

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie des

Klinikums der Universität München

Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Lars E. French

# **Pathogenese, Behandlung und Prognose des Melanoms in der Ära neuer Therapieoptionen**

**Kumulative Habilitationsschrift**

zur Erlangung der Venia Legendi

für das Fach Haut- und Geschlechtskrankheiten

**vorgelegt von**

Dr. med. Markus Vincent Heppt, M.Sc., MHBA

aus Heidelberg

2020

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

**Fachmentorat:**

Prof. Dr. med. Lars E. French (geschäftsführender Mentor)

Prof. Dr. med. Carola Berking

Prof. Dr. rer. nat. Andreas Jung

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Vorwort</b> .....	<b>4</b>
<b>2.</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>5</b>
2.1.	Ätiologie und Pathogenese des malignen Melanoms .....	5
2.2.	Risikofaktoren, klinische Präsentation und Varianten des malignen Melanoms .....	8
2.3.	Neue Therapieansätze des fortgeschrittenen malignen Melanoms .....	9
2.4.	Neue Ansätze in der Diagnostik und Versorgung von Melanompatienten .....	11
<b>3.</b>	<b>Wissenschaftliche Arbeiten</b> .....	<b>13</b>
3.1.	Identifikation von Zielgenen des Neuralleistenfaktors SOX10 im kutanen Melanom ..	13
3.2.	Untersuchung immunstimulatorischer siRNAs als therapeutischer Ansatz im kutanen Melanom .....	15
3.3.	Untersuchung der anatomischen Verteilungsmuster von kutanen Primärtumoren .....	16
3.4.	Untersuchung der Mutationslandschaft von BRAF und NRAS im kutanen Melanom..	17
3.5.	Untersuchung von Prognosefaktoren im Schleimhautmelanom .....	18
3.6.	Untersuchung von klinischen und serologischen Prognosefaktoren im Aderhautmelanom .....	20
3.7.	Neue Konzepte in der Früherkennung und Prävention des kutanen Melanoms.....	21
<b>4.</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b> .....	<b>24</b>
<b>5.</b>	<b>Referenzen</b> .....	<b>26</b>
<b>6.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>31</b>
<b>7.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>32</b>
<b>8.</b>	<b>Publikationsverzeichnis der kumulativen Habilitationsschrift</b> .....	<b>33</b>
8.1.	Themenbezogene Publikationen als Erst- oder Letztautor (alphabetisch) .....	33
8.2.	Themenbezogene Publikationen als Koautor (alphabetisch) .....	35
8.3.	Themenbezogene Übersichtsartikel (alphabetisch).....	37
8.4.	Themenbezogene Fallberichte und Fallserien (alphabetisch) .....	37
<b>9.</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>38</b>

## 1. Vorwort

Diese kumulative Habilitationsschrift befasst sich mit einem breiten Spektrum von Pathogenese, Behandlung, Prognose und Prävention des malignen Melanoms in der Ära der zielgerichteten Therapie mit Kinasehemmstoffen und der Immuncheckpoint-Blockade. Trotz signifikanter Neuerungen in der Therapie des fortgeschrittenen Melanoms ist die Morbidität und Mortalität dieses Hautkrebses weiterhin ungebrochen hoch. Auch die Therapie des metastasierten Melanoms stellt durch die hohe biologische und klinische Heterogenität der Erkrankung immer noch eine Herausforderung dar. Obwohl sich seit 2011 beginnend mit der Einführung von Ipilimumab die Prognose auch im metastasierten Stadium zunehmend verbessert hat, verstirbt auch heute noch der Großteil der Patientinnen und Patienten<sup>1</sup> auf lange Sicht an diesem gefährlichen Tumor.

Die vorliegende Arbeit befasst sich daher mit der (i) Identifikation neuer Therapieansätze, (ii) der Charakterisierung der derzeit zur Verfügung stehenden Therapie in besonderen Melanomsgruppen und (iii) praxisrelevanten Aspekten in der Früherkennung des malignen Melanoms. Zunächst wird in der Einleitung der aktuelle klinische und wissenschaftliche Stand des malignen Melanoms erörtert, in dessen Kontext die wissenschaftlichen Arbeiten eingebettet sind. Ein Schwerpunkt wird hier auf die Entstehung und Ähnlichkeit von Melanomzellen zu Neuralleiststammzellen gesetzt und die Ergebnisse von Vorarbeiten beschrieben. Anschließend werden insgesamt 6 Teilprojekte vorgestellt und dabei die wichtigsten Ergebnisse von eigenen Publikationen erläutert. Die Teilprojekte 1 und 2 umfassen experimentelle und die Teilprojekte 3-5 translationale Fragestellungen. Teilprojekt 6 befasst sich mit unmittelbar versorgungs- und praxisrelevanten Themengebieten. Abschließend werden die Ergebnisse eines jeden Teilprojekts kurz zusammengefasst und jeweils ein Ausblick in künftige Forschungsvorhaben aufgezeigt.

Diese Habilitation umfasst 12 unmittelbar themenbezogene Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor, wobei eine Publikation davon im Rahmen meiner medizinischen Doktorarbeit als Vorarbeit anzusehen ist. Die zugehörigen Volltexte sind im Anhang aufgeführt. Weiterhin umfasst die Habilitation 11 unmittelbar themenbezogene Originalarbeiten als Koautor, 3 Übersichtsartikel und 2 Fallberichte bzw. Fallserien. Sonstige Veröffentlichungen, die keinen unmittelbaren Themenbezug aufweisen, werden in dieser Schrift nicht explizit aufgeführt, sind aber im Schriftenverzeichnis meines Lebenslaufs einsehbar.

---

<sup>1</sup> Aus Gründen der Leserlichkeit wird in dieser Habilitationsschrift nun durchgehend „Patienten“ stellvertretend für beide Geschlechter genutzt.

## 2. Einleitung

Das maligne Melanom ist ein bösartiger Tumor, der von den pigmentbildenden Zellen der Haut, den Melanozyten, seinen Ursprung nimmt. In vielen Fällen bilden Melanozyten gutartige Hamartome, die klinisch als Nävi („Leberflecke“) manifest werden. In einigen Fällen kommt es allerdings entweder aus einem vorbestehenden Nävus oder *de novo* zur Bildung von bösartigen, selbstständig proliferierenden und potentiell invasiven melanozytären Neoplasien.

Die Inzidenz des malignen Melanoms hat in den letzten Jahren kontinuierlich zugenommen und liegt in Deutschland derzeit bei zirka 25 Fällen pro 100.000 Einwohner (41). Die besondere Rolle des malignen Melanoms unter allen Hautkrankheiten wird auch darin deutlich, dass es für den Großteil der Sterbefälle in der Dermatologie verantwortlich ist. Allerdings hat sich durch signifikante Neuerungen in der zielgerichteten, mutationsbasierten Therapie und durch die Behandlung mit Immuncheckpoint-Blockade die Prognose des metastasierten Melanoms in den letzten Jahren dramatisch verbessert, so dass man durchaus von einer „neuen Ära“ sprechen kann.

### 2.1. Ätiologie und Pathogenese des malignen Melanoms

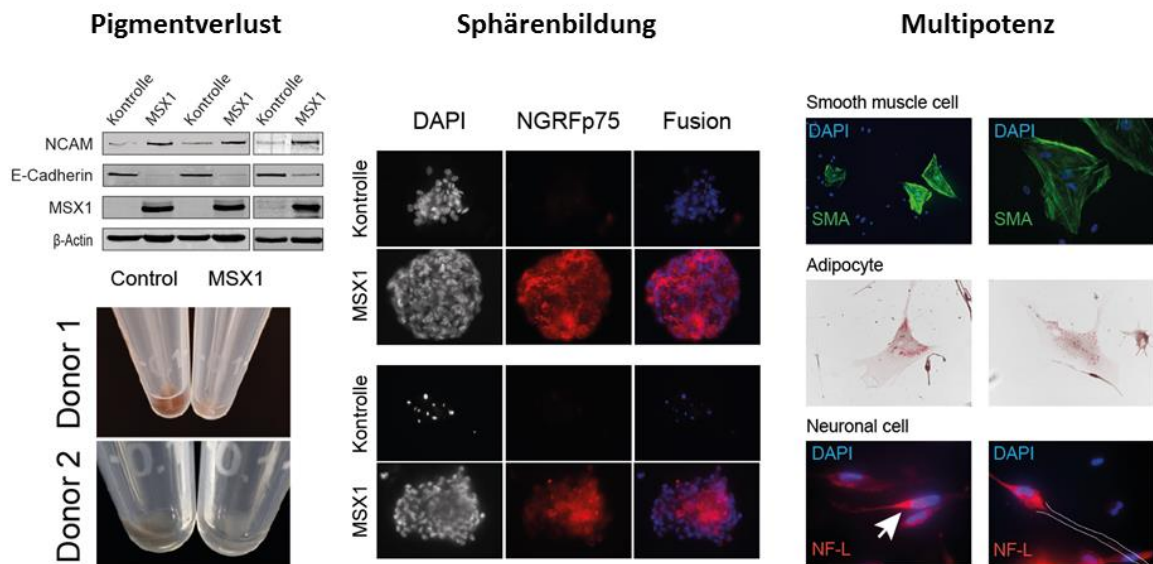
Das maligne Melanom nimmt seinen Ursprung in den meisten Fällen von den Melanozyten der Haut. Es entwickelt sich dabei entweder aus einem vorbestehenden Nävus oder ohne eine Vorläuferläsion. Melanozyten wiederum entstehen in der Embryogenese aus Stammzellen der Neuralleiste, die dorsal des Neuralrohrs lokalisiert sind und von dort in verschiedene Organe der Haut einwandern (44). Die Neuralleiste ist eine transiente Population von Stammzellen, die sich während der Migration stufenweise differenzieren. Dieser Prozess zwischen Stammzeleigenschaften und terminaler Differenzierung ist durch ein komplexes Geflecht aus Transkriptionsfaktoren reguliert. So entstehen aus Neuralleistenstammzellen beispielsweise Neurone des sympathischen Nervensystems, Chondrozyten oder Gliazellen des peripheren Nervensystems. Melanozyten differenzieren auf dem Weg von der Neuralleiste über pluripotente Vorläuferzellen und Melanoblasten schließlich zu terminalen Pigmentzellen, die an der dermo-epidermalen Junctionszone lokalisiert sind und hier in Abhängigkeit von endogenen und exogenen Stimuli Melanin produzieren (16).

Einige Studien belegen, dass die Differenzierung von Neuralleistenstammzellen zu Melanozyten nicht irreversibel, sondern durch die Aktivierung bestimmter genetischer und epigenetischer Signale zumindest *in vitro* umkehrbar ist. So war es möglich, durch eine exogene Expression des intrazellulären und aktiven Teils des Transmembranrezeptors NOTCH1 („notch receptor 1“) oder von Endothelin 3 in primären Melanozyten einen entdifferenzierten und damit tumorigenen Phänotyp zu induzieren (14, 42). Auch Melanomzellen besitzen eine große Ähnlichkeit zur Neuralleistenstammzellen. Sie haben ebenso eine ausgeprägte Fähigkeit zur Invasion und Migration. Weiterhin reaktivieren sie in einigen Fällen ein Netzwerk aus neuronalen Transkriptionsfaktoren, welches ein mesenchymales und aggressives Wachstum ermöglicht. Im Zuge der Krankheitsprogression vollziehen Melanomzellen so häufig eine Transition

## Einleitung

von einem melanozytären bzw. epithelialen zu einem mesenchymalen Phänotyp („epithelial-to-mesenchymal transition“, EMT). Hierbei spielen Transkriptionsfaktoren eine Schlüsselrolle, die physiologisch in der Neuralleistenentwicklung exprimiert werden wie SNAIL („Snail family transcriptional repressor 1“), SLUG („Snail family transcriptional repressor 2“), oder Proteine der SOX-Familie („SRY-box“) (6). Dieser Prozess geht mit einer erhöhten Zellplastizität einher und ermöglicht eine bessere Adaptation an Umgebungsfaktoren, die auch eine erworbene Therapieresistenz verursachen kann (43).

In diesem Zusammenhang untersuchten wir in Vorarbeiten den neuralen Transkriptionsfaktor MSX1 („Msh homeobox 1“) bezüglich seines Potentials zur Reprogrammierung von Melanozyten und seiner Rolle im Melanom. MSX1 ist an der frühen Induktion und weiteren Differenzierung der Neuralleiste beteiligt. Das Protein ist ein Homöobox-Transkriptionsfaktor, der weitgehend als transkriptioneller Repressor die Expression von Zielgenen hemmt und somit eine vorzeitige Differenzierung von Neuralleistenstammzellen verhindert (8, 9). Mutationen im MSX1-Gen wurden bei Patienten mit Hypodontie und Gaumenspalten identifiziert (57). MSX1 hat im Mausmodell eine gut beschriebene Fähigkeit, eine Dedifferenzierung von Muskelzellen zu mononukleären Vorläuferzellen zu induzieren (40). Ähnlich induzierte auch eine ektope Expression von MSX1 in primären Melanozyten einen hochgradigen Pigmentverlust und die Expression neuraler Adhäsionsmoleküle. MSX1-exprimierende Zellen proliferierten in rundlichen Sphären, dem charakteristischen Wachstumsmuster von Neuralleistenstammzellen *in vitro*, und zeigten weitere Stammzeleigenschaften wie die Expression des Faktors p75 und eine Fähigkeit zur Transdifferenzierung (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Zelluläre Veränderungen durch Expression des Faktors MSX1 in primären Melanozyten der Haut. Begleitend zu einem starken Pigmentverlust kommt es zum Verlust des melanozytären Adhäsionsmoleküls E-Cadherin und Expression des neuralen Zelladhäsionsmoleküls NCAM (links). MSX1-exprimierende Zellen wachsen in rundlichen Sphären und exprimieren den Stammzellmarker NGFRp75 (mitte). Die Zellen können zu anderen Zelltypen wie glattmuskulären (SMA = „smooth muscle actin“), adipozytären oder neuronalen Zellen (NF-L = Neurofilament L) transdifferenziert werden. Der Pfeil bzw. die weiße gestrichelte Linie hebt den Axonhügel bzw. das Axon hervor (rechts).

## Einleitung

Im malignen Melanom ist MSX1 funktionell sowohl *in vitro* als auch *in vivo* essenziell für Migration, Invasion und Metastasierung. Darüber hinaus ist MSX1 im malignen Melanom weithin exprimiert und mit dem Krankheitsstadium sowie der Prognose korreliert, so dass die durch diesen Faktor erreichte Entdifferenzierung auch eine klinische Relevanz zu haben scheint (31).

Nichtsdestotrotz ist die maligne Transformation von Melanozyten zum Melanom nicht vollständig verstanden. Frühere Hypothesen gingen von einer schrittweisen Transformation aus, die sich über genetische Aberrationen und morphologische Charakteristika definierte (Clark-Modell). Zunächst kommt es nach dieser Vorstellung zu einer intraepidermalen Proliferation neoplastischer Zellen, welche sich anfangs horizontal-radiär ausbreitet („radial growth phase“). Im weiteren Verlauf ändert sich die Wachstumstendenz in eine vertikale Richtung („vertical growth phase“) mit Penetration der dermoepidermalen Junktionszone und Invasion von Tumorzellen in die obere Dermis. Da hier ein dichtes Netz aus Kapillaren und Lymphgefäßen vorliegt, kommt es beim malignen Melanom relativ früh zu einer lymphogenen und hämatogenen Metastasierung in die Lunge, Leber und das zentrale Nervensystem. Weiterhin bestärken einige Studien eine Hypothese, dass maligne Melanome nicht aus Melanozyten, sondern aus stammzellartigen Populationen entstehen, die in der Dermis der menschlichen Haut lokalisiert sind (17). Diese Genese könnte die Entstehung von malignen Melanomen an nicht-pigmentierter Haut oder den Schleimhäuten bzw. Übergangschleimhäuten erklären (37, 61, 62).

Eine frühe und häufige genetische Veränderung in der malignen Transformation sind aktivierende Mutationen im BRAF-Gen („v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1“), das für eine Proteinkinase kodiert, die maßgeblich an der Regulation des Mitogen-aktivierten Proteinkinase-Signalwegs („mitogen-activated protein kinase pathway“, MAPK) beteiligt ist. Die häufigste Mutation führt zu einer A>T-Substitution in der Position 1799 (V600E) und damit zu einer konstitutiven Aktivierung der Kinase und des MAPK-Signalwegs. Diese Entdeckung war ein wichtiger Meilenstein für die medikamentöse Tumorthherapie des Melanoms und stellt die Rationale für eine zielgerichtete, mutationsbasierte Therapie mit Kinasehemmstoffen dar (13). Allerdings ist diese Mutation in nur zirka 40-50 % aller Patienten vorhanden. Weitere genetische Aberrationen umfassen Mutationen von NRAS („neuroblastoma RAS viral oncogene homolog“) sowie von KIT („KIT proto-oncogene receptor tyrosine kinase“) bei Schleimhautmelanomen (10, 32, 35). Bei Aderhautmelanomen hingegen liegen in über 90 % der Fälle Mutationen in den Untereinheiten von für G-Proteine kodierenden Genen vor. Betroffen sind hier zumeist die Gene GNA11 („G protein subunit alpha 11“) oder GNAQ („G protein subunit alpha q“), deren Mutationen auch zu einer gesteigerten Aktivität des MAPK-Signalwegs führen (58, 59). Aktivierende Mutationen von BRAF oder NRAS sind hier im Gegensatz zum kutanen Melanom nahezu nie zu finden.

### 2.2. Risikofaktoren, klinische Präsentation und Varianten des malignen Melanoms

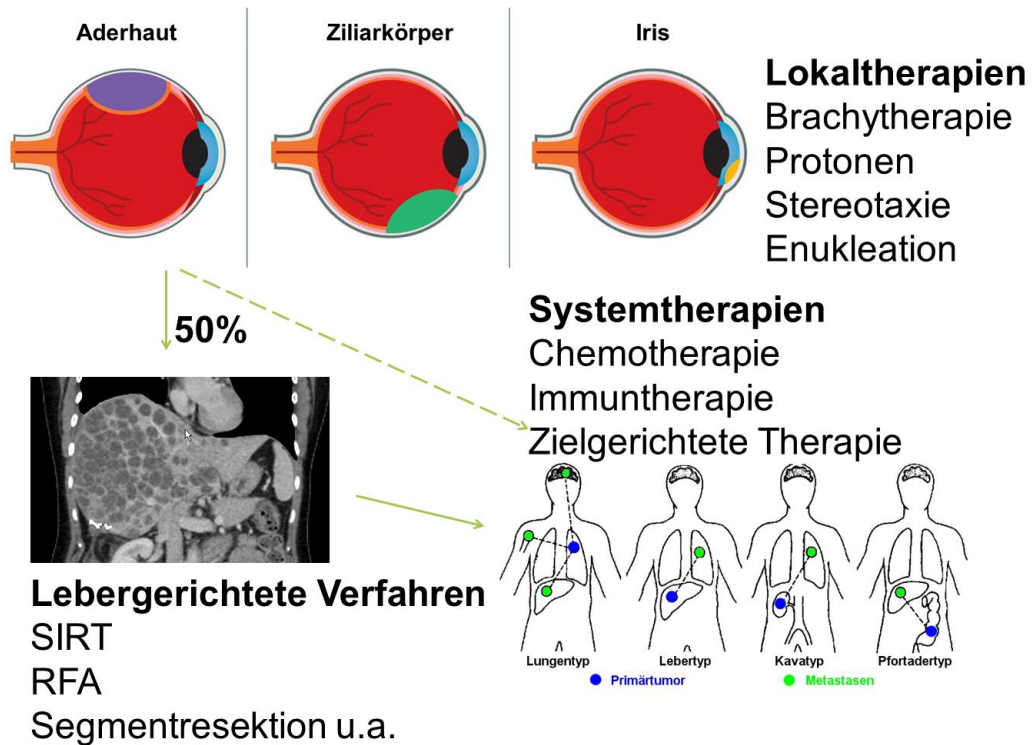
Eine intermittierend hohe Exposition gegenüber Ultraviolett-Strahlung (UV) ist ein maßgeblicher Risikofaktor für die Entstehung des malignen Melanoms. Insbesondere die UV-Belastung in der Kindheit scheint das Risiko, an einem malignen Melanom zu erkranken, deutlich zu erhöhen. Weitere Risikofaktoren sind ein heller Hauttyp, das Vorhandensein multipler Nävi sowie ein malignes Melanom in der Eigen- oder Familienanamnese. Klinisch und histopathologisch können verschiedene Varianten unterschieden werden. Die anatomische Lokalisation variiert dabei geschlechtsabhängig. Neuere Erkenntnisse zur Entstehung des malignen Melanoms legen eine Unterscheidung in zwei größere Gruppen je nach UV-Exposition nahe. In anatomischen Arealen mit hoher chronischer Sonnenbelastung entstehen Melanome tendenziell häufiger bei älteren Patienten mit einer geringeren Inzidenz von BRAF-Mutationen. Im Gegensatz dazu stehen Melanome in intermittierend exponierten Körperteilen wie Rücken oder Extremitäten. Hier sind häufig jüngere Patienten betroffen. Die Tumore haben eine hohe Frequenz von BRAF-Mutationen. Dieses Konzept scheint die traditionelle Klassifikation nach histologischen Subtypen zunehmend abzulösen. Am häufigsten ist das superfiziell-spreitende maligne Melanom (SSM), gefolgt vom primär knotig (nodulär) wachsenden malignen Melanom (NMM). An Lokalisationen mit chronischer UV-Exposition entstehen in seltenen Fällen aus Vorläuferläsionen Lentigo-maligna-Melanome (LMM), die sich von den anderen Varianten durch ein eher langsames Wachstum über mehrere Jahre hinweg unterscheiden. An der Leistenhaut und in subunguärer Lokalisation entstehen weiterhin akro-lentiginöse maligne Melanome (ALM), die wegen einer späten Diagnosestellung häufig eine schlechte Prognose aufweisen. In zirka 10 % aller Fälle werden maligne Melanome primär durch Lymphknoten- oder viszerale Organmetastasen manifest. Man geht heute davon aus, dass diese Melanome mit unklarem Primarius („melanoma of unknown primary“, MUP) einen kutanen Ursprung haben, der klinisch nicht mehr auffindbar ist und durch immunologische Mechanismen weitgehend in Regression gedrängt wurde.

In seltenen Fällen entstehen Tumoren auch an anatomischen Lokalisationen, die nicht oder nur wenig gegenüber UV-Strahlung exponiert sind. So treten maligne Melanome auch an extrakutanen Lokalisationen wie den Schleimhäuten, Übergangsschleimhäuten oder in der Aderhaut des Auges als Uvea- bzw. Aderhautmelanome auf. Diese Sonderformen sind aufgrund ihrer Seltenheit im Vergleich zum kutanen Melanom deutlich schlechter erforscht und ihre Prognose ist durch eine häufig späte Diagnosestellung schlecht. Vor allem Aderhautmelanome scheinen sich darüber hinaus auch tumorbiologisch deutlich vom kutanen Melanom zu unterscheiden, da sie nahezu nie Mutationen in BRAF, sondern in GNA11 oder GNAQ aufweisen. Aderhautmelanome metastasieren außerdem ganz vornehmlich in die Leber. Die Gründe für diesen Hepatotropismus sind weitgehend unbekannt (Abbildung 2). Denkbar sind das Vorliegen hepatogener Wachstumsfaktoren bzw. ein tumorförderndes Mikromilieu in der Leber, welches für eine Absiedelung und Proliferation von Aderhautmelanomzellen notwendig ist. Möglich ist auch, dass die spezielle Architektur des Lebergewebes ein wesentlicher Faktor für die Metastasierung darstellt. Primär lebergerichtete Therapieverfahren können zwar die



## Einleitung

Krankheitsprogression verlangsamen, ein nachgewiesener Effekt auf das Gesamtüberleben wurde hierdurch allerdings nicht nachgewiesen (1). Trotz der klinischen und tumorbiologischen Unterschiede wird das fortgeschrittene Aderhautmelanom in Analogie zum kutanen Melanom aufgrund mangelnder Alternativen mit Immuncheckpoint-Blockade oder Kinasehemmstoffen behandelt. Die Ansprechraten sind allerdings gering (28, 50).



**Abbildung 2:** Entstehung und Metastasierung des Aderhautmelanoms mit Darstellung der stadiengerechten Therapieansätze.

Abkürzungen: SIRT = selektive interne Radiotherapie; RFA = Radiofrequenzablation.

### 2.3. Neue Therapieansätze des fortgeschrittenen malignen Melanoms

Die beiden Säulen einer modernen Melanomtherapie sind (i) die zielgerichtete, mutationsbasierte Behandlung mit Kinasehemmstoffen sowie (ii) der Einsatz der Immuncheckpoint-Blockade (21). Die erste Option ist nur für Patienten mit aktivierenden Mutationen von BRAF wirksam und kommt daher in ca. 40-50 % der Fälle in Betracht. Der Standard ist eine kombinierte Behandlung mit einem BRAF- und einem MEK-Inhibitor, um eine tiefe und nachhaltige Hemmung des MAPK-Signalwegs zu erzielen (Abbildung 3). Klinische Studien haben gezeigt, dass eine primäre Kombinationstherapie sowohl wirksamer als auch hautverträglicher als eine Monotherapie mit einem BRAF-Inhibitor ist (29, 38). Aktuell sind in Europa drei verschiedene Kombinationspräparate zugelassen, die in ihrer onkologischen Wirksamkeit vergleichbar sind, sich aber in ihrem Nebenwirkungsprofil teilweise unterscheiden. Durch diese zielgerichteten Therapien kommt es zu einer unmittelbaren Wachstumshemmung der Melanomzellen in einem hohen Prozentsatz der behandelten Patienten. Allerdings ist die Dauer des

## Einleitung

Ansprechens in nahezu allen Fällen begrenzt und es entwickelt sich eine adaptive, d. h. erworbene Resistenz der Zellen auf BRAF- und MEK-Inhibitoren (54).

Diese Abbildung ist aus urheberrechtlichen Gründen gesperrt. Sie ist über den unten genannten Literaturhinweis über die Fachzeitschrift bzw. den Verlag aufrufbar.

**Abbildung 3:** Prinzip und Präparate der mutationsbasierten, zielgerichteten Therapie mit Kinasehemmstoffen im fortgeschrittenen Melanom (21).

Das Prinzip der Immuncheckpoint-Blockade beruht auf einer Aktivierung der körpereigenen T-Zell-Antwort gegen Melanomgewebe (Abbildung 4). Im Gegensatz zur Therapie mit Kinasehemmstoffen ist der Ansatz daher eher als indirekt zu betrachten. Wichtige Immuncheckpoints, die therapeutisch ausgenutzt werden, sind die Oberflächenmoleküle CTLA-4 („cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4“) und PD-1 („programmed cell death 1“) bzw. dessen Ligand PD-L1 („programmed cell death ligand 1“). Durch eine Blockade dieser Rezeptoren kommt es zu einer Inhibition von hemmenden Signalen auf T-Zellen, die zu einer gesteigerten immunologischen Antwort gegen den Tumor führt. Dieses Prinzip scheint nicht nur spezifisch für das maligne Melanom zu gelten, sondern auch in anderen Krebsentitäten ein entscheidender Mechanismus der Immunevasion zu sein. Daher werden Inhibitoren von Immuncheckpoints derzeit in zahlreichen Tumoren wie dem Bronchialkarzinom oder dem Urothelkarzinom erfolgreich eingesetzt. Im Melanom sind verschiedene Präparate zugelassen, die entweder gegen CTLA-4 (Ipilimumab) oder PD-1 (Pembrolizumab, Nivolumab) gerichtet sind. Je nach Kombination und Substanz wird beim kutanen Melanom ein Therapieansprechen in zirka 40-60 % beobachtet. Zum Teil entwickeln sich unter Behandlung mit Immuncheckpoint-Blockade jedoch auch schwere Nebenwirkungen, die durch eine übermäßige Aktivierung des Immunsystems verursacht werden. Sie sind in seltenen Fällen auch lebensbedrohlich oder führen zu irreversiblen Beeinträchtigungen (39). Eine Vorhersage darüber, welche Patienten auf Immuncheckpoint-Blockade ansprechen und welche nicht, ist daher wünschenswert, aber aktuell mit Biomarkern noch nicht möglich (26, 52, 53).

Diese neuen systemischen Therapieansätze lassen sich dabei gut mit lokalen Therapieverfahren kombinieren, wodurch die Antitumorwirksamkeit noch gesteigert werden kann (23). Man geht davon aus, dass insbesondere ablative, lokale Verfahren wie Elektrochemotherapie zur Behandlung von inoperablen Hautmetastasen oder stereotaktische Radiatio bei singulären Organmetastasen die

Antigenfreisetzung des Tumors erhöht und damit die Wirksamkeit der Immuncheckpoint-Blockade durch einen sogenannten abskopalen Effekt zusätzlich verbessert (22, 51).

Diese Abbildung ist aus urheberrechtlichen  
Gründen gesperrt. Sie ist über den unten  
genannten Literaturhinweis über die  
Fachzeitschrift bzw. den Verlag aufrufbar.

**Abbildung 4:** Prinzip und Präparate der Immuncheckpoint-Blockade im fortgeschrittenen Melanom (21).

### 2.4. Neue Ansätze in der Diagnostik und Versorgung von Melanompatienten

Der Früherkennung und korrekten Diagnose bei pigmentierten Hautveränderungen kommt eine entscheidende Rolle zu, um die melanombedingte Sterblichkeit langfristig zu reduzieren. Ob dabei ein flächendeckendes Programm zur Früherkennung im Sinne einer Sekundärprävention (Hautkrebs-Screening) wirklich auch zu einer Senkung der Melanom-bedingten Mortalität führen kann, ist seit seiner Einführung im Jahr 2008 Gegenstand intensiver Diskussion. Ein Hautkrebs-Screening führt bei der breiten, erwachsenen Bevölkerung zu einer erhöhten Detektionsrate und damit zu einer anfänglich erhöhten Inzidenz des malignen Melanoms (36). Diese Früherkennung könnte nun mit Vorteilen bezüglich der Morbidität und Mortalität einhergehen, allerdings ist die Latenz der Effekte lang und zum Teil gegensätzliche Studienergebnisse wurden bisher berichtet (3, 60). Die praktische Durchführung des Hautkrebs-Screenings umfasst dabei eine klinische Inspektion des gesamten Hautorgans und der angrenzenden, einsehbaren Schleimhäute. Suspekte Hautveränderungen werden im Anschluss weiter mit der Auflichtmikroskopie (Dermatoskopie) auf morphologische Feinmerkmale untersucht. Hierbei handelt es sich um ein nicht-invasives Untersuchungsverfahren, mit dem die Haut- und Pigmentstrukturen vergrößert dargestellt und evaluiert werden können. Die diagnostische Güte ist jedoch stark von der Erfahrung des jeweiligen Untersuchers abhängig. Zunehmend werden hier Video-gestützte Dokumentations- und Analyseverfahren verwendet, um das Verfahren zu standardisieren und die klinische Entscheidung zu unterstützen. Auch der Einsatz von künstlicher Intelligenz bzw. neuronalen Lernalgorithmen in der Bildanalyse ist eine jüngste Entwicklung, mit der sich die Melanomdiagnose gerade bei Ungeübten vermutlich noch deutlich verbessern lässt (20, 55).

Unumstritten ist, dass neben der Verhältnisprävention durch eine adäquate Verhaltensprävention das Auftreten von malignen Melanomen und nicht-melanozytärem Hautkrebs reduziert werden kann. Hierzu

## Einleitung

zählen beispielsweise das Meiden der Mittagssonne, das Tragen dicht gewobener, UV-undurchlässiger Kleidung sowie ein konsequenter Schutz durch chemische oder physikalische Sonnenschutzfilter. Neben klassischen Aufklärungswegen wie Printmedien werden gerade in der jüngeren Generation zunehmend auch digitale Technologien benutzt. Hierzu zählen unter anderem Internet-basierte Suchmaschinen, soziale Medien oder Anwendungssoftware für Mobilfunkgeräte („Applications“, kurz „Apps“). Obwohl diese Kanäle als niederschwellige Präventionsmaßnahmen ein enormes Potenzial haben, vor allem junge Menschen schnell und effektiv zu erreichen, unterliegen sie bislang in der Regel keinerlei wissenschaftlicher oder medizinischer Validierung. Daraus ergibt sich unweigerlich ein Spannungsfeld zwischen Innovation und fundierter Wissensvermittlung.

### 3. Wissenschaftliche Arbeiten

Vor dem oben beschriebenen klinischen und wissenschaftlichen Hintergrund wurden im Rahmen dieser Habilitation folgende Teilprojekte bzw. Fragestellungen bearbeitet:

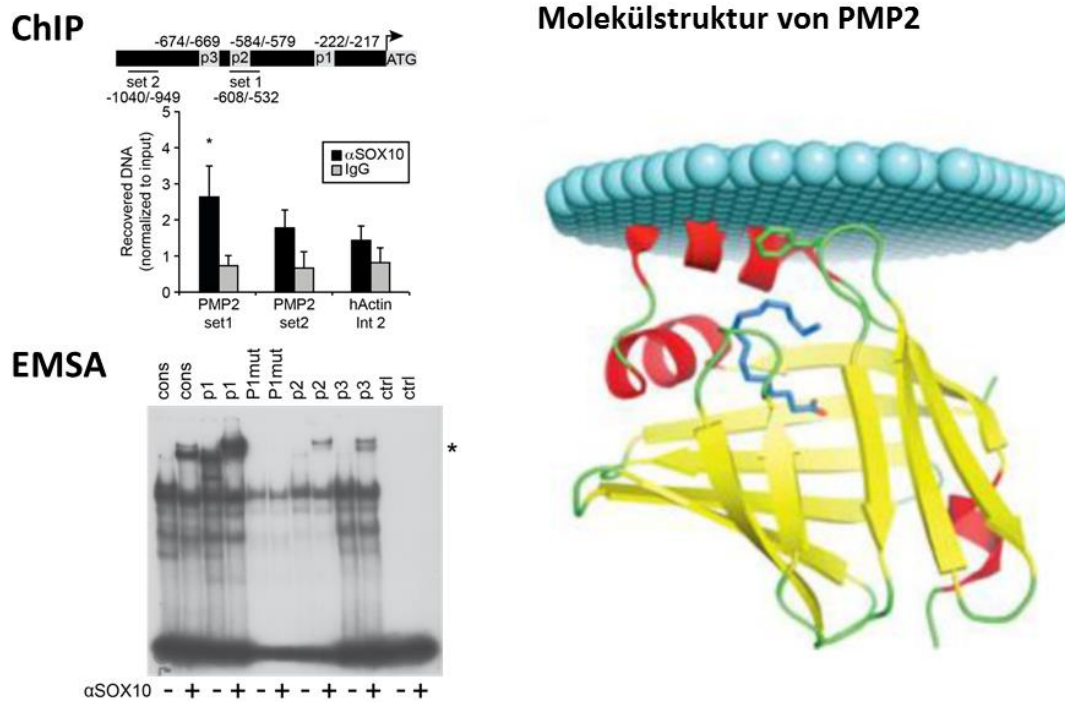
- Untersuchung der Relevanz und Identifikation von neuen Zielgenen des Neuralleistenfaktors SOX10 im kutanen Melanom (Teilprojekt 1)
- Welche neuen Therapieansätze sind für das kutane Melanom jenseits der zielgerichteten, mutationsbasierten Therapie bzw. der Immuncheckpoint-Blockade denkbar? (Teilprojekt 2)
- Wie ist das anatomische Verteilungsmuster von kutanen Primärtumoren in einem regionalen Kollektiv? (Teilprojekt 3)
- Wie sind die Verteilung und die prognostische Relevanz der Hot-Spot-Mutationen der BRAF- und NRAS-Gene im kutanen Melanom in einem regionalen Kollektiv? (Teilprojekt 4)
- Identifikation klinischer und serologischer Prognosefaktoren im extrakutanen Melanom (Teilprojekt 5)
- Neue Konzepte in der Früherkennung und Prävention des kutanen Melanoms (Teilprojekt 6)

#### 3.1. Identifikation von Zielgenen des Neuralleistenfaktors SOX10 im kutanen Melanom

(Teilprojekt 1: Graf, Heppt et al., Pigment Cell Melanoma Res 2018)

Ebenso wie MSX1 ist auch SOX10 („SRY-box 10“) ein Transkriptionsfaktor, der in der Entwicklung und Spezifikation der Neuralleiste eine wichtige Rolle spielt. Er ist dabei später als MSX1 exprimiert und vor allem an der weiteren Entwicklung von Melanoblasten und Melanozyten involviert. SOX10 fungiert dabei als direkter transkriptioneller Regulator der Pigmentsynthese. Außerdem ist SOX10 wichtig für die Entstehung und Progression des kutanen Melanoms. Es ist in einem Großteil von kongenitalen Nävi exprimiert, die ein hohes Progressionsrisiko zum malignen Melanom tragen (11, 46). Allerdings sind Zielgene, welche die tumorfördernden Eigenschaften von SOX10 vermitteln, bis auf wenige Ausnahmen weitgehend unbekannt (18).

Um neue Zielgene von SOX10 im kutanen Melanom zu identifizieren, wurde der Faktor ekto in mehreren Melanomzelllinien exprimiert und Veränderungen im Transkriptom mit der Sequenziermethode „Next-Generation-Sequencing“ (RNA-Seq) im Vergleich zu Kontrollzellen ermittelt. Dabei war interessanterweise das Myelin-assoziierte Protein PMP2 („peripheral myelin protein 2“) konsistent mit der Expression von SOX10 hochreguliert. Weitere Experimente konnten zeigen, dass SOX10 dabei PMP2 direkt transkriptionell über einzelne Bindestellen innerhalb des Promotorbereichs von PMP2 reguliert (Abbildung 5).



**Abbildung 5:** SOX10 ist ein transkriptioneller Regulator von PMP2.

Identifikation von Bindestellen von SOX10 im Promotor von PMP2 mittels Chromatin-Immunpräzipitation (ChIP) und Validierung der Bindestelle „p1“ mit Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA). Der Supershift tritt spezifisch nach Zugabe von SOX10-Antikörper auf (αSOX10+) und ist mit \* gekennzeichnet (links). Molekülstruktur von PMP2 skizziert in Assoziation zu einer Membran (rechts).

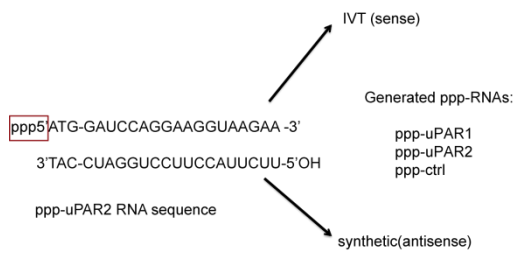
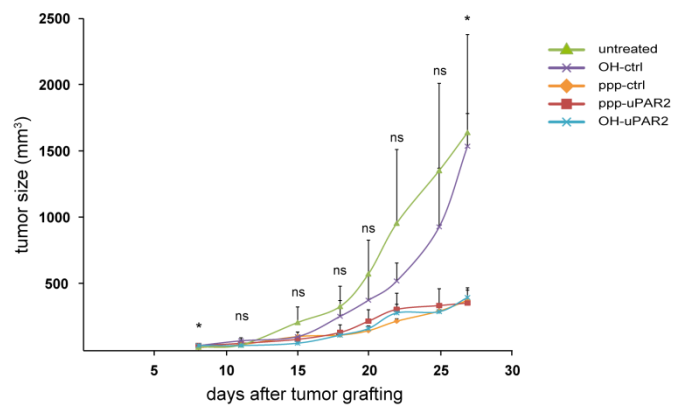
Die Identifikation dieses Proteins als neues Zielgen von SOX10 war überraschend, da die Expressionslevel von PMP2 im Melanom stark schwanken und auf Zelllinien mit sehr hohen mRNA-Spiegeln beschränkt war. Weiterhin wurde PMP2 im malignen Melanom bisher noch nicht untersucht und ist physiologisch lediglich als Bestandteil der Myelinscheide im peripheren Nervensystem zu finden. Aufgrund seiner engen Assoziation zur Zellmembran erschienen Implikationen auf Zellmigration und -invasion am ehesten wahrscheinlich. In einem zwei- und dreidimensionalen Kontext wurde PMP2 daher in Melanomzellen exprimiert und die Auswirkungen auf die Invasionskapazität analysiert (Abbildung 6). Im Vergleich zur Kontrolle zeigten dabei PMP2-exprimierende Zellen eine signifikant stärkere Invasion. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass Myelin-assoziierte Faktoren möglicherweise wichtige onkogene Eigenschaften im malignen Melanom vermitteln (19).

Diese Abbildung ist aus urheberrechtlichen Gründen gesperrt. Sie ist über den unten genannten Literaturhinweis über die Fachzeitschrift bzw. den Verlag aufrufbar.

**Abbildung 6:** PMP2 steigert die Invasion von Melanomzellen in einem dreidimensionalen Kontext. Melanomzellen wurden in Kollagen eingebettet und PMP2 wurde als voll funktionelles Protein oder defekte Mutanten (pL-PMP2 L27D, pL-PMP2 Mut3) exprimiert. Das voll funktionsfähige Protein und eine minimal defekte Mutante (pL-PMP2 L27D) von PMP2 steigerte das Invasionspotenzial der Zellen signifikant. Gezeigt sind repräsentative Bilder einer Lebend-Tot-Färbung (calcein = lebende Zellen, EthD-1 = tote Zellen). Das Invasionsareal der lebenden Zellen wurde quantifiziert (rechts unten); \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; n.s. = nicht signifikant.

### 3.2. Untersuchung immunstimulatorischer siRNAs als therapeutischer Ansatz im kutanen Melanom (Teilprojekt 2: Matheis, Heppt et al., J Invest Dermatol 2016)

Obwohl in der Ära neuer Therapieoptionen objektive Ansprechraten von über 50 % erreicht werden, kommt es in einem Großteil der behandelten Patienten im Verlauf der Erkrankung zu einer erworbenen Therapieresistenz. Auch primäre Nichtansprecher auf Immuncheckpoint-Blockade sind eine Gruppe mit hohem Forschungsbedarf, da insbesondere in Abwesenheit von aktivierenden BRAF-Mutationen die therapeutischen Optionen begrenzt bleiben. Melanomzellen sind außerdem in einem hohen Maße resistent gegenüber der Induktion von Apoptose (45). Als neuen Ansatz evaluierten wir daher RNA-Moleküle, die einerseits den onkogenen Transmembranrezeptor uPAR („plasminogen activator, urokinase receptor“) spezifisch hemmen und andererseits das angeborene Immunsystem durch Modifikation mit einem Triphosphatrest stimulieren. Hierfür wurden kleine eingreifende RNAs („small interfering RNA“, siRNA) gegen uPAR entworfen und mit drei Phosphatresten über *in-vitro*-Transkription konjugiert. Eine Behandlung von Melanomzellen mit dieser siRNA induzierte Zelltod und eine Aktivierung des Tumorsuppressorgens p53. Diese Effekte waren interessanterweise auch in Zelllinien zu beobachten, die eine Resistenz auf BRAF- und MEK-Inhibitoren entwickelten. Der Ansatz wurde anschließend im Tiermodell mit Nacktmäusen weiter validiert und zeigte eine deutliche Tumorreduktion in Verbindung mit einer systemischen Immunreaktion (Abbildung 7).

**In-Vitro-Transkription****Tumorreduktion im Mausmodell****Abbildung 7:** Immunstimulatorische siRNAs als neuer therapeutischer Ansatz im Melanom.

Spezifische siRNAs gegen uPAR wurden mit einem Triphosphatrest generiert. Dabei wurden zwei unterschiedliche, gegen uPAR gerichtete Sequenzen transkribiert (ppp-uPAR1, ppp-uPAR2, links). Subkutane Melanome wurden in immundefizienten Nacktmäusen (Fox n1<sup>nu</sup>/Fox n1<sup>nu</sup>) mit der Zelllinie 1205Lu etabliert und die Mäuse anschließend mit verschiedenen siRNAs durch intraperitoneale Injektionen behandelt. Nicht phosphorylierte (-OH) bzw. unspezifische (ctrl) siRNAs dienen als Kontrolle (rechts); \*p<0,05; ns = nicht signifikant.

**3.3. Untersuchung der anatomischen Verteilungsmuster von kutanen Primärtumoren**

(Teilprojekt 3: Heppt et al., Eur J Dermatol 2015; Heppt et al., Discov Med 2015)

In diesem Teilprojekt wurde das anatomische Verteilungsmuster von Primärtumoren der Haut untersucht. In enger Zusammenarbeit mit der Universitäts-Hautklinik in Zürich (Schweiz) wurden 254 Primärfälle nach Lokalisation gesammelt und nach klinisch-pathologischer Korrelation ausgewertet. Dabei waren *in-situ*-Melanome deutlich häufiger bei Frauen als bei Männern vorzufinden, was auf eine erhöhte Sensibilisierung und eine bessere Melanomvigilanz bei Frauen hinweisen könnte. Bezüglich der Verteilung waren bei Männern der Rücken und bei Frauen die unteren Extremitäten die häufigsten Manifestationsorte. Diese Unterschiede wurden bisher in mehreren Kohorten unabhängig voneinander und relativ konstant über die letzten Dekaden beobachtet (25). Die Gründe hierfür liegen möglicherweise in einem unterschiedlichen Freizeit- und Kleidungsverhalten zwischen beiden Geschlechtern begründet. Die dicksten und damit prognostisch schlechtesten Melanome wurden signifikant am häufigsten bei Männern über 60 Jahren beobachtet. Dieses Wissen um Verteilung und Hochrisikogruppen kann helfen, Früherkennungsmaßnahmen zur Hautkrebsprävention sinnvoll zu gestalten und an regionalen Populationen individuell auszurichten (25).

In zirka 10 % aller Fälle werden maligne Melanome primär durch Lymphknoten- oder viszerale Organmetastasen manifest. Man geht heute davon aus, dass diese MUP einen kutanen Ursprung haben, der klinisch nicht mehr auffindbar ist und durch immunologische Mechanismen weitgehend in Regression gedrängt wurde. Anhand eines Münchener Kollektivs wurden das Mutationsprofil und der klinische Verlauf von 40 Patienten mit MUP im Rahmen dieses Teilprojekts untersucht. Aktivierende Mutationen in BRAF wurden dabei zu 50 %, in NRAS zu 17,5 % und in KIT zu 5,0 % identifiziert (30). Diese Frequenzen stimmen weitgehend mit der Mutationslandschaft von kutanen Primärtumoren



überein, so dass auch durch diese Untersuchung die Hypothese gestützt wird, dass MUP von einem klinisch okkulten Primärtumor ihren Ausgang nehmen. Die Prognose der Patienten war dabei nicht mit der Tumorlast bei Erstdiagnose, sondern mit der Kinetik des Krankheitsverlaufs assoziiert. Vor allem eine Krankheitsprogression innerhalb der ersten 6 Monate nach Diagnosestellung war ein signifikanter Risikofaktor und mit einem schlechteren Gesamtüberleben assoziiert (30).

#### 3.4. Untersuchung der Mutationslandschaft von BRAF und NRAS im kutanen Melanom (Teilprojekt 4: Heppt et al., BMC Cancer 2017)

Die Anwendung der zielgerichteten, mutationsbasierten Therapie mit Kinasehemmstoffen ist nur dann sinnvoll, wenn aktivierende Mutationen des BRAF-Gens wie V600E oder V600K vorliegen. Die Angaben über die Häufigkeit dieser Mutationen schwanken in der Literatur von 40-60 % (15). Weiterhin wurde bisher über Unterschiede der Mutationsfrequenzen berichtet, je nachdem wo der Primärtumor lokalisiert war und je nach Alter der Patienten. Einige Studien berichteten von einer besseren Gesamtprognose bei BRAFV600E-mutierten Patienten im Gegensatz zu denjenigen mit Mutationen im NRAS-Gen (7, 32, 56). Allerdings wurden hier in der Literatur ganz unterschiedliche Ergebnisse beobachtet, so dass im Rahmen dieses Teilprojekts die jeweiligen Mutationsfrequenzen in einem regionalen Kollektiv um München näher evaluiert wurden.

Hierfür wurden Patienten mit einem Hochrisikomelanom auf die gängigen Hot-Spot-Mutationen der Gene BRAF (Exon 15) sowie NRAS (Exone 2 und 3) untersucht und der jeweilige Genotyp mit klinischen Parametern korreliert. Die Analyse der Mutationen wurde anhand von Lymphknoten- oder Fernmetastasen durchgeführt. Nur falls hier eine Bestimmung nicht möglich war, wurde auf die Analyse des Primärtumors zurückgegriffen. Technisch wurde aus paraffiniertem Tumorgewebe DNA extrahiert und dann Codon 600 (BRAF, Exon 1), die Codone 12 und 13 (NRAS, Exon 2) bzw. Codon 61 (NRAS, Exon 3) mittels Pyrosequenzierung analysiert. In unklaren Fällen wurde eine zusätzliche Analyse mit Sanger-Sequenzierung durchgeführt. Zu erhebende Zielkenngrößen waren hier neben klinischen Basisdaten wie Alter und Geschlecht die Lokalisation und der histologische Typ der jeweiligen Primärtumore. Weiterhin wurde die Zeit zur Krankheitsprogression sowie das Gesamtüberleben ab Erstdiagnose ermittelt und mit kumulativen Inzidenz- bzw. Kaplan-Meier-Kurven berechnet. Zuletzt wurden uni- und multivariate Cox-Regressionsmodelle berechnet, um unabhängige Risikofaktoren für den Krankheitsverlauf in der Ära neuer Therapieoptionen zu bestimmen.

Insgesamt wurden Gewebeprobe von 217 Patienten untersucht (27). Dabei zeigten 40,1 % der Fälle Mutationen im BRAF-Gen und 24,4 % Mutationen im NRAS-Gen. Im Gegensatz dazu waren 33,2 % ohne Veränderungen der Hot-Spot-Regionen beider Gene und wurden daher als „Wildtyp“ bezeichnet. BRAF-Mutationen waren dabei signifikant häufiger bei jüngeren Patienten ( $p < 0,001$ ) und mit einer Lokalisation des Primärtumors am Stamm ( $p = 0,002$ ) assoziiert. Dagegen waren Alterationen des NRAS-Gens am häufigsten in der Subgruppe der primär knotigen Melanome zu finden. NRAS-mutierte

Melanompatienten hatten in dieser Untersuchung interessanterweise einen aggressiveren Verlauf vor allem in früheren Krankheitsstadien mit einem signifikant häufigeren Auftreten eines Lokal- oder Lymphknotenrezidivs im Vergleich zu den anderen Genotypen. Auch in der multivariaten Analyse war das Vorliegen einer NRAS-Mutation mit einem schlechteren Krankheitsverlauf assoziiert (Hazard-Ratio für Krankheitsprogression 2,01; 95%-Konfidenzintervall 1,02 - 3,98). Im Gegensatz dazu zeigten Patienten mit BRAF-Mutationen eine Tendenz zu einem besseren Gesamtüberleben, allerdings ohne statistische Signifikanz. Eine Behandlung mit Immuncheckpoint-Blockade war dagegen mit einem besseren Überleben im fernmetastasierten Stadium verbunden (27).

Diese Ergebnisse unterstreichen, dass die Bestimmung des Genotyps neben der Therapieauswahl in der Metastasierung auch für die Prognoseabschätzung in früheren Erkrankungsstadien sinnvoll sein kann. Vor allem Patienten mit nachgewiesenen NRAS-Mutationen scheinen hier eine Hochrisikogruppe darzustellen, so dass eine besonders engmaschige Tumornachsorge erwogen werden sollte.

### 3.5. Untersuchung von Prognosefaktoren im Schleimhautmelanom

(Teilprojekt 5: Hept et al., Eur J Cancer 2017a)

Das Mutationsspektrum von extrakutanen Melanomen unterscheidet sich signifikant vom kutanen Melanom. Im Schleimhautmelanom kommen Alterationen von BRAF oder NRAS weit seltener vor. Dafür sind Amplifikationen oder Mutationen von KIT häufiger. Bei Vorliegen bestimmter Mutationen ist ein Therapieversuch mit Tyrosinkinasehemmstoffen wie Imatinib, Dasatinib oder Nilotinib möglich. Die Ansprechraten sind jedoch gering und das Ansprechen meistens nur von kurzer Dauer. Inwieweit hier die neuen Therapieansätze, insbesondere die Immuncheckpoint-Blockade, eine entscheidende Verbesserung des Gesamtüberlebens bringen können, ist noch unklar. Eine gepoolte Subgruppenanalyse aus mehreren großen Studien zum PD-1-Inhibitor Nivolumab mit oder ohne Ipilimumab ergab deutlich geringere Ansprechraten im Schleimhautmelanom als im kutanen Melanom (12). Auch Prognosefaktoren sind hier deutlich schlechter erforscht. Das liegt zum einen daran, dass mukosale Melanome je nach anatomischer Lokalisation ein äußerst heterogenes Kollektiv umfassen. Am häufigsten sind die Tumore im Kopf-Hals-Bereich lokalisiert, gefolgt von Melanomen des Anorektums und der Vulva bzw. Vagina bei Frauen. Zum anderen ist die Inzidenz dieser Melanomvariante relativ gering, was bisher eine Untersuchung in umfangreicheren Kohorten limitierte. Daher wurde in einem möglichst großen und lokalisationsübergreifenden Kollektiv untersucht, welche Prognosefaktoren bei Schleimhautmelanomen unter Berücksichtigung der neuen Therapieansätze relevant sind.

Um diese Fragestellung zu beantworten, wurden aus mehreren deutschen Hauttumorzentren Fälle zusammengetragen, so dass bei der Seltenheit der Erkrankung eine valide Aussage möglich wird. Die klinischen Daten wurden in einer standardisierten Tabelle erhoben und gesammelt. Zielgrößen waren hier die anatomische Lokalisation des Primärtumors, Mutationen von BRAF, NRAS oder KIT,

Behandlung mit Kinasehemmstoffen oder Immuncheckpoint-Blockade und Kennziffern zum Überleben.

Insgesamt wurden 444 Patienten mit Schleimhautmelanomen aller anatomischen Lokalisationen aus 15 deutschen Hauttumorzentren eingeschlossen. Dabei waren Melanome des Kopf-Hals-Bereichs am häufigsten (37,2 %), gefolgt vom weiblichen Genitaltrakt (30,4 %) und dem Anorektum (21,8 %). Andere Lokalisationen waren seltener und wurden daher zur Auswertung zu einer Gruppe zusammengefasst (Abbildung 8).

**Diese Abbildung ist aus urheberrechtlichen Gründen gesperrt. Sie ist über den unten genannten Literaturhinweis über die Fachzeitschrift bzw. den Verlag aufrufbar.**

**Abbildung 8:** Lokalisationsübergreifendes Kollektiv zur Untersuchung von Schleimhautmelanomen anhand einer deutschlandweiten Fallsammlung.

Am häufigsten waren Tumoren der Kopf-Hals-Region (MMHN), gefolgt vom weiblichen Genitaltrakt (MMFG) und dem Anorektum (MMAN). Die Schleimhautmelanome der Konjunktiva, des oberen Gastrointestinaltrakts („upper GI“), der ableitenden Harnwege („urinary tract“) und des Penis („penile“) wurden in eine Gruppe („Others“) zusammengefasst. Gezeigt sind zudem jeweils repräsentative klinische Bilder von betroffenen Patienten (onkologische Ambulanz, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Allergologie, Klinikum der Universität München).

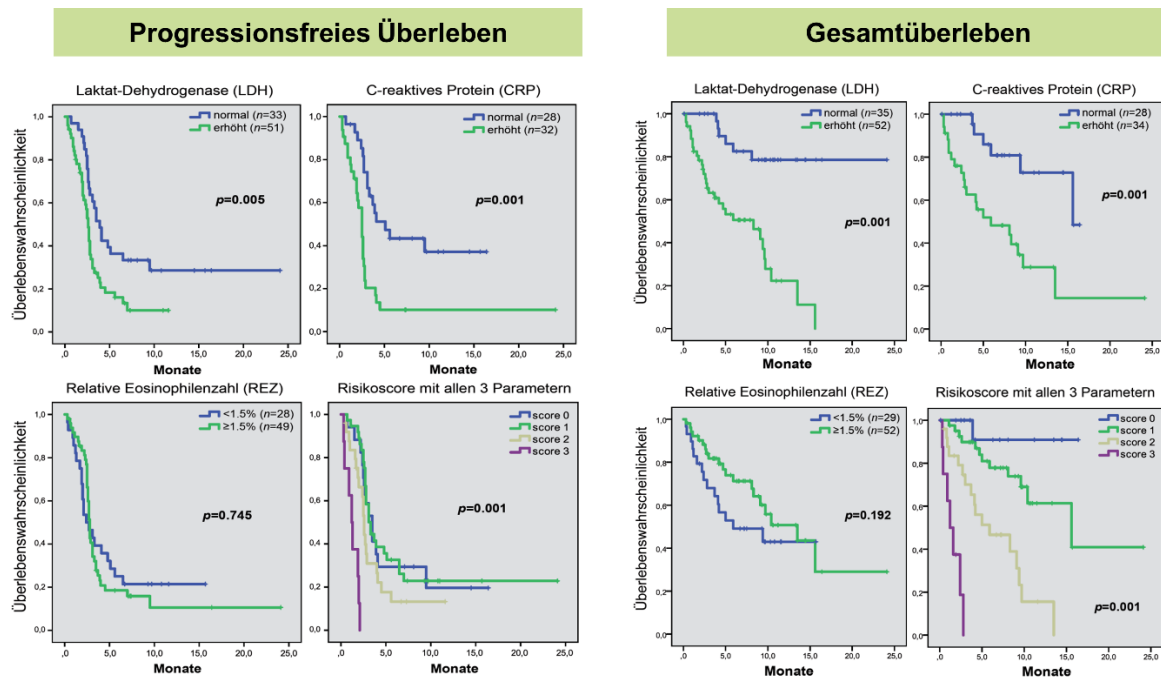
Patienten mit Melanomen des Anorektums hatten lokalisationsübergreifend bei Erstdiagnose die höchste vertikale Tumordicke ( $p=0,001$ ), häufiger einen loko-regionären Lymphknotenbefall ( $p=0,014$ ) sowie Fernmetastasen ( $p=0,001$ ). Die Frequenzen der Mutationen von BRAF (6,4 %), NRAS (13,8 %) und KIT (8,6 %) waren in den anatomischen Subgruppen ähnlich verteilt. Interessanterweise traten in einem hohen Prozentsatz (32,4 %) Lokalrezidive auf, und zwar am häufigsten bei Melanomen im Kopf-Hals-Bereich ( $p=0,016$ ). In einem multivariaten Cox-Regressionsmodell waren männliches Geschlecht ( $p=0,047$ ), ein fortgeschrittenes Tumorstadium ( $p=0,001$ ), Lymphknotenbefall ( $p=0,001$ ) und ein inkompletter Resektionsstatus (R1 oder R2) unabhängige Risikofaktoren.

3.6. Untersuchung von klinischen und serologischen Prognosefaktoren im Aderhautmelanom  
(Teilprojekt 5: Heppt et al., Eur J Cancer 2017b)

Ebenso wie Schleimhautmelanome werden Aderhautmelanome zur Gruppe der extrakutanen Melanome gezählt. Sie nehmen ihren Ursprung von der Chorioidea des Auges und zählen trotz ihrer Seltenheit zu den häufigsten malignen okulären Tumoren des Erwachsenen. Das Aderhautmelanom spricht dabei deutlich schlechter auf die Immuncheckpoint-Blockade an als das kutane Melanom. Dabei bleiben jedoch die immunvermittelten Nebenwirkungen in Schweregrad und Inzidenz erhalten (28). Man vermutet, dass der Grund hierfür in einer geringen Immunogenität der okulären Tumoren mit nur wenigen Neoantigenen liegt. Es existieren jedoch einzelne Fallberichte von langanhaltenden Remissionen von Patienten mit Aderhautmelanom (47). Allerdings sind prognostische bzw. spezifisch prädiktive Faktoren für ein Ansprechen auf Immuncheckpoint-Blockade weithin unbekannt.

Deshalb wurde untersucht, welchen Stellenwert die Immuncheckpoint-Blockade in der Therapie des metastasierten Aderhautmelanoms einnimmt. Insbesondere wurde hierbei die Rolle von PD-1-Inhibitoren und einer kombinierten Immuncheckpoint-Blockade aus PD-1- und CTLA-4-Inhibitor untersucht. Hierfür wurden aus 20 deutschen Hauttumorzentren 96 Fälle zusammengetragen und das Ansprechen der Patienten ausgewertet. Weiterhin wurden auch Serummarker erhoben und deren Korrelation mit einem möglichen Therapieansprechen analysiert.

Insgesamt lag die radiologische Ansprechrates für eine Monotherapie mit PD-1-Inhibitor bei ernüchternden 4,7 %, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Präparaten Nivolumab und Pembrolizumab beobachtet wurden. Auch das mediane Gesamtüberleben ab Therapieeinleitung zeigte keine statistisch signifikanten Unterschiede und lag bei 14 Monaten für Pembrolizumab bzw. 10 Monaten für Nivolumab ( $p=0,765$ ). Weiterhin erhielten 12 Patienten eine kombinierte Immuncheckpoint-Blockade, wobei in zwei Fällen ein Teilansprechen erreicht wurde. Allerdings war hier die Fallzahl gering und die Nachbeobachtungsdauer relativ kurz. In einer Folgeuntersuchung von 64 mit der kombinierten Immuncheckpoint-Blockade behandelten Patienten zeigten 10 eine Tumorregression, was einer Ansprechrates von 15,6 % entspricht. Diese Rate ist zwar deutlich geringer im Vergleich zu den Ergebnissen im kutanen Melanom, allerdings deutlich besser als mit einer Monotherapie mit PD-1-Inhibitoren im Aderhautmelanom. Die immunvermittelten Nebenwirkungen bleiben jedoch erhalten, so dass der Identifikation von potentiellen Ansprechern hier eine besondere Rolle zukommt. Dafür wurden klinische Parameter sowie serologische Biomarker untersucht und mit dem Ansprechen auf die Immuncheckpoint-Blockade korreliert. Dabei erwies sich ein zusammengesetzter Punktwert aus Laktatdehydrogenase (LDH), C-reaktivem Protein (CRP) und der relativen Eosinophilenanzahl (REZ) im Serum als geeignet, die Prognose abzuschätzen. So zeigten Patienten mit erhöhter LDH, erhöhtem CRP und niedriger REZ (<1,5 %) die schlechteste Prognose. Allerdings war der Punktwert nicht spezifisch mit einem Ansprechen korreliert, so dass er eher generell als prognostisch anzusehen ist und nicht spezifisch prädiktiv ist für ein Ansprechen auf Immuncheckpoint-Blockade (24) (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Prognostische Relevanz des etablierten Punktwerts bei Patienten mit Aderhautmelanom unter Therapie mit Immuneckpoint-Blockade.

Der Punktwert unterscheidet 4 verschiedene Risikokategorien („score 0, 1, 2, 3“), wobei jeweils ein Punkt vergeben wird für erhöhte LDH, erhöhtes CRP, niedrige REZ (<1,5 %). Das progressionsfreie Überleben (links) und das Gesamtüberleben (rechts) sind jeweils statistisch hochsignifikant unterschiedlich in den verschiedenen Risikogruppen.

### 3.7. Neue Konzepte in der Früherkennung und Prävention des kutanen Melanoms

(Teilprojekt 6: Kirchberger et al., J Dtsch Dermatol Ges 2017; Steeb et al., Oncol Res Treat 2019; Steeb et al., JMIR Mhealth Uhealth 2019)

Neue Medien, soziale Netzwerke und künstliche Intelligenz spielen eine immer größer werdende Rolle in der Medizin. Auch in der dermatologischen Onkologie suchen immer mehr, vor allem jüngere Patienten Informationen und Rat im Internet. Dabei haben die großen Suchmaschinen wie Google® oder Yahoo® einen hohen Marktanteil, weswegen Analysen von Suchanfragen eine wesentliche Information über das Verhalten von Zielpopulationen ermöglichen (33). Speziell wurde im Vergleich der deutschsprachigen Länder Deutschland, Österreich und Schweiz das Suchverhalten über Sonnenschutz bzw. Sonnenexposition auf Google® im Zeitraum von 2004 bis 2016 analysiert. Als Indikatoren wurden spezifisch die Schlagworte „Solarium“ („tanning bed“), „Sonnencreme“ („sunscreen“) und „Sonnenschutz“ („sun protection“) untersucht und normalisierte Suchvolumina berechnet. Erfreulicherweise zeigte sich hierbei seit 2001 ein kontinuierlicher Rückgang der Suchen nach „Solarium“, wohingegen die Suchvolumina für „Sonnencreme“ im gleichen Zeitraum zunahm. Nichtsdestotrotz waren die Suchvolumina für „Solarium“ absolut immer noch höher als für „Sonnencreme“. Innerhalb eines Jahres wurde konsistent eine Periodizität der Suchanfragen beobachtet, wobei die höchsten Anfragen für „Solarium“ von März bis Mai und für „Sonnencreme“ in den Sommermonaten mit einem Maximum im Juni lagen (34).

Diese Untersuchungen legen nahe, dass auch neue Medien künftig gezielt zur primären und sekundären Hautkrebsprävention gerade in der jungen Bevölkerung genutzt werden könnten. Eine weitere, wichtige Säule in der Hautkrebsprävention sind regelmäßige Ganzkörperinspektionen durch einen speziell ausgebildeten Hausarzt oder den Hautfacharzt. Dabei werden suspekte Nävi gezielt mit dem Dermatoskop untersucht. Eine Video-gestützte Analyse mit Möglichkeit zur Computer-assistierten Bildanalyse und Bildspeicherung stellt eine technische Verbesserung der Auflichtmikroskopie mit dem Hand-Dermatoskop dar, allerdings wird diese Untersuchung von den gesetzlichen Krankenkassen derzeit nicht erstattet. Um den Mehrwert der Video-gestützten Dermatoskopie (VD) aus Patientensicht zu eruieren, wurden in der dermato-onkologischen Ambulanz der Klinik und Poliklinik für Dermatologie des Klinikums der Universität München 201 Patienten im Rahmen einer Querschnittsstudie zu diesem Thema befragt (49). Die Patienten wurden gebeten, einen Fragebogen über die Popularität der VD auszufüllen. Zur Auswertung wurden deskriptive Analysen durchgeführt, einschließlich Kontingenztafeln und Chi-Quadrat-Tests zur Untersuchung von Zusammenhängen zwischen soziodemografischen Daten und der Popularität von VD. Insgesamt 61,2 % der Patienten hatten zum Zeitpunkt der Beurteilung noch nie etwas von VD gehört oder waren sich unsicher. Von den 38,8 % der Patienten, die bereits die VD kannten, gaben wiederum 64,1 % an, dass sie bereits einmal mittels VD untersucht wurden. 57,5 % waren bereit, eine zusätzliche Gebühr für die Durchführung der VD zu zahlen. Ein hohes Bildungsniveau ( $p=0,036$ ) und das Vorliegen einer privaten Krankenversicherung ( $p=0,026$ ) zeigten einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Popularität der VD. Insgesamt bestand somit ein starkes Informationsdefizit bezüglich der Möglichkeit zu dieser Untersuchung insbesondere bei Patienten mit niedrigerer Bildung und gesetzlicher Krankenversicherung. Dennoch war die Bereitschaft hoch, für eine VD-unterstützte Hautuntersuchung eine Zuschlagsgebühr zu zahlen. Daher sollten Dermatologen Patienten bei der Durchführung der Hautkrebsvorsorge aktiv über die VD informieren und anbieten (49).

Gewissermaßen eine technische Weiterentwicklung der VD ist die Beurteilung von Nävi über Apps auf Mobilfunkgeräten. Dabei gibt es im aufkommenden Zeitalter der Digitalisierung und der elektronischen Gesundheit immer mehr Hautkrebs-Apps mit ganz unterschiedlichen Funktionen von Früherkennung von malignen Melanomen bis zu Erinnerungsfunktionen zum Auftragen von Sonnenschutzfiltern und individualisierter Alterungsdarstellung der Haut (2, 4, 5). Jedoch ist bisher unbekannt, wie Patienten diese Apps wahrnehmen und bewerten. Daher wurden auch hier im Rahmen einer Querschnittsstudie 200 Patienten mit einem schriftlichen Fragebogen über die Beliebtheit und den Nutzen von gesundheitsbezogenen und hautkrebsbezogenen Apps befragt (48).

Insgesamt hatte mit 98,9 % ein überwiegender Großteil der Patienten noch nie oder nicht erinnerlich Hautkrebs-Apps benutzt. In 49,7 % der Fälle waren sich die Patienten über den Nutzen von Hautkrebs-Apps unsicher, während 42,6 % der Meinung waren, dass Hautkrebs-Apps die professionelle Hautuntersuchung durch einen Arzt ergänzen oder unterstützen könnten. 47,9 % waren jedoch daran interessiert, von ihren Dermatologen mehr Informationen über Hautkrebs-Apps zu erhalten. Junges

Alter ( $p=0,002$ ), männliches Geschlecht ( $p=0,002$ ), ein malignes Melanom in der Eigenanamnese ( $p=0,004$ ) und ein höherer Bildungsstand ( $p=0,002$ ) waren signifikant mit einer positiven Einstellung gegenüber Hautkrebs-Apps verbunden. Dennoch bevorzugten 55,9 % eine gedruckte Patientenbroschüre zum Thema Hautkrebs gegenüber dem Herunterladen und Verwenden einer App. Insgesamt waren die Erfahrung und das Wissen über Hautkrebs-Apps als neues Präventionsmedium in dieser Population noch überraschend gering (48).

#### **4. Zusammenfassung und Ausblick**

Diese kumulative Habilitationsschrift umfasst ein breites Spektrum von Fragestellungen von der Pathogenese zur Behandlung, Prognose und Prävention des malignen Melanoms in der Ära neuer Therapieoptionen. Die Arbeit leistet einen Beitrag zu einem besseren Verständnis von grundlegenden Prozessen der Melanomentstehung und –progression. Darüber hinaus befasst sie sich mit unmittelbar praxis- und therapierelevanten Aspekten in der alltäglichen Versorgung von Patienten mit malignem Melanom.

Die Teilprojekte 1 und 2 wurden experimentell bearbeitet und fokussierten auf der Entdeckung neuer Zielstrukturen, welche therapeutisch ausgenutzt werden könnten. Dieser Aspekt ist trotz der Neuerungen in der Therapie des malignen Melanoms relevant, da etliche Patienten eine primäre oder sekundäre (erworbene) Resistenz auf eine zielgerichtete, mutationsbasierte Therapie oder auf Immuncheckpoint-Blockade zeigen und die Mortalität des fortgeschrittenen Melanoms auch weiterhin hoch bleibt. In Teilprojekt 1 wurde mit PMP2 ein neues Zielgen des Transkriptionsfaktors SOX10 identifiziert, der als Myelin-assoziiertes Faktor eine möglicherweise wichtige und bisher gänzlich unerforschte Proteingruppe im malignen Melanom repräsentiert. PMP2 ist dabei vermutlich mit der Membran von Melanomzellen assoziiert und könnte als Mediator von Motilität, Invasivität oder Zell-Zell-Kontakten fungieren. Dies ist insofern bemerkenswert, als Melanomzellen keine Myelinscheide aufweisen und Myelin-assoziierte Proteine hier onkogene Eigenschaften vermitteln könnten, die vollkommen unabhängig von Myelin sind. Künftige Experimente müssen allerdings noch die genaueren molekularen und biologischen Mechanismen aufklären, die den von uns beobachteten Phänotyp von PMP2 vermitteln. In Teilprojekt 2 erforschten wir einen konkreten therapeutischen Ansatz eines innovativen, bifunktionellen Moleküls, welches einerseits auf das Onkogen uPAR gerichtet war und andererseits durch einen Triphosphatrest zu einer Stimulierung des angeborenen Immunsystems führte. Durch diesen Ansatz konnte zumindest im Mausmodell nach intraperitonealer Injektion eine hohe Anti-Tumorwirksamkeit nachgewiesen werden. Ob dieser Ansatz auch in die klinische Versorgung translatiert werden kann, müssen künftige Studien zeigen. Limitationen hierbei sind die notwendige Applikation von großen Mengen von RNA-Molekülen sowie deren Stabilität. Weiterhin könnte die Aktivierung des angeborenen Immunsystems durch den Triphosphatrest zu stark und unkontrolliert ausfallen und so zu immunvermittelten Nebenwirkungen führen.

Die Teilprojekte 3-5 wurden als translationale Fragestellungen bearbeitet. In Teilprojekt 3 wurde die Genotyp-Phänotyp-Korrelation der gängigen Hot-Spot-Mutationen im BRAF- und NRAS-Gen im Echtweltkontext der neuen Therapieansätze untersucht. Eine zielgerichtete, mutationsbasierte Therapie war zwar mit einem Trend zu einem verbesserten Gesamtüberleben assoziiert, allerdings war diese Beobachtung nicht statistisch signifikant. Im Gegensatz dazu war eine Therapie mit Immuncheckpoint-Blockade signifikant mit einem Überlebensvorteil verbunden. Zumindest in diesem Kollektiv stellt sich damit ein leichter Vorteil der letzteren Therapie dar. Gerade bei Patienten mit aktivierenden BRAF-Mutationen ist aktuell noch nicht geklärt, ob eine Therapie mit Kinasehemmstoffen oder mit



Immuncheckpoint-Blockade in der ersten Therapielinie durchgeführt werden sollte. Beide Ansätze sind nicht unmittelbar vergleichbar, da sie einerseits unterschiedliche Wirkmechanismen aufweisen und andererseits direkte Vergleichsstudien fehlen. Bei BRAF-mutierten Patienten ist weiterhin denkbar, eine kombinierte Therapie mit BRAF- bzw. MEK-Inhibitoren und Immuncheckpoint-Blockade durchzuführen. Erste Studienergebnisse zeigen hier allerdings eine signifikante Toxizität und Ansprechraten, die nur marginal über der kombinierten Immuncheckpoint-Blockade liegen. Eine wichtige Erkenntnis aus Teilprojekt 3 war weiterhin, dass es durchaus sinnvoll sein kann, den Mutationsstatus auch in früheren Krankheitsstadien zu bestimmen. Gerade NRAS-mutierte Patienten hatten in unserem Kollektiv einen aggressiveren Krankheitsverlauf. In den Teilprojekten 4 und 5 wurden Krankheitsverläufe und Biomarker in extrakutanen Melanomvarianten wie dem Schleimhaut- und dem Aderhautmelanom analysiert. Dabei sind die Ansprechraten der Immuncheckpoint-Blockade deutlich geringer als im kutanen Melanom, weshalb der Identifikation von möglichen Ansprechern hier eine besondere Rolle zukommt. Gerade im Aderhautmelanom haben unsere Ergebnisse gezeigt, dass eine Monotherapie mit PD-1-Inhibitoren aufgrund einer nur marginalen Wirksamkeit kein Therapiestandard sein kann. Die kombinierte Immuncheckpoint-Blockade zeigte höhere Ansprechraten, allerdings ist sie auch mit einer hohen immunvermittelten Toxizität verbunden. Zur Prognoseabschätzung eignet sich ein einfacher Punktwert, der aus dem peripheren Blut erhoben werden kann. Er ist zwar nicht spezifisch prädiktiv für ein Ansprechen auf Immuncheckpoint-Blockade, allerdings eignet er sich gut zur Prognoseabschätzung unter Therapie. Künftige prospektive Studien sind hier notwendig, um die Relevanz des Punktwerts in weiteren Kohorten zu validieren.

Das Teilprojekt 6 widmete sich versorgungs- und praxisrelevanten Aspekten. Soziale Netzwerke und Apps haben ein großes Potenzial, das gesundheitsbezogene Verhalten künftiger Generationen zu beeinflussen. Daher sollten diese neuen Medien auch zu Zwecken der Prävention und Früherkennung von Hautkrebs ausgenutzt werden. Dabei liefert die VD sowie die Nävusanalyse mit mobilfunkgestützten Apps mit Sicherheit eine standardisierte und gut dokumentierte Untersuchung. Ob die diagnostische Güte jedoch vergleichbar zu einem erfahrenen Untersucher ist, bleibt fragwürdig. Daher können diese Werkzeuge aktuell noch lediglich unterstützend agieren. Im Gegensatz dazu arbeiten Systeme mit künstlicher Intelligenz mit neuronalen Lernalgorithmen und können mit beliebig vielen Bildern zur Verbesserung der Mustererkennung gespeist werden. Dadurch verbessert sich sukzessive die Sensitivität und Spezifität der Diagnosestellung durch die künstliche Intelligenz, die vergleichbar zur hautfachärztlichen Untersuchung ist (55). Diese Entwicklung ist nicht nur in der Diagnostik pigmentierter Hautveränderungen zu beobachten, sondern durchdringt nahezu alle Bereiche der modernen Medizin. Dass der Hautfacharzt in der Diagnosestellung des Melanoms künftig entbehrlich ist und durch künstliche Intelligenz ersetzt werden wird, ist ein durchaus realistisches Szenario.

## 5. Referenzen

1. Agarwala SS, Guo J, Buzaid AC. Systemic treatment of cutaneous and mucosal melanoma. *Chin Clin Oncol*. 2014;3(3):25.
2. Bernardes-Souza B, Patruz Ananias De Assis Pires F, Madeira GM, Felicio Da Cunha Rodrigues T, Gatzka M, Heppt MV, et al. Facial-Aging Mobile Apps for Smoking Prevention in Secondary Schools in Brazil: Appearance-Focused Interventional Study. *JMIR Public Health Surveill*. 2018;4(3):e10234.
3. Breitbart EW, Waldmann A, Nolte S, Capellaro M, Greinert R, Volkmer B, et al. Systematic skin cancer screening in Northern Germany. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66(2):201-11.
4. Brinker TJ, Brieske CM, Esser S, Klode J, Mons U, Batra A, et al. A Face-Aging App for Smoking Cessation in a Waiting Room Setting: Pilot Study in an HIV Outpatient Clinic. *J Med Internet Res*. 2018;20(8):e10976.
5. Brinker TJ, Heckl M, Gatzka M, Heppt MV, Resende Rodrigues H, Schneider S, et al. A Skin Cancer Prevention Facial-Aging Mobile App for Secondary Schools in Brazil: Appearance-Focused Interventional Study. *JMIR Mhealth Uhealth*. 2018;6(3):e60.
6. Caramel J, Papadogeorgakis E, Hill L, Browne GJ, Richard G, Wierinckx A, et al. A switch in the expression of embryonic EMT-inducers drives the development of malignant melanoma. *Cancer Cell*. 2013;24(4):466-80.
7. Carlino MS, Haydu LE, Kakavand H, Menzies AM, Hamilton AL, Yu B, et al. Correlation of BRAF and NRAS mutation status with outcome, site of distant metastasis and response to chemotherapy in metastatic melanoma. *Br J Cancer*. 2014;111(2):292-9.
8. Catron KM, Iler N, Abate C. Nucleotides flanking a conserved TAAT core dictate the DNA binding specificity of three murine homeodomain proteins. *Mol Cell Biol*. 1993;13(4):2354-65.
9. Catron KM, Wang H, Hu G, Shen MM, Abate-Shen C. Comparison of MSX-1 and MSX-2 suggests a molecular basis for functional redundancy. *Mech Dev*. 1996;55(2):185-99.
10. Cosgarea I, Ugurel S, Sucker A, Livingstone E, Zimmer L, Ziemer M, et al. Targeted next generation sequencing of mucosal melanomas identifies frequent NF1 and RAS mutations. *Oncotarget*. 2017;8(25):40683-92.
11. Cronin JC, Loftus SK, Baxter LL, Swatkoski S, Gucek M, Pavan WJ. Identification and functional analysis of SOX10 phosphorylation sites in melanoma. *PLoS One*. 2018;13(1):e0190834.
12. D'Angelo SP, Larkin J, Sosman JA, Lebbe C, Brady B, Neyns B, et al. Efficacy and Safety of Nivolumab Alone or in Combination With Ipilimumab in Patients With Mucosal Melanoma: A Pooled Analysis. *J Clin Oncol*. 2017;35(2):226-35.
13. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002;417(6892):949-54.

## Referenzen

14. Dupin E, Glavieux C, Vaigot P, Le Douarin NM. Endothelin 3 induces the reversion of melanocytes to glia through a neural crest-derived glial-melanocytic progenitor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(14):7882-7.
15. Ekedahl H, Cirenajwis H, Harbst K, Carneiro A, Nielsen K, Olsson H, et al. The clinical significance of BRAF and NRAS mutations in a clinic-based metastatic melanoma cohort. *Br J Dermatol*. 2013;169(5):1049-55.
16. Ernfors P. Cellular origin and developmental mechanisms during the formation of skin melanocytes. *Exp Cell Res*. 2010;316(8):1397-407.
17. Fukunaga-Kalabis M, Hristova DM, Wang JX, Li L, Heppt MV, Wei Z, et al. UV-Induced Wnt7a in the Human Skin Microenvironment Specifies the Fate of Neural Crest-Like Cells via Suppression of Notch. *J Invest Dermatol*. 2015;135(6):1521-32.
18. Graf SA, Busch C, Bosserhoff AK, Besch R, Berking C. SOX10 promotes melanoma cell invasion by regulating melanoma inhibitory activity. *J Invest Dermatol*. 2014;134(8):2212-20.
19. Graf SA, Heppt MV, Wessely A, Krebs S, Kammerbauer C, Hornig E, et al. The myelin protein PMP2 is regulated by SOX10 and drives melanoma cell invasion. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2019;32(3):424-34.
20. Haenssle HA, Fink C, Schneiderbauer R, Toberer F, Buhl T, Blum A, et al. Man against machine: diagnostic performance of a deep learning convolutional neural network for dermoscopic melanoma recognition in comparison to 58 dermatologists. *Ann Oncol*. 2018;29(8):1836-42.
21. Heppt MV, Dietrich C, Graf SA, Ruzicka T, Tietze JK, Berking C. The Systemic Management of Advanced Melanoma in 2016. *Oncol Res Treat*. 2016;39(10):635-42.
22. Heppt MV, Eigentler TK, Kahler KC, Herbst RA, Goppner D, Gambichler T, et al. Immune checkpoint blockade with concurrent electrochemotherapy in advanced melanoma: a retrospective multicenter analysis. *Cancer Immunol Immunother*. 2016;65(8):951-9.
23. Heppt MV, Goldscheider I, Tietze JK, Berking C. Intralesional interleukin-2 for unresectable mucosal melanoma refractory to nivolumab. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(10):1377-8.
24. Heppt MV, Heinzerling L, Kahler KC, Forschner A, Kirchberger MC, Loquai C, et al. Prognostic factors and outcomes in metastatic uveal melanoma treated with programmed cell death-1 or combined PD-1/cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 inhibition. *Eur J Cancer*. 2017;82:56-65.
25. Heppt MV, Reinholz M, Tietze JK, Kerl K, French LE, Berking C, et al. Clinicopathologic features of primary cutaneous melanoma: a single centre analysis of a Swiss regional population. *Eur J Dermatol*. 2015;25(2):127-32.

## Referenzen

26. Heppt MV, Schlaak M, Eigentler TK, Kahler KC, Kiecker F, Loquai C, et al. Checkpoint blockade for metastatic melanoma and Merkel cell carcinoma in HIV-positive patients. *Ann Oncol.* 2017;28(12):3104-6.
27. Heppt MV, Siepmann T, Engel J, Schubert-Fritschle G, Eckel R, Mirlach L, et al. Prognostic significance of BRAF and NRAS mutations in melanoma: a German study from routine care. *BMC Cancer.* 2017;17(1):536.
28. Heppt MV, Steeb T, Schlager JG, Rosumeck S, Dressler C, Ruzicka T, et al. Immune checkpoint blockade for unresectable or metastatic uveal melanoma: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2017;60:44-52.
29. Heppt MV, Tietze JK, Graf SA, Berking C. Combination therapy of melanoma using kinase inhibitors. *Curr Opin Oncol.* 2015;27(2):134-40.
30. Heppt MV, Tietze JK, Reinholz M, Rahimi F, Jung A, Kirchner T, et al. Disease kinetics but not disease burden is relevant for survival in melanoma of unknown primary tumor. *Discov Med.* 2015;20(110):231-7.
31. Heppt MV, Wang JX, Hristova DM, Wei Z, Li L, Evans B, et al. MSX1-Induced Neural Crest-Like Reprogramming Promotes Melanoma Progression. *J Invest Dermatol.* 2018;138(1):141-9.
32. Jakob JA, Bassett RL, Jr., Ng CS, Curry JL, Joseph RW, Alvarado GC, et al. NRAS mutation status is an independent prognostic factor in metastatic melanoma. *Cancer.* 2012;118(16):4014-23.
33. Kirchberger MC, Heppt MV, Eigentler TK, Kirchberger MA, Schuler G, Heinzerling L. The tanning habits and interest in sunscreen of Google users: what happened in 12 years? *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2017;33(2):68-74.
34. Kirchberger MC, Kirchberger LF, Eigentler TK, Reinhard R, Berking C, Schuler G, et al. Interest in tanning beds and sunscreen in German-speaking countries. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2017;15(12):1192-8.
35. Kirchberger MC, Ugurel S, Mangana J, Heppt MV, Eigentler TK, Berking C, et al. MEK inhibition may increase survival of NRAS-mutated melanoma patients treated with checkpoint blockade: Results of a retrospective multicentre analysis of 364 patients. *Eur J Cancer.* 2018;98:10-6.
36. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF): S3-Leitlinie Prävention von Hautkrebs, Langversion 1.1, 2014, AWMF Registernummer: 032/052OL, <http://leitlinienprogramm.onkologie.de/Leitlinien.7.0.html> (Zugriff am 08.10.2019).
37. Li L, Fukunaga-Kalabis M, Yu H, Xu X, Kong J, Lee JT, et al. Human dermal stem cells differentiate into functional epidermal melanocytes. *J Cell Sci.* 2010;123(Pt 6):853-60.
38. Long GV, Eroglu Z, Infante J, Patel S, Daud A, Johnson DB, et al. Long-Term Outcomes in Patients With BRAF V600-Mutant Metastatic Melanoma Who Received Dabrafenib Combined With Trametinib. *J Clin Oncol.* 2018;36(7):667-73.

## Referenzen

39. Moreira A, Loquai C, Pfohler C, Kahler KC, Knauss S, Heppt MV, et al. Myositis and neuromuscular side-effects induced by immune checkpoint inhibitors. *Eur J Cancer*. 2019;106:12-23.
40. Odelberg SJ, Kollhoff A, Keating MT. Dedifferentiation of mammalian myotubes induced by *msx1*. *Cell*. 2000;103(7):1099-109.
41. Pflugfelder A, Kochs C, Blum A, Capellaro M, Czeschik C, Dettenborn T, et al. Malignant melanoma S3-guideline "diagnosis, therapy and follow-up of melanoma". *J Dtsch Dermatol Ges*. 2013;11 Suppl 6:1-116, 1-26.
42. Pinnix CC, Lee JT, Liu ZJ, McDaid R, Balint K, Beverly LJ, et al. Active Notch1 confers a transformed phenotype to primary human melanocytes. *Cancer Res*. 2009;69(13):5312-20.
43. Richard G, Dalle S, Monet MA, Ligier M, Boespflug A, Pommier RM, et al. ZEB1-mediated melanoma cell plasticity enhances resistance to MAPK inhibitors. *EMBO Mol Med*. 2016;8(10):1143-61.
44. Sauka-Spengler T, Bronner-Fraser M. Development and evolution of the migratory neural crest: a gene regulatory perspective. *Curr Opin Genet Dev*. 2006;16(4):360-6.
45. Senft D, Weber A, Saathoff F, Berking C, Heppt MV, Kammerbauer C, et al. In non-transformed cells Bak activates upon loss of anti-apoptotic Bcl-XL and Mcl-1 but in the absence of active BH3-only proteins. *Cell Death Dis*. 2015;6:e1996.
46. Shakhova O, Zingg D, Schaefer SM, Hari L, Civenni G, Blunski J, et al. Sox10 promotes the formation and maintenance of giant congenital naevi and melanoma. *Nat Cell Biol*. 2012;14(8):882-90.
47. Stauner CT, Drexler K, Berneburg M, Haferkamp S. Complete response to pembrolizumab after initial progress in a patient with metastatic uveal melanoma. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2018;16(11):1376-8.
48. Steeb T, Wessely A, Mastnik S, Brinker TJ, French LE, Niesert AC, et al. Patient Attitudes and Their Awareness Towards Skin Cancer-Related Apps: Cross-Sectional Survey. *JMIR Mhealth Uhealth*. 2019;7(7):e13844.
49. Steeb T, Wessely A, Niesert AC, Ruzicka T, von Braunmuhl T, Berking C, et al. Patient Attitude towards Videodermatoscopy for the Detection of Skin Cancer: A Cross-Sectional Study. *Oncol Res Treat*. 2019;42(6):319-25.
50. Steeb T, Wessely A, Ruzicka T, Heppt MV, Berking C. How to MEK the best of uveal melanoma: A systematic review on the efficacy and safety of MEK inhibitors in metastatic or unresectable uveal melanoma. *Eur J Cancer*. 2018;103:41-51.
51. Theurich S, Rothschild SI, Hoffmann M, Fabri M, Sommer A, Garcia-Marquez M, et al. Local Tumor Treatment in Combination with Systemic Ipilimumab Immunotherapy Prolongs Overall Survival in Patients with Advanced Malignant Melanoma. *Cancer Immunol Res*. 2016;4(9):744-54.

## Referenzen

52. Tietze JK, Angelova D, Heppt MV, Reinholz M, Murphy WJ, Spannagl M, et al. The proportion of circulating CD45RO(+)CD8(+) memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab. *Eur J Cancer*. 2017;75:268-79.
53. Tietze JK, Angelova D, Heppt MV, Ruzicka T, Berking C. Low baseline levels of NK cells may predict a positive response to ipilimumab in melanoma therapy. *Exp Dermatol*. 2017;26(7):622-9.
54. Tietze JK, Forschner A, Loquai C, Mittel-Rink H, Zimmer L, Meiss F, et al. The efficacy of re-challenge with BRAF inhibitors after previous progression to BRAF inhibitors in melanoma: A retrospective multicenter study. *Oncotarget*. 2018;9(76):34336-46.
55. Tschandl P, Codella N, Akay BN, Argenziano G, Braun RP, Cabo H, et al. Comparison of the accuracy of human readers versus machine-learning algorithms for pigmented skin lesion classification: an open, web-based, international, diagnostic study. *Lancet Oncol*. 2019;20(7):938-47.
56. Ugurel S, Thirumaran RK, Bloethner S, Gast A, Sucker A, Mueller-Berghaus J, et al. B-RAF and N-RAS mutations are preserved during short time in vitro propagation and differentially impact prognosis. *PLoS One*. 2007;2(2):e236.
57. van den Boogaard MJ, Dorland M, Beemer FA, van Amstel HK. MSX1 mutation is associated with orofacial clefting and tooth agenesis in humans. *Nat Genet*. 2000;24(4):342-3.
58. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, Bauer J, Gaugler L, O'Brien JM, et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature*. 2009;457(7229):599-602.
59. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363(23):2191-9.
60. Waldmann A, Nolte S, Weinstock MA, Breitbart EW, Eisemann N, Geller AC, et al. Skin cancer screening participation and impact on melanoma incidence in Germany--an observational study on incidence trends in regions with and without population-based screening. *Br J Cancer*. 2012;106(5):970-4.
61. Zabierowski SE, Baubet V, Himes B, Li L, Fukunaga-Kalabis M, Patel S, et al. Direct reprogramming of melanocytes to neural crest stem-like cells by one defined factor. *Stem Cells*. 2011;29(11):1752-62.
62. Zabierowski SE, Fukunaga-Kalabis M, Li L, Herlyn M. Dermis-derived stem cells: a source of epidermal melanocytes and melanoma? *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011;24(3):422-9.

**6. Abkürzungsverzeichnis**

ALM	Akrolentiginöses Melanom
Apps	Applications
ChIP	Chromatin Immunpräzipitation
CRP	C-reaktives Protein
EMT	Epitheliale zu mesenchymale Transition
EMSA	Electromobility Shift Assay
LDH	Laktatdehydrogenase
LMM	Lentigo-maligna-Melanom
MAPK	Mitogen-aktivierter Proteinkinase-Signalweg
MUP	Melanoma of unknown primary tumor
NMM	Noduläres malignes Melanom
REZ	Relative Eosinophilenzahl
RFA	Radiofrequenzablation
SIRT	Selektive interne Radiotherapie
SSM	Superfiziell spreitendes Melanom
siRNA	Small interfering RNA
UV	Ultraviolett
VD	Video-gestützte Dermatoskopie

**7. Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Zelluläre Veränderungen durch Expression des Faktors MSX1 in primären Melanozyten der Haut..... 6

Abbildung 2: Entstehung und Metastasierung des Aderhautmelanoms mit Darstellung der stadiengerechten Therapieansätze. .... 9

Abbildung 3: Prinzip und Präparate der mutationsbasierten, zielgerichteten Therapie mit Kinasehemmstoffen im fortgeschrittenen Melanom (21)..... 10

Abbildung 4: Prinzip und Präparate der Immuncheckpoint-Blockade im fortgeschrittenen Melanom (21). .... 11

Abbildung 5: SOX10 ist ein transkriptioneller Regulator von PMP2. .... 14

Abbildung 6: PMP2 steigert die Invasion von Melanomzellen in einem dreidimensionalen Kontext.. 15

Abbildung 7: Immunstimulatorische siRNAs als neuer therapeutischer Ansatz im Melanom. .... 16

Abbildung 8: Lokalisationsübergreifendes Kollektiv zur Untersuchung von Schleimhautmelanomen anhand einer deutschlandweiten Fallsammlung. .... 19

Abbildung 9: Prognostische Relevanz des etablierten Punktwerts bei Patienten mit Aderhautmelanom unter Therapie mit Immuncheckpoint-Blockade..... 21



## 8. Publikationsverzeichnis der kumulativen Habilitationsschrift

### 8.1. Themenbezogene Publikationen als Erst- oder Letztautor (alphabetisch)

1. Graf SA\*, **Heppt MV\***, Wessely A, Krebs S, Kammerbauer C, Hornig E, Strieder A, Blum H, Bosserhoff AK, Berking C: The myelin protein PMP2 is regulated by SOX10 and drives melanoma cell invasion. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2019 May; 32(3): 424-434. (IF 6,1); DOI 10.1111/pcmr.12760
2. **Heppt MV**, Eigentler TK, Kahler KC, Herbst RA, Goppner D, Gambichler T, et al. Immune checkpoint blockade with concurrent electrochemotherapy in advanced melanoma: a retrospective multicenter analysis. *Cancer Immunol Immunother* 2016; 65(8): 951-959. (IF 4,2); DOI 10.1016/j.ejca.2017.05.038
3. **Heppt MV**, Heinzerling L, Kähler KC, Forschner A, Kirchberger MC, Loquai C, Meissner M, Meier F, Terheyden P, Schell B, Herbst R, Göppner D, Kiecker F, Rafei-Shamsabadi D, Haferkamp S, Huber MA, Utikal J, Ziemer M, Bumeder I, Pfeiffer C, Schäd SG, Schmid-Tannwald C, Tietze JK, Eigentler TK, Berking C: Prognostic factors and outcomes in metastatic uveal melanoma treated with programmed cell death-1 or combined PD-1/cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 inhibition. *Eur J Cancer.* 2017 Jun 23; 82: 56-65. (IF 7,2); DOI 10.1016/j.ejca.2017.05.038
4. **Heppt MV**, Reinholz M, Tietze JK, Kerl K, French LE, Berking C, et al. Clinicopathologic features of primary cutaneous melanoma: a single centre analysis of a Swiss regional population. *Eur J Dermatol* 2015; 25(2): 127-132. (IF 1,9); DOI 10.1684/ejd.2014.2500
5. **Heppt MV**, Roesch A, Weide B, Gutzmer R, Meier F, Loquai C, Kähler KC, Gesierich A, Meissner M, von Bubnoff D, Göppner D, Schlaak M, Pföhler C, Utikal J, Heinzerling L, Cosgarea I, Engel J, Eckel R, Martens A, Mirlach L, Satzger I, Schubert-Fritschle G, Tietze JK, Berking C: Prognostic factors and treatment outcomes in 444 patients with mucosal melanoma. *Eur J Cancer.* 2017 Jun 7; 81: 36-44. (IF 7,2); DOI 10.1016/j.ejca.2017.05.014
6. **Heppt MV**, Siepmann T, Engel J, Schubert-Fritschle G, Eckel R, Mirlach L, Kirchner T, Jung A, Gesierich A, Ruzicka T, Flaig MJ, Berking C: Prognostic significance of BRAF and NRAS mutations in melanoma: a German study from routine care. *BMC Cancer.* 2017 Aug 10; 17: 536. (IF 3,3); DOI 10.1186/s12885-017-3529-5
7. **Heppt MV**, Tietze JK, Reinholz M, Rahimi F, Jung A, Kirchner T, Ruzicka T, Flaig MJ, Berking C: Disease kinetics but not disease burden is relevant for survival in melanoma of unknown primary tumor. *Discov Med.* 2015 Oct; 20(110): 231-7. (IF 2,4); PMID 26562476
8. **Heppt MV**, Wang JX, Hristova DM, Wei Z, Li L, Evans B, Beqiri M, Zaman S, Zhang J, Irmeler M, Berking C, Besch R, Beckers J, Rauscher FJ 3rd, Sturm RA, Fisher DE, Herlyn M, Fukunaga-Kalabis M: MSX1-induced neural crest-like reprogramming promotes melanoma

- progression. *J Invest Dermatol.* 2018 Jan; 138: 141-149. (IF 6,4); DOI 10.1016/j.jid.2017.05.038 (medizinische Doktorarbeit, daher nicht unmittelbar Gegenstand der kumulativen Habilitationsschrift)
9. Kirchberger MC, Kirchberger LF, Eigentler TK, Reinhard R, Berking C, Schuler G, Heinzerling L, **Heppt MV**: Interest in tanning beds and sunscreen in German-speaking countries. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2017 Dec; 15(12): 1192-1198. (IF 3,9); DOI 10.1111/ddg.13380
  10. Matheis F\*, **Heppt MV\***, Graf SA, Düwell P, Kammerbauer C, Aigner A, Besch R, Berking C. A Bifunctional Approach of Immunostimulation and uPAR Inhibition Shows Potent Antitumor Activity in Melanoma. *J Invest Dermatol.* 2016 Dec; 136(12): 2475-2484. (IF 6,4); DOI 10.1016/j.jid.2016.07.026
  11. Steeb T, Wessely A, Niesert AC, Ruzicka T, von Braunmühl T, Berking C, **Heppt MV**: Patient Attitude towards Videodermoscopy for the Detection of Skin Cancer: A Cross-Sectional Study. *Oncol Res Treat.* 2019; 42(6): 319-325. (IF 1,5); DOI 10.1159/000499630
  12. Steeb T, Wessely A, Mastnik S, Brinker TJ, French LE, Niesert AC, Berking C, **Heppt MV**: Patient Attitudes and Their Awareness Towards Skin Cancer-Related Apps: Cross-Sectional Survey. *JMIR Mhealth Uhealth.* 2019 Jul 2; 7(7): e13844. (IF 4,3); DOI 10.2196/13844

\* geteilte Erstautorenschaft

Die jeweiligen Einflussfaktoren (IF) des Publikationsjahrs sind angegeben.

8.2. Themenbezogene Publikationen als Koautor (alphabetisch)

1. Bernardes-Souza B, Patruz Ananias De Assis Pires F, Madeira GM, Felício Da Cunha Rodrigues T, Gatzka M, **Heppt MV**, Omlor AJ, Enk AH, Groneberg DA, Seeger W, von Kalle C, Berking C, Corrêa PCRP, Suhre JL, Alfitian J, Assis A, Brinker TJ: Facial-Aging Mobile Apps for Smoking Prevention in Secondary Schools in Brazil: Appearance-Focused Interventional Study. *JMIR Public Health Surveill.* 2018 Jul 17; 4(3): e10234. (zum Zeitpunkt kein IF vorhanden); DOI 10.2196/10234
2. Brinker TJ, Brieske CM, Esser S, Klode J, Mons U, Batra A, Rütther T, Seeger W, Enk AH, von Kalle C, Berking C, **Heppt MV**, Gatzka MV, Bernardes-Souza B, Schlenk RF, Schadendorf D: A Face-Aging App for Smoking Cessation in a Waiting Room Setting: Pilot Study in an HIV Outpatient Clinic. *J Med Internet Res.* 2018 Aug 15; 20(8): e10976. (IF 4,9); DOI 10.2196/10976
3. Brinker TJ, Heckl M, Gatzka M, **Heppt MV**, Resende Rodrigues H, Schneider S, Sondermann W, de Almeida E Silva C, Kirchberger MC, Klode J, Enk AH, Knispel S, von Kalle C, Stoffels I, Schadendorf D, Nakamura Y, Esser S, Assis A, Bernardes-Souza B: A Skin Cancer Prevention Facial-Aging Mobile App for Secondary Schools in Brazil: Appearance-Focused Interventional Study. *JMIR Mhealth Uhealth.* 2018 Mar 9; 6(3): e60. (IF 4,3); DOI 10.2196/mhealth.9794
4. Fukunaga-Kalabis M, Hristova DM, Wang JX, Li L, **Heppt MV**, Wei Z, Gyurdieva A, Webster MR, Oka M, Weeraratna AT, Herlyn M: UV-Induced Wnt7a in the Human Skin Microenvironment Specifies the Fate of Neural Crest-Like Cells via Suppression of Notch. *J Invest Dermatol.* 2015 Jun; 135(6): 1521-1532. (IF 6,2); DOI 10.1038/jid.2015.59
5. Kirchberger MC, **Heppt MV**, Eigentler TK, Kirchberger MA, Schuler G, Heinzerling L: The tanning habits and interest in sunscreen of Google users: what happened in 12 years? *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2017 Mar; 33(2): 68-74. (IF 2,3); DOI 10.1111/phpp.12289
6. Kirchberger MC, Ugurel S, Mangana J, **Heppt MV**, Eigentler TK, Berking C, Schadendorf D, Schuler G, Dummer R, Heinzerling L: MEK inhibition may increase survival of NRAS-mutated melanoma patients treated with checkpoint blockade: Results of a retrospective multicentre analysis of 364 patients. *Eur J Cancer.* 2018 Jul; 98: 10-16. (IF 7,2), DOI 10.1016/j.ejca.2018.04.010
7. Moreira A, Loquai C, Pföhler C, Kähler KC, Knauss S, **Heppt MV**, Gutzmer R, Dimitriou F, Meier F, Mittel-Rink H, Schuler G, Terheyden P, Thoms KM, Türk M, Dummer R, Zimmer L, Schröder R, Heinzerling L: Myositis and neuromuscular side-effects induced by immune checkpoint inhibitors. *Eur J Cancer.* 2019 Jan; 106: 12-23. (IF 7,2); DOI 10.1016/j.ejca.2018.09.033

8. Senft D, Weber A, Saathoff F, Berking C, **Heppt MV**, Kammerbauer C, Rothenfusser S, Kellner S, Kurgyis Z, Besch R, Häcker G: In non-transformed cells Bak activates upon loss of anti-apoptotic Bcl-XL and Mcl-1 but in the absence of active BH3-only proteins. *Cell Death Dis.* 2015 Nov 26; 6: e1996. (IF 6,0); DOI 10.1038/cddis.2015.341
9. Tietze JK, Angelova D, **Heppt MV**, Reinholz M, Murphy WJ, Spannagl M, Ruzicka T, Berking C: The proportion of circulating CD45RO<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> memory T cells is correlated with clinical response in melanoma patients treated with ipilimumab. *Eur J Cancer.* 2017 Apr; 75: 268-279. (IF 7,2); DOI 10.1016/j.ejca.2016.12.031
10. Tietze JK, Angelova D, **Heppt MV**, Ruzicka T, Berking C: Low baseline levels of NK cells may predict a positive response to ipilimumab in melanoma therapy. *Exp Dermatol.* 2017 Jul; 26(7): 622-629. (IF 3,7); DOI 10.1111/exd.13263
11. Tietze JK, Forschner A, Loquai C, Mitzel-Rink H, Zimmer L, Meiss F, Rafei-Shamsabadi D, Utikal J, Bergmann M, Meier F, Kreuzberg N, Schlaak M, Weishaupt C, Pföhler C, Ziemer M, Fluck M, Rainer J, **Heppt MV**, Berking C: The efficacy of re-challenge with BRAF inhibitors after previous progression to BRAF inhibitors in melanoma: A retrospective multicenter study. *Oncotarget.* 2018 Sep 28; 9(76): 34336-34346. (IF 5,2); DOI 10.18632/oncotarget.26149

Die jeweiligen Einflussfaktoren (IF) des Publikationsjahrs sind angegeben.

8.3. Themenbezogene Übersichtsartikel (alphabetisch)

1. **Heppt MV**, Dietrich C, Graf SA, Ruzicka T, Tietze JK, Berking C: The Systemic Management of Advanced Melanoma in 2016. *Oncol Res Treat.* 2016; 39(10): 635-642. (IF 1,4); DOI 10.1159/000448904
2. **Heppt MV**, Steeb T, Schlager JG, Rosumeck S, Dressler C, Ruzicka T, Nast A, Berking C: Immune checkpoint blockade for unresectable or metastatic uveal melanoma: A systematic review. *Cancer Treat Rev.* 2017 Nov; 60: 44-52. (IF 8,7); DOI 10.1016/j.ctrv.2017.08.009
3. **Heppt MV**, Tietze JK, Graf SA, Berking C: Combination therapy of melanoma using kinase inhibitors. *Curr Opin Oncol.* 2015 Mar; 27(2): 134-40. (IF 4,6); DOI 10.1097/CCO.0000000000000160

8.4. Themenbezogene Fallberichte und Fallserien (alphabetisch)

1. **Heppt MV**, Goldscheider I, Tietze JK, Berking C: Intralesional interleukin-2 for unresectable mucosal melanoma refractory to nivolumab. *Cancer Immunol Immunother.* 2017 Oct; 66(10): 1377-1378. (IF 4,9); DOI 10.1007/s00262-017-2012-0
2. **Heppt MV**, Schlaak M, Eigentler TK, Kähler KC, Kiecker F, Loquai C, Meier F, Tomsitz D, Brenner N, Niesert AC, Thonke R, Hauschild A, Berking C: Checkpoint blockade for metastatic melanoma and Merkel cell carcinoma in HIV-positive patients. *Ann Oncol.* 2017 Dec 1; 28(12): 3104-3106. (IF 13,9); DOI 10.1093/annonc/mdx538

Die jeweiligen Einflussfaktoren (IF) des Publikationsjahrs sind angegeben.

## **9. Danksagung**

Mein größter Dank gilt meiner langjährigen Mentorin und akademischen Mutter Prof. Dr. med. Carola Berking, die mich seit mehr als 10 Jahren uneingeschränkt unterstützt und mir außergewöhnliche personelle, organisatorische und technische Rahmenbedingung zur Durchführung dieser Habilitation ermöglicht hat. Ebenso bin ich meinen ehemaligen akademischen Lehrern Prof. Dr. med. Lars E. French und Prof. Dr. med. Dr. h.c. mult. Thomas Ruzicka für ihre stets unterstützende und wohlwollende Begleitung meiner klinischen und wissenschaftlichen Entwicklung zu Dank verpflichtet. Für die hervorragende Arbeit zur Umsetzung der Projekte möchte ich mich besonders bei Claudia Kammerbauer, Anja Wessely und Theresa Steeb für ihre Sorgfalt, großes Engagement und stets angenehme Zusammenarbeit bedanken. Weiterhin möchte ich dankend unsere Kollaborationspartner Prof. Dr. med. Lucie Heinzerling, Prof. Dr. med. Julia Tietze, Dr. med. Michael Kirchberger und PD Dr. med. Markus Reinholz erwähnen, mit denen zahlreiche Projekte in fruchtbarer und kollegialer Zusammenarbeit durchgeführt werden konnten, sowie Prof. Dr. rer. nat. Andreas Jung zusätzlich für die engagierte Begleitung meiner Habilitation im Rahmen des Fachmentorats. Nicht zuletzt gilt meiner Familie und speziell Ludwig Seefried der allergrößte Dank für ihren bedingungslosen Rückhalt, Unterstützung und guten Zuspruch in Zeiten des Zweifels und der Unsicherheit.