

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik II des
Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktorin: Prof. Dr. med. Julia Mayerle

Präklinische und klinische Strategien zur Verbesserung der systemischen Therapie von gastrointestinalen Tumoren



Kumulative Habilitationsschrift

zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Experimentelle Innere Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
vorgelegt von

Dr. med. Najib Ben Khaled
2025

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen	5
1. Einleitung.....	6
2. Wissenschaftliche Arbeiten	8
Teilprojekt 1: Systemtherapeutische Optionen beim fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinom: klinische Verläufe, Toxizitätsprofile und Patientenergebnisse	8
Teilprojekt 2: Biomarker-orientierte Identifikation von neuartigen synergistischen Kombinationstherapien bei gastrointestinalen Tumoren	15
3. Diskussion	18
3.1 Systemtherapeutische Optionen beim fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinom: klinische Verläufe, Toxizitätsprofile und Patientenergebnisse	18
3.2 Biomarker-orientierte Identifikation von neuartigen synergistischen Kombinationstherapien bei gastrointestinalen Tumoren	22
4. Zusammenfassung und Ausblick	25
5. Referenzen.....	28
6. Literaturverzeichnis	35
6.1 Originalpublikationen als Erst- oder Letztautor.....	35
6.2 Originalpublikationen als Koautor.....	36
6.3 Kasuistiken/Case reports.....	40
6.4 Übersichtsartikel/Reviews	41
6.5 Buchkapitel/Book chapters	41
6.6 Sonstige Veröffentlichungen (z. B. Letters to the Editor).....	41
7. Versicherung an Eides statt und Erklärung zur schriftlichen Habilitationsleistung	43
8. Danksagung	45
9. Lebenslauf.....	46
10. Liste zugrunde liegender Arbeiten.....	47

Es wird eine kumulative Habilitationsleistung angestrebt, welche die Inhalte der folgenden Originalarbeiten zusammenfasst und in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext einordnet:

Ben Khaled N, Möller M, Jochheim LS, Leyh C, Ehmer U, Böttcher K, Pinter M, Balcar L, Scheiner B, Weich A, Leicht H, Zarka V, Ye L, Schneider J, Piseddu I, Öcal O, Rau M, Sinner F, Venerito M, Gairing S, Förster F, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Atezolizumab/bevacizumab or lenvatinib in hepatocellular carcinoma: Multi-center real world study with focus on bleeding and thromboembolic events. J Hep Reports. IF 9,5. 2024

Ben Khaled N, Zarka V, Hobeika B, Schneider J, Rau M, Weich A, Leicht H, Ye L, Piseddu I, Dill MT, Kandulski A, Pinter M, Ehmer U, Schirmacher P, Marquardt JU, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Therapeutic sequences of systemic therapy after atezolizumab plus bevacizumab for hepatocellular carcinoma: Real-World analysis of the IMMUreal cohort. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. IF 6,6. 2025

Roessler D, Öcal O, Philipp AB, Markwardt D, Munker S, Mayerle J, Jochheim LS, Hammer K, Lange CM, Geier A, Seidensticker M, Reiter FP, De Toni EN, **Ben Khaled N**. Ipilimumab and nivolumab in advanced hepatocellular carcinoma after failure of prior immune checkpoint inhibitor-based combination therapies: a multicenter retrospective study. J Cancer Res Clin Oncol. IF 2,7. 2023

Ben Khaled N, Mörtl B, Beier D, Reiter FP, Pawlowska-Phelan D, Teufel A, Rössler D, Schwade DF, Philipp A, Kubisch I, Ehmer U, Geier A, Lange CM, Mayerle J, Berger-Thürmel K, De Toni EN, Munker S. Changing treatment landscape associated with improved survival in advanced hepatocellular carcinoma: a nationwide, population-based study. Eur J Cancer. IF 7,6. 2023

Ben Khaled N, Hammer K, Ye L, Alnatsha A, Widholz SA, Piseddu I, Sirtl S, Schneider J, Munker S, Mahajan UM, Montero JJ, Griger J, Mayerle J, Reiter FP, De Toni EN. TRAIL Receptor Targeting Agents Potentiate PARP Inhibitor Efficacy in Pancreatic Cancer Independently of BRCA2 Mutation Status. Cancers. IF 5,2. 2022

Griger J, Widholz SA, Jesinghaus M, de Andrade Krätzig N, Lange S, Engleitner T, Montero JJ, Zhigalova E, Öllinger R, Suresh V, Winkler W, Lier S, Baranov O, Trozzo R, **Ben Khaled N**, Chakraborty S, Yu J, Konukiewicz B, Steiger K, Pfarr N, Rajput A, Sailer D, Keller G, Schirmacher P, Röcken C, Fagerstedt KW, Mayerle J, Schmidt-

Supprian M, Schneider G, Weichert W, Calado DP, Sommermann T, Klöppel G, Rajewsky K, Saur D, Rad R. An integrated cellular and molecular model of gastric neuroendocrine cancer evolution highlights therapeutic targets. *Cancer Cell*. IF 48,8. 2023

Weitere Publikationen des Habilitanden ohne Nennung in der kumulativen Habilitationsschrift:

Ben Khaled N, Seidensticker M, Ricke J, Mayerle J, Oehrle B, Rössler D, Teupser D, Ehmer U, Bitzer M, Waldschmidt D, Fuchs M, Reuken PA, Lange CM, Wege H, Kandulski A, Dechêne A, Venerito M, Berres ML, Luedde T, Kubisch I, Reiter FP, De Toni EN. Atezolizumab and bevacizumab with transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma: the DEMAND trial protocol. *Future Oncology*. IF 3,4. 2022

Ben Khaled N*, Schulz C*, Alunni-Fabbroni M, Bronny K, Jochheim LS, Kalali B, Öcal O, Seidensticker M, Piseddu I, Enssle S, Karin M, Schneider JS, Strasoldo-Graffemberg T, Koch N, Macke L, Reiter FP, Lange CM, Wang Y, De Toni EN, Gerhard M, Mayerle J, Ricke J, Malfertheiner P. Impact of *Helicobacter pylori* on immune checkpoint inhibition in hepatocellular carcinoma: a multicenter study. ***Geteilte Erstautorenschaft**. *Digestion*. IF 3,5. 2025

Pritsch M*, **Ben Khaled N***, Liegl G, Schubert S, Hoelscher M, Woischke C, Arens N, Thorn-Seshold J, Kammermeier S, Wieser A. Rapid prototyping vaccine approach in mice against multi-drug resistant Gram-negative organisms from clinical isolates based on outer membrane vesicles. ***Geteilte Erstautorenschaft**. *Microbiol Immunol*. IF 2,9. 2021

Abkürzungen

Bcl-2	B-cell lymphoma 2
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large
Bid	BH3-interacting domain death agonist
Bim	Bcl-2-interacting mediator of cell death
BRCA1/2	Breast Cancer Gene 1/2
Caspase	CysteinyI Aspartate-Specific Protease
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
FASN	Fatty Acid Synthase
FGFR2	Fibroblast Growth Factor Receptor 2
G-NEC	Gastric Neuroendocrine Carcinoma
GI	Gastrointestinal
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
ICI	Immuncheckpointinhibitor
KIT	Tyrosin-Protein-Kinase Kit
KRAS	Kirsten Rat Sarcoma
Mcl-1	Myeloid Cell Leukemia 1
MYC	Myelocytomatosis Viral Oncogene
OS	Overall Survival
PARP	Poly(ADP-Ribose)-Polymerase
PD-1/PD-L1	Programmed Cell Death 1/Programmed Cell Death-Ligand 1
PFS	Progression-Free Survival
RNA	Ribonukleinsäure
TKI	Tyrosinkinaseinhibitor
TRAIL	Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGF-R2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2

1. Einleitung

Gastrointestinale (GI) Tumorerkrankungen tragen zu etwa 25% der weltweiten Krebsinzidenz bei und verursachen ca. 35% aller krebisbedingten Todesfälle (1). Die meisten Patienten mit GI-Tumoren schreiten in ihrem Krankheitsverlauf in ein fortgeschrittenes Stadium voran (2-7). In fortgeschrittenen Stadien dieser Entitäten ist eine kurative Therapie, z.B. durch Resektion, meist nicht mehr möglich (2-7). Die Standardbehandlung fortgeschrittener GI-Tumore besteht in der Systemtherapie (2-7). Die Ergebnisse der Standardtherapien sind eingeschränkt und die 5-Jahres Überlebensraten in fortgeschrittenen Stadien reichen von etwa 13% (Kolorektales Karzinom) bis 3% (Hepatozelluläres Karzinom, Cholangiozelluläres Karzinom, Pankreaskarzinom) (8). Molekular-zielgerichtet behandelbare genetische Alterationen finden sich nur bei einer kleinen Teilmenge der Patienten (2-7). Dies unterstreicht die Notwendigkeit, wirksamere Strategien für die Behandlung von Patienten mit GI-Tumoren zu entwickeln.

Immuncheckpointinhibitor(ICI)-basierte Behandlungen haben die systemische Tumorthherapie der letzten Dekade geprägt und vielen Patienten mit Tumorerkrankungen zu einer längeren Lebensdauer verholfen (9-11). Immuncheckpoint-Proteine und die ihnen nachgeschalteten Signalwege inhibieren die Aktivierung und Effektorfunktion von antitumoralen Zellen des adaptiven und angeborenen Immunsystems (9, 10). Im Bereich der GI-Tumoren konnten sich ICI unter anderem in der Erstlinienbehandlung des fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinoms (HCC) etablieren (10, 12-15). Der Programmed Cell Death-Ligand 1 (PD-L1)-Inhibitor Atezolizumab und der Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Inhibitor Bevacizumab wurden als erstes immuntherapeutisches Regime für die Erstlinientherapie von Patienten mit inoperablem HCC zugelassen (10, 12, 16, 17). In einer globalen Phase III Studie verbesserten Atezolizumab und Bevacizumab das Überleben im Vergleich zu Sorafenib deutlich, mit einem medianen Überleben von 19,2 Monaten gegenüber 13,4 Monaten mit Sorafenib (12, 16). Die doppelte Checkpoint-Blockade mit dem PD-L1-Inhibitor Durvalumab und dem Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4 (CTLA-4)-Inhibitor Tremelimumab erwies sich in der Phase III Studie HIMALAYA als weitere wirksame Behandlungsoption für die Erstlinienbehandlung von Patienten mit HCC (10, 13, 18, 19). Die Patienten in klinischen Studien sind strengen Selektionskriterien in Hinblick auf Leberfunktion, Komorbiditäten und Allgemeinzustand unterworfen und repräsentieren nicht die Patienten des klinischen Alltags (20). Dies macht es dringend notwendig, die Effektivität und Sicherheit der neuartigen Kombinationstherapien in der klinischen

Praxis zu untersuchen, mit dem Ziel die Ergebnisse dieser Behandlungen in der klinischen Routine zu verbessern.

Neben dem Einsatz von ICI können auch neuartige Kombinationstherapien die Ergebnisse der Systemtherapie bei Patienten mit GI-Tumoren verbessern (21, 22). Die Effektivität aktueller Systemtherapien wird häufig durch Resistenzen eingeschränkt (21). Zum einen können Tumore teils primär gegenüber einer Substanz resistent sein (23). Zum anderen kommt es bei initial Therapie-sensitiven Tumoren im Verlauf der Behandlung häufig zum Akquirieren von Resistenz (23). Diese Therapieresistenzen sind oft auf die Aktivierung kompensatorischer onkogener Signalwege als adaptive Überlebensmechanismen der Tumorzellen zurückzuführen (23). Kombinationstherapien können das Ansprechen durch synthetisch-letale, synergistische oder additive Interaktionen verbessern (24, 25). In geeigneten Kombinationen können durch Wirkstoffe Resistenzen erfolgreich überwunden werden, indem Ausweichsignalwege blockiert werden, die von den Tumorzellen als Fluchtmechanismus genutzt werden (24, 26). Außerdem können Kombinationen eine Verringerung der Dosis jedes einzelnen Therapiebestandteils ermöglichen, um die behandlungsbedingte Toxizität zu mindern und die Lebensqualität zu verbessern (24). Bei Tumorerkrankungen des blutbildenden Systems können Kombinationstherapien selbst in fortgeschrittenen Tumorstadien noch kuratives Potenzial haben (27-29). Leider trifft dies nicht auf GI-Tumorerkrankungen zu. Dies betont die Notwendigkeit neue, wirksamere Kombinationstherapien für die Behandlung von GI-Tumoren zu entwickeln.

Das Ziel dieser Habilitationsschrift ist die Untersuchung von molekularen Mechanismen und von translationalen sowie klinischen Strategien zur Verbesserung der Ergebnisse von Systemtherapien bei GI-Tumoren. Hierfür werden in vitro Techniken (Zellkultur, 3D-Organoidmodelle), funktionelle Assays und fortgeschrittene Mausmodelle der molekularen Onkologie herangezogen, sowie Biomaterialien von Patienten mit GI-Tumoren mittels Hochdurchsatzmethoden untersucht und große, multizentrische Kohortenstudien eingesetzt. Außerdem nutzen wir internationale Forschungskollaborationen im grundlagenwissenschaftlichen und klinischen Bereich, um ein tiefergehendes Verständnis kontextabhängiger Synergien und Toxizitäten onkologischer Systemtherapien für die Behandlung von GI-Tumoren zu gewinnen mit dem Ziel diese therapeutisch ausnutzbar zu machen und in der Klinik anwenden zu können.

2. Wissenschaftliche Arbeiten

Teilprojekt 1: Systemtherapeutische Optionen beim fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinom: klinische Verläufe, Toxizitätsprofile und Patientenergebnisse

In der letzten Dekade kam es zu signifikanten Veränderungen der Therapielandschaft in der systemischen Behandlung des fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinoms (HCC) (30). Nachdem 2007 mit dem Tyrosinkinaseinhibitor (TKI) Sorafenib die erste wirksame Systemtherapie beim HCC etabliert werden konnte (31, 32), wurde 2018 mit Lenvatinib ein weiterer TKI als Alternative in der Erstlinienbehandlung zugelassen (33). Zwei weitere TKI, Regorafenib und Cabozantinib, und der VEGF-Rezeptor-2-Inhibitor Ramucirumab wurden in der Zweitlinie nach Progress auf Sorafenib in großen, randomisierten Phase III Studien untersucht und erlangten in den Folgejahren Zulassungen als Zweitlinienoptionen (34-36). Im Jahr 2020 konnte die immunonkologische Kombinationstherapie aus PD-L1-Inhibitor Atezolizumab und VEGF-Inhibitor Bevacizumab zum ersten Mal eine Verbesserung des OS und PFS gegenüber dem Erstlinienstandard Sorafenib aufzeigen (12, 16). Zwei Jahre darauf konnte mit der doppelten Checkpointblockade aus PD-L1-Inhibitor Durvalumab und CTLA-4-Inhibitor Tremelimumab ein weiteres Regime in der Erstlinienbehandlung etabliert werden (13). Der Nutzen der neuartigen TKI und immunonkologischen Regime konnte in großen, randomisierten Phase III Studien etabliert werden. HCC-Kohorten aus der klinischen Praxis sind häufig älter, multimorbider und weisen eine schlechtere Leberfunktion auf als Studienkollektive (20). Daher ist es imperativ, die Patientenergebnisse in der klinischen Praxis zu untersuchen.

Bei Patienten mit HCC besteht auf Grund der meist vorhandenen chronischen Lebererkrankung ein relevantes Risiko für Blutungen und thromboembolische Ereignisse (37-39). Dies ist insbesondere im klinischen Alltag relevant, wo viele Patienten sich mit Risikofaktoren für Blutungen, z.B. Einnahme von Antikoagulantien, oder für Thromboembolien, z.B. Immobilität, präsentieren (39). VEGF-Inhibition mittels Bevacizumab oder TKI führt zu einer Beeinträchtigung der Integrität von Blutgefäßen (40, 41). Freigelegtes subendotheliales Kollagen kann zu thromboembolischen Ereignissen führen, gleichzeitig kann die Hemmung der Gefäßreparatur Blutungen verstärken (42). Sowohl das Kombinationsregime Atezolizumab/Bevacizumab als auch die Alternative in der Erstlinie Lenvatinib führen zu einer potenten VEGF-Inhibition unter der Therapie (39, 43-45). Hierbei unterscheiden sich Lenvatinib und Bevacizumab in der Wirkweise ihrer VEGF-Inhibition. Bevacizumab bindet als monoklonaler Antikörper VEGF-A und verhindert die Bindung des Liganden an den VEGF-Rezeptor-1 und -2 (42), wohingegen Lenvatinib die Signalweiterleitung des

VEGF-gebundenen Rezeptors inhibiert (43-45). Insbesondere gegenüber dem Einsatz von Bevacizumab bestehen bei Patienten mit erhöhtem Blutungsrisiko Sicherheitsbedenken auf Basis früherer Daten beim HCC (46). Wir konnten ein großes, europäisches Register von Patienten mit HCC unter Atezolizumab/Bevacizumab und Lenvatinib mit Fokus auf Blutungen und Thromboembolien aufbauen (Abb. 1A) (39). Mittels dieses Registers konnte erstmals die Rate dieser klinisch bedeutsamen unerwünschten Ereignisse beider Therapien verglichen und Risikofaktoren für die Events bestimmt werden. Die Blutungsepisoden und thromboembolischen Events zeigten hier keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden Therapien (Abb. 1B). Als Risikofaktoren für Blutungen konnten

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann diese Abbildung der Originalpublikation nicht abgedruckt werden. Es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

Ben Khaled N, Möller M, Jochheim LS, Leyh C, Ehmer U, Böttcher K, Pinter M, Balcar L, Scheiner B, Weich A, Leicht H, Zarka V, Ye L, Schneider J, Piseddu I, Öcal O, Rau M, Sinner F, Venerito M, Gairing S, Förster F, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Atezolizumab/bevacizumab or lenvatinib in hepatocellular carcinoma: Multi-center real world study with focus on bleeding and thromboembolic events. J Hep Reports. 2024

Abbildung 1. (A) Graphische Zusammenfassung des Studiendesigns. (B) Primärer Endpunkt Blutungen und Thromboembolien innerhalb der ersten drei Monate nach Therapiestart mit Atezolizumab/Bevacizumab versus Lenvatinib. Der Fisher-Exact-Test wurde für den Vergleich von kategorischen Variablen verwendet. (C) Medianes Gesamtüberleben und Progressions-freies Überleben mit Atezolizumab/Bevacizumab versus Lenvatinib. Zur Berechnung der Überlebenszeiten wurde eine Kaplan-Meier-Analyse durchgeführt. Das Überleben wurde mit dem Log-Rank-Test verglichen. Abkürzungen: Atezo/bev, Atezolizumab/Bevacizumab; CI, Konfidenzintervall; HR, Hazard Ratio; N, Nummer; n, Stichprobengröße; OR, Odds Ratio. Ben Khaled et al. J Hep Reports 2024.

frühere Varizenblutungen, hochgradige Varizen, die Milzgröße und Antikoagulation herausgearbeitet werden. Interessanterweise waren die Thrombozytenanzahl, der Grad der Zirrhose und die Einnahme von Plättcheninhibitoren nicht mit einem erhöhten

Blutungsrisiko assoziiert. Bezüglich der Effektivität zeigte sich kein signifikant unterschiedliches OS und PFS zwischen Atezolizumab/Bevacizumab und Lenvatinib (Abb. 1C), bei höheren Ansprechraten mit Atezolizumab/Bevacizumab. Mit dieser Arbeit konnten wir zusammenfassend zeigen, dass entgegen der gängigen klinischen Annahme Bevacizumab kein erhöhtes Risiko für Blutungen und Thromboembolien im Vergleich zur alternativen Behandlung mit Lenvatinib zeigt. Somit müssen andere Faktoren, wie beispielsweise die höhere Ansprechrates, in die klinische Entscheidungsfindung einbezogen werden.

Die Kombination aus PD-L1 Inhibitor Atezolizumab und VEGF-Inhibitor Bevacizumab zeigte in der Erstlinienbehandlung des HCC eine deutlich höhere Effektivität bei guter Verträglichkeit verglichen mit der Standardtherapie Sorafenib (12). Der Einzug dieses Regimes in die Erstlinienbehandlung führte zu einem therapeutischen Dilemma, da die bisherigen Zweitlinienoptionen Regorafenib, Cabozantinib und Ramucirumab ausschließlich nach Progress auf Sorafenib untersucht waren (34-36). Mittels zweier Arbeiten konnten wir wissenschaftliche Evidenz für Zweitlinienoptionen schaffen.

In einer multizentrischen Kohortenstudie aus Patienten mit HCC nach Erstlinienbehandlung mit Atezolizumab/Bevacizumab untersuchten wir Ergebnisse, Behandlungsmuster, und Toxizität der sequentiellen Behandlung (Abb. 2A) (47). Das mediane OS in der Kohorte ab Beginn von Atezolizumab/Bevacizumab betrug 19,8 Monate (Abb. 2D) mit einer Ansprechrates von 31,5%. Diese Ergebnisse waren ähnlich zu den Daten der Zulassungsstudie (12). Die häufigsten Gründe für einen Abbruch der Erstlinienbehandlung waren Progress (48,9%), Tod (23,9%), Toxizität (8,7%) und Patientenwunsch (4,3%). Weniger als die Hälfte der Patienten erhielt eine Zweitlinientherapie und nur ca. 20% bzw. 2% eine Dritt- und Viertlinienbehandlung (Abb. 2B). Hierbei war eine schlechtere Leberfunktion zu Beginn der Behandlung signifikant mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit assoziiert, eine sequentielle Therapie erhalten zu können. Die häufigsten Agenzien in der Zweitlinienbehandlung waren die TKI Sorafenib und Lenvatinib, wobei sich kein signifikanter Unterschied im OS der beiden Therapien zeigte. Wir konnten eine zunehmende Verschlechterung der Patientenergebnisse mit fortschreitenden Therapielinien nach Atezolizumab/Bevacizumab beobachten, mit einem OS von 5,0 Monaten in der Zweitlinie und 4,1 Monaten in der Drittlinie (Abb. 2D). Darüber hinaus konnten wir eine signifikante Abnahme der Therapiedauer und eine Verschlechterung der Leberfunktion über die Therapielinien beobachten (Abb. 2C). Die Ergebnisse unserer Studie zeigten auf, dass eine Sequenztherapie nur für einen Teil der Patienten mit HCC nach Atezolizumab/Bevacizumab möglich ist. Der Erhalt der Leberfunktion dieser Patienten

scheint die wichtigste Determinante für eine Optimierung der Therapiesequenzierung zu sein und könnte dazu beitragen, die Ergebnisse der Patienten zu verbessern.

Neben dieser großen Kohortenstudie zu den möglichen Therapiesequenzen nach

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann diese Abbildung der Originalpublikation nicht abgedruckt werden. Es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

Ben Khaled N, Zarka V, Hobeika B, Schneider J, Rau M, Weich A, Leicht H, Ye L, Piseddu I, Dill MT, Kandulski A, Pinter M, Ehmer U, Schirmacher P, Marquardt JU, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Therapeutic sequences of systemic therapy after atezolizumab plus bevacizumab for hepatocellular carcinoma: Real-World analysis of the IMMUreal cohort. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2025

Abbildung 2. (A) Graphische Zusammenfassung des Studiendesigns. (B) Therapeutische Pfade der sequentiellen systemischen Therapie bei Patienten mit fortgeschrittenem HCC nach Atezolizumab/Bevacizumab (n=124). (C) Therapiedauer und Leberfunktion gemessen am ALBI-Score unter einer Sequenztherapie (ANOVA). (D) Gesamtüberleben ab Start der jeweiligen Therapielinie (Kaplan-Meier Analyse). Die 95%-Konfidenzintervalle sind als gestrichelte Linien dargestellt. Abkürzungen: ****, p<0.0001; ***, p<0.001; **, p<0.01; *, p<0.05; ALBI, Albumin-Bilirubin; Atezo/Bev, Atezolizumab/Bevacizumab; BSC, Best Supportive Care; CPI, checkpoint inhibitor; Durva/Treme, Durvalumab/Tremelimumab; Ipi/Nivo, Ipilimumab/Nivolumab; TKI, Tyrosinkinaseinhibitor. Ben Khaled et al. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2025.

Atezolizumab/Bevacizumab untersuchten wir vor dem Hintergrund der Effektivität der doppelten Checkpointblockade auch die Sequenz aus PD-1/PD-L1- und VEGF-Inhibition gefolgt von PD-1/CTLA-4-Blockade (48). In einer multizentrischen Studie konnten wir zeigen, dass die Hinzunahme der CTLA-4-Inhibition mit Ipilimumab unter Beibehaltung der PD-1-Inhibition mit Nivolumab nach vorheriger PD-1/PD-L1- und VEGF-Inhibition effektiv sein kann mit einer Ansprechrate von 30%, und einem medianen OS von 7,4 Monaten (48). Der anti-PD-1 Nivolumab und anti-CTLA-4 Ipilimumab zeigten in einer Phase II Studie eine antitumorale Effektivität nach Vorbehandlung mit Sorafenib bei Patienten mit fortgeschrittenem HCC (49). Unsere multizentrische Kohortenstudie gibt somit auch eine Rationale für die prospektive

Evaluation der Therapiesequenz Atezolizumab/Bevacizumab gefolgt von Ipilimumab und Nivolumab in Patienten mit fortgeschrittenem HCC.

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann diese Abbildung der Originalpublikation nicht abgedruckt werden. Es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

Ben Khaled N, Mörtl B, Beier D, Reiter FP, Pawlowska-Phelan D, Teufel A, Rössler D, Schwade DF, Philipp A, Kubisch I, Ehmer U, Geier A, Lange CM, Mayerle J, Berger-Thürmel K, De Toni EN, Munker S. Changing treatment landscape associated with improved survival in advanced hepatocellular carcinoma: a nationwide, population-based study. Eur J Cancer. 2023

Abbildung 3. (A) Verschreibungen von HCC-Systemtherapien nach Jahr in einer deutschlandweiten, repräsentativen Datenbank. Die Zulassungen der jeweiligen Systemtherapien werden auf der Zeitachse durch die Medikamentennamen dargestellt. Das Balkendiagramm zeigt die Anzahl der Patienten mit mindestens einer Verschreibung für jedes Medikament im jeweiligen Jahr. Statistik mittels Chi-Quadrat-Test. (B) Mittlere Gesundheitskosten pro Patient pro Jahr in Euro. (C) Baseline Charakteristika und (D) Gesamtüberleben von Patienten mit HCC und Systemtherapie in Periode A versus Periode B. Statistik mittels Fisher-Exact-Test, t-Test, Kaplan-Meier Analyse, Log-Rank Test. (E) Baseline Charakteristika und (F) Gesamtüberleben von Patienten mit HCC unter Lenvatinib versus Sorafenib in der Erstlinie. Statistik mittels Fisher-Exact-Test, t-Test, Kaplan-Meier Analyse, Log-Rank Test. Abkürzungen: CI, Konfidenzintervall; HR, Hazard Ratio; HBV, Hepatitis B Virus; HCV, Hepatitis C Virus; NAFL, Nicht-alkoholische Fettleber; NASH, Nicht-alkoholische Steatohepatitis; na, nicht anwendbar; No., Nummer; ns, nicht signifikant; SD, Standardabweichung. Ben Khaled et al. Eur J Cancer 2023.

Über die genannten multizentrischen Kohortenstudien nutzten wir außerdem eine deutschlandweite, repräsentative Datenbank mit 5 Millionen Individuen, um die Charakteristika, Ergebnisse und Gesundheitskosten von Patienten mit HCC unter Systemtherapie transsektoral zu untersuchen (30). Im Beobachtungszeitraum von 2015 bis 2020 konnten wir insgesamt 2876 Patienten mit HCC in der Datenbank identifizieren. In unserer Analyse konnten wir zeigen, dass der Anteil der Patienten unter einer Systemtherapie im Beobachtungszeitraum von 2015 bis 2020 signifikant von 11,8% auf 15,1% zunahm ($p=0,005$). Die Zulassung neuer Systemtherapeutika wie Lenvatinib in der Erstlinientherapie, und Cabozantinib sowie Ramucirumab in der Zweitlinienbehandlung führte zu einem Einzug dieser Medikamente in den klinischen Alltag (Abb. 3A). Sorafenib verblieb das meist verschriebene Agens ($n=417$), gefolgt von Lenvatinib ($n=110$). In einem nächsten Schritt untersuchten wir, ob sich die Zulassung und der vermehrte Einsatz von verschiedenen Systemtherapeutika positiv auf das Überleben von Patienten mit HCC auswirkte in einer bundesweiten, für die deutsche Bevölkerung repräsentativen Kohorte. Wir identifizierten 460 Patienten mit HCC, die im Studienzeitraum mit einer systemischen Erstlinientherapie begonnen hatten. Diese Patienten wurden nach dem Zeitpunkt des Behandlungsbeginns gruppiert, wobei die Zulassung von Lenvatinib als Stichtag für die beiden Untergruppen definiert wurde. Wir wählten das Zulassungsdatum von Lenvatinib als Stichtag für die beiden Untergruppen, weil (1) in unserer Datenbank keine Verschreibungen für das zuvor zugelassene Regorafenib identifiziert werden konnten (Abb. 3A) und (2) sich das Spektrum der verschriebenen HCC-Medikamente ab Ende 2018 deutlich über Sorafenib hinaus erweitert hat (Abb. 3A). Entsprechend wurden die folgenden Zeiträume definiert: Periode A (01/2015 - 07/2018, $n=255$), Periode B (08/2018 - 12/2020, $n=205$). Die Charakteristika der Patienten in beiden Zeiträumen waren ähnlich in Bezug auf Demographie, Leberfunktion und Tumorstatus (Abb. 3C). Das OS in der gesamten Kohorte betrug 5,5 Monate. In Periode B wurde ein längeres OS von 6,5 Monaten im Vergleich zu Periode A mit einem OS von 5,3 Monaten festgestellt ($p=0,046$) (Abb. 3D). Der statistisch signifikante Unterschied persistierte auch nach multivariater Cox Regressionsanalyse ($p=0,0196$). Darüber hinaus verglichen wir auch die Ergebnisse einer Erstlinientherapie mit Sorafenib versus Lenvatinib nach dem Zulassungsdatum von Lenvatinib. 102 Patienten wurden im Beobachtungszeitraum mit Sorafenib und 103 mit Lenvatinib behandelt. Es gab keine statistisch signifikanten Unterschiede in den Patientencharakteristika zwischen beiden Gruppen (Abb. 3E). Lenvatinib zeigte im Vergleich zu Sorafenib ein längeres Gesamtüberleben (Abb. 3F). Das OS mit Lenvatinib betrug 9,7 Monate versus 4,8 Monate mit Sorafenib ($p=0,008$). Eine multivariate Cox-Regressionsanalyse bestätigte, dass die Behandlung mit Lenvatinib ein unabhängiger, statistisch signifikanter Faktor für ein längeres Überleben

war ($p=0,001$). Nachdem wir zeigen konnten, dass die Zulassung und Implementation neuer Systemtherapeutika beim HCC zu einer statistisch signifikanten Verlängerung des Überlebens geführt hat, untersuchten wir ebenfalls die Kosten durch die Behandlung der HCC-Patienten im Beobachtungszeitraum. Die kumulativen Kosten für die Behandlung der Patienten beliefen sich im Beobachtungszeitraum auf 113,6 Millionen Euro mit einem Mittelwert von 18,9 Millionen Euro pro Jahr. 62,1 % der Gesamtkosten entfielen auf die stationäre Versorgung, 28,5 % auf verschreibungspflichtige Medikamente, 8,5 % auf die ambulante Versorgung und 3,7 % auf Hilfs- und Heilmittel. Die mittleren Gesamtkosten pro Patient lagen zu Beginn des Beobachtungszeitraums im Jahr 2015 bei 21681 € und stiegen bis zum Ende des Zeitraums im Jahr 2020 signifikant auf 24533 € an ($p=0,0002$) (Abb. 3B). Wir beobachteten einen statistisch signifikanten Anstieg der mittleren Kosten pro Patient für verschreibungspflichtige Arzneimittel ($p<0,0001$) und ambulante Behandlung ($p=0,0240$), während die mittleren Kosten pro Patient für die stationäre Behandlung stabil blieben ($p=0,0748$). Unsere Studie konnte zum ersten Mal in einer westlichen Kohorte zeigen, dass die Zulassung neuer systemischer Therapien zu einem moderaten Überlebensvorteil bei Patienten mit HCC führte. Der Effekt ging einher mit einem Anstieg der Gesundheitskosten. Die eingeschränkte Verlängerung des Überlebens macht deutlich, dass neuartige Behandlungsoptionen weiterhin dringend notwendig sind, um die Prognose von Patienten mit HCC zu verbessern.

Teilprojekt 2: Biomarker-orientierte Identifikation von neuartigen synergistischen Kombinationstherapien bei gastrointestinalen Tumoren

Biomarker-gestützte Systemtherapien nutzen Marker des Tumors und des Wirts wie genetische Alterationen oder RNA- bzw. Proteinexpression, um Therapieansprechen auf zytotoxische, molekular-zielgerichtete oder immunonkologische Substanzen vorherzusagen (50). Bei einigen GI-Tumorentitäten konnten durch Biomarker-gestützte Systemtherapien Erfolge in der Behandlung erzielt werden. Beim fortgeschrittenen Kolorektalem Karzinom mit Mikrosatelliten-Instabilität konnte durch den Einsatz von ICI eine signifikante Verlängerung des Progressions-freien Überlebens (PFS) und Gesamtüberlebens (OS) gegenüber der Standard-Chemotherapie erreicht werden (51, 52). Auch beim fortgeschrittenen Cholangiozellulären Karzinom mit *FGFR2*-Genfusionen konnten FGFR-Inhibitoren wie Pemigatinib oder Futibatinib beeindruckende Ergebnisse mit einer Verbesserung von Ansprechraten, PFS und OS bewirken (53, 54). Leider konnten Biomarker-gestützte Systemtherapien bei anderen GI-Tumorsubgruppen keine klinisch signifikanten Verbesserungen bewirken.

Für das Pankreaskarzinom ist Olaparib als molekular-zielgerichtete Substanz zugelassen (55, 56). Olaparib, ein Poly(ADP-Ribose)-Polymerase (PARP)-Inhibitor, wird als Erhaltungstherapie für fortgeschrittene Tumore mit Keimbahn-*BRCA1/2*-Mutationen nach einer platinhaltigen Erstlinientherapie eingesetzt (56). Leider sind die Ergebnisse nach PARP-Inhibition in dieser Tumorentität eingeschränkt. Olaparib zeigte in der Zulassungsstudie keine signifikante Verlängerung des Gesamtüberlebens (56). In Vorarbeiten konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass eine *BRCA2*-Mutation beim Pankreaskarzinom einen Biomarker für eine Sensitivität gegenüber Tumor-Necrosis-Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) darstellt (57). Daher stellten wir uns die Frage, ob eine Kombinationstherapie aus TRAIL und Olaparib die limitierten Ergebnisse der Olaparib-Monotherapie verbessern kann und ob die Effektivität der Kombinationstherapie abhängig vom *BRCA2*-Mutationsstatus ist. Die Wirkung der Monotherapie aus TRAIL und Olaparib, sowie die Kombinationsbehandlung wurde in Tumorzelllinien und Patienten-abgeleiteten Pankreaskarzinom-Organoiden evaluiert. Wir konnten zeigen, dass eine PARP-Inhibition kombiniert mit TRAIL-Stimulation einen starken synergistischen antitumoralen Effekt hat und Zelltod induziert (Abb. 4A) (58). Der Effekt war in *BRCA2*-defizienten und -profizienten Tumoren zu beobachten. Die Synergie aus Olaparib und TRAIL konnte in drei unabhängigen Modellsystemen validiert werden (vgl. Abb. 4B-D). Die Kombination von Olaparib und TRAIL verursachte einen starken Anstieg von DNA-

Schäden im Vergleich zu der jeweiligen Monotherapie (Abb. 4I-J). Wir konnten einen konzentrationsabhängigen Zellzyklus-Stillstand in den Phasen G2/M und S (Abb. 4G) beobachten. Olaparib erhöhte signifikant den Anteil des membrangebundenen

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann diese Abbildung der Originalpublikation nicht abgedruckt werden. Es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

Ben Khaled N, Hammer K, Ye L, Alnatsha A, Widholz SA, Piseddu I, Sirtl S, Schneider J, Munker S, Mahajan UM, Montero JJ, Griger J, Mayerle J, Reiter FP, De Toni EN. TRAIL Receptor Targeting Agents Potentiate PARP Inhibitor Efficacy in Pancreatic Cancer Independently of BRCA2 Mutation Status. *Cancers*. 2022

Abbildung 4. (A) Apoptoseassay und (B) SYBR green Proliferationsassay der Effekte von Olaparib und TRAIL auf *BRCA2*-defiziente CAPAN1 und *BRCA2*-profiziente *BRCA2*/CIN Zellen (n=3). (C, D) SYBR green Proliferationsassay der Effekte von Olaparib und TRAIL auf *BRCA2*-Genknockout DLD1 (DLD1 *BRCA2* KO) und *BRCA2*-profiziente DLD1 (DLD1 *BRCA2* WT) Zelllinien, sowie auf *BRCA2*-defiziente HCT116 und *BRCA2*-profiziente SW620 Zelllinien (n=3). (E) Charakterisierung der Auswirkungen von Olaparib und TRAIL auf Komponenten der extrinsischen Apoptose, (F) auf Komponenten der intrinsischen Apoptose, (G) auf den Zellzyklus, (H) die Todesrezeptor-5 Expression, (I, J) auf DNA-Reparaturmechanismen in Abhängigkeit des *BRCA2* Mutationstatus in *BRCA2*-defizienten CAPAN1 und *BRCA2*-profizienten *BRCA2*/CIN Zellen. Abbildung adaptiert nach Ben Khaled et al. 2022.

Todesrezeptor-5 (Abb. 4H), welcher wiederum einen Angriffspunkt für TRAIL-Rezeptor Agonisten darstellt. Die PARP-Inhibition bewirkte eine konzentrationsabhängige Spaltung und Aktivierung von Caspase-8 und Caspase-3 (Abb. 4E). Die Expression

der Procaspasen war nicht durch Olaparib beeinflusst, ebenso wenig die Expression oder Aktivierung von Regulatoren der intrinsischen Apoptose wie Bad, Bid, Bim oder die Expression der anti-apoptotischen Proteine Bcl-2, Bcl-xL und Mcl-1. Um das klinische Translationspotenzial unserer Ergebnisse zu vergrößern, setzten wir neben experimentellen TRAIL-Rezeptor Agonisten auch die bereits in großen klinischen Studien getestete Substanz Dulanermin, rekombinantes humanes TRAIL, ein (59-62). Auch in der Kombinationsbehandlung aus Dulanermin und Olaparib konnten die Synergieeffekte beobachtet werden. Darüber hinaus zeigte sich auch in Patienten-abgeleiteten Pankreaskarzinom-Organoiden, welche die geno- und phänotypischen Merkmale ihrer Ursprungstumore replizieren, eine Verstärkung des antitumoralen Effektes durch die Kombination. Zusammenfassend konnten wir in dieser Studie erstmals zeigen, dass Olaparib und TRAIL starke synergistische Effekte in Pankreaskarzinomlinien unabhängig vom *BRCA2*-Mutationsstatus zeigen. Die Behandlung mit Olaparib verstärkte die TRAIL-induzierte Apoptose durch eine Hochregulation der Expression des membrangebundenen Todesrezeptor-5 und eine konsekutiv verstärkte Aktivierung der Effektorcaspasen-8 und -3. Die intrinsische Apoptose-Maschinerie zeigte sich hingegen nicht beeinflusst. Die Synergieeffekte konnten über verschiedene Modellsysteme beobachtet werden. Die Ergebnisse unserer Arbeit stellen eine präklinische Rationale für den Einsatz von PARP-Inhibitoren und TRAIL-Rezeptor Agonisten für die Behandlung des Pankreaskarzinoms dar.

Neben dem Pankreaskarzinom gehören auch neuroendokrine Karzinome des Magens (G-NEC) zu aggressiven GI-Tumorentitäten mit mangelnden Optionen an effektiven, Biomarker-gestützten Therapien mit schlechter Patientenprognose (63). In einem weiteren grundlagenwissenschaftlichen Kollaborationsprojekt konnten wir mit Hilfe von Ganzgenomsequenzierung einer Kohorte von Patienten mit G-NEC und eines korrespondierenden Mausmodells *MYC* als relevanten Treiber dieses Tumortyps herausarbeiten (63). Mittels hochdimensionaler CRISPR-Cas Screenings und pharmakologischer Hochdurchsatztestungen konnten Subtyp-spezifische Vulnerabilitäten von G-NEC identifiziert werden. Eine Kombination aus FASN-Inhibitoren wie Orlistat zusammen mit Tubulininhibitoren wie Docetaxel erwies sich als potente Behandlung für diese seltene und aggressive Tumorentität. Zusammenfassend wurden in dieser Arbeit Modellsysteme generiert, die durch ein tiefergehendes Verständnis der molekularen Pathogenese von G-NEC eine rationale Entwicklung neuer antitumoraler Behandlungsoptionen ermöglicht.

3. Diskussion

Gastrointestinale (GI) Tumorerkrankungen machen etwa ein Viertel aller Tumorneuerkrankungen weltweit aus und sind ein wesentlicher Treiber krebsbedingter Mortalität (1). Die meisten Patienten weisen bei Erstdiagnose oder im Verlauf der Erkrankung ein fortgeschrittenes Tumorstadium auf, in dem kurative Optionen nicht mehr möglich sind (2-7). Die Standardbehandlung bei fortgeschrittenen GI-Tumoren besteht in der Systemtherapie (2-7). Die Wirksamkeit von etablierten Regimes ist jedoch begrenzt und die 5-Jahresüberlebensraten bleiben niedrig (8). Molekular-zielgerichtete Substanzen beim Vorhandensein bestimmter genetischer Alterationen können in Subgruppen eingesetzt werden (2-7). Jedoch ist die Verbesserung der Prognose begrenzt, da nur wenige Patienten zielgerichtet-behandelbare Alterationen vorweisen und zu Beginn oder im Therapieverlauf häufig Resistenzen die Effektivität einschränken (2-7). Dies unterstreicht die Notwendigkeit, neue Strategien für die Behandlung von Patienten mit GI-Tumoren zu entwickeln.

In der vorliegenden kumulativen Habilitationsschrift wurden klinische, translationale und experimentelle Methoden eingesetzt, um die Effektivität und Sicherheit neuer Systemtherapien beim Hepatozellulären Karzinom (HCC) zu untersuchen (Teilprojekt 1), sowie Biomarker-gestützte neuartige Kombinationstherapien für GI-Tumoren zu entwickeln (Teilprojekt 2).

3.1 Systemtherapeutische Optionen beim fortgeschrittenen Hepatozellulären Karzinom: klinische Verläufe, Toxizitätsprofile und Patientenergebnisse

Die Therapielandschaft des HCC befand sich in der letzten Dekade in einem rapiden Wandel (30). Während bis 2017 ausschließlich der TKI Sorafenib als Substanz zur Verfügung stand, konnten in den letzten Jahren in schneller Abfolge neue TKI wie Lenvatinib, Cabozantinib und Regorafenib, sowie der VEGF-R2 Hemmer Ramucirumab Zulassungen in der Erst- und Zweitlinienbehandlung erhalten (31, 34-36). Wir konnten zum ersten Mal in einer repräsentativen Kohorte auf Nationsebene zeigen, dass die Zulassungen schnell zu einem signifikant höheren Einsatz und zu einer Diversifizierung der Systemtherapeutika beim HCC führten (30). Dies war verbunden mit einer Verbesserung des Überlebens von Patienten mit HCC. Darüber hinaus konnten wir nachweisen, dass gleichzeitig die Gesundheitskosten anstiegen, insbesondere im Bereich der ambulanten Behandlung und bei verschreibungspflichtigen Arzneimitteln (30). Trends zur Verbesserung der Prognose bei Patienten mit HCC unter Systemtherapien konnten davor bereits in klinischen

Studien beobachten werden, die Sorafenib als Kontrollarm einsetzten (31, 34-36). In der Zulassungsstudie SHARP lag das mediane Überleben mit Sorafenib bei 8,6 Monaten (31). In der Phase 3 REFLECT Studie 10 Jahre nach der SHARP zeigte sich ein medianes Überleben von 12,4 Monaten im Sorafenib-Arm (33). Die randomisierten, prospektiven Phase III Studien waren jedoch eingeschränkt auf die Gesamtheit aller Patienten mit HCC zu übertragen, da strikte Ein- und Ausschlusskriterien angewandt wurden und Patienten meist nur in großen Zentren behandelt wurden (31, 34-36). Unsere große Sektoren-übergreifende Studie aller HCC-Patienten in einer repräsentativen Datenbank mit 5 Millionen Individuen zeigte, dass die Verbesserungen durch die verschiedenen TKI weit marginaler ausfielen, als die Daten der Zulassungsstudien suggerierten. Das mediane Überleben in unserer Kohorte lag bei 5,5 Monaten, und die Verbesserung assoziiert mit den neuen Therapeutika war ein Monat. Dabei konnten wir zeigen, dass Lenvatinib in der Erstlinienbehandlung in unserer Kohorte Sorafenib überlegen war. Insgesamt zeigt unsere Arbeit auf, dass die Ergebnisse durch TKI dringend verbesserungsbedürftig sind.

Vor dem Hintergrund der limitierten Patientenergebnisse durch TKI konnten immunonkologische Behandlungen eine Revolution in der Therapie des HCC einleiten (10). Die Kombinationen aus PD-L1-Inhibitor Atezolizumab und VEGF-Inhibitor Bevacizumab oder PD-L1-Inhibitor Durvalumab plus CTLA-4-Inhibitor Tremelimumab verbesserten das mediane Überleben im Vergleich zu Sorafenib deutlich (12, 13, 16). Gleichzeitig gingen die neuen Optionen mit Herausforderungen im klinischen Management von Patienten mit HCC einher.

Die Effektivität und Sicherheit der immunonkologischen Regime wurde gegen den TKI Sorafenib getestet. Lenvatinib zeigte in der Zulassungsstudie in den sekundären Endpunkten eine signifikant bessere Ansprechrate und ein längeres PFS (33). Darüber hinaus konnten retrospektive Studien, wie unsere oben genannte Kohortenstudie auf Nationsebene, zeigen, dass Lenvatinib auch ein besseres Gesamtüberleben als Sorafenib zeigen kann (30). Eine prospektive, randomisierte Studie zu Atezolizumab/Bevacizumab oder Durvalumab/Tremelimumab versus Lenvatinib existierte nicht. Aus diesen Gründen stellten wir uns die Frage, welche Ergebnisse Lenvatinib gegenüber den neuen Immuntherapien in der Erstlinienbehandlung des HCC zeigen würde. Wir konnten ein europäisches Register aufbauen und Atezolizumab/Bevacizumab mit Lenvatinib vergleichen (39). Hierbei fokussierten wir uns insbesondere auf die Inzidenz schwerwiegender Blutungen und Thromboembolien. Sowohl Bevacizumab als auch Lenvatinib sind ausgesprochen potente Inhibitoren von VEGF, ein wichtiges Signalmolekül in der Angiogenese (39-

45). Insbesondere für Bevacizumab wurden in der Vergangenheit hohe Raten an schwerwiegenden Varizenblutungen bei Patienten mit HCC beschrieben (46). In unserer großen europäischen Kohorte lag die Rate an schwerwiegenden Varizenblutungen bei 3% unter Atezolizumab/Bevacizumab und zeigte keinen signifikanten Unterschied zur Blutungsrate unter Lenvatinib. Hierbei konnten wir ein leicht besseres Varizenmanagement in der Atezolizumab/Bevacizumab Gruppe beobachten. 93% der Patienten mit Atezolizumab/Bevacizumab hatten eine Indexgastroskopie vor Therapiestart erhalten, gegenüber 88% mit Lenvatinib. Darüber hinaus wurden mehr Patienten prophylaktisch mit Nicht-selektiven Betablockern oder endoskopischer Ligatur behandelt. Diese Weiterentwicklungen im Management könnten somit zu dem nicht signifikanten Unterschied zwischen beiden Regimes hinsichtlich der Varizenblutungen beigetragen haben. Nicht-variköse GI-Blutungen, andere Blutungsereignisse, ebenso wie Thromboembolien waren nicht signifikant unterschiedlich zwischen beiden Gruppen. Hinsichtlich potentieller Störfaktoren konnten wir keine Differenzen in Patientencharakteristika, oder Medikamenteneinnahme identifizieren. Bezüglich der Effektivität beider Behandlungen konnten wir ein signifikant höheres Ansprechen unter der Immuntherapie beobachten. Hinsichtlich des PFS und OS zeigte sich kein signifikanter Unterschied, wie auch in anderen retrospektiven Kohorten beschrieben (64, 65). Unsere Studie zeigt auf, dass sowohl Atezolizumab/Bevacizumab, als auch Lenvatinib geeignete Erstlinientherapien beim HCC sind. Überlegungen hinsichtlich Blutungs- und Thromboembolie-Risiken können nicht bei der Entscheidung zwischen beiden Regimen unterstützen. Zukünftige Studien sollten die neue, VEGF-freie Behandlung aus Durvalumab/Tremelimumab mit den beiden Optionen vergleichen.

Die objektive Ansprechrates unter den neuen immunonkologischen Behandlungen liegt bei 20-30%, und nur eine kleine Subgruppe an Patienten zeigt ein dauerhaftes Ansprechen (12, 13, 16). Die verfügbaren Zweitlinienoptionen beim HCC waren alle nur nach einer Erstlinienbehandlung mit Sorafenib untersucht, so dass für eine Folgebehandlung nach Progress auf Atezolizumab/Bevacizumab keine Evidenz bestand. In einer prospektiven Studie konnten wir das Pattern und die Ergebnisse von Zweitlinientherapien nach Atezolizumab/Bevacizumab beschreiben (47). 50% der eingeschlossenen Patienten unserer Kohorte erhielten eine Zweitlinientherapie. Hierbei lässt sich eine Verbesserung zu Vordaten beobachten. In der Zulassungsstudie zu Lenvatinib konnten nur etwa 30% der Teilnehmer eine Zweitlinienbehandlung erhalten (33, 66). Möglicherweise trägt die höhere Erfahrung mit HCC-Systemtherapeutika über die Jahre zu diesem Effekt bei. Gleichzeitig könnte auch eine bessere Tumorkontrolle in der Erstlinie bewirken, dass mehr Patienten für

eine Zweitlinientherapie in Frage kommen. Die Leberfunktion der Patienten erwies sich als Schlüsselcharakteristikum, dass eine Transition zu einer sequentiellen Behandlung mit hoher Signifikanz vorhersagte. Patienten mit einem Child-Pugh Grad B oder einem ALBI-Score >1 hatten eine deutlich geringere Wahrscheinlichkeit für eine Zweitlinienbehandlung. Hinsichtlich der Effektivität der Zweitlinienbehandlung lag das mediane Überleben bei 5,0 Monaten. Dies war deutlich geringer als das mediane Überleben in asiatischen Kohorten, welches mit bis zu 16,6 Monaten beschrieben war (67-70). Wesentliche Unterschiede zwischen unseren und den genannten Studien lagen in einer schlechteren Leberfunktion unserer Kohorte, verbunden mit einem höheren Anteil an Patienten mit nicht-viralen Ätiologien. Da wir in unserer Studie die Leberfunktion als wesentliche Determinante des Überlebens im Kontext einer Sequenztherapie aufzeigten, erklären diese Unterschiede die kürzeren Überlebenszeiten in unserer Arbeit. Unsere Studie unterstreicht die aggressive Tumorbilogie des HCC insbesondere bei Patienten mit zugrunde liegender Leberzirrhose, wo ein Progress häufig eine Verschlechterung der Leberfunktion bewirkt und weitere Behandlungen unmöglich macht. In dieser Hinsicht könnte eine weitere Verbesserung der Erstlinienergebnisse durch neuartige Triplett-Therapien Tumorprogression bei einem größeren Anteil an Patienten verhindern oder zumindest verzögern. Die MONTBLANC-Studie, eine Investigator-Initiated Trial unserer Arbeitsgruppe, untersucht die Kombination aus Durvalumab, Tremelimumab und Bevacizumab mit diesem Ziel (71, 72). Ein weiterer interessanter Ansatz besteht in der Kombination aus Atezolizumab, Bevacizumab und dem TIGIT-Antikörper Tiragolumab (73). Diese Strategien haben großes Potential die Behandlung der Patienten mit HCC zu verbessern.

Neben der unklaren Effektivität zugelassener Zweitlinienoptionen bestand eine weitere offene Fragestellung in der Möglichkeit eines Einsatzes von sequenzieller Immuntherapie nach Progress auf Atezolizumab/Bevacizumab. Wir konnten in einer Kohortenstudie den Einsatz von Ipilimumab/Nivolumab in der Zweitlinie untersuchen (48). Bei diesem Ansatz erhielten Patienten, die in der Erstlinie mit PD-1/PD-L1 plus VEGF-Inhibitoren behandelt wurden, unter Beibehalten der PD-1 Komponente Nivolumab zusätzlich den CTLA-4 Inhibitor Ipilimumab. Das mediane OS lag bei 7,2 Monaten und die objektive Ansprechrates bei 30%, wobei das Ansprechen bei allen Patienten bis zum Daten Cut-Off anhielt (48). Die Ergebnisse weisen auf eine mögliche verstärkte Immunaktivierung durch die Rotation auf den CTLA-4-Inhibitor hin. Die Hemmung von CTLA-4 verstärkt die frühe Aktivierung und Proliferation von T-Zellen nach Erkennung von Tumorantigenen im lymphatischen System, und kann zu einer Depletion von immunsuppressiven Zellpopulationen in der Tumormikroumgebung

führen (9, 74). Durch diese Mechanismen könnte Ipilimumab/Nivolumab nach Atezolizumab/Bevacizumab Resistenzmechanismen überwinden und ICI-resistente in ICI-sensible Phänotypen umwandeln. Unsere Studie liefert eine Rationale für die Durchführung prospektiver klinischer Untersuchungen dieser Therapiesequenz in Patienten mit fortgeschrittenem HCC.

3.2 Biomarker-orientierte Identifikation von neuartigen synergistischen Kombinationstherapien bei gastrointestinalen Tumoren

Neben den Fortschritten in der Immunonkologie konnte eine Vertiefung des Verständnisses von onkogenen Prozessen hinter Tumorprogression und Resistenzmechanismen die Therapieoptionen für Patienten mit GI-Tumoren in der Vergangenheit verbessern. Die Entdeckung der Bedeutung des *EGFR*-Signalwegs in der Entstehung des Kolorektalen Karzinoms führte zur Entwicklung von EGFR-Inhibitoren, welche eine wesentliche Verbesserung in der Behandlung von *KRAS*-Wildtyp Tumoren bewirkten (75). *HER2* beim Magenkarzinom, *KIT* bei Gastrointestinalen Stromatumoren, oder *FGFR2* beim Cholangiozellulären Karzinom sind weitere Beispiele für Tumortreiber, deren zielgerichtete Behandlung in GI-Tumoren erfolgreich war (6, 50, 76, 77). Bei anderen GI-Tumorentitäten blieben klinisch signifikante Fortschritte durch Biomarker-basierte Systemtherapien bislang aus.

Das Pankreaskarzinom ist eine der häufigsten Krebs-bedingten Todesursachen weltweit (1). Globale Sequenzierstudien konnten die genetische Landschaft dieses Tumors entschlüsseln (78, 79). Defekte in der DNA-Reparaturmaschinerie und insbesondere den *BRCA*-Genen gehörten hierbei zu häufig identifizierten onkogenen Ereignissen. Beim Pankreaskarzinom mit Keimbahn-*BRCA1/2*-Mutationen wird der PARP-Inhibitor Olaparib als Erhaltungstherapie nach einer platinhaltigen Erstlinienbehandlung eingesetzt (55, 56). Die Effektivität von Olaparib ist begrenzt mit niedrigen Ansprechraten und keiner relevanten Verlängerung des Gesamtüberlebens gegenüber Placebo in der Zulassungsstudie (80). In einer Vorarbeit der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass *BRCA2*-Mutationen beim Pankreaskarzinom mit einer Sensitivität gegenüber einer Stimulation des TRAIL-Signalwegs einhergehen (57). Basierend auf dieser Beobachtung untersuchten wir die Effektivität und zugrundeliegenden Mechanismen einer Kombinationsstrategie aus Olaparib und TRAIL bei Pankreastumoren in Abhängigkeit des *BRCA2*-Mutationsstatus. Eine Kombinationsbehandlung aus Olaparib und TRAIL zeigte starke Synergien in verschiedenen Pankreaskarzinom-Zelllinien und in Patienten-abgeleiteten

Organoiden. Wir konnten die Synergien nicht nur in *BRCA2*-defizienten, sondern auch in *BRCA2*-profizienten Tumoren in drei unabhängigen Modellsystemen nachweisen. Mechanistisch beeinflusste Olaparib signifikant die Expression des aktivierenden TRAIL-Rezeptor-2 und führte zu einer Verstärkung der extrinsischen Apoptosekaskade, wohingegen Komponenten der mitochondrialen intrinsischen Apoptose nicht beeinflusst wurden. Wir konnten einen Zellzyklus-Stillstand kombiniert mit einer Exazerbation von DNA-Schäden beobachten. Diese Effekte konvergierten in einer starken Induktion von Apoptose in den untersuchten Modellsystemen. Von besonders translationaler Relevanz war, dass die bereits im Menschen untersuchte TRAIL-Substanz Dulanermin ebenfalls die Wirkung von Olaparib verstärkte. Unsere Ergebnisse könnten in zweierlei Hinsicht für zukünftige Strategien zur Behandlung des Pankreaskarzinoms relevant sein: Zum einen liefert unsere Arbeit einen Ansatz, um die limitierten Ergebnisse der PARP-Inhibition innerhalb des Kollektivs von Patienten mit *BRCA2*-Mutationen durch eine Kombination mit TRAIL zu verbessern. Gleichzeitig tragen nur ca. 5% der Pankreaskarzinome eine *BRCA*-Keimbahnmutation (81), wodurch nur ein kleiner Teil der Patienten für eine Olaparib-Behandlung in Frage kommt. Da die Synergieeffekte zwischen Olaparib und TRAIL unabhängig vom *BRCA*-Mutationsstatus waren, könnte eine Kombinationsbehandlung zu einer Erweiterung der geeigneten Patienten für eine Olaparib-Therapie beitragen. Diese Studie liefert eine präklinische, rationale Grundlage für eine Evaluation von PARP-Inhibitoren und TRAIL-Rezeptoragonisten als therapeutische Strategie beim Pankreaskarzinom.

Das neuroendokrine Karzinom des Magens (G-NEC) ist eine hochaggressive Tumorentität. Auf Grund der Seltenheit des Tumors waren bisher keine genetischen Mausmodelle etabliert und nur wenige Zelllinien verfügbar. Dies translatiert sich in ein geringes Verständnis der molekularen Pathogenese und mangelnde Evidenz-basierte Therapieoptionen. Wir konnten zu einem Kollaborationsprojekt beitragen, bei dem durch Genomsequenzierung *MYC* als entscheidender Tumortreiber von G-NEC identifiziert werden konnte (63). Auf Basis eines genetischen Mausmodells wurden Zelllinien generiert und für genomweite CRISPR-Screenings und pharmakologische Hochdurchsatztestungen genutzt. Aus den generierten Daten konnten Vulnerabilitäten dieser Tumorerkrankung herausgearbeitet werden. Insbesondere die Modulierung des potenten Tumortreibers *MYC* könnte in Zukunft einen erfolgversprechenden Ansatz darstellen. Das Protein OMO-103, ein *MYC* Inhibitor, konnte hier vor kurzem in einer Phase 1 Studie erste vielversprechende Ergebnisse zeigen und wird aktuell in weiteren klinischen Studien in Kombinationstherapien getestet (82).

Präklinische und klinische Strategien zur Verbesserung der systemischen Therapie von gastrointestinalen Tumoren

Zusammenfassend zeigen diese Arbeiten, wie ein tiefergehendes Verständnis molekularer Mechanismen bei GI-Tumoren dafür genutzt werden kann, rationale, Biomarker-gestützte Systemtherapien zu entwickeln.

4. Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Habilitationsschrift wurden molekulare Mechanismen und translationale sowie klinische Strategien zur Verbesserung der Ergebnisse von Systemtherapien gastrointestinaler (GI) Tumore untersucht. Hierfür wurden in vitro Techniken wie Zellkultur oder 3D-Organoidmodelle, funktionelle Assays und fortgeschrittene Mausmodelle der molekularen Onkologie herangezogen, sowie Biomaterialien von Patienten mit GI-Tumoren mittels Hochdurchsatzmethoden untersucht und große, multizentrische Kohortenstudien sowie nationale Datenbanken eingesetzt. Dadurch sollten neue Therapieoptionen und prädiktive Biomarker identifiziert, sowie die Effektivität und Sicherheit neuer Kombinationstherapien in der Klinik charakterisiert werden.

In Teilprojekt 1 wurden die Auswirkungen des rapiden Wandels in der systemischen Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms (HCC) und die damit einhergehenden Herausforderungen im Patientenmanagement untersucht. Dafür wurden nationale und internationale Kollaborationen aufgebaut und große, multizentrische Datenbanken geschaffen. Um über hochspezialisierte Zentren hinaus auch die transsektorielle und integrierte Versorgung von Patienten mit HCC zu erfassen, kam eine nationale, repräsentative Datenbank zum Einsatz. In unserer populationsbasierten Analyse diversifizierte die Therapieoptionen beim HCC in Folge der Zulassungen der neuen Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) ab 2018. Auch der Einsatz von Systemtherapeutika per se nahm zu. Beide Entwicklungen waren verbunden mit einem moderaten Überlebensvorteil und einem Anstieg der Gesundheitskosten. Von besonderer Relevanz war ein deutlich geringeres medianes Überleben verglichen mit den Ergebnissen der Zulassungsstudien. Vor dem Hintergrund dieser limitierten Ergebnisse stellten immunonkologische Systemtherapien eine relevante Verbesserung im Vergleich zum TKI Sorafenib dar. Lenvatinib zeigte in sekundären Endpunkten der REFLECT-Studie, sowie in retrospektiven Studien vielversprechende Effektivität im Vergleich zu Sorafenib, wurde bisher jedoch nicht prospektiv gegen die Immuntherapie Atezolizumab/Bevacizumab geprüft. In einer europäischen Kohorte war die Ansprechrates unter Atezolizumab/Bevacizumab höher als unter Lenvatinib, das PFS/OS hingegen vergleichbar. Auch die klinisch bedeutsamen Nebenwirkungen Blutungen und Thromboembolien traten nicht signifikant unterschiedlich auf. Unsere Ergebnisse unterstützten den Einsatz beider Therapien in der Erstlinie des HCC. Da nur ein kleiner Teil der Patienten mit HCC langfristig von der Erstlinienbehandlung profitiert, sind effektive und sichere Zweitlinienoptionen von hoher Relevanz. Insbesondere für Patienten mit Progress nach Atezolizumab/Bevacizumab bestand lange keine ausreichende Evidenz. In einer prospektiven Studie zeigten wir, dass die

Hälfte der Patienten für eine Zweitlinienbehandlung in Frage kam. Eine erhaltene Leberfunktion war entscheidend für den Erfolg der Sequenztherapie. Das mediane Gesamtüberleben über alle Zweitlinien lag jedoch nur bei 5 Monaten. Die Kombination aus Ipilimumab/Nivolumab hingegen zeigte eine dauerhafte Ansprechrates von 30% mit einem medianen OS von 7 Monaten. Dies deutet auf eine Möglichkeit zur Überwindung einer PD-1/PD-L1-Resistenz durch Hinzunahme einer CTLA-4 Blockade im Verlauf hin. Unsere Daten bilden eine Grundlage für zukünftige Studien zur Optimierung immunonkologischer Behandlungsstrategien beim HCC. Insbesondere neuartige Triplett-Therapien zeigen vielversprechendes Potenzial, die Behandlungsergebnisse weiter zu verbessern. Eine Intensivierung der Therapie durch kombinierte Inhibition von PD-1/PD-L1, CTLA-4 und VEGF-Signalwegen könnte dabei entscheidende Vorteile bieten. Mit diesem Ansatz untersucht unsere Arbeitsgruppe im Rahmen der internationalen Phase-II-Studie MONTBLANC die Kombination aus Durvalumab, Tremelimumab und Bevacizumab bei Patienten mit fortgeschrittenem HCC. Ziel dieser Studie ist es, die Wirksamkeit und Sicherheit dieser intensivierten Erstlinientherapie zu evaluieren. Diese Strategie könnte neue therapeutische Perspektiven für Patienten mit fortgeschrittenem HCC eröffnen.

Teilprojekt 2 fokussierte sich auf neue, Biomarker-basierte, therapeutische Konzepte bei GI-Tumoren mit bislang limitierter Systemtherapie. Am Beispiel des Pankreaskarzinoms, einer der tödlichsten Tumorentitäten weltweit, wurde die Kombination des PARP-Inhibitors Olaparib mit einer TRAIL-basierten Apoptoseinduktion präklinisch untersucht. Die Kombination zeigte starke Synergien in *BRCA2*-defizienten und -profizienten Modellen, unabhängig vom *BRCA*-Mutationsstatus. Mechanistisch führte Olaparib zu einer Hochregulation des TRAIL-Rezeptor-2 und verstärkte die extrinsische Apoptosekaskade. Diese Ergebnisse liefern eine Grundlage für eine potenzielle Ausweitung der PARP-Inhibition auf eine größere Patientengruppe. Im Rahmen eines Kooperationsprojekts konnten Einblicke in die molekulare Pathogenese von neuroendokrinen Tumoren des Magens gewonnen werden. Durch eine Sequenzierung von humanen Tumorproben wurde *MYC* als zentraler Treiber dieser Entität identifiziert und ein Mausmodell etabliert. Murine Zelllinien aus diesem Modell wurden für CRISPR-Cas9-Knockout-Screenings und pharmakologische Testungen eingesetzt, mit dem Ziel neue therapeutische Angriffspunkte zu identifizieren. Aktuell werden die hochdimensionalen CRISPR-Screeningansätze weiterentwickelt, um große kombinatorische Screens zur Kartographierung genetischer Interaktionen durchzuführen. Die neu entwickelte kombinatorische CRISPR-Screening-Plattform ermöglicht die gleichzeitige Perturbation von ca. 1.000.000 Genkombinationen in einem Experiment. Durch die

gleichzeitige, kombinierte Perturbation von zwei Genen, die therapeutische Ziele darstellen, können wir die Effekte von Kombinationstherapien modellieren und neue synergistische Behandlungen identifizieren. Die meisten dieser „druggable“ Gene sind assoziiert mit einem Wirkstoff, der bereits zugelassen ist oder in klinischen Studien untersucht wird. Dadurch wird eine schnelle Umsetzung unserer Ergebnisse in einen klinischen Kontext möglich. Zelllinien von unterschiedlichen GI-Tumorentitäten werden mit der neuen CRISPR-Methode untersucht werden mit dem Ziel neue synergistische Therapien zu entdecken. Etablierte präklinische Modelle mit translationaler Relevanz, wie 3D-Organotide, sollen für die Validierung der vielversprechenden Vulnerabilitäten genutzt werden. Diese Arbeiten verdeutlichen den Stellenwert grundlagenwissenschaftlicher Untersuchungen für die Entwicklung neuer Systemtherapien bei GI-Tumoren. Sie sollen die Basis für zukünftige Studien legen, die ein mechanistisches Verständnis kontextabhängiger Synergien ermöglichen und die therapeutische Nutzung dieser Kombinationen vorantreiben.

5. Referenzen

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2018;68(6):394-424.
2. Kuipers EJ, Grady WM, Lieberman D, Seufferlein T, Sung JJ, Boelens PG, et al. Colorectal cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2015;1(1):15065.
3. Kleeff J, Korc M, Apte M, La Vecchia C, Johnson CD, Biankin AV, et al. Pancreatic cancer. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016;2(1):16022.
4. Villanueva A. Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(15):1450-62.
5. Ye L, Schneider JS, Ben Khaled N, Schirmacher P, Seifert C, Frey L, et al. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: biology, diagnosis, and management. *Liver Cancer*. 2023;1-.
6. Ben Khaled N, Jacob S, Rössler D, Bösch F, De Toni EN, Werner J, et al. Current State of Multidisciplinary Treatment in Cholangiocarcinoma. *Dig Dis*. 2022;40(5):581-95.
7. Reiter FP, Ben Khaled N, Ye L, Zhang C, Seidensticker M, Op den Winkel M, et al. Advances in Pharmacotherapy of Hepatocellular Carcinoma: A State-of-the-Art Review. *Dig Dis*. 2022;40(5):565-80.
8. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2025 Atlanta: American Cancer Society; 2025 [Available from: <https://www.cancer.org/cancer/>].
9. Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 2018;359(6382):1350-5.
10. Ben Khaled N, Piseddu I, Boehmer DFR, Zierold S, Heinzerling L, Mayerle J, et al. Checkpoint inhibition in cancer. *Der Onkologe*. 2021;27(11):1075-84.
11. Sharma P, Goswami S, Raychaudhuri D, Siddiqui BA, Singh P, Nagarajan A, et al. Immune checkpoint therapy—current perspectives and future directions. *Cell*. 2023;186(8):1652-69.
12. Finn RS, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim T-Y, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(20):1894-905.
13. Abou-Alfa Ghassan K, Lau G, Kudo M, Chan Stephen L, Kelley Robin K, Furuse J, et al. Tremelimumab plus Durvalumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *NEJM Evidence*. 2022;0(0):EVIDoa2100070.
14. Ben Khaled N, Reiter FP, Geier A, De Toni EN. Systemtherapie des hepatozellulären Karzinoms: mehr als eine „palliative“ Therapie? *Die Gastroenterologie*. 2023;18(1):24-9.
15. Kudo M. Nivolumab plus Ipilimumab: A Novel First-Line Combination Immunotherapy for Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Liver Cancer*. 2024;13(5):459-67.
16. Cheng AL, Qin S, Ikeda M, Galle PR, Ducreux M, Kim TY, et al. Updated efficacy and safety data from IMbrave150: Atezolizumab plus bevacizumab vs. sorafenib for unresectable hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2022;76(4):862-73.

17. Lee MS, Ryoo BY, Hsu CH, Numata K, Stein S, Verret W, et al. Atezolizumab with or without bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma (GO30140): an open-label, multicentre, phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2020;21(6):808-20.
18. Rimassa L, Chan SL, Sangro B, Lau G, Kudo M, Reig M, et al. Five-year overall survival update from the HIMALAYA study of tremelimumab plus durvalumab in unresectable HCC. *Journal of Hepatology.*
19. Sangro B, Chan SL, Kelley RK, Lau G, Kudo M, Sukeepaisarnjaroen W, et al. Four-year overall survival update from the phase III HIMALAYA study of tremelimumab plus durvalumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *Ann Oncol.* 2024;35(5):448-57.
20. de Castro T, Jochheim LS, Bathon M, Welland S, Scheiner B, Shmanko K, et al. Atezolizumab and bevacizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma with impaired liver function and prior systemic therapy: a real-world experience. *Ther Adv Med Oncol.* 2022;14:17588359221080298.
21. Al-Lazikani B, Banerji U, Workman P. Combinatorial drug therapy for cancer in the post-genomic era. *Nature Biotechnology.* 2012;30(7):679-92.
22. Kummar S, Chen HX, Wright J, Holbeck S, Millin MD, Tomaszewski J, et al. Utilizing targeted cancer therapeutic agents in combination: novel approaches and urgent requirements. *Nature Reviews Drug Discovery.* 2010;9(11):843-56.
23. Vasan N, Baselga J, Hyman DM. A view on drug resistance in cancer. *Nature.* 2019;575(7782):299-309.
24. Plana D, Palmer AC, Sorger PK. Independent Drug Action in Combination Therapy: Implications for Precision Oncology. *Cancer Discov.* 2022;12(3):606-24.
25. Han K, Jeng EE, Hess GT, Morgens DW, Li A, Bassik MC. Synergistic drug combinations for cancer identified in a CRISPR screen for pairwise genetic interactions. *Nature Biotechnology.* 2017;35(5):463-74.
26. Lopez JS, Banerji U. Combine and conquer: challenges for targeted therapy combinations in early phase trials. *Nature Reviews Clinical Oncology.* 2017;14(1):57-66.
27. Ngu H, Takiar R, Phillips T, Okosun J, Sehn LH. Revising the Treatment Pathways in Lymphoma: New Standards of Care—How Do We Choose? *American Society of Clinical Oncology Educational Book.* 2022(42):629-42.
28. Armitage JO, Longo DL. Therapy for Hodgkin's Lymphoma — Can It Get Any Better? *New England Journal of Medicine.* 2024;391(15):1452-4.
29. Herrera AF, LeBlanc M, Castellino SM, Li H, Rutherford SC, Evens AM, et al. Nivolumab+AVD in Advanced-Stage Classic Hodgkin's Lymphoma. *New England Journal of Medicine.* 2024;391(15):1379-89.
30. Ben Khaled N, Mörtl B, Beier D, Reiter FP, Pawlowska-Phelan D, Teufel A, et al. Changing treatment landscape associated with improved survival in advanced hepatocellular carcinoma: a nationwide, population-based study. *Eur J Cancer.* 2023;192:113248.
31. Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *New England Journal of Medicine.* 2008;359(4):378-90.

32. Cheng AL, Kang YK, Chen Z, Tsao CJ, Qin S, Kim JS, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncology*. 2009;10(1):25-34.
33. Kudo M, Finn RS, Qin S, Han KH, Ikeda K, Piscaglia F, et al. Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2018;391(10126):1163-73.
34. Abou-Alfa GK, Meyer T, Cheng A-L, El-Khoueiry AB, Rimassa L, Ryoo B-Y, et al. Cabozantinib in Patients with Advanced and Progressing Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(1):54-63.
35. Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, et al. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;389(10064):56-66.
36. Zhu AX, Kang YK, Yen CJ, Finn RS, Galle PR, Llovet JM, et al. Ramucirumab after sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma and increased α -fetoprotein concentrations (REACH-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncology*. 2019;20(2):282-96.
37. Søgaard KK, Horváth-Puhó E, Grønbaek H, Jepsen P, Vilstrup H, Sørensen HT. Risk of venous thromboembolism in patients with liver disease: a nationwide population-based case-control study. *Am J Gastroenterol*. 2009;104(1):96-101.
38. Sharara AI, Rockey DC. Gastroesophageal variceal hemorrhage. *New England Journal of Medicine*. 2001;345(9):669-81.
39. Ben Khaled N, Möller M, Jochheim LS, Leyh C, Ehmer U, Böttcher K, et al. Atezolizumab/bevacizumab or lenvatinib in hepatocellular carcinoma: Multicenter real-world study with focus on bleeding and thromboembolic events. *JHEP Rep*. 2024;6(6):101065.
40. Gomez JA. Vascular endothelial growth factor-tyrosine kinase inhibitors: Novel mechanisms, predictors of hypertension and management strategies. *Am Heart J Plus*. 2022;17:100144.
41. Wang L, Fei Y, Qu H, Zhang H, Wang Y, Wu Z, et al. Five years of safety profile of bevacizumab: an analysis of real-world pharmacovigilance and randomized clinical trials. *Journal of Pharmaceutical Health Care and Sciences*. 2024;10(1):1.
42. Chen HX, Cleck JN. Adverse effects of anticancer agents that target the VEGF pathway. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2009;6(8):465-77.
43. Tohyama O, Matsui J, Kodama K, Hata-Sugi N, Kimura T, Okamoto K, et al. Antitumor activity of lenvatinib (e7080): an angiogenesis inhibitor that targets multiple receptor tyrosine kinases in preclinical human thyroid cancer models. *J Thyroid Res*. 2014;2014:638747.
44. Finn RS, Kudo M, Cheng AL, Wyrwicz L, Ngan RKC, Blanc JF, et al. Pharmacodynamic Biomarkers Predictive of Survival Benefit with Lenvatinib in Unresectable Hepatocellular Carcinoma: From the Phase III REFLECT Study. *Clin Cancer Res*. 2021;27(17):4848-58.

45. Okamoto K, Ikemori-Kawada M, Jestel A, von König K, Funahashi Y, Matsushima T, et al. Distinct binding mode of multikinase inhibitor lenvatinib revealed by biochemical characterization. *ACS Med Chem Lett*. 2015;6(1):89-94.
46. Pinter M, Ulbrich G, Sieghart W, Kölblinger C, Reiberger T, Li S, et al. Hepatocellular Carcinoma: A Phase II Randomized Controlled Double-Blind Trial of Transarterial Chemoembolization in Combination with Biweekly Intravenous Administration of Bevacizumab or a Placebo. *Radiology*. 2015;277(3):903-12.
47. Ben Khaled N, Zarka V, Hobeika B, Schneider J, Rau M, Weich A, et al. Therapeutic Sequences of Systemic Therapy After Atezolizumab Plus Bevacizumab for Hepatocellular Carcinoma: Real-World Analysis of the IMMUreal Cohort. *Aliment Pharmacol Ther*. 2025;61(11):1755-66.
48. Roessler D, Öcal O, Philipp AB, Markwardt D, Munker S, Mayerle J, et al. Ipilimumab and nivolumab in advanced hepatocellular carcinoma after failure of prior immune checkpoint inhibitor-based combination therapies: a multicenter retrospective study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2023;149(7):3065-73.
49. Yau T, Kang Y-K, Kim T-Y, El-Khoueiry AB, Santoro A, Sangro B, et al. Nivolumab (NIVO) + ipilimumab (IPI) combination therapy in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (aHCC): Results from CheckMate 040. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(15_suppl):4012-.
50. Passaro A, Al Bakir M, Hamilton EG, Diehn M, André F, Roy-Chowdhuri S, et al. Cancer biomarkers: Emerging trends and clinical implications for personalized treatment. *Cell*. 2024;187(7):1617-35.
51. André T, Shiu K-K, Kim TW, Jensen BV, Jensen LH, Punt C, et al. Pembrolizumab in Microsatellite-Instability–High Advanced Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(23):2207-18.
52. Andre T, Elez E, Van Cutsem E, Jensen LH, Bennouna J, Mendez G, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Microsatellite-Instability-High Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2024;391(21):2014-26.
53. Abou-Alfa GK, Sahai V, Hollebecque A, Vaccaro G, Melisi D, Al-Rajabi R, et al. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study. *The Lancet Oncology*. 2020;21(5):671-84.
54. Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, Valle JW, Morizane C, Karasic TB, et al. Futibatinib for FGFR2-Rearranged Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *New England Journal of Medicine*. 2023;388(3):228-39.
55. Sohal DPS, Kennedy EB, Cinar P, Conroy T, Copur MS, Crane CH, et al. Metastatic Pancreatic Cancer: ASCO Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(27):3217-30.
56. Golan T, Hammel P, Reni M, Van Cutsem E, Macarulla T, Hall MJ, et al. Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(4):317-27.
57. De Toni EN, Ziesch A, Rizzani A, Török H-P, Hocke S, Lü S, et al. Inactivation of BRCA2 in human cancer cells identifies a subset of tumors with enhanced sensitivity towards death receptor-mediated apoptosis. *Oncotarget*. 2016;7(8):9477-90.

58. Ben Khaled N, Hammer K, Ye L, Alnatsha A, Widholz SA, Piseddu I, et al. TRAIL Receptor Targeting Agents Potentiate PARP Inhibitor Efficacy in Pancreatic Cancer Independently of BRCA2 Mutation Status. *Cancers (Basel)*. 2022;14(21).
59. Wainberg ZA, Messersmith WA, Peddi PF, Kapp AV, Ashkenazi A, Royer-Joo S, et al. A phase 1B study of dulanermin in combination with modified FOLFOX6 plus bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer*. 2013;12(4):248-54.
60. Soria JC, Smit E, Khayat D, Besse B, Yang X, Hsu CP, et al. Phase 1b study of dulanermin (recombinant human Apo2L/TRAIL) in combination with paclitaxel, carboplatin, and bevacizumab in patients with advanced non-squamous non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(9):1527-33.
61. Soria JC, Márk Z, Zatloukal P, Szima B, Albert I, Juhász E, et al. Randomized phase II study of dulanermin in combination with paclitaxel, carboplatin, and bevacizumab in advanced non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2011;29(33):4442-51.
62. Ouyang X, Shi M, Jie F, Bai Y, Shen P, Yu Z, et al. Phase III study of dulanermin (recombinant human tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand/Apo2 ligand) combined with vinorelbine and cisplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Invest New Drugs*. 2018;36(2):315-22.
63. Griger J, Widholz SA, Jesinghaus M, de Andrade Krätzig N, Lange S, Engleitner T, et al. An integrated cellular and molecular model of gastric neuroendocrine cancer evolution highlights therapeutic targets. *Cancer Cell*. 2023;41(7):1327-44.e10.
64. Casadei-Gardini A, Rimini M, Tada T, Suda G, Shimose S, Kudo M, et al. Atezolizumab plus bevacizumab versus lenvatinib for unresectable hepatocellular carcinoma: a large real-life worldwide population. *Eur J Cancer*. 2023;180:9-20.
65. de Castro T, Welland S, Jochheim L, Leyh C, Shmanko K, Finkelmeier F, et al. Atezolizumab/bevacizumab and lenvatinib for hepatocellular carcinoma: A comparative analysis in a European real-world cohort. *Hepatol Commun*. 2024;8(11).
66. Alsina A, Kudo M, Vogel A, Cheng AL, Tak WY, Ryoo BY, et al. Effects of Subsequent Systemic Anticancer Medication Following First-Line Lenvatinib: A Post Hoc Responder Analysis from the Phase 3 REFLECT Study in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *Liver Cancer*. 2020;9(1):93-104.
67. Chon YE, Kim DY, Kim MN, Kim BK, Kim SU, Park JY, et al. Sorafenib vs. Lenvatinib in advanced hepatocellular carcinoma after atezolizumab/bevacizumab failure: A real-world study. *Clin Mol Hepatol*. 2024;30(3):345-59.
68. Muto H, Kuzuya T, Kawabe N, Ohno E, Funasaka K, Nagasaka M, et al. Clinical Outcomes With Lenvatinib in Patients Previously Treated With Atezolizumab/Bevacizumab for Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Res*. 2023;43(10):4673-82.
69. Yoo C, Kim JH, Ryu MH, Park SR, Lee D, Kim KM, et al. Clinical Outcomes with Multikinase Inhibitors after Progression on First-Line Atezolizumab plus Bevacizumab in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: A Multinational Multicenter Retrospective Study. *Liver Cancer*. 2021;10(2):107-14.

70. Hiraoka A, Kumada T, Tada T, Hirooka M, Kariyama K, Tani J, et al. Lenvatinib as Second-Line Treatment after Atezolizumab plus Bevacizumab for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: Clinical Results Show Importance of Hepatic Reserve Function. *Oncology*. 2023;101(10):624-33.
71. Toni EN, Mayerle J, Oehrle B, Seidensticker M, Rimassa L, Ehmer U, et al. Sequential or up-front triple combination with durvalumab, tremelimumab, and bevacizumab for patients with unresectable hepatocellular carcinoma (HCC): MONTBLANC. *Journal of Clinical Oncology*. 2024;42(3_suppl):TPS574-TPS.
72. De Toni EN, Mayerle J, Oehrle B, Seidensticker M, Rimassa L, Philipp A, et al. Letter: Presence of progression or absence of response? Alternative trial designs for immunotherapy of advanced hepatocellular carcinoma. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2024;n/a(n/a).
73. Finn RS, Ryoo B-Y, Hsu C-H, Li D, Burgoyne AM, Cotter C, et al. Tiragolumab in combination with atezolizumab and bevacizumab in patients with unresectable, locally advanced or metastatic hepatocellular carcinoma (MORPHEUS-Liver): a randomised, open-label, phase 1b–2, study. *The Lancet Oncology*. 2025;26(2):214-26.
74. Sharma N, Vacher J, Allison JP. TLR1/2 ligand enhances antitumor efficacy of CTLA-4 blockade by increasing intratumoral Treg depletion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(21):10453-62.
75. Napolitano S, Martini G, Ciardiello D, Del Tufo S, Martinelli E, Troiani T, et al. Targeting the EGFR signalling pathway in metastatic colorectal cancer. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2024;9(7):664-76.
76. Alsina M, Arrazubi V, Diez M, Tabernero J. Current developments in gastric cancer: from molecular profiling to treatment strategy. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2023;20(3):155-70.
77. Judson I, Jones RL, Wong NACS, Dileo P, Bulusu R, Smith M, et al. Gastrointestinal stromal tumour (GIST): British Sarcoma Group clinical practice guidelines. *British Journal of Cancer*. 2025;132(1):1-10.
78. Bailey P, Chang DK, Nones K, Johns AL, Patch A-M, Gingras M-C, et al. Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature*. 2016;531(7592):47-52.
79. Waddell N, Pajic M, Patch A-M, Chang DK, Kassahn KS, Bailey P, et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature*. 2015;518(7540):495-501.
80. Kindler HL, Hammel P, Reni M, Cutsem EV, Macarulla T, Hall MJ, et al. Overall Survival Results From the POLO Trial: A Phase III Study of Active Maintenance Olaparib Versus Placebo for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2022;40(34):3929-39.
81. Holter S, Borgida A, Dodd A, Grant R, Semotiuk K, Hedley D, et al. Germline BRCA Mutations in a Large Clinic-Based Cohort of Patients With Pancreatic Adenocarcinoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(28):3124-9.

82. Garralda E, Beaulieu M-E, Moreno V, Casacuberta-Serra S, Martínez-Martín S, Foradada L, et al. MYC targeting by OMO-103 in solid tumors: a phase 1 trial. *Nature medicine*. 2024;30(3):762-71.

6. Literaturverzeichnis

50 publizierte Arbeiten mit einem kumulativen Impact Faktor (IF) von 314,6 (Stand März 2025).

6.1 Originalpublikationen als Erst- oder Letztautor

*geteilte Erstautorenschaft

1. **Ben Khaled N**, Zarka V, Hobeika B, Schneider J, Rau M, Weich A, Leicht H, Ye L, Piseddu I, Dill MT, Kandulski A, Pinter M, Ehmer U, Schirmacher P, Marquardt JU, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Therapeutic sequences of systemic therapy after atezolizumab plus bevacizumab for hepatocellular carcinoma: Real-World analysis of the IMMUreal cohort. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. IF 6,6. 2025
2. **Ben Khaled N**, Möller M, Jochheim LS, Leyh C, Ehmer U, Böttcher K, Pinter M, Balcar L, Scheiner B, Weich A, Leicht H, Zarka V, Ye L, Schneider J, Piseddu I, Öcal O, Rau M, Sinner F, Venerito M, Gairing S, Förster F, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Atezolizumab/bevacizumab or lenvatinib in hepatocellular carcinoma: Multi-center real world study with focus on bleeding and thromboembolic events. *J Hep Reports*. IF 9,5. 2024
3. **Ben Khaled N**, Mörtl B, Beier D, Reiter FP, Pawlowska-Phelan D, Teufel A, Rössler D, Schwade DF, Philipp A, Kubisch I, Ehmer U, Geier A, Lange CM, Mayerle J, Berger-Thürmel K, De Toni EN, Munker S. Changing treatment landscape associated with improved survival in advanced hepatocellular carcinoma: a nationwide, population-based study. *Eur J Cancer*. IF 7,6. 2023
4. Roessler D, Öcal O, Philipp AB, Markwardt D, Munker S, Mayerle J, Jochheim LS, Hammer K, Lange CM, Geier A, Seidensticker M, Reiter FP, De Toni EN, **Ben Khaled N**. Ipilimumab and nivolumab in advanced hepatocellular carcinoma after failure of prior immune checkpoint inhibitor-based combination therapies: a multicenter retrospective study. *J Cancer Res Clin Oncol*. IF 2,7. 2023
5. **Ben Khaled N**, Hammer K, Ye L, Alnatsha A, Widholz SA, Piseddu I, Sirtl S, Schneider J, Munker S, Mahajan UM, Montero JJ, Griger J, Mayerle J, Reiter FP, De Toni EN. TRAIL Receptor Targeting Agents Potentiate PARP Inhibitor Efficacy in Pancreatic Cancer Independently of BRCA2 Mutation Status. *Cancers*. IF 5,2. 2022
6. **Ben Khaled N**, Seidensticker M, Ricke J, Mayerle J, Oehrle B, Rössler D,

Teupser D, Ehmer U, Bitzer M, Waldschmidt D, Fuchs M, Reuken PA, Lange CM, Wege H, Kandulski A, Dechêne A, Venerito M, Berres ML, Luedde T, Kubisch I, Reiter FP, De Toni EN. Atezolizumab and bevacizumab with transarterial chemoembolization in hepatocellular carcinoma: the DEMAND trial protocol. *Future Oncology*. IF 3,4. 2022

7. **Ben Khaled N***, Schulz C*, Alunni-Fabbroni M, Bronny K, Jochheim LS, Kalali B, Öcal O, Seidensticker M, Piseddu I, Enssle S, Karin M, Schneider JS, Strasoldo-Graffemberg T, Koch N, Macke L, Reiter FP, Lange CM, Wang Y, De Toni EN, Gerhard M, Mayerle J, Rieke J, Malfertheiner P. Impact of *Helicobacter pylori* on immune checkpoint inhibition in hepatocellular carcinoma: a multicenter study. *Digestion*. IF 3,5. 2025
8. Pritsch M*, **Ben Khaled N***, Liegl G, Schubert S, Hoelscher M, Woischke C, Arens N, Thorn-Seshold J, Kammermeier S, Wieser A. Rapid prototyping vaccine approach in mice against multi-drug resistant Gram-negative organisms from clinical isolates based on outer membrane vesicles. *Microbiol Immunol*. IF 2,9. 2021

6.2 Originalpublikationen als Koautor

1. Möhring C, Berger M, Sadeghlar F, Zhou X, Zhou T, Monin MB, Shmanko K, Welland S, Sinner F, Schwacha-Eipper B, Bauer U, Roderburg C, Pirozzi A, **Ben Khaled N**, Schrammen P, Balcar L, Pinter M, Ettrich TJ, Saborowski A, Berres ML, De Toni EN, Lüdde T, Rimassa L, Ehmer U, Venerito M, Radu IP, Schmidt-Wolf IGH, Weinmann A, Vogel A, Schmid M, Kalff JC, Strassburg CP, Gonzalez-Carmona MA. Evaluating Sorafenib (SORA-2) as Second-Line Treatment for Unresectable Hepatocellular Carcinoma: A European Retrospective Multicenter Study. *Cancers*. IF 5,2. 2025
2. Schindler P, von Beauvais P, Hoffmann E, Morgül H, Börner N, Masthoff M, **Ben Khaled N**, Rennebaum F, Lange CM, Trebicka J, Ingrisch M, Köhler M, Rieke J, Pascher A, Seidensticker M, Guba M, Öcal O, Wildgruber M. Combining radiomics and imaging biomarkers with clinical variables for the prediction of HCC recurrence after liver transplantation. *Liver Transplantation*. IF 5,1. 2025
3. Gairing SJ, Mildenerger P, Gile J, Artusa F, Scheiner B, Leyh C, Lieb S, Sinner F, Jörg V, Fruendt T, Himmelsbach V, Abedin N, Sahin C, Böttcher K, Schuhbaur J, Labuhn S, Korolewicz J, Fulgenzi CAM, D'Alessio A, Zanuso V, Huckle F, Röhlen N, **Ben Khaled N**, Ramadori E, Müller L, Weinmann A, Kloeckner R, Galle PR, Tran NH, Venkatesh SK, Teufel A, Ebert M, De Toni EN, Waldschmidt DT, Marquardt JU, Bettinger D, Peck-Radosavljevic M, Geier A, Reiter FP, Rimassa L, Pinato DJ, Roderburg C, Ettrich T, Bitzer M, Scheble

- V, Ehmer U, Berres ML, Finkelmeier F, Gonzalez-Carmona MA, von Felden J, Schulze K, Venerito M, van Bömmel F, Jochheim LS, Pinter M, Mohr R, Ilyas SI, Schmidtmann I, Foerster F. Evaluation of prognostic scores in patients with HCC undergoing first-line immunotherapy with atezolizumab and bevacizumab. *J Hep Reports*. IF 9,5. 2024
4. Scheiner B, Kang B, Balcar L, Radu IP, Reiter FP, Adžić G, Guo J, Gao X, Yuan X, Cheng L, Gorgulho J, Schultheiss M, Peeters F, Hucke F, **Ben Khaled N**, Piseddu I, Philipp A, Sinner F, D'Alessio A, Pomej K, Saborowski A, Bathon M, Schwacha-Eipper B, Zarka V, Lampichler K, Nishida N, Lee PC, Krall A, Saeed A, Himmelsbach V, Tesini G, Huang YH, Vivaldi C, Masi G, Vogel A, Schulze K, Trauner M, Djanani A, Stauber R, Kudo M, Parikh ND, Dufour JF, Prejac J, Geier A, Bengsch B, von Felden J, Venerito M, Weinmann A, Peck-Radosavljevic M, Finkelmeier F, Dekervel J, Ji F, Wang HW, Rimassa L, Pinato DJ, Bouattour M, Chon HJ, Pinter M. Outcome and management of patients with hepatocellular carcinoma who achieved a complete response to immunotherapy-based systemic therapy. *Hepatology*. IF 13. 2024
 5. de Castro T, Welland S, Jochheim L, Leyh C, Shmanko K, Finkelmeier F, Jeliazkova P, Jefremow A, Gonzalez-Carmona MA, Kandulski A, Roessler D, **Ben Khaled N**, Enssle S, Venerito M, Fründt TW, Schultheiß M, Djanani A, Pangerl M, Maieron A, Wirth TC, Marquardt JU, Greil R, Fricke C, Günther R, Schmiderer A, Bettinger D, Wege H, Scheiner B, Müller M, Strassburg CP, Siebler J, Ehmer U, Waidmann O, Weinmann A, Pinter M, Lange CM, Saborowski A, Vogel A. Atezolizumab/bevacizumab and lenvatinib for hepatocellular carcinoma: A comparative analysis in a European real-world cohort. *Hepatology Communications*. IF 5,6. 2024
 6. Kaiser R, Gold C, Joppich M, Loew Q, Akhalkatsi A, Mueller TT, Offensperger F, zu Senden A, Popp O, di Fina L, Knottenberg V, Martinez-Navarro A, Eivers L, Anjum A, Escaig R, Bruns N, Briem E, Dewender R, Muraly A, Akgöl S, Ferraro B, Hoefflinger JKL, Polewka V, **Khaled NB**, Allgeier J, Tiedt S, Dichgans M, Engelmann B, Enard W, Mertins P, Hubner N, Weckbach L, Zimmer R, Massberg S, Stark K, Nicolai L, Pekayvaz K. Peripheral priming induces plastic transcriptomic and proteomic responses in circulating neutrophils required for pathogen containment. *Science Advances*. IF 11,7. 2024
 7. Rudolph J, Huemmer C, Preuhs A, Buizza G, Hoppe BF, Dinkel J, Koliogiannis V, Fink N, Goller SS, Schwarze V, Mansour N, Schmidt VF, Fischer M, Jörgens M, **Ben Khaled N**, Liebig T, Ricke J, Rueckel J, Sabel BO. Non-radiology Healthcare Professionals Significantly Benefit from AI-Assistance in Emergency-Related Chest Radiography Interpretation. *Chest*. IF 9,5. 2024

8. Salvermoser L, Goldberg SN, Alunni-Fabbroni M, Kazmierczak PM, Gröper MN, Schäfer JN, Öcal E, Burkard T, Corradini S, **Ben Khaled N**, Petrera A, Wildgruber M, Ricke J, Stechele M. CT-guided high dose rate brachytherapy can induce multiple systemic proteins of proliferation and angiogenesis predicting outcome in HCC. *Translational Oncology*. IF 4,5. 2024
9. Griger J, Widholz SA, Jesinghaus M, de Andrade Krätzig N, Lange S, Engleitner T, Montero JJ, Zhigalova E, Öllinger R, Suresh V, Winkler W, Lier S, Baranov O, Trozzo R, **Ben Khaled N**, Chakraborty S, Yu J, Konukiewicz B, Steiger K, Pfarr N, Rajput A, Sailer D, Keller G, Schirmacher P, Röcken C, Fagerstedt KW, Mayerle J, Schmidt-Supprian M, Schneider G, Weichert W, Calado DP, Sommermann T, Klöppel G, Rajewsky K, Saur D, Rad R. An integrated cellular and molecular model of gastric neuroendocrine cancer evolution highlights therapeutic targets. *Cancer Cell*. IF 48,8. 2023
10. Seidensticker M, Öcal O, Schütte K, Malfertheiner P, Berg T, Loewe C, Klumpen HJ, van Delden O, Ümütlü MR, **Ben Khaled N**, de Toni EN, Seidensticker R, Aghdassi A, Tran A, Bronowicki JP, Peynircioglu B, Sangro B, Pech M, Ricke J. Impact of adjuvant sorafenib treatment after local ablation for HCC in the phase II SORAMIC trial. *J Hep Reports*. IF 9,5. 2023
11. Ye L, Ziesch A, Schneider JS, Ofner A, Nieß H, Denk G, Hohenester S, Mayr D, Mahajan UM, Munker S, **Khaled NB**, Wimmer R, Gerbes AL, Mayerle J, He Y, Geier A, Toni EN, Zhang C, Reiter FP. The inhibition of YAP Signaling Prevents Chronic Biliary Fibrosis in the Abcb4 Model by Modulation of Hepatic Stellate Cell and Bile Duct Epithelium Cell Pathophysiology. *Aging Dis*. IF 7,0. 2023.
12. Mahajan UM, Erber J, Shamsrizi P, Voit F, Vielhauer J, Johlke AL, Benesch C, **Khaled NB**, Reinecke F, Rudi WS, Klein M, Jakob C, Oswald M, König R, Schulz C, Mayerle J, Stubbe HC. Validation of the SACOV-19 score for identifying patients at risk of complicated or more severe COVID-19: a prospective study. *Infection*. IF 5,4. 2023
13. Öcal O, Schütte K, Malfertheiner P, Berg T, Loewe C, Klumpen HJ, Zech CJ, van Delden O, Ümütlü MR, Deniz S, **Khaled NB**, De Toni EN, Hoang TPT, Seidensticker R, Aghdassi A, Pech M, Ricke J, Seidensticker M. Prognostic value of baseline MRI features in patients treated with thermal ablation for hepatocellular carcinoma. *European Journal of Radiology*. IF 3,2. 2023
14. Stechele M, Link H, Hirner-Eppeneder H, Alunni-Fabbroni M, Wildgruber M, Salvermoser L, Corradini S, Schinner R, **Ben Khaled N**, Rössler D, Galun E, Goldberg SN, Ricke J, Kazmierczak PM. Circulating miR-21 as a prognostic

- biomarker in HCC treated by CT-guided high-dose rate brachytherapy. *Radiat Oncol.* IF 3,3. 2023
15. Mönch S, Heimer MM, Winkelmann M, Guertler A, Schlaak M, Tufman A, **Ben Khaled N**, de Toni E, Westphalen CB, von Bergwelt-Baildon M, Dinkel J, Kazmierczak PM, Ingrisich M, Mansour N, Unterrainer M, Heinzerling L, Ricke J, Kunz WG. Patterns of pseudoprogression across different cancer entities treated with immune checkpoint inhibitors. *Cancer Imaging.* IF 3,5. 2023
 16. Shatila M, Ma W, Cui Y, Naz S, S Thomas A, N De Toni E, Török HP, **Khaled NB**, Altan M, Schneider B, Wang Y. Effects of immunosuppressive treatment on patient outcomes after immune checkpoint inhibitor-related gastrointestinal toxicity. *J Cancer Res Clin Oncol.* IF 2,7. 2023
 17. Reiter FP, Ye L, Ofner A, Schiergens TS, Ziesch A, Brandl L, **Ben Khaled N**, Hohenester S, Wimmer R, Artmann R, He Y, Lee SML, Mayr D, Zhang C, Gerbes AL, Mayerle J, Denk G, De Toni EN. p70 Ribosomal Protein S6 Kinase Is a Checkpoint of Human Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrosis in Mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* IF 7,2. 2022
 18. de Castro T, Jochheim LS, Bathon M, Welland S, Scheiner B, Shmanko K, Roessler D, **Ben Khaled N**, Jeschke M, Ludwig JM, Marquardt JU, Weinmann A, Pinter M, Lange CM, Vogel A, Saborowski A. Atezolizumab and bevacizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma with impaired liver function and prior systemic therapy: a real-world experience. *Ther Adv Med Oncol.* IF 4,9. 2022
 19. Sinner F, Pinter M, Scheiner B, Ettrich TJ, Sturm N, Gonzalez-Carmona MA, Waidmann O, Finkelmeier F, Himmelsbach V, De Toni EN, **Ben Khaled N**, Mohr R, Fründt TW, Kütting F, Bömmel FV, Lieb S, Krug S, Bettinger D, Schultheiß M, Jochheim LS, Best J, Müller C, Keitel V, Venerito M. Atezolizumab Plus Bevacizumab in Patients with Advanced and Progressing Hepatocellular Carcinoma: Retrospective Multicenter Experience. *Cancers.* IF 5,2. 2022
 20. Sagmeister P, Daza J, Ofner A, Ziesch A, Ye L, **Ben Khaled N**, Ebert M, Mayerle J, Teufel A, De Toni EN, Munker S. Comparative Response of HCC Cells to TKIs: Modified in vitro Testing and Descriptive Expression Analysis. *J Hepatocell Carcinoma.* IF 4,1. 2022
 21. Öcal O, Schütte K, Kupčinskas J, Morkunas E, Jurkeviciute G, de Toni EN, **Ben Khaled N**, Berg T, Malfertheiner P, Klümpen HJ, Sengel C, Basu B, Valle JW, Benckert J, Gasbarrini A, Palmer D, Seidensticker R, Wildgruber M, Sangro B,

- Pech M, Ricke J, Seidensticker M. Baseline Interleukin-6 and -8 predict response and survival in patients with advanced hepatocellular carcinoma treated with sorafenib monotherapy: an exploratory post hoc analysis of the SORAMIC trial. J Cancer Res Clin Oncol. IF 3,6. 2022
22. Rudolph J, Schachtner B, Fink N, Koliogiannis V, Schwarze V, Goller S, Trappmann L, Hoppe BF, Mansour N, Fischer M, **Ben Khaled N**, Jörgens M, Dinkel J, Kunz WG, Ricke J, Ingrisich M, Sabel BO, Rueckel J. Clinically focused multi-cohort benchmarking as a tool for external validation of artificial intelligence algorithm performance in basic chest radiography analysis. Sci Rep. IF 4,6. 2022
23. Rudolph J, Huemmer C, Ghesu FC, Mansoor A, Preuhs A, Fieselmann A, Fink N, Dinkel J, Koliogiannis V, Schwarze V, Goller S, Fischer M, Jörgens M, **Ben Khaled N**, Vishwanath RS, Balachandran A, Ingrisich M, Ricke J, Sabel BO, Rueckel J. Artificial Intelligence in Chest Radiography Reporting Accuracy: Added Clinical Value in the Emergency Unit Setting Without 24/7 Radiology Coverage. Invest Radiol. IF 6,7. 2022
24. Rudolph J, Fink N, Dinkel J, Koliogiannis V, Schwarze V, Goller S, Erber B, Geyer T, Hoppe BF, Fischer M, **Ben Khaled N**, Jörgens M, Ricke J, Rueckel J, Sabel BO. Interpretation of Thoracic Radiography Shows Large Discrepancies Depending on the Qualification of the Physician-Quantitative Evaluation of Interobserver Agreement in a Representative Emergency Department Scenario. Diagnostics. IF 3,6. 2021
25. Pritsch M, **Ben-Khaled N**, Chaloupka M, Kobold S, Berens-Riha N, Peter A, Liegl G, Schubert S, Hoelscher M, Löscher T, Wieser A. Comparison of Intranasal Outer Membrane Vesicles with Cholera Toxin and Injected MF59C.1 as Adjuvants for Malaria Transmission Blocking Antigens AnAPN1 and Pfs48/45. Journal of Immunology Research. IF 4,9. 2016

6.3 Kasuistiken/Case reports

1. Shirwaikar Thomas A, Lee SE, Shatila M, De Toni EN, Török HP, **Ben Khaled N**, Powell N, Weight R, Faleck DM, Wang Y. IL12/23 Blockade for Refractory Immune-Mediated Colitis: 2-Center Experience. Am J Gastroenterol. IF 8,5. 2023
2. **Ben Khaled N**, Roessler D, Reiter FP, Seidensticker M, Guba M, De Toni EN. Extending the Use of Atezolizumab and Bevacizumab to a Liver Transplant Recipient: Need for a Posttransplant Registry. Liver Transpl. IF 6,1. 2021

6.4 Übersichtsartikel/Reviews

1. Ye L, Schneider JS, **Ben Khaled N**, Schirmacher P, Seifert C, Frey L, He A, Geier A, De Toni EN, Zhang C, Reiter FP. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma: biology, diagnosis, and management. Liver Cancer. IF 11,6. 2023
2. **Ben Khaled N**, Jacob S, Rössler D, Bösch F, De Toni EN, Werner J, Ricke J, Mayerle J, Seidensticker M, Schulz C, Fabritius MP. Current State of Multidisciplinary Treatment in Cholangiocarcinoma. Dig Dis. IF 2,3. 2022
3. Reiter FP, **Ben Khaled N**, Ye L, Zhang C, Seidensticker M, Op den Winkel M, Denk G, Geier A, De Toni EN. Advances in Pharmacotherapy of Hepatocellular Carcinoma: A State-of-the-Art Review. Dig Dis. IF 2,3. 2022
4. Pretzsch E, Nieß H, **Khaled NB**, Bösch F, Guba M, Werner J, Angele M, Chaudry IH. Molecular Mechanisms of Ischaemia-Reperfusion Injury and Regeneration in the Liver-Shock and Surgery-Associated Changes. Int J Mol Sci. IF 5,6. 2022
5. Fabritius MP, **Ben Khaled N**, Kunz WG, Ricke J, Seidensticker M. Image-Guided Local Treatment for Unresectable Intrahepatic Cholangiocarcinoma-Role of Interventional Radiology. J Clin Med. IF 5,0. 2021

6.5 Buchkapitel/Book chapters

Entfällt

6.6 Sonstige Veröffentlichungen (z. B. Letters to the Editor)

1. **Ben Khaled N**, Mayerle J, De Toni EN, Geier A, Reiter FP. Response to: "Anticoagulation is not associated with an increased risk of variceal bleeding under systemic therapy for advanced HCC". J Hep Reports. IF 9,6. 2024
2. Ertl C, Tomsitz D, **Ben Khaled N**. Nebenwirkungen von Immuncheckpoint-Inhibitoren : Diagnostik und Management – ein Update. Die Innere Medizin. 2024
3. De Toni EN, Mayerle J, Oehrle B, Seidensticker M, Rimassa L, Philipp A, Roessler D, **Khaled NB**. Letter: Presence of progression or absence of response? Alternative trial designs for immunotherapy of advanced hepatocellular carcinoma. Aliment Pharmacol Ther. IF 6,6. 2024

4. **Ben Khaled N**, Mörtl B, Beier D, Reiter FP, Pawlowska-Phelan D, Teufel A, Rössler D, Schwade DF, Philipp A, Kubisch I, Ehmer U, Geier A, Lange CM, Mayerle J, Berger K, De Toni EN, Munker S. Response to the letter re: Changing treatment landscape associated with improved survival in advanced hepatocellular carcinoma: A nationwide, population-based study. Eur J Cancer. IF 7,6. 2024
5. Öcal O, Kimm MA, Hoang TPT, Pech M, Öcal E, **Ben Khaled N**, Sangro B, Ricke J, Seidensticker M, Wildgruber M. Predictive Value of Platelet-to-Lymphocyte and Neutrophil-to-Lymphocyte ratio in HCC Treated with Sorafenib and Radioembolization. J Hep Reports. IF 9,6. 2023
6. **Ben Khaled N**, Reiter FP, Geier A, De Toni EN. Systemtherapie des hepatozellulären Karzinoms: mehr als eine „palliative“ Therapie? Die Gastroenterologie. 2023
7. **Ben Khaled N**, Rössler D, Reiter FP, Mayerle J, Lange CM, Seidensticker M, Guba M, De Toni EN. Reply. Liver Transplantation. IF 6,1. 2022
8. **Ben Khaled N**, Allgeier J, Lutz T, Weber S, Lange CM. Pharmacotherapy in patients with liver cirrhosis: status quo and new developments. Der Gastroenterologe. 2022
9. Schütte K, Kupčinskas J, Morkunas E, Öcal O, Schinner R, Seidensticker M, De Toni EN, **Ben Khaled N**, Pech M, Palmer D, Berg T, Sengel C, Basu B, Valle JW, Benckert J, Gasbarrini A, Sangro B, Malfertheiner P, Ricke J. Dynamics in Circulating Proinflammatory Biomarkers for Prognostic Assessment of Patients With Advanced HCC – A Substudy From the SORAMIC Trial. Frontiers in Gastroenterology. 2022
10. **Ben Khaled N**, Piseddu I, Böhmer DFR, Zierold S, Heinzerling L, Mayerle J, De Toni EN. Checkpoint inhibition in cancer. Der Onkologe. 2021

7. Versicherung an Eides statt und Erklärung zur schriftlichen Habilitationsleistung

Erklärung über bisher eingereichte Habilitationsprojekte

Es wurden durch mich bislang keine weiteren Habilitationsprojekte an einer anderen Hochschule eingereicht. Ebenso wurde mir bislang kein akademischer Grad entzogen, ein entsprechendes Verfahren ist nicht anhängig.

München, den 06.05.2025

Dr. med. Najib Ben Khaled

Versicherung an Eides statt

Hiermit versichere ich an Eides Statt, dass ich die schriftliche Habilitationsleistung selbstständig verfasst und die Herkunft des verwendeten oder zitierten Materials ordnungsgemäß kenntlich gemacht wurde.

München, den 06.05.2025

Dr. med. Najib Ben Khaled

8. Danksagung

Allen voran gilt mein Dank Prof. Dr. Julia Mayerle, meiner Klinikdirektorin und geschäftsführenden Fachmentorin, für ihre exzellente Unterstützung. Ihr wissenschaftlicher Rat, das aufrichtige Interesse an meiner Arbeit und ihre umfassende Förderung haben meine klinische und wissenschaftliche Laufbahn maßgeblich geprägt. Ebenso danke ich den weiteren Mitgliedern meines Fachmentorats, Prof. Dr. Dr. Michael von Bergwelt und Prof. Dr. Jens Ricke, die mich fachlich bereichernd und motivierend begleitet haben.

Prof. Dr. Enrico De Toni gebührt herzlicher Dank. Er ist mir seit dem Beginn meiner akademischen Karriere ein wegweisender Mentor und Freund. Seine große Begeisterung für die Gastrointestinale Onkologie hat mich zu diesem Forschungsfeld gebracht. Ein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Roland Rad. Seit meinem Eintritt in seine Arbeitsgruppe hat er meine akademische Karriere mit großem Engagement begleitet und mein wissenschaftliches Arbeiten durch seinen Innovationsgeist wesentlich bereichert. PD Dr. Florian Reiter danke ich sehr für die inspirierenden fachlichen Gespräche, die wertvollen beruflichen und persönlichen Ratschläge und die gemeinsamen Arbeiten. Mein Dank gilt ebenso PD Dr. Christian Schulz und Prof. Dr. Christian Lange, die meine klinische und akademische Entwicklung kontinuierlich unterstützt und mir mit Rat und Tat zur Seite gestanden haben.

Diese Habilitationsarbeit ist das Ergebnis gemeinsamer Anstrengungen und großen Einsatzes unserer Arbeitsgruppe sowie Kollaborationspartner. Ihnen allen danke ich herzlich für Ihr Engagement, die Anregungen, und die hervorragende Zusammenarbeit. Stellvertretend seien hier genannt: Dr. Alexander Philipp, Dr. Ignazio Piseddu, Dr. Joscha Griger, Dr. Juan José Montero, Prof. Dr. Alexander Geier, Prof. Dr. Max Seidensticker, Prof. Dr. Peter Malfertheiner, Dr. Osman Öcal, Dr. Marianna Alunni-Fabbroni, Bernard Hobeika, Katharina Hammer, Daniel Schwade, Theresa Strasoldo-Graffemberg, Dr. Karin Berger-Thürmel, Dr. Daniel Rössler, Dr. Marion Basch, Julia Altenhofer, Dr. Bettina Oehrle, Tim Hüwer, Helga Lex.

Meiner Ehefrau, meinen Eltern und meinen Geschwistern danke ich von Herzen für ihre bedingungslose Unterstützung und ihr Vertrauen in mich.

9. Lebenslauf

Name, Vorname: Ben Khaled, Najib
E-Mail: Najib.BenKhaled@med.uni-muenchen.de
Dienstanschrift: Medizinische Klinik und Poliklinik II
LMU-Klinikum, Campus Großhadern
Marchioninistr. 15, 81377 München

Ein detaillierter Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version der Habilitationsschrift nicht veröffentlicht.

10. Liste zugrunde liegender Arbeiten

Eine Übersicht der Arbeiten ist auf Seite 3-4 dieser Habilitationsschrift zu finden. Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen können die Originalpublikationen nicht abgedruckt werden.