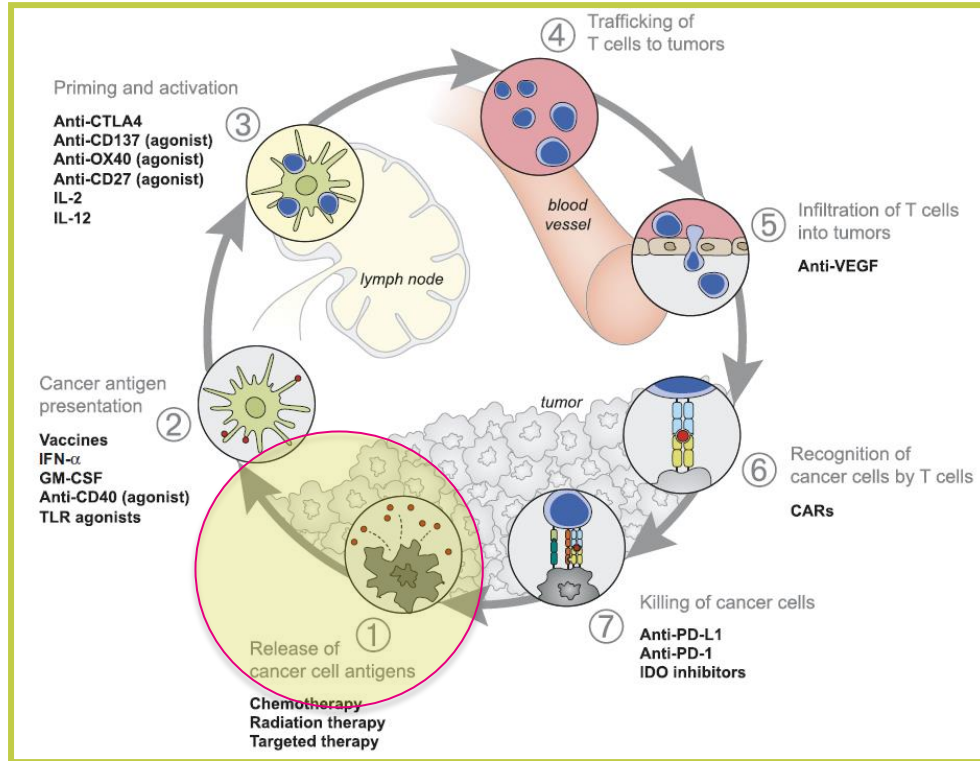


- Unabhängiger prädiktiver Wert von Immun- und Proliferations-Signaturen
- prädiktiv in beiden Armen



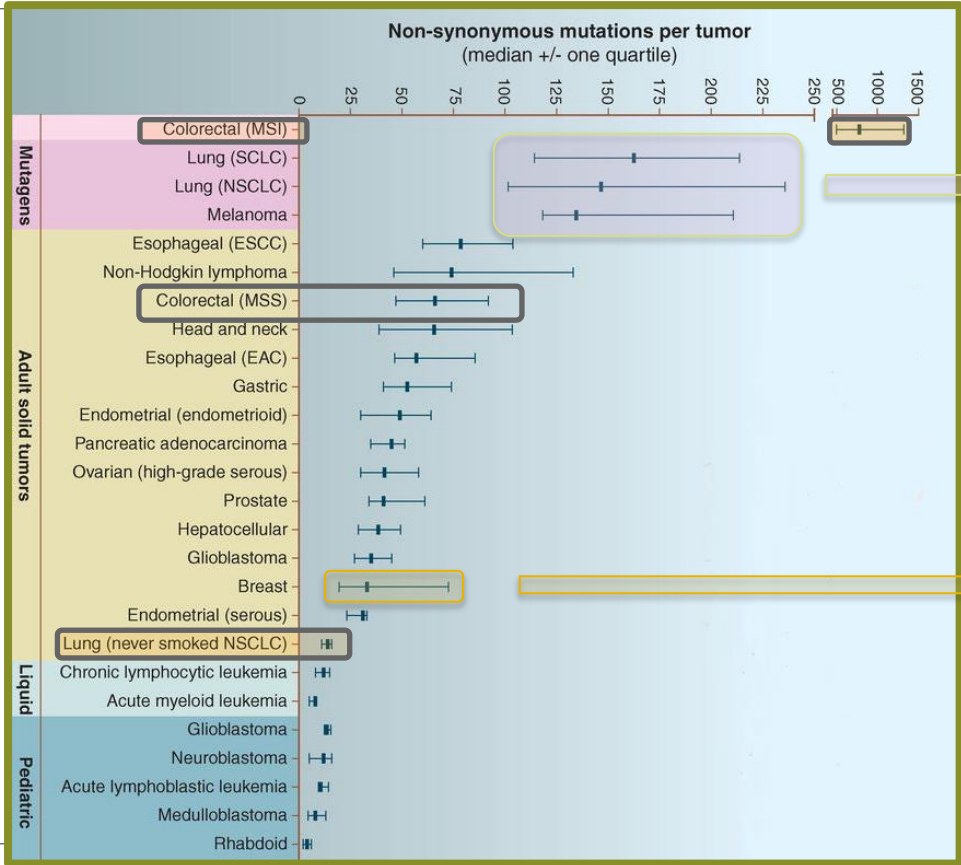
- Explorativ:
- CD8 → Benefit Carboplatin

Cancer immunity cycle



Chen et al. 2013 Immunity, PMID 23890059

Tumor Mutational Burden (TMB)



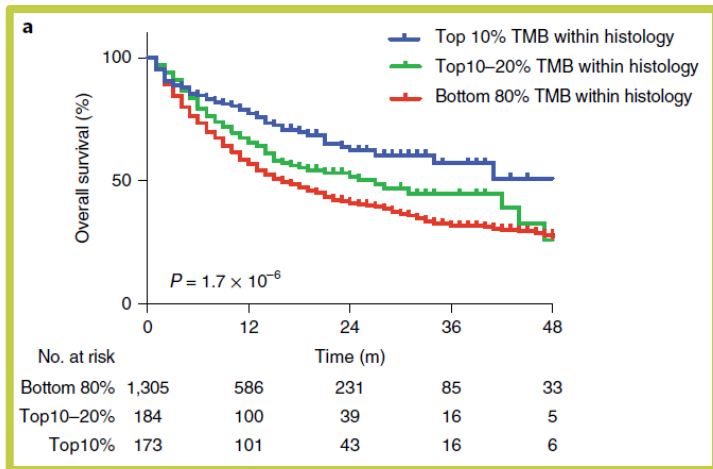
Potential neoantigens:

Melanoma, Lung cancer: >100

Breast: 20-70

TMB assoziiert mit ICB-Response

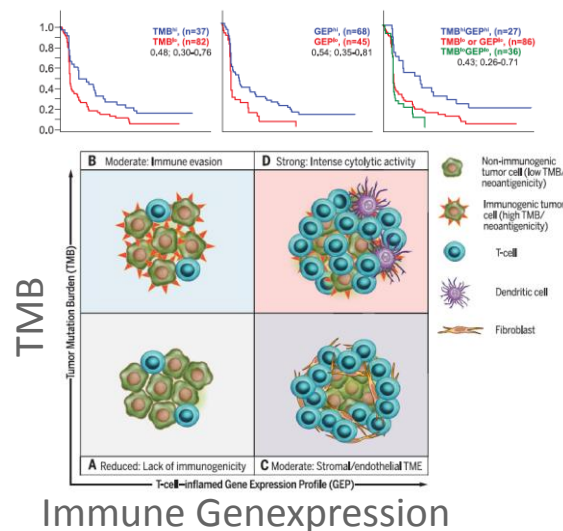
n>1600 cancers from MSK: TMB from Panel-NGS



Samstein 2019 Nature Genetics, PMID 30643254

Kombination von TMB und Immun-Genexpressionsprofil

n>300 KEYNOTE trials: TMB from Whole Exome Seq



Cristescu 2018 Science, PMID 30309915

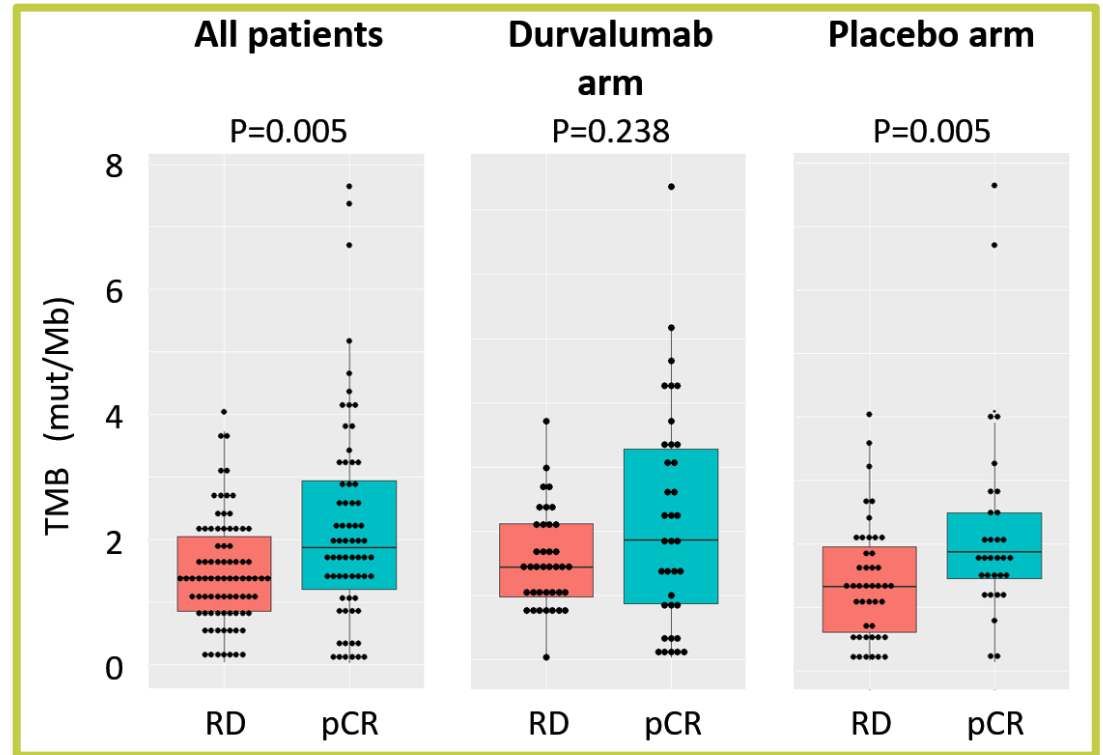


- **Prädiktiver Wert des TMB für pCR in GeparNuevo**
- **Prädiktiver Wert einer Kombination von TMB und einem Immun-Genexpressionsprofil (GEP)**

Ergebnisse TMB

Zusammenhang von pCR und TMB:

- Medianer TMB höher bei Patienten mit pCR (1.87 vs. 1.39; $P=0.005$)
- Signifikant im Placebo(Chemo) Arm ($P=0.005$)



Karn et al. 2020 Ann Oncol, PMID 32461104

Ergebnisse TMB als Prädiktor

Prädiktiver Wert des TMB für pCR in GeparNuevo (Logistische Regression) :

			All patients	Durvalumab	Placebo	Test for interaction
Continuous TMB (mut/Mb)	Univariate	N	149	74	75	
		OR (95% CI)	1.62 (1.20-2.20)	1.45 (0.99-2.14)	1.87 (1.13-3.08)	
		P-value	0.002	0.060	0.014	0.439
	Multivariate #	N	133	64	69	
		OR (95% CI)	2.06 (1.33-3.20)	1.77 (1.00-3.13)	2.82 (1.21-6.54)	
		P-value	0.001	0.049	0.016	0.436
Dichotomized TMB (upper tertile)	Univariate	N	149	74	75	
		OR (95% CI)	2.22 (1.11-4.43)	2.51 (0.95-6.64)	1.89 (0.70-5.12)	
		P-value	0.024	0.065	0.208	0.694
	Multivariate #	N	133	64	69	
		OR (95% CI)	3.45 (1.41-8.45)	4.66 (1.18-18.48)	2.21 (0.60-8.12)	
		P-value	0.007	0.028	0.232	0.438

including age, stage, grading, stromal TILs, PD-L1 status, and window treatment *Karn et al. 2020 Ann Oncol, PMID 32461104*

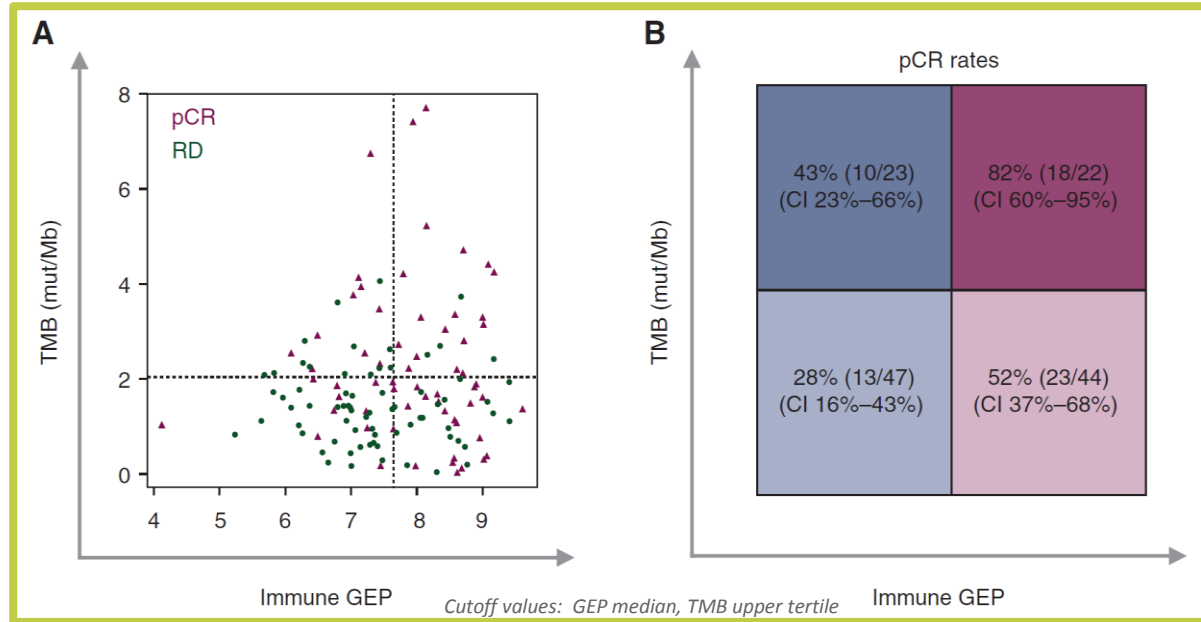
Ergebnisse TMB & Immun-Genexpressionsprofil

- Unabhängiger prädiktiver Wert von TMB und Immun-GEP in multivariater Analyse

	Multivariate Log.Reg.#
TMB (mut/Mb)	OR 2.06 (1.34-3.16) P=0.001
Immune GEP	OR 1.58 (1.03-2.41) P=0.036

including TMB, GEP, age, stage, grading, treatment window

- Hohe pCR-Rate (82%) bei Patientinnen mit sowohl hohem TMB als auch hohem Immun-GEP



Karn et al. 2020 Ann Oncol, PMID 32461104

Schlussfolgerungen TMB

- Tumor mutational burden (TMB) ist ein Prädiktor für pCR in GeparNuevo
- Gilt jedoch für beide Studienarme, Chemo + Durvalumab und Chemo allein.
- Sowohl TMB als auch ein Immun-Genexpressionsprofil besitzen unabhängigen prädiktiven Wert in der multivariaten Analyse
- Eine Kombination von TMB und GEP kann die Prädiktion der pCR verbessern, doch ist weiterhin kein spezifischer Prädiktor für die Checkpoint-Blockade verfügbar.

Karn et al. 2020 Ann Oncol, PMID 32461104

Multicolor-FACS-Analysen von Blutproben in GeparNuevo

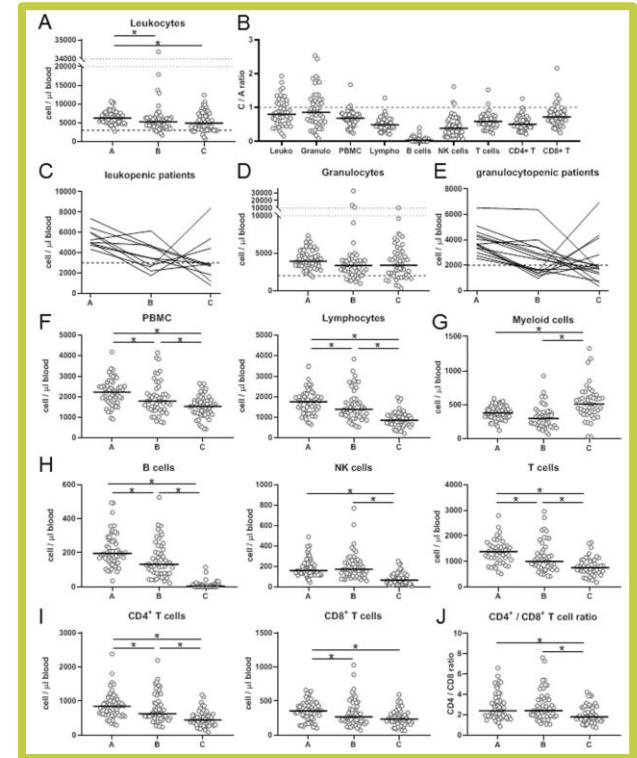
Massa et al. *J Immunother Cancer*, 2020, PMID 33199511

- **Ziel der ersten Untersuchungen:**
 - Evaluierung des Chemo-Effekts auf verschiedene Immunzellen in vivo
- **Methode:**
 - Multicolor-FACS von Immunzellen im peripheren Blut
- **3 Zeitpunkte:**
 - Baseline / Post-Nab-Pac / Post-EC

Multicolor-FACS-Analysen von Blutproben in GeparNuevo

Massa et al. *J Immunother Cancer*, 2020,
PMID 33199511

- Geringer Effekt der ersten Phase der Chemotherapie auf Immunzell-Zusammensetzung
- >90% Verlust von B-Zellen und ca. 50% Reduktion von NK-Zellen und CD4-T-Zellen nach zweiter Chemo-Phase
- CD8-T-Zellen weniger beeinflusst
- Möglicher unterschiedlicher Einfluss der Chemotherapeutika, Bedeutung für Immuntherapie



Fortsetzung TraFo in GeparNuevo

- **Blut:** Immunzell-Profile im Durvalumab-Arm
- **Tumorgewebe:** Multicolor-Immunfluoreszenz, TMA
- **Spatial Profiling:** GeoMX
- **Bioinformatik:** Validierung von Signaturen aus anderen Studien (RNA-Seq, WES)
- **Serum:** ctDNA / RNA
- ...und mehr...

HERZLICHEN
DANK!