

Aus dem CharitéCentrum für
Diagnostische und interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin
Klinik für Radiologie (mit dem Bereich Kinderradiologie)
Klinikdirektor: Univ.-Prof. Dr. med. Bernd Hamm

Habilitationsschrift

Bildbasierte Charakterisierung maligner Lebertumoren und ihrer Tumormikroumgebung im Kontext lokoregionärer Therapien

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach
Experimentelle Radiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Dr. med. Lynn Jeanette Savic
geboren in Herzberg am Harz

Eingereicht: Januar 2021

Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries

1. Gutachter/in: Prof. Dr. med. Timm Denecke, Leipzig

2. Gutachter/in: Prof. Dr. med. Christiane Kuhl, Aachen

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1 Einleitung.....	5
1.1 Interventionelle Onkologie im Kontext maligner Lebertumoren	5
1.2 Intraarterielle lokoregionäre Tumorthérapien	5
1.2.1 Transarterielle Chemoembolisation.....	6
1.2.2 Selektive Interne Radioembolisation	7
1.3 Bildgebung des hepatozellulären Karzinoms	8
1.3.1 Bildgebende Beurteilung des Therapieansprechens	8
1.3.2 Therapiespezifische Evaluation des Tumoransprechens nach lokoregionären Therapien	10
1.3.3 Künstliche Intelligenz zur computergestützten Bildanalyse	11
1.4 Molekulare Bildgebung von Lebertumoren	12
1.4.1 Die Rolle der Tumormikroumgebung	12
1.4.2 Tumormetabolismus und Immunevasion	12
1.4.3 Molekulare antiglykolytische und Immuntherapien im Kontext der TACE	14
1.5 Fragestellung und Zielsetzung	16
2 Ergebnisse.....	17
2.1 Quantitative und therapiespezifische Prädiktoren des Tumoransprechens nach intraarteriellen Therapien.....	17
2.1.1 Quantitative SPECT-Analyse zur Prädiktion des Tumoransprechens nach SIRT (<i>Originalarbeit 1</i>)	17
2.1.2 Lipiodolquantifizierung und Doxorubicinverteilung nach TACE (<i>Originalarbeit 2</i>)	26
2.1.3 Machine Learning Algorithmen zur Prädiktion des Tumoransprechens nach TACE (<i>Originalarbeit 3</i>)	41
2.2 Molekulare Charakterisierung von Lebertumoren im Kontext von TACE.....	51
2.2.1 Molekulare MRT der Tumorazidose in organotypischen 3D in vitro-Modellen (<i>Originalarbeit 4</i>)	51
2.2.2 Molekulare MRT der Tumorazidose in vivo nach TACE (<i>Originalarbeit 5</i>)	67
2.2.3 Molekulare MRT des immuno-metabolischen Wechselspiels in vivo nach TACE (<i>Originalarbeit 6</i>)	79
2.2.4 Immunphänotypisierung und Radiomics-Analyse vor TACE (<i>Originalarbeit 7</i>)	90
3 Diskussion.....	102
3.1 Anwendbarkeit quantitativer Bildanalysen in der interventionellen Onkologie	102
3.2 Molekulare MRT-Bildgebung des extrazellulären Tumor-pH.....	105
3.3 Molekulare immunzellspezifische MRT-Biomarker	108
3.4 Limitationen.....	112
4 Zusammenfassung	114

5 In dieser Habilitationsschrift verwendete Publikationen	119
6 Literaturverzeichnis.....	121
Danksagung.....	131
Erklärung	132

Abkürzungsverzeichnis

3-BrPA	3-Bromopyruvat
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer
CRC	Kolorektales Karzinom
CT	Computertomographie
cTACE	Konventionelle transarterielle Chemoembolisation
DEB-TACE	Drug-eluting beads transarterielle Chemoembolisation
EASL	European Association for the Study of the Liver
ETV	Enhancing Tumor Volume
Gd	Gadolinium
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
IAT	Intraarterielle Therapie
KI	Künstliche Intelligenz
KM	Kontrastmittel
mRECIST	Modified RECIST
MRS	Magnetresonanztomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
NLR	Neutrophil-to-Lymphocyte-Ratio
PLR	Platelet-to-Lymphocyte-Ratio
qEASL	Quantitative EASL
RECIST	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
ROI	Region of interest
SIRT	Selektive interne Radioembolisation
SPECT	Single Photon Emission Computertomographie
SPION	Superparamagnetic iron oxide particles
TAA	Tumor-assoziierte Antigene
TACE	Transarterielle Chemoembolisation
TMU	Tumormikroumgebung
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

1.1 Interventionelle Onkologie im Kontext maligner Lebertumoren

Maligne Lebertumoren spielen weltweit eine wichtige Rolle in der Krankheitsversorgung und gewinnen durch ihre steigende Inzidenz immer weiter an Bedeutung ¹. Die Leber ist das am häufigsten von Fernmetastasen, z.B. kolorektaler Karzinome (CRC) betroffene Organ ¹. Der häufigste primäre maligne Lebertumor ist das hepatozelluläre Karzinom (HCC), welches die sechsthäufigste maligne Tumorentität weltweit und die dritthäufigste krebsassoziierte Todesursache darstellt ¹.

In der Behandlung maligner Lebertumoren stellen die lokoregionären Therapien der interventionellen Onkologie neben der Chirurgie, Onkologie und Strahlentherapie die vierte Säule der Tumorbehandlung dar ². Diese lokoregionären Tumorthérapien sind bildgestützte, minimal-invasive, selektive Interventionen, die auf eine maximale lokale Wirksamkeit bei gleichzeitig geringer systemischer Toxizität abzielen ³. Häufige Konstellationen in der Indikationsstellung für lokoregionäre Therapien werden am Beispiel des HCC ersichtlich. Die Einteilung der Krankheitsstadien des HCC erfolgt häufig anhand der Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC) Klassifikation, welche auch die Grundlage für Behandlungsrichtlinien z.B. der European Association for the Study of Liver darstellt ^{4, 5}. Die BCLC Klassifikation berücksichtigt die Tumormanifestation (Größe und Anzahl der Tumoren, Gefäßinvasion, extrahepatische Metastasen), die Aktivität und Selbstbestimmung des Patienten i.S. eines Performance Scores und die Leberfunktion gemessen anhand der Child-Pugh Kriterien ^{6, 7}. Im sehr frühen (BCLC 0) und frühen Stadium (BCLC A) ist eine Heilung mittels Leberresektion, Ablation oder Lebertransplantation möglich. Tumorablationen werden in diesem Stadium üblicherweise zur Behandlung kleiner Tumoren (≤ 3 cm Durchmesser) gewählt, deren Wirksamkeit dann mit der chirurgischen Resektion vergleichbar ist ^{7, 8}. Dennoch beträgt das mediane Überleben von Patienten mit HCC weniger als ein Jahr, da die Erkrankung häufig für lange Zeit symptomlos verläuft und mehr als ein Drittel der Patienten im intermediären (BCLC B) oder fortgeschrittenen (BCLC C) Krankheitsstadium diagnostiziert werden. Im intermediären Stadium kommen leitliniengerecht die TACE und im fortgeschrittenen Stadium systemische Therapien oder die selektive interne Radioembolisation (SIRT) zum Einsatz, um das Tumorwachstum zu kontrollieren und eine Lebensverlängerung zu erzielen ⁹⁻¹³. Die TACE wird darüber hinaus auch zum Downstaging von HCC oder der Überbrückung bis zur Lebertransplantation oder -resektion eingesetzt ¹⁴.

1.2 Intraarterielle lokoregionäre Tumorthérapien

Die TACE und SIRT zählen zu den kathetergestützten, intraarteriellen Tumorthérapien (IAT). Aufgrund der dualen Blutversorgung der Leber kommen IAT am häufigsten in der Leber zur Anwendung, teilweise sind sie aber auch an anderen Organen und Körperregionen gebräuchlich (z.B. Niere, Lunge) ¹⁵. Während das gesunde Lebergewebe hauptsächlich durch die Pfortader

versorgt wird, werden Lebertumore präferenziell über Feeder-Gefäße aus der Leberarterie versorgt^{16, 17}. Insbesondere das HCC weist typischerweise ausgeprägte vaskuläre Anomalien auf, die mit einer Arterialisierung und sinusoidalen Kapillarisation einhergehen¹⁸. Es wird daher ein arterieller Zugang über die A. femoralis oder die A. radialis gewählt und in Seldinger-Technik ein Katheter unter Röntgenkontrolle bis in den tumor-versorgenden Arterienast vorgeschoben¹⁹. Die selektive Injektion über dieses Feeder-Gefäß ermöglicht eine hohe lokale Konzentration zytotoxischer oder radioaktiver Substanzen im Tumor bei gleichzeitig geringer systemischer Toxizität²⁰ (**Abbildung 1**).

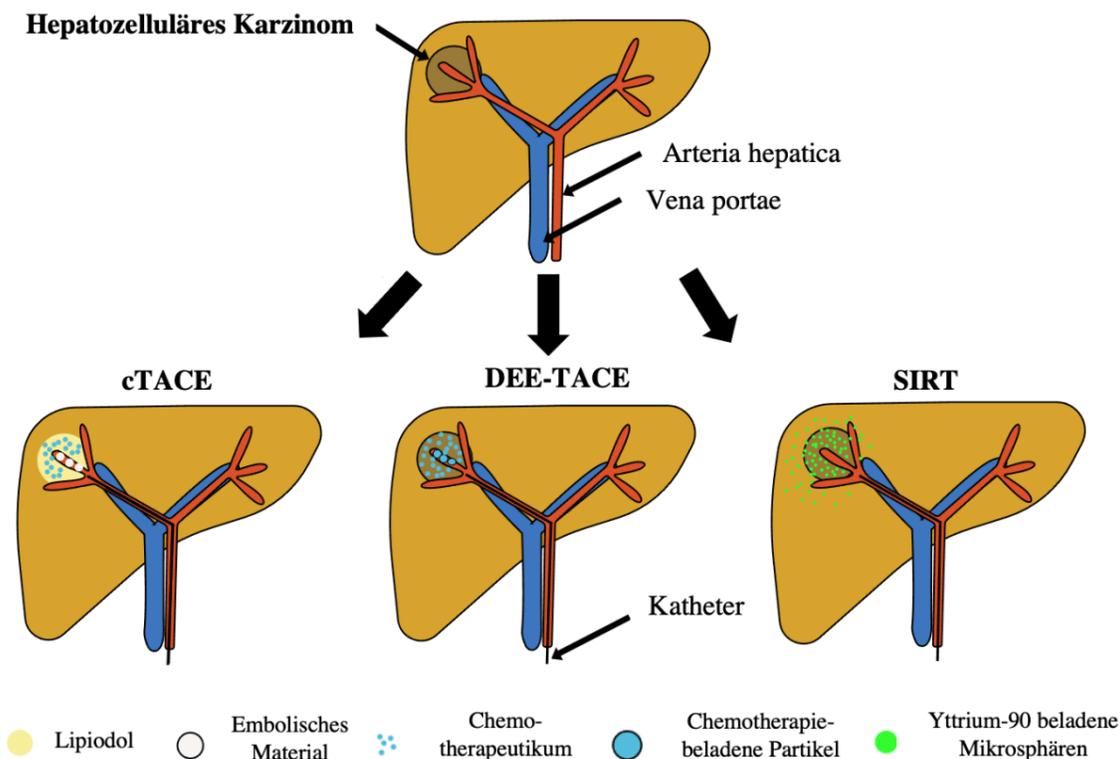


Abbildung 1 – Schematische Darstellung der Prinzipien intraarterieller lokoregionärer Therapien. Die konventionelle TACE (**cTACE**) erfolgt mittels lokaler Applikation in Lipiodol gelöster Chemotherapeutika und nachfolgender Embolisation des tumorversorgenden Arterienastes. Bei der Drug-eluting beads TACE (**DEB-TACE**) werden Chemotherapie-beladene Partikel (Durchmesser: 75-100 oder 100-300 μm) appliziert. Bei der selektiven internen Radiotherapie (**SIRT**) erfolgt die intraarterielle Applikation mit radioaktivem Yttrium-90 beladener Mikrosphären (Durchmesser: 20-60 μm). (Originalabbildung durch die Autorin)

1.2.1 Transarterielle Chemoembolisation

Klassischerweise werden zwei Formen von Chemoembolisation unterschieden: die konventionelle TACE (cTACE) und die Drug-eluting beads (DEB)-TACE. Bei der konventionellen TACE werden ein oder mehrere Chemotherapeutika (z.B. Doxorubicin, Mitomycin C) in einer Emulsion mit Lipiodol in den tumorversorgenden Arterienast appliziert. Lipiodol ist ein jodiertes

Öl, welches bei der cTACE eine dreifache Rolle als Emulgator der hydrophilen Chemotherapeutika, röntgendichtes Kontrastmittel (KM) und Mikroembolisat erfüllt ²¹. Nach Injektion des Lipiodol-Chemotherapie-Gemisches erfolgt die selektive Embolisation der Feeder-Gefäße mit embolischen Materialien wie Gelfoam oder Polyvinylalkohol-Partikeln. Das Ziel der Embolisation ist es, durch Unterbinden der Blutversorgung des Tumors die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr und das Auswaschen der lokal applizierten Chemotherapeutika zu verhindern ¹⁴. Der Wirkmechanismus der TACE beruht somit auf den synergistischen Effekten der Chemotherapie und der ischämisch-induzierten Tumornekrose ¹¹ (**Abbildung 2**).

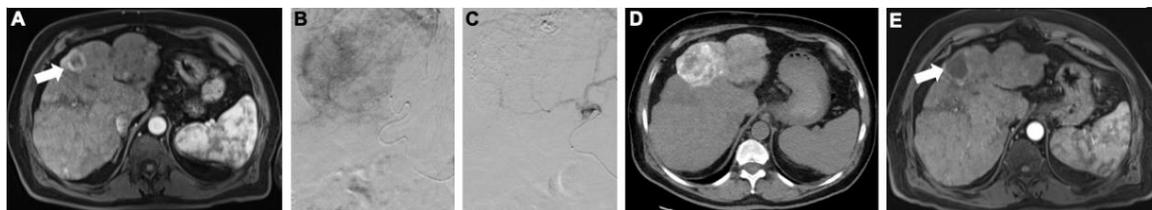


Abbildung 2 – Radiologische Bildgebung des HCC im Kontext der cTACE. **A)** Die axiale KM-gestützte T1-gewichtete MRT in der arteriellen Phase zeigt ein typischerweise arteriell hypervaskularisiertes HCC (weißer Pfeil) im Lebersegment IVb vor der Behandlung. **B)** Die angiographischen Aufnahmen während der cTACE zeigen eine ausgeprägte KM-Anreicherung des Tumors vor Embolisation (sog. „Tumorblush“) und **C)** eine fehlende Kontrastierung des Tumors und der tumorversorgenden Arterienäste nach Embolisation. **D)** In der nativen Computertomographie (CT) 24 Stunden nach cTACE weist das Lebersegment IVb mit dem Tumor eine selektive Lipiodoldeposition auf. **E)** In der axialen KM-gestützten Magnetresonanztomographie sechs Wochen nach cTACE stellt sich das HCC nekrotisch und ohne KM-Anreicherung in der arteriellen Phase dar. (Originalabbildung durch die Autorin)

1.2.2 Selektive Interne Radioembolisation

Intraarterielle Radionuklidtherapien wie die SIRT sind eine alternative Embolotherapie, bei der statt Chemotherapeutika radioaktive Nuklide zur intraarteriellen Applikation verwendet werden. Bei diesen Nukliden handelt es sich in der Regel um Yttrium-90, Holmium-166 oder selten Iod-131, die auf Mikrosphären geladen werden ²². Das am häufigsten verwendete Radionuklid, Yttrium-90, ist ein Beta-Strahler mit einer kurzen Halbwertszeit von 64,2 Stunden und einer limitierten Penetrationstiefe von durchschnittlich 2,5 mm. In ihrer klassischen Form, stellt die SIRT eine lobäre oder holistische Behandlung dar, wobei über die proximalen Leberarterienhauptäste mit radioaktivem Yttrium-90 beladene Partikel von 20-60 µm Durchmesser injiziert werden, die sich im Kapillarbett der Tumoren verfangen und sie von innen heraus bestrahlen ²³. Seit einigen Jahren werden zusätzlich Verfahren zur lokalen Dosisintensivierung angeboten wie die sog. „boosted“ Radioembolisation und die Radionuklid-Segmentektomie ^{24, 25}. Die Beta-Bestrahlung des Yttrium-90 stellt den hauptsächlichen

Wirkmechanismus der SIRT dar, während ein embolisierender Effekt abhängig ist von der Anzahl der injizierten Partikel und nur bei ca. 20% der Interventionen eintritt ^{26, 27}.

Im Gegensatz zur TACE wird die SIRT häufig erst im fortgeschrittenen Stadium des HCC oder bei ausgedehnter leberdominanter Metastasierung eines extrahepatischen Primarius angewandt ²⁸⁻³⁰. Um das umliegende Gewebe vor der radioaktiven Strahlung zu schützen, findet im Vorfeld eine Test-Angiografie statt. Hierbei identifizierte Shuntgefäße, die die Mikrosphären in extrahepatische Organe (z.B. Magen, Lunge) führen könnten, werden verschlossen. Desweiteren werden abschließend mit Technetium-99 (Tc-99) beladene Makroaggregate von Albumin (MAA) als Testsubstanz intraarteriell injiziert. Die Verteilung des MAA kann anschließend mittels SPECT-CT Bildgebung visualisiert und im Hinblick auf die intra- und extrahepatische Verteilung evaluiert werden, welche je nach Ausmaß eine Dosisanpassung notwendig machen oder eine Kontraindikation für die Radioembolisation darstellen kann ³¹.

1.3 Bildgebung des hepatozellulären Karzinoms

Im Rahmen des Stagings erhalten Patienten mit Lebertumoren in der Regel eine KM-gestützte Schnittbildgebung (CT oder MRT). Unbehandelte HCC weisen aufgrund der vornehmlich arteriellen Hypervaskularisation typischerweise eine arterielle Anflutung des KMs 15-20 Sekunden nach intravenöser Injektion auf (sog. „arterielles Enhancement“), während sich in der portalvenösen und venösen KM-Phase (ca. 45 und 60-80 Sekunden nach Injektion) die durchschnittliche Dichte oder Signalintensität des Tumors geringer darstellt als die des Leberparenchyms (sog. „wash-out“) ³². Eine analoge KM-Dynamik weisen auch Lebertumoren aus VX2-Zellen auf, die daher häufig als orthotopes Tumormodell im Kaninchen für präklinische Versuche zur Bildgebung und lokoregionären Therapie des HCC verwendet werden ^{33, 34}.

1.3.1 Bildgebende Beurteilung des Therapieansprechens

Bildgebende Verfahren sind sowohl in der klinischen Praxis als auch in der onkologischen Forschung von großer Bedeutung für die Evaluation des Therapieeffektes. Insbesondere die Schnittbildgebung mit CT oder MRT ermöglicht eine dreidimensionale Beurteilung der Tumorausdehnung und kann durch Verwendung von KM um dynamische Messungen der Vaskularisation (z.B. extrazelluläre KM) oder der zellulären Zusammensetzung (z.B. intrazelluläre KM) von Tumoren ergänzt werden. Bei der Beurteilung von Lebertumoren ist die MRT aufgrund des besseren Weichteilkontrastes dem CT technisch überlegen ³⁵.

Um Therapieentscheidungen und das Patientenmanagement positiv zu beeinflussen, sollten Bildgebungsmarker, die zur Evaluation des Tumoransprechens herangezogen werden, verschiedene Anforderungen erfüllen: Sie sollten a) quantifizierbar und b) frühzeitig auswertbar sein, um einen Vorhersagewert für das Outcome des Patienten (z.B. progressionsfreies Überleben, Gesamtüberleben) zu haben. Außerdem sollte c) eine histopathologische Validierung während der Etablierung erfolgen.

Es existieren verschiedene etablierte Evaluationskriterien, welche anhand uni- (z.B. Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, RECIST) oder bidimensionaler Achsenvermessungen der TumorgroÙe (z.B. World Health Organization Kriterien, WHO) das Tumoransprechen beurteilen³⁶. Bei IAT kommt es jedoch nicht oder erst verzögert zu einer Größenabnahme nach der Therapie. Stattdessen wird durch die Embolisation die arterielle Tumordurchblutung reduziert und eine Tumornekrose induziert, welche sich bildmorphologisch primär in einer verringerten KM-Anreicherung des Tumors darstellt^{37, 38}. Folglich wurden neuere Klassifikationen erarbeitet (z.B. modified (m)RECIST; European Association for the Study of the Liver, EASL), wobei nach lokoregionärer Therapie nur der arteriell hypervaskularisierte Tumoranteil im Verlauf vermessen und beurteilt wird³⁸⁻⁴⁰. Für die Beurteilung des Tumoransprechens nach SIRT existieren keine allgemein akzeptierten Kriterien des Therapieerfolges, sodass zumeist RECIST oder mRECIST zur verwendet werden^{41, 42} (**Abbildung 3**).

Eine gemeinsame Limitation aller genannten Kriterien ergibt sich hinsichtlich ihrer Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit im longitudinalen Verlauf durch die manuellen Auswertungen und die prozentuale visuelle Abschätzung des Enhancements. Die hieraus resultierenden Untersucher-abhängigen Näherungswerte und die Verwendung vereinfachter

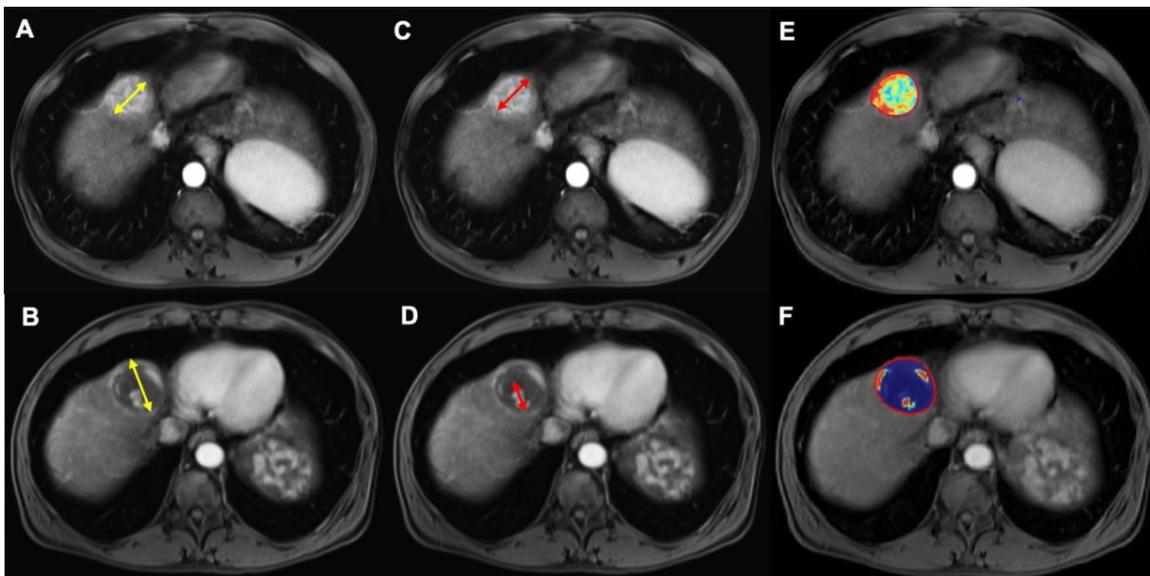


Abbildung 3 – Bildbasierte Beurteilung des Tumoransprechens nach TACE eines HCC. Gezeigt werden axiale KM-gestützte T1-gewichtete MRT-Aufnahmen in der arteriellen Phase vor (obere Reihe) und sechs Wochen nach TACE (untere Reihe). **A)** und **B)** illustrieren die Messung des Tumordiameters zur Evaluation des Tumoransprechens gemäß RECIST 1.1. (stabile Erkrankung). **C)** und **D)** zeigen die Messung des längsten zusammenhängenden KM-anreichernden Tumordiameters gemäß mRECIST (partielle Remission). **E)** und **F)** visualisieren die Messung des dreidimensionalen Enhancing Tumor Volumes (ETV) zur Beurteilung des Tumoransprechens gemäß der quantitativen European Association for the Study of the Liver (qEASL) Kriterien (partielle Remission). (Originalabbildung durch die Autorin)

Volumenformeln scheinen für vergleichende Bildanalysen nicht ausreichend präzise zu sein ⁴³. Als Weiterentwicklung der mRECIST und EASL-Kriterien wurden deshalb 2014 die quantitativen (q)EASL-Kriterien zur Beurteilung des Tumoransprechens nach IAT entwickelt, denen eine software-basierte dreidimensionale Evaluation des sog. Enhancing Tumor Volumes (ETV) zugrunde liegt ⁴⁴. Primäres Ziel der qEASL-Kriterien ist es, die in verschiedenen Studien gezeigte limitierte Reproduzierbarkeit der Kaliper-basierten Messungen für mRECIST und EASL zu umgehen ^{45, 46}. Weiterhin können asymmetrische Nekrosemuster nach Therapie und variable MRT-Kontrastierungen durch automatisierte Messungen und patientenspezifische Referenzwerte der Signalintensität in der Definition des ETV berücksichtigt werden. Obwohl eine Überlegenheit der qEASL-Kriterien gegenüber uni- und bidimensionaler Kriterien in der Evaluation primärer und sekundärer Lebertumoren nach TACE gezeigt werden konnte, findet qEASL in der klinischen Praxis noch keine weitreichende Anwendung. Die Hauptgründe hierfür sind auf die limitierte Verfügbarkeit der notwendigen Software und eine relativ komplexe Durchführung der ETV-Bestimmung zurückzuführen ^{46, 47} (**Abbildung 4**).

1.3.2 Therapiespezifische Evaluation des Tumoransprechens nach lokoregionären Therapien

Zusätzlich zu allgemeinen morphologischen Veränderungen des Tumors nach der Therapie zielen aktuelle Bemühungen in der radiologischen Forschung darauf ab, therapiespezifische Indikatoren zu identifizieren, die bereits während oder direkt nach der lokoregionären Therapie das Tumoransprechen vorhersagen können. Im Rahmen der cTACE liegt hierbei ein Fokus auf dem zur Embolisierung verwendeten Lipiodol. Das iodierte ölhaltige Substrat ist röntgendicht und seine Verteilung kann daher während der cTACE in der Fluoroskopie oder Cone-Beam-CT oder direkt im Anschluss an die cTACE in der konventionellen CT sichtbar gemacht werden. Lipiodol gelangt über einen bisher nicht vollständig verstandenen Mechanismus in den hypervaskularisierten Tumor



Abbildung 4 – Quantifizierung des ETV. A) Semiautomatische Tumorsegmentierung auf KM-gestützten T1-gewichteten MRT-Aufnahmen. **B)** Software-basierte Erstellung einer dreidimensionalen Tumormaske. **C)** Subtraktion der MRT-Aufnahmen vor KM-Gabe von der KM-gestützten MRT zur Entfernung unspezifischer Hintergrundsignale (z.B. Einblutungen). Selektion eines patientenspezifischen Referenz-ROI (grünes Kästchen) innerhalb nicht-tumorösen Leberparenchyms und software-basierte Errechnung und Visualisierung des ETV innerhalb der Tumormaske mit einer Farbskala von blau (kein Enhancement) bis rot (starkes Enhancement). (Originalabbildung durch die Autorin)

und bleibt dort für mehrere Monate nachweisbar, wie elektronenmikroskopische Aufnahmen aus präklinischen Studien gezeigt haben ⁴⁸. Aus dem umgebenden Lebergewebe hingegen wird Lipiodol innerhalb von wenigen Wochen fast vollständig ausgewaschen ^{49, 50}. Die Deposition des Lipiodols im Tumor korreliert hierbei mit dem messbaren Tumoransprechen und dem Überleben nach cTACE und suggeriert, dass Lipiodol als nicht-invasiver „theranostischer“ Marker einen prognostischen Wert für Patienten mit HCC haben könnte ⁵⁰. Außerdem scheinen arteriell hypervaskularisierte Tumoren mehr Lipiodol zu speichern und damit auch besser auf eine cTACE anzusprechen als weniger hypervaskularisierte Tumoren ^{48, 50} (**Abbildung 5**).

Ähnliche Zusammenhänge zeigten sich für das HCC auch im Kontext der SIRT. Das am häufigsten verwendete Yttrium-90 lässt sich im Anschluss an die SIRT ähnlich wie ⁹⁹TcMAA in der Bremsstrahlung-SPECT visualisieren, welche unter Kenntnis der injizierten Yttrium-90-Aktivität auch eine Quantifizierung der Tumordosis ermöglicht. Hier wurde gezeigt, dass hypervaskularisierte Tumoren mehr Yttrium-90 aufnehmen als weniger vaskularisierte Tumorherde und dass diese höhere Tumordosis mit der Tumornekrose und einem verbesserten Ansprechen auf die SIRT korreliert ⁵¹. In der klinischen Praxis beschränkt sich die Beurteilung der SPECT-CT-Aufnahmen jedoch auf eine rein qualitative Auswertung der Yttrium-90-Verteilung mit der Aussage, ob Tumorausparungen oder eine extrahepatische Yttrium-90-Anreicherung vorliegen.

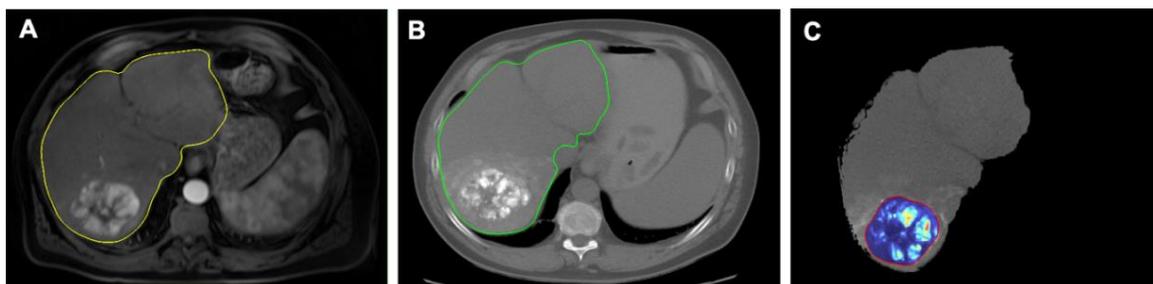


Abbildung 5 – Quantifizierung der intratumoralen Lipiodoldeposition nach cTACE. **A)** Semiautomatische Segmentierung der Leber und des Tumors (vgl. Abbildung 4) auf KM-gestützten T1-gewichteten MRT-Aufnahmen vor cTACE. **B)** Semiautomatische Segmentierung der Leber auf der CT nach cTACE. **C)** Elastische Bildregistrierung von MRT und CT mittels Advanced Normalization Tools und software-basierte Errechnung der Lipiodoldeposition innerhalb des Tumors. Farbkodierte Darstellung der Lipiodoldichte. (Originalabbildung durch die Autorin)

1.3.3 Künstliche Intelligenz zur computergestützten Bildanalyse

Insbesondere in der Radiologie werden große Mengen an Bildinformation gewonnen, die mit dem bloßen Auge auch für erfahrene Radiologen in ihrer Gesamtheit nur schwer zu erfassen sind. Daher wird zunehmend die Verwendung künstlicher Intelligenz (KI) zur automatisierten Auswertung komplexer Bildinformationen untersucht, um mit hoher Effizienz und Geschwindigkeit solche bildbasierten Biomarker zu identifizieren, die sich dem menschlichen Auge entziehen ⁵². Den meisten KI-Verfahren geht eine Segmentierung des Tumors voraus. Im Falle einer Radiomics-Analyse findet anschließend innerhalb der segmentierten Tumormaske

auf Voxel Ebene eine automatisierte quantitative Analyse der Bildmerkmale (sog. Features, z.B. Größe, Kontur) statt ⁵³. Machine Learning hingegen ist eine Methode, bei der mathematische Algorithmen die eingespeisten annotierten Daten selbstständig analysieren, dabei Merkmale erkennen und erlernen und diese festgelegten Kategorien zuzuordnen ⁵³. Eine Weiterentwicklung der KI-Methoden sind Deep-Learning-Algorithmen, die anhand annotierter Trainingssets Zusammenhänge von Bilddaten erlernen und schließlich ein neuronales Netzwerk zur Mustererkennung bilden, welches intelligente menschliche Denkmuster imitiert. Dieses kann auf unbekanntem Testdatensets die aussagekräftigsten Bildmerkmale bestimmen und beispielsweise für die Identifizierung oder Klassifizierung von Läsionen herangezogen werden. Auch in der interventionellen Onkologie könnte die automatisierte Bildanalyse einen Vorteil haben, z.B. bei der Patientenselektion vor TACE, der Auswertung der Lipiodoldeposition oder des Tumoransprechens nach TACE ^{54, 55}.

1.4 Molekulare Bildgebung von Lebertumoren

1.4.1 Die Rolle der Tumormikroumgebung

Neben rein morphologischen Kriterien zur bildbasierten Evaluation von Tumoren ermöglicht die zunehmende Charakterisierung der sog. „Hallmarks of Cancer“ die Entwicklung spezifischer, molekularer Bildgebungsmethoden ⁵⁶. Hierbei spielen insbesondere die Interaktionen der Tumorzellen mit ihrer Tumormikroumgebung (TMU) eine Rolle, deren dynamische Zusammensetzung aus humoralen und zellulären Faktoren das Tumorwachstum begünstigen und auch die Therapieeffektivität beeinflussen kann ^{56, 57}. Bestimmte Muster dieser Faktoren können beispielsweise mit dem Ergebnis lokaler pH-Veränderungen einhergehen, welche die Aggressivität wachsender Tumoren widerspiegeln ⁵⁸. Zusätzlich zu den extrinsischen Einflüssen der TMU zeichnet sich das HCC durch eine hohe genetische Variabilität und damit ein hohes Anpassungsvermögen an herausfordernde Wachstumsbedingungen aus. Diese Heterogenität verschiedener HCC-Subtypen und verschiedener Areale innerhalb eines Tumors beeinflusst auch die Suszeptibilität gegenüber verschiedenen onkologischen Therapien und stellt so eine potentielle Hürde für deren Wirksamkeit dar ⁵⁹. Ziel der molekularen Bildgebungsmethoden ist daher die nicht-invasive Charakterisierung des individuellen HCC und seiner TMU, um basierend auf den molekularen Tumoreigenschaften ein personalisiertes Therapiekonzept zu entwickeln.

1.4.2 Tumormetabolismus und Immunevasion

Ein anerkanntes „Hallmark of cancer“ ist das Phänomen der metabolischen Reprogrammierung und die Tumorglykolyse ⁶⁰ (**Abbildung 6**). Tumorzellen weisen eine vermehrte Aufnahme von Glukose auf, welche vorrangig über glykolytische Stoffwechselwege verwertet wird. Obwohl durch die Glykolyse im Gegensatz zur oxydativen Phosphorylierung weniger Energie generiert werden kann, ist in vielen Tumorzellen unabhängig von der Sauerstoffverfügbarkeit ein vorrangig glykolytischer Stoffwechsel

nachweisbar (sog. „Warburg Effekt“) ⁶¹. Dieser stellt auch die Grundlage für die Fluor-18 Fluordesoxyglukose-Positronenemissions-Tomographie (FDG-PET) dar ^{62, 63}.

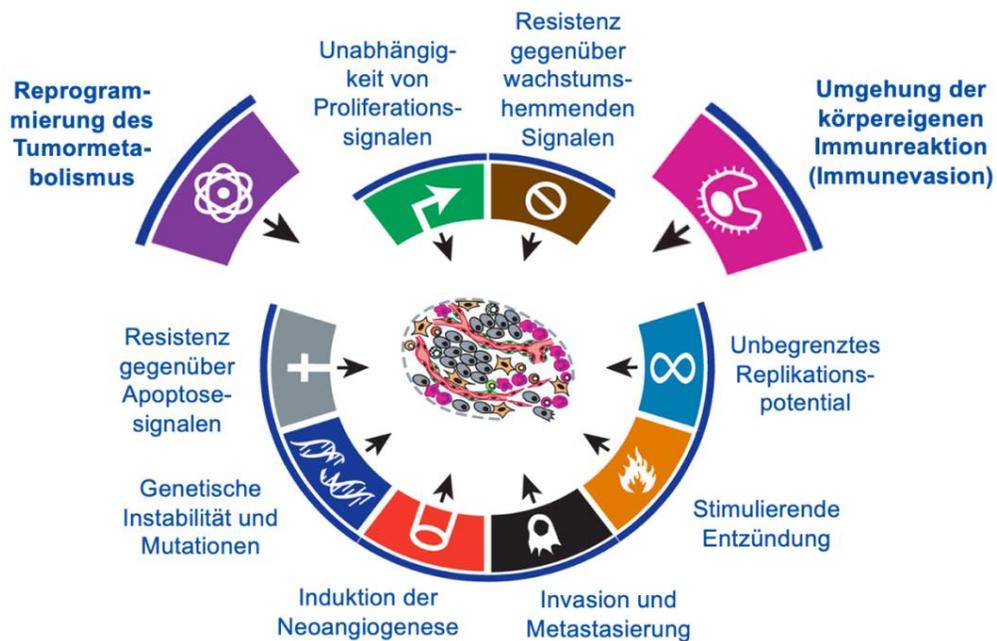


Abbildung 6 – “Hallmarks of Cancer – Next Generation”. Diese zehn Charakteristika beschreiben die Schlüsselprinzipien der Karzinogenese. Hervorgehoben sind die „Reprogrammierung des Tumormetabolismus“ und die „Umgehung der körpereigenen Immunreaktion (Immunevasion)“, welche im Rahmen dieser Habilitationsarbeit untersucht wurden. (Adaptiert von Hanahan et al. ⁵⁶; übersetzt und modifiziert durch die Autorin)

Warburg selbst schrieb der Glykolyse in Tumorzellen eine vorrangige Rolle bei der Energiegewinnung zu ⁶⁴. Mittlerweile konnte jedoch nachgewiesen werden, dass viele Tumorzellen in der Lage sind, ihre Energiegewinnung durch eine vielfältige molekulare Ausstattung an die Mikroumgebung anzupassen. Folglich ist die Wissenschaft heutzutage überzeugt, dass die Glykolyse nicht primär der Energiegewinnung dient, sondern der aktiven Mitgestaltung der TMU nutzt ⁶⁵. Eine Schlüsselrolle kommt dem Laktat zu, das bei der Glykolyse entsteht und anschließend im Kotransport mit Protonen in den Extrazellulärraum abgegeben wird, um die intrazelluläre pH-Homöostase aufrecht zu erhalten ⁶⁶. Als Folge akkumuliert das Laktat in der TMU, wo es den extrazellulären pH senkt und dadurch verschiedene Mechanismen der Karzinogenese unterstützt ⁶⁷. Neben der Induktion der Neoangiogenese und der epithelialen-mesenchymalen Transition hemmt das Laktat direkt und indirekt über den niedrigen pH die Funktion der zellulären und humoralen Immunantwort gegen den Tumor ^{65, 68-71} (**Abbildung 7**). Dieses Phänomen, bei dem sich die Tumorzellen der körpereigenen Immunabwehr entziehen, wird auch als Immunevasion bezeichnet. Je niedriger der extrazelluläre pH des Tumors und seiner Mikroumgebung ist, desto aggressiver ist das Tumorstadium und desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit eines Therapieansprechens auf herkömmliche Chemotherapeutika oder Bestrahlung ⁷²⁻⁷⁵.

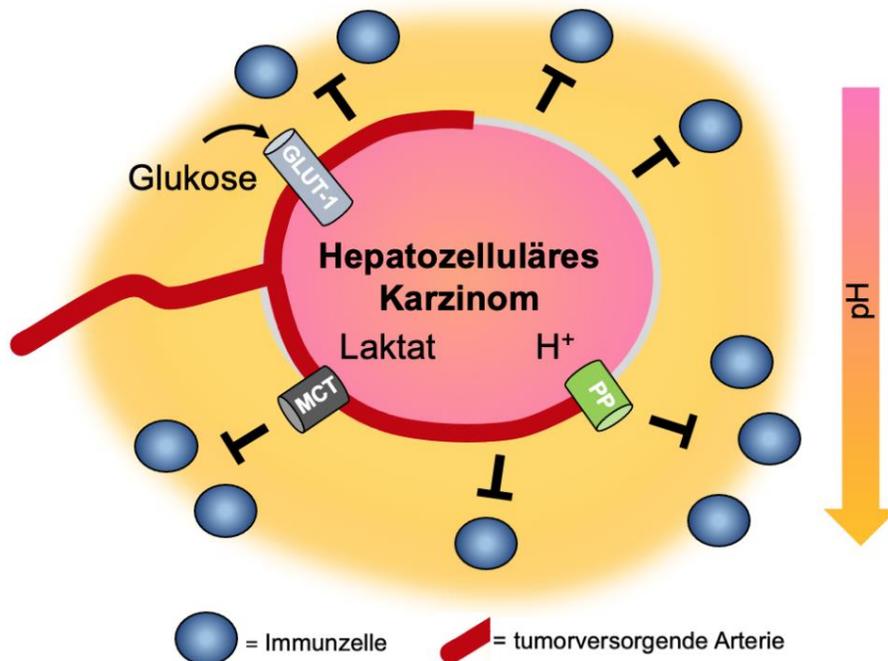


Abbildung 7 – Schematische Darstellung des Tumormetabolismus („Warburg Effekt“) und der Immunevasion am Beispiel des HCC. Der „Warburg-Effekt“ beschreibt die vermehrte Aufnahme von Glukose in die Tumorzellen, u.a. über den Glukosetransporter (GLUT)-1, welche anschließend über glykolytische Stoffwechselwege zu Laktat metabolisiert wird. Mit dem Ziel der intrazellulären pH-Homöostase wird das Laktat über Monocarboxylat-Transporter (MCT) und im Kotransport mit Protonen (H⁺) über Protonenpumpen (PP) in den extrazellulären Raum transportiert, wo es akkumuliert und einen sauren pH bedingt. Dieser saure pH in der TMU induziert über verschiedene Signalwege die Neoangiogenese und die lokale Inhibition der antitumoralen Immunantwort (Immunevasion) und stimuliert somit das Tumorwachstum. (Originalabbildung durch die Autorin)

1.4.3 Molekulare antiglykolytische und Immuntherapien im Kontext der TACE

Während bei interventionell radiologischen Therapien durch die lokale Applikation eine selektive Tumorbehandlung erreicht wird, sollen auf dem Gebiet der onkologischen Systemtherapien zielgerichtete, molekulare Therapeutika eine Verbesserung der Selektivität ermöglichen ⁷⁶. Auch das zunehmende Verständnis der metabolischen Reprogrammierung von Tumorzellen bietet neue Angriffspunkte zur Entwicklung antitumoraler Medikamente, die zielgerichtet den Tumormetabolismus blockieren ⁶⁰. Ein solches, präklinisch gut erforschtes Medikament ist 3-Bromopyruvat (3-BrPA), welches über Monocarboxylat-Transporter, die auch beim HCC vermehrt exprimiert werden, in die Tumorzelle aufgenommen wird ⁷⁷. Intrazellulär hemmt es die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH) als Schlüsselenzym der Glykolyse und dadurch die Adenosintriphosphat (ATP)-Produktion zur Energiegewinnung. Dieser zytostatische Effekt konnte bereits in Versuchen im VX2-Kaninchentumormodell für Lebertumoren und Maustumormodell für das Pankreaskarzinom nachgewiesen werden ^{78, 79}.

Ein neueres zielgerichtetes Therapiekonzept stellen die Immuntherapien dar, welche verschiedene molekulare Mechanismen nutzen, um der Immunevasion von Tumoren entgegenzuwirken und die körpereigene Immunabwehr gegen den Tumor zu stimulieren. Besonders verbreitet sind die Immuncheckpoint-Inhibitoren⁸⁰. Im Gegensatz zu den beschriebenen Ansätzen der medikamentösen Inhibition der Tumorglykolyse sind Checkpoint-Inhibitoren bereits weitreichend in die klinische Praxis und auch die Leitlinien zur Therapie des HCC übernommen worden⁸⁰. Aufgrund der hohen Dichte an immunologisch aktiven Zellen sollte sich die Leber bei theoretischer Betrachtung besonders gut für den Einsatz von Immuntherapien eignen. Auch die Tatsache, dass bei chronischen Lebererkrankungen wie der Leberzirrhose, die dem HCC in ca. 80% der Fälle zugrunde liegt, proinflammatorische Prozesse detektiert werden, unterstützt die Annahme eines guten Ansprechens auf Immuntherapien^{59, 81-83}. Leider konnten randomisierte klinische Phase III Studien bei Patienten mit fortgeschrittenem HCC nur in ca. 20% der Fälle ein zufriedenstellendes Tumoransprechen auf die Therapien mit Checkpoint-Inhibitoren nachweisen^{80, 84}. Die hochselektive Wirksamkeit in diesen klinischen Studien legt nahe, dass Patienten vor der Therapie besser selektiert und diejenigen identifiziert werden müssen, die am wahrscheinlichsten von der geplanten Immuntherapie profitieren werden.

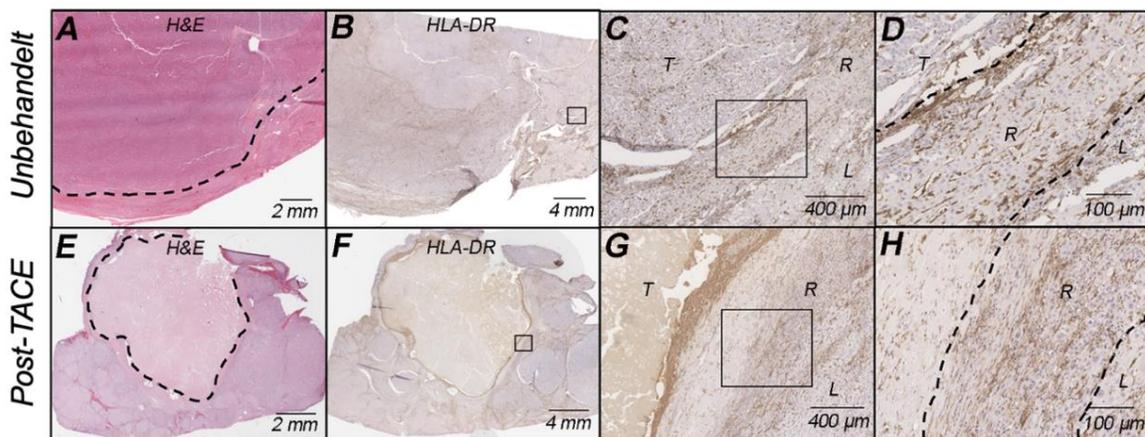


Abbildung 8 – Lokale Immunantwort nach TACE eines HCC. Hämatoxylin-Eosin (H&E) Färbung eines (A) unbehandelten HCC (gestrichelte Linie) eines Patienten nach Leberteilresektion und eines (E) mit TACE behandelten HCC (gestrichelte Linie) eines weiteren Patienten, der im Anschluss (171 Tage) eine Lebertransplantation erhielt. Die immunohistochemische Färbung antigenpräsentierender Zellen (anti- Human Leukocyte Antigen (HLA)-DR Antikörper) zeigt (F), (G), (H) die vermehrte Immunzellinfiltration in die peritumorale Zone nach TACE im Vergleich zu dem (B), (C), (D) unbehandelten HCC. Die gestrichelten Linien in (D) und (H) umranden die peritumorale Zone. T=tumor, R=peritumoraler Rand, L=Leberparenchym. (Originalabbildung durch die Autorin)

Weiterhin untersuchen derzeit klinische Folgestudien die Wirksamkeit von Kombinationen aus verschiedenen molekularen Therapeutika oder lokoregionären Therapien mit Immuntherapien ⁸⁵⁻⁸⁷. Ein Vorteil könnte hierbei durch die lokale Applikation der Therapeutika an den Ort der gewünschten Wirksamkeit erreicht werden. Außerdem könnten gezielte lokale Veränderungen der TMU mit der lokoregionären Therapie erreicht werden, welche die Wirksamkeit der Immuntherapie verbessern. In diesem Zusammenhang wird für die Kombination von Immuntherapien mit TACE die Rolle der tumorassoziierten Antigene (TAA) diskutiert, die beim Tumorzerfall nach TACE freigesetzt und anschließend über antigen-präsentierende Zellen zur T-Lymphozyten-Aktivierung führen ⁸⁸ (**Abbildung 8**). Der Effekt der TACE auf die TMU ist jedoch noch nicht vollständig erforscht und verstanden. Insbesondere bleibt ein potentiell negativer Effekt durch die Ischämie und eine mögliche Verstärkung der peritumoralen Azidose umstritten, die die Resistenzen der Tumorzellen gegenüber den eingebrachten Therapeutika sogar verstärken könnte ⁸⁹.

1.5 Fragestellung und Zielsetzung

Die Radiologie spielt eine wichtige Rolle bei der nicht-invasiven Charakterisierung von Tumoren zur Evaluation ihrer Suszeptibilität vor und des Tumoransprechens nach onkologischen Therapien. Darüber hinaus stellen Methoden der interventionellen Radiologie leitliniengerechte Behandlungsstrategien für Lebertumoren dar. Im Kontext der Entwicklung zielgerichteter molekularer Tumortherapien für potentiell neue und kombinierte Anwendungsbereiche müssen diese Methoden der interventionellen Radiologie evaluiert werden. Im Fokus steht hierbei die Individualität des Tumors und seiner TMU. Diese stellt die Radiologie als diagnostische und therapeutische Disziplin vor die besondere Herausforderung, unter allen zur Debatte stehenden onkologischen Therapien diejenige zu identifizieren, von welcher der individuelle Patient am ehesten profitieren wird. Im Kontext maligner Lebertumoren sind jedoch die komplexe Zusammensetzung der TMU und ihre Veränderungen im Zuge verschiedener lokoregionärer und systemischer Therapien bisher nur unvollständig verstanden und weder bildlich ausreichend darstellbar noch quantifizierbar. Die Zielsetzung dieser Arbeit ist es deshalb, bildbasierte quantifizierbare Biomarker für die multimodale Charakterisierung maligner Lebertumoren und ihrer TMU im Kontext lokoregionärer Therapien zu entwickeln. Im Ergebnis sollen solche bildbasierten Biomarker zur Erfassung der molekularen Tumoreigenschaften genutzt werden, um Patienten direkt ein optimiertes und zielgerichtetes individuelles Behandlungskonzept anbieten und nach Therapieeinleitung frühzeitig unzureichend behandelte Patienten identifizieren zu können. Künftig sollen die gewonnenen Kenntnisse in der klinischen Praxis Anwendung finden, um eine Verbesserung und Personalisierung des Therapieregimes und damit eine Lebensverlängerung von Patienten mit malignen Lebertumoren bei möglichst geringen Nebenwirkungen zu erzielen.

2 Ergebnisse

2.1 Quantitative und therapiespezifische Prädiktoren des Tumoransprechens nach intraarteriellen Therapien

Die folgenden drei Arbeiten befassen sich mit der volumetrischen Auswertung multimodaler Bilddaten, um quantitative bildbasierte Biomarker für das Tumoransprechen nach IAT zu identifizieren. Ein Fokus lag hierbei auf der Evaluation des ETV als Surrogatmarker für die Vaskularisation von Lebertumoren. Weiterhin wurden therapiespezifische Veränderungen auf der postinterventionellen Bildgebung untersucht, die mit einem guten Tumoransprechen einhergehen. Neben bildbasierten Prädiktoren wurden auch klinische Daten analysiert, wobei sich insbesondere das Vorhandensein einer Leberzirrhose als prädiktiv für ein schlechteres Outcome von Patienten mit HCC nach IAT erwies.

2.1.1 Quantitative SPECT-Analyse zur Prädiktion des Tumoransprechens nach SIRT (Originalarbeit 1)

Schobert I, Chapiro J, Nezami N, Hamm CA, Gebauer B, Lin M, Pollak J, Saperstein L, Schlachter T, **Savic LJ.**

Quantitative Imaging Biomarkers for ⁹⁰Y Distribution on Bremsstrahlung SPECT After Resin-Based Radioembolization.

J Nucl Med. 2019 Aug;60(8):1066-1072. doi:10.2967/jnumed.118.219691.

Zum Zeitpunkt der Arbeit existierten bereits Studien, die eine Korrelation der Yttrium-90-Aufnahme in den Lebertumor mit dem Tumoransprechen nach SIRT zeigen konnten ⁹⁰. In der klinischen Praxis wird deshalb vor jeder SIRT eine Testangiographie und intraarterielle Injektion von 99mTc-MAA durchgeführt, dessen Verteilung in der anschließenden SPECT zur Vorhersage der Yttrium-90-Verteilung nach SIRT evaluiert wird. Die Übertragbarkeit dieser SPECT-Ergebnisse mit 99mTc-MAA auf die eigentliche Therapie mit Yttrium-90 ist durch die unterschiedliche Größe und hämodynamischen Eigenschaften der beiden Radionuklide jedoch limitiert. In dieser Studie wurden daher nicht-invasive und quantifizierbare bildbasierte Biomarker gesucht, um anhand der prätherapeutischen Schnittbildgebung und einer quantitativen SPECT-Auswertung das Tumoransprechen nach SIRT vorherzusagen ⁹¹.

In der retrospektiven Studie wurden Patienten mit HCC und anderen malignen Lebertumoren eingeschlossen und die Bildgebung vor (MRT, CT) und nach Therapie (SPECT nach 24 Stunden; MRT, CT nach 3-4 Monaten) registriert und semiautomatisch analysiert ^{46, 92}. Es wurden die bereits etablierten volumetrischen Tumorparameter Total Tumor Volume (TTV) und Enhancing Tumor Volume (ETV) errechnet und mit der Yttrium-90-Verteilung in der SPECT und dem Tumoransprechen nach SIRT gemäß RECIST 1.1 und qEASL korreliert.

Bei Patienten mit HCC zeigte sich, dass eine vermehrte Vaskularisation des Tumors gemessen als ETV die Yttrium-90-Aufnahme in den Tumor begünstigte und mit dem Tumoransprechen nach SIRT korrelierte. Während das ETV auch bei anderen Lebermalignomen die Yttrium-90-

Aufnahme in den Tumor signifikant beeinflusste, konnte in dieser Subgruppe kein Zusammenhang der Tumordosis mit dem Ansprechen nach SIRT gezeigt werden.

In dieser Studie wurden erstmalig Bildgebungen unterschiedlicher Modalitäten registriert und verglichen, die zu verschiedenen Zeitpunkten routinemäßig bei SIRT-Patienten erstellt werden. Die Ergebnisse legen nahe, dass die aktuell übliche Indikationsstellung mittels allgemeiner Krankheitskriterien oder -stadien (z.B. BCLC Kriterien) unzureichend ist und durch Berücksichtigung individueller Tumorcharakteristika für die Selektion geeigneter Patienten verbessert werden könnte. Das ETV repräsentiert als nicht-invasiver Biomarker die Vitalität und Vaskularisation von Tumoren und kann deshalb bereits vor der SIRT für eine individualisierte Therapieplanung bei Patienten mit HCC herangezogen werden und so potentiell die invasive Testangiographie ersetzen. Weiterhin werden die Möglichkeiten der quantitativen SPECT-Auswertung aufgezeigt, welche bereits wenige Stunden nach der SIRT eine frühzeitige Abschätzung des Therapieeffektes ermöglicht. *(verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle: ⁵¹; doi: 10.1007/s00330-020-06931-5)*

<https://doi.org/10.2967/jnumed.118.219691>

2.1.2 Lipiodolquantifizierung und Doxorubicinverteilung nach TACE (*Originalarbeit 2*)

Savic LJ, Chapiro J, Funai E, Bousabarah K, Schobert IT, Isufi E, Geschwind JH, Stark S, He P, Rudek MA, Perez Lozada JC, Ayyagari R, Pollak J, Schlachter T.

Prospective study of Lipiodol distribution as an imaging marker for doxorubicin pharmacokinetics during conventional transarterial chemoembolization of liver malignancies.

Eur Radiol. 2020 Oct 15. doi: 10.1007/s00330-020-07380-w. Epub ahead of print (Zugriffsdatum 17.01.2021).

Die konventionelle TACE wird bereits seit den 1980er Jahren zur Behandlung maligner Lebertumoren durchgeführt und umfasst die Verwendung von Lipiodol, welches durch seine vielfältigen Funktionen als röntgendichtes KM, Embolisat und Emulgator die am häufigsten zur intraarteriellen Applikation von Chemotherapeutika verwendete Substanz ist^{21, 93-95}. Ähnlich wie bei dem Zusammenhang der Yttrium-90-Deposition mit dem Tumoransprechen existierten bereits Studien, die einen Zusammenhang der Tumolvaskularisation mit der Aufnahme des Lipiodols in den Tumor zeigten^{48, 50}. Trotz der lokalen Administration wiesen frühe pharmakokinetische Studien jedoch relativ hohe systemische Konzentrationen der verwendeten Chemotherapeutika nach cTACE nach, die potentiell mit Nebenwirkungen einhergehen könnten^{96, 97}. Diese Erkenntnisse waren der Grundstein für die Entwicklung neuartiger Formen der TACE, z.B. DEB-TACE, die eine langsamere und damit potentiell weniger schädliche Freisetzung der Chemotherapeutika ermöglichen. Eine Überlegenheit hinsichtlich ihrer Wirksamkeit gegenüber cTACE zeigte sich nicht.^{98, 99} Die Materialien (z.B. Mikrokatheter, Verwendung von Cone Beam-CT) und die Durchführung der cTACE haben sich allerdings stark weiterentwickelt, sodass heutzutage vermehrt selektive Behandlungen von Tumoren oder Lebersegmenten anstelle des gesamten Leberlappens (lobäre TACE) durchgeführt werden¹⁴. In dieser prospektiven Studie wird die systemische Verteilung von Doxorubicin und seinem Metaboliten Doxorubicinol nach cTACE untersucht, wie sie nach aktuellen klinischen Standards durchgeführt wird.

Es wurden pharmakologische Analysen des peripheren Blutes bei 30 Patienten mit malignen Lebertumoren zu 10 Zeitpunkten vor und nach cTACE durchgeführt und mit bildbasierten Biomarkern vor (z.B. ETV) und nach Therapie (z.B. Lipiodoldistribution), dem Tumoransprechen (gemäß RECIST, mRECIST, qEASL) sowie Behandlungskomplikationen korreliert. Hierbei zeigte sich ein Zusammenhang der Verteilung von Lipiodol in ein Lebersegment, zwei oder mehrere Segmente oder den gesamten Leberlappen mit den gemessenen Spitzenkonzentrationen von Doxorubicin im peripheren Blut, welche 5 min nach lokaler Administration auftraten und anschließend schnell abflachten.

Die Ergebnisse dieser Studie legen nahe, dass die Lipiodolverteilung auf der post-interventionellen CT-Aufnahme als bildbasierter Biomarker für die systemische Verteilung von Doxorubicin nach cTACE verwendet werden kann. Zusätzlich wurde der vorher bereits retrospektiv ermittelte prädiktive Wert des ETV zur Vorhersage der Lipiodoldeposition und des

Tumoransprechen prospektiv validiert. Darüber hinaus zeigte sich die Überlegenheit volumetrischer und KM-basierter Methoden der Evaluation des Tumoransprechens in einer prospektiven Kohorte gegenüber der uni-dimensionalen Auswertung mittels RECIST oder mRECIST. *(verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle: ¹⁰⁰; doi: 10.1007/s00330-020-07380-w)*

<https://doi.org/10.1007/s00330-020-07380-w>

2.1.3 Machine Learning Algorithmen zur Prädiktion des Tumoransprechens nach TACE (Originalarbeit 3)

Abajian A, Murali N, **Savic LJ**, Laage-Gaupp FM, Nezami N, Duncan JS, Schlachter T, Lin M, Geschwind JF, Chapiro J.

Predicting Treatment Response to Intra-arterial Therapies for Hepatocellular Carcinoma with the Use of Supervised Machine Learning-An Artificial Intelligence Concept.

J Vasc Interv Radiol. 2018 Jun;29(6):850-857.e1. doi: 10.1016/j.jvir.2018.01.769.

Die Überlegenheit volumetrischer Analysen der Tumorcharakteristika vor der Behandlung (z.B. ETV) sowie der 3D qEASL Kriterien gegenüber herkömmlichen uni- oder bi-dimensionalen Evaluationskriterien des Tumoransprechens nach lokoregionärer Therapie konnte in den vorangegangenen Studien gezeigt werden. Da diese jedoch nur semiautomatisch funktionieren und daher abhängig von der Segmentierung durch den Radiologen sind, ist ihre Umsetzung in die klinische Routine bisher nicht praktikabel.

Eine zusätzliche Herausforderung besteht darin, die bildbasierten Marker in Zusammenschau mit den klinischen Patientendaten zu evaluieren. In Anbetracht der hohen Anzahl und Vielseitigkeit dieser klinischen und radiologischen Krankheitsdaten finden in der Medizin zunehmend Techniken der KI Anwendung, welche von eingespeisten, annotierten Daten lernen, um anschließend selbstständig neu zugeführte Daten zu analysieren. In dieser Arbeit wurden erstmals im Kontext der interventionellen Onkologie computergestützte Machine Learning Algorithmen angewendet, um das Tumoransprechen von Patienten mit HCC nach TACE vorherzusagen. Hierfür wurden zunächst die Daten einer Trainingskohorte erhoben und die Patienten als Responder oder Non-Responder gekennzeichnet (Output-Label) und in zwei verschiedene Machine Learning Algorithmen (Random Forest, Logistische Regression) eingespeist. Nach der Trainingsphase wurden den Algorithmen klinische und radiologische Daten (MRTs) einer Testkohorte zugeführt, die die Algorithmen mit einer Gesamtgenauigkeit von 78% eigenständig in Responder und Non-Responder unterteilte, ohne das Outcome nach TACE zu kennen. Als wichtigste Biomarker des schlechten Tumoransprechens nach TACE ermittelten die Algorithmen das Vorhandensein einer Leberzirrhose als klinische Variable sowie die niedrige relative Tumorsignalintensität in der KM-gestützten MRT als radiologische Variable.

Diese Arbeit zeigt am Beispiel der TACE, wie die Verwendung von Machine Learning Algorithmen bei der Patientenselektion und Indikationsstellung für eine TACE unter Berücksichtigung von Daten unterschiedlicher Natur helfen kann. Gleichzeitig wird verdeutlicht, dass in der klinischen Routine bereits ein Großteil der Daten in elektronischer Form so erzeugt wird, dass die Etablierung einer Infrastruktur zur Datenanalyse mittels KI machbar ist. Mithilfe solcher Algorithmen könnten die behandelnden Ärzte künftig bei der Therapieplanung unterstützt werden. (verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle: ⁵⁴; doi: 10.3791/58382)

<https://doi.org/10.1016/j.jvir.2018.01.769>

2.2 Molekulare Charakterisierung von Lebertumoren im Kontext von TACE

In den folgenden Arbeiten wurden die Methoden der traditionellen MRT-Bildgebung um neuartige molekulare Messverfahren ergänzt. Ein Fokus lag hierbei auf der Charakterisierung der molekularen Eigenschaften von Lebertumoren und ihrer TMU in organotypischen 3D Zellkulturmodellen und einem translationalen Kaninchentumormodell. Im Ergebnis konnten eine MRS-basierte Bildgebung des Tumor-pH und verschiedene molekulare MRT-Biomarker für die peritumorale Immunantwort etabliert und validiert werden. Der Entwicklung dieser bildbasierten Biomarker lagen Erkenntnisse aus der onkologischen Forschung über den negativen prognostischen Wert eines niedrigen Tumor-pH zugrunde, wie er auch bei unbehandelten Tumoren im Tiermodell nachweisbar war. Dieser ergibt sich unter anderem aus der inhibitorischen Wirkung auf die lokale körpereigene Immunantwort. Als quantitative Biomarker für das systemische Immunprofil konnten verschiedene Konstellationen von Immunzellen bei Patienten mit HCC identifiziert werden, welche mit dem Outcome nach TACE korrelieren.

2.2.1 Molekulare MRT der Tumorazidose in organotypischen 3D in vitro-Modellen (Originalarbeit 4)

Savic LJ*, Schobert IT*, Hamm CA, Adam L, Hyder F, Coman D.

A high-throughput imaging platform to characterize extracellular pH in organotypic three-dimensional in vitro models of liver cancer.

NMR in Biomed. 2021 Mar;34(3):e4465. doi: 10.1002/nbm.4465. *equal contributions

Trotz der Fortschritte auf dem Gebiet der quantitativen und automatisierten Bildanalyse ist die Aussagekraft dieser Verfahren bezüglich der morphologischen Charakterisierung von Tumoren limitiert. Mit zunehmendem Verständnis über die dynamischen und funktionellen Charakteristika von Tumoren wächst jedoch auch das Bedürfnis, diese Funktionen bildgebend darzustellen und schließlich zielgerichtet in der Krebstherapie zu adressieren.

Der im Rahmen des "Warburg Effektes" erhöhte Glukosebedarf und die konsekutive Produktion von Laktat führen auch beim HCC zu einem niedrigen pH des Tumors und seiner TMU. Es konnte bereits gezeigt werden, dass dieser niedrige pH sowohl die Prognose des Patienten als auch das Ansprechen auf verschiedene onkologische Therapien beeinflusst⁵⁸. Ziel dieser Arbeit war es daher, den pH verschiedener Leberkrebszelllinien nicht-invasiv mittels MR-Spektroskopie (MRS) zu messen. Um eine möglichst realistische Messumgebung zu schaffen, aber gleichzeitig Raum für experimentelle Beeinflussungen des pHs zu belassen, wurden für die Messungen kollagenbasierte, 3D Zellkulturen hergestellt, die die organotypische TMU des HCC in vitro imitieren.

Im Vergleich zu Hepatozyten wurde in den Leberkrebszelllinien mittels der MRS ein deutlich niedriger pH-Wert ermittelt, der mit einer erhöhten Expression des Glukosetransporters GLUT-1 einherging und sich unter Hinzugabe von Glukose weiter verringerte. Im Gegensatz dazu war

nach Administration des antiglykolytischen Therapeutikums 3-BrPA in subletalen Dosen eine signifikante Erhöhung des pHs der 3D Zellkulturen mittels MRS detektierbar.

Die Ergebnisse der Studie legen nahe, dass die organotypischen 3D Zellkulturen eine geeignete Plattform für die Testung von Medikamenten bei unterschiedlichen TMU vor deren Einsatz in vivo darstellen. Die pH-spezifische MRS stellt in diesem Zusammenhang eine Methode der nicht-invasiven molekularen Charakterisierung des Tumormetabolismus dar, mit der funktionelle Informationen über den Tumor und somit die individuelle Suszeptibilität gegenüber onkologischen Therapien vor Therapiebeginn ermittelt werden können. *(verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle:¹⁰¹, doi: 10.1002/nbm.4465)*

<https://doi.org/10.1002/nbm.4465>

2.2.2 Molekulare MRT der Tumorazidose in vivo nach TACE (*Originalarbeit 5*)

Savic LJ, Schobert IT, Peters D, Walsh JJ, Laage-Gaupp FM, Hamm CA, Tritz N, Doemel LA, Lin M, Sinusas A, Schlachter T, Duncan JS, Hyder F, Coman D, Chapiro J.

Molecular Imaging of Extracellular Tumor pH to Reveal Effects of Locoregional Therapy on Liver Cancer Microenvironment.

Clin Cancer Res. 2020 Jan 15;26(2):428-438. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1702.

Der niedrige Tumor-pH als Marker für Tumorwachstum und -aggressivität sowie eine eingeschränkte Suszeptibilität gegenüber onkologischen Therapien konnte bereits in mehreren Studien validiert werden. In dieser Studie wurde erstmals der prädiktive Wert des Tumor-pH als Biomarker für das Therapieansprechen nach TACE untersucht. Obwohl es sich bei der TACE um eine leitliniengerechte Therapie handelt, kommt es nach initialem Tumoransprechen häufig zu Rezidiven, die mit der herkömmlichen, morphologischen Beurteilung des Tumoransprechens nicht frühzeitig erfasst werden können¹⁷. Die lokale Azidose induziert Signalketten, die das Tumorwachstum, die Metastasierung, die Neoangiogenese und die Immunevasion des Tumors begünstigen und stellt daher einen funktionellen Marker für die Tumurvitalität dar^{58, 102-104}.

In dieser Studie wurde daher die zuvor in vitro validierte pH-spezifische MRS an klinischen 3Tesla MRT-Scannern etabliert, um im orthotopen Kaninchenmodell für Lebertumore den extrazellulären Tumor-pH und die longitudinalen Veränderungen nach cTACE in vivo zu bestimmen. Im Vergleich zum umgebenden Leberparenchym wurde in den Tumoren und dem Übergang zwischen Tumor und Leber ein signifikant niedrigerer pH gemessen, der mittels einer voxelbasierten Farbkarte visualisiert werden konnte. Nach der Behandlung mit cTACE veränderte sich der Tumor-pH erst nach einer Woche und war nach zwei Wochen fast auf den im Leberparenchym gemessenen Wert angestiegen. In einer Subgruppe, bei der die Tumoren nur partiell behandelt worden waren, konnten die niedrigen Tumor-pH-Werte entsprechend nur in den unbehandelten Anteilen nachgewiesen werden, während sich der pH in den behandelten Anteilen nach zwei Wochen ebenfalls nahezu normalisierte. Weitere multiparametrische MRT-Sequenzen und post-interventionelle CT-Bildgebung zur Evaluation der Lipidoldeposition sowie histologische Analysen von metabolischen und Proliferationsmarkern wurden mit den pH-Messungen korreliert.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass die MRS als nicht-invasive pH-Messmethode einen funktionellen, quantitativen Marker für den Therapieerfolg nicht-chirurgischer Therapien des HCC bereithält. Das translationale Studiendesign unter Verwendung klinischer Equipments für die Bildgebung und die Behandlung stellen ein neuartiges Konzept der nicht-invasiven molekularen Phänotypisierung von Lebertumoren dar, welches im klinischen Kontext für die Patientenselektion vor und die Evaluation des Tumoransprechens nach Therapie Anwendung finden kann. (*verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle:*⁸⁹; doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1702)

<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-1702>

2.2.3 Molekulare MRT des immuno-metabolischen Wechselspiels in vivo nach TACE (Originalarbeit 6)

Savic LJ, Doemel LA, Schobert IT, Montgomery RR, Joshi N, Walsh JJ, Santana J, Pekurovsky V, Zhang X, Lin M, Adam L, Boustani A, Duncan J, Leng L, Bucala RJ, Goldberg SN, Hyder F, Coman D, Chapiro J.

Molecular MRI of the Immuno-Metabolic Interplay in a Rabbit Liver Tumor Model: A Biomarker for Resistance Mechanisms in Tumor-targeted Therapy?

Radiology. 2020 Sep;296(3):575-583. doi: 10.1148/radiol.2020200373.

Zum Zeitpunkt dieser Arbeit war bereits bekannt, dass der niedrige pH von Lebertumoren und ihrer TMU eine supprimierende Wirkung auf die körpereigenen Immunzellen hat, die in der TMU das Tumorwachstum eindämmen sollen. Dieses Phänomen der Immunevasion von Tumoren wird durch verschiedene Formen der Immuntherapien adressiert, deren Wirkmechanismus auf der Stimulation der Aktivität des körpereigenen Immunsystems gegen den Tumor beruht. Obwohl die Leber ein immunologisch hochaktives Organ ist, die Leberzirrhose eine proinflammatorische Umgebung schafft, und bereits eine Vielzahl an Interaktionen des HCC mit der immunologischen TMU nachgewiesen wurden, war in Phase III Studien beim HCC ein messbarer Therapieeffekt nach Immuntherapie nur bei ca. 20% der Patienten nachweisbar⁸⁴. Potentielle Lösungsstrategien bieten eine optimierte Patientenselektion und Kombinationen mit lokoregionären Therapien, die die vorherrschenden Bedingungen in der lokalen TMU beeinflussen und so das Tumoransprechen auf die Immuntherapie verbessern könnten.

In dieser Studie im translationalen Kaninchenlebertumormodell wurden erstmalig unter Verwendung zellspezifischer MRT-Biomarker die lokale Immunantwort auf den Tumor nicht-invasiv in vivo visualisiert und die Interaktionen mit dem Tumor-pH und dessen Veränderungen im Rahmen der TACE untersucht. Zum Einsatz kamen neu entwickelte Gadolinium (Gd)-markierte Antikörper gegen antigenpräsentierende Zellen, Eisenoxidpartikel, die von Makrophagen in der Tumormikroumgebung phagozytiert werden, und die pH-spezifische MRS. Die Ergebnisse der Bildgebung wurden mittels Massenzytometrie, Immunfluoreszenz und Immunhistochemie validiert.

Die zellspezifischen MRT-Biomarker verursachten in vivo selektive messbare MRT-Signalveränderungen in einem Saum um den Tumor. Ex vivo konnte eine Korrelation dieser Signalveränderungen mit der selektiven Bindung der Gd-markierten Antikörper an antigenpräsentierende Zellen und der Deposition der Eisenoxidpartikel in den peritumoralen Makrophagen gezeigt werden. Die unbehandelten Tumore wiesen wie in den Vorversuchen einen niedrigen pH im Vergleich zum umgebenden Leberparenchym auf. Während sich der Tumor-pH einen Tag nach TACE nicht signifikant geändert hatte, waren die histologisch nachweisbaren Immunzellen in der TMU zu diesem Zeitpunkt deutlich reduziert. Es wurde daher erstmalig die TACE mit einer intraarteriellen Gabe von Natriumbikarbonat kombiniert, um den

Tumor-pH zu erhöhen und dadurch die Immunsuppression aufzuheben. Tatsächlich konnte einen Tag nach der Kombinationsbehandlung ein signifikanter pH-Anstieg im Tumor gemessen werden, der mit einer Infiltration von Immunzellen in die TMU einherging.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass die Messung des Tumor-pH Rückschlüsse auf die lokale Immunantwort zulässt und dass die lokale Modulation des Tumor-pH eine adjuvante Strategie in der Behandlung von Lebertumoren mit Immuntherapie darstellen kann. Die nicht-invasive Charakterisierung der Immunantwort mit zellspezifischen MRT-Biomarkern ist ein weiteres Puzzleteil in der bildbasierten molekularen Phänotypisierung des immunmetabolischen Wechselspiels und somit für die personalisierte Therapie des HCC. *(verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle: ¹⁰⁵; doi: 10.1148/radiol.2020200373)*

<https://doi.org/10.1148/radiol.2020200373>

2.2.4 Immunphänotypisierung und Radiomics-Analyse vor TACE (*Originalarbeit 7*)

Schobert IT*, **Savic LJ***, Chapiro J, Bousabarah K, Chen E, Laage-Gaupp F, Tefera J, Nezami N, Lin M, Pollak J, Schlachter T.

Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictors of tumor response in hepatocellular carcinoma after DEB-TACE.

Eur Radiol. 2020 Oct;30(10):5663-5673. doi: 10.1007/s00330-020-06931-5.

*equal contributions

Neben der lokalen TMU und den lokal infiltrierenden Immunzellen gibt es auch Studien, die einen Zusammenhang des allgemeinen Immunstatus eines Patienten mit dem Outcome nach onkologischen Therapien gezeigt haben ⁵⁹. Während tumor-infiltrierende Lymphozyten Teil der antitumoralen Immunantwort sind, können Neutrophile und Thrombozyten die körpereigene Immunantwort gegen den Tumor unterdrücken und das Tumorstadium stimulieren ^{106, 107}. Zum Zeitpunkt dieser Arbeit waren die sog. Neutrophile-Lymphozyten- (NLR) und Thrombozyten (Plättchen)-Lymphozyten Ratio (PLR) als quantitative Biomarker für die Tumorentstehung, Angiogenese, Immunevasion und Metastasierung bereits bei verschiedenen Tumorentitäten untersucht worden ^{108, 109}.

Diese Studie korreliert erstmalig NLR und PLR bei Patienten mit HCC mit morphologischen Eigenschaften des unbehandelten Tumors in der MRT und untersucht ihren Vorhersagewert für das Tumorsprechen und progressionsfreie Überleben nach Erstlinientherapie mit TACE. Für die Analysen wurde das Differenzialblutbild vor Therapie herangezogen und die MRT vor und nach TACE mittels volumetrischer Bildanalyse und Radiomics untersucht.

Hohe NLR und PLR vor TACE wurden insbesondere bei invasiv wachsenden HCC mit einer niedrigen Sphericity in der Radiomics Analyse nachgewiesen und korrelierten mit einem schlechteren Tumorsprechen und einem kürzeren progressionsfreien Überleben. Diese Ergebnisse legen nahe, dass quantitative immunologische Biomarker eine personalisierte Patientenselektion und Indikationsstellung für die TACE ermöglichen können, um bereits vor der Therapie diejenigen Patienten zu identifizieren, die am ehesten von der TACE profitieren werden. Die Verwendung des routinemäßig verfügbaren Differenzialblutbildes kann hierbei potentiell schnell in das klinische Management des HCC und etablierte Staging-Systeme (z.B. BCLC Kriterien) integriert werden. (*verfasst durch die Autorin in Anlehnung an die Quelle: ¹¹⁰; doi: 10.1007/s00330-020-06931-5*)

<https://doi.org/10.1007/s00330-020-06931-5>

3 Diskussion

In dieser Habilitationsschrift wurden Methoden zur Entwicklung und Anwendung nicht-invasiver bildbasierter Biomarker für die Evaluation der Suszeptibilität und des Tumoransprechens maligner Lebertumoren im Kontext lokoregionärer Therapien analysiert. Im Fokus stand hierbei die Charakterisierung verschiedener Eigenschaften von Lebertumoren, die die Entstehung und Progression der Tumoren begünstigen und deren Darstellung in der radiologischen Bildgebung daher entscheidende Informationen für eine personalisierte Therapie liefern soll. Die mittels volumetrischer MRT-Auswertung und multimodaler Bildregistrierung gewonnenen Daten von Patienten mit HCC konnten das ETV als Surrogatmarker für die Vaskularisation von Lebertumoren und zur Vorhersage des Ansprechens nach IAT mit SIRT (**Originalarbeit 1**) und TACE (**Originalarbeit 2 und 3**) etablieren. Insbesondere wurde in einem prospektiven Studiendesign der Zusammenhang des ETV mit der Lipiodoldeposition im Tumor sowie der ungewollten systemischen Doxorubicinexposition und dem Tumoransprechen nach TACE validiert. Diese Ergebnisse legen zusätzlich Lipiodol als therapiespezifischen „theranostischen“ postinterventionellen Biomarker für das Outcome nach TACE nahe (**Originalarbeit 2**). Dass zur Identifikation solcher prädiktiver Biomarker die Anwendung von KI hilfreich ist, um große Mengen klinischer und radiologischer Bilddaten zu verarbeiten, konnte am Beispiel der Anwendung von Machine Learning Algorithmen bei HCC im Kontext von TACE gezeigt werden (**Originalarbeit 3**). Darüber hinaus wurden die Methoden der traditionellen radiologischen Bildgebung weiterentwickelt, um den hohen Weichteilkontrast der MRT mit molekularen Messverfahren und MRT-Biomarkern zu kombinieren und so die TMU auf molekularer Ebene zu charakterisieren. Nachdem die pH-spezifische MRS in einem 3D Zellkulturmodell des HCC validiert werden konnte (**Originalarbeit 4**), wurde die Methode im translationalen Kaninchenmodell für Lebertumoren angewendet, um an klinischen MRT-Scannern den Effekt der TACE auf den Tumor-pH nicht-invasiv zu messen (**Originalarbeit 5**). Der negative prognostische Wert des niedrigen Tumor-pH, wie er auch bei unbehandelten Tumoren im Tiermodell nachweisbar war, ergibt sich unter anderem aus der inhibitorischen Wirkung auf die lokale körpereigene Immunantwort. Diese wurde im Folgeversuch mittels zellspezifischer MRT-Biomarker in demselben Tiermodell visualisiert und mit dem Tumor-pH korreliert (**Originalarbeit 6**). Als quantitative Biomarker für das systemische zelluläre Immunprofil konnten die NLR und PLR bei Patienten mit HCC identifiziert werden, welche mit dem Outcome nach TACE korrelieren (**Originalarbeit 7**).

3.1 Anwendbarkeit quantitativer Bildanalysen in der interventionellen Onkologie

Insgesamt ist es in mehreren klinischen Studien im Rahmen dieser Habilitationsschrift gelungen, für verschiedene Tumore und ihre lokoregionäre Behandlung die semi-automatische, volumetrische Quantifizierung des ETV als Surrogatmarker für die Tumolvaskularisation und Veränderungen des ETV zur Evaluation des Tumoransprechens zu validieren. Die Software-basierte Bildanalyse ermöglicht eine reproduzierbare und präzise Quantifizierung des Gesamtvolumens und somit auch asymmetrischer Nekrosen und komplexer

Tumormorphologien^{44, 111}. Gleichzeitig vereint sie im Vergleich zu vollständig automatisierten Messungen die Vorteile einer schnellen, computergestützten Bildanalyse und der klinischen Erfahrung des Radiologen⁷⁶. Aufgrund der typischen arteriellen Hypervaskularisation weisen HCC in der Regel ein arterielles Enhancement auf. Nach IAT stehen initial die Devaskularisation und folglich die Tumornekrose und eine verminderte KM-Anreicherung innerhalb des Tumors im Vordergrund¹¹¹. Das ETV konnte in diesem Kontext in den vorliegenden Studien als geeigneter bildbasierter Marker für die irreversible Tumorfazierung und somit als potentieller früher Prädiktor für das Tumoransprechen bei HCC nach IAT identifiziert werden⁴⁵. Insbesondere stellt das ETV dann einen validen Verlaufsparemeter für das Tumorenancement dar, wenn sich nach der lokoregionären Therapie das Tumolvolumen graduell reduziert und Angaben des Enhancements in Prozent des Tumolvolumens dadurch verfälscht würden. Darüber hinaus ermöglicht die Positionierung der ROI in tumorfreiem Lebergewebe die Festlegung eines Patienten-spezifischen Schwellenwertes zur voxel-basierten Kalkulation des ETV auf dem subtrahierten MRT-Datensatz. Der Subtraktionsschritt verhindert außerdem, dass Signalhyperintensitäten auf der nativen und KM-gestützten MRT-Sequenz, z.B. durch Einblutungen in den Tumor, von einer echten KM-Anreicherung unterschieden werden können und folglich nicht in die Kalkulation des Enhancements eingehen⁷⁶.

Ein Nachteil der Quantifizierung des Tumorenancements ergibt sich aus der Tatsache, dass die Devaskularisation und andere morphologische Veränderungen des Tumoransprechens erst einige Wochen nach IAT auftreten. Während erste Veränderungen in der diffusionsgewichteten MRT bereits etwa eine Woche nach TACE messbar sind, wird die Tumornekrose erst nach ca. vier Wochen sichtbar und mittels mRECIST oder qEASL quantifizierbar^{46, 112}. Durch den abweichenden Wirkmechanismus der SIRT treten Alterationen der Tumorercheinung und -KMaufnahme hierbei sogar erst nach ca. zwei bis vier Monaten auf^{41, 113}. Insbesondere für Patienten in der palliativen Behandlungssituation ist das primäre Behandlungsziel von IAT eine Lebensverlängerung. Eine frühzeitige Entscheidung darüber, ob nach initialer IAT weitere therapeutische Schritte notwendig oder für den Patienten sinnvoll sind, ist daher wünschenswert.

In mehreren für diese Arbeit verwendeten Studien wurden daher Korrelationen der mittels lokoregionärer Therapie applizierten Substanz, ihrer Verteilung und dem Tumoransprechen durchgeführt. Quantifiziert als ETV korreliert das Tumorenancement unbehandelter HCC sowohl mit der Lipiodoldeposition bei der cTACE als auch mit der Yttrium-90-Aufnahme bei der SIRT^{51, 100}. Im Kontext der SIRT hat der Einsatz bildbasierter Biomarker das Potential, die Test-Angiographie als invasiven Eingriff zu ersetzen und somit die SIRT zu einer „one-stop-shop“ Maßnahme zu machen. Weiterhin wurde für die Verteilung des Lipiodols nach TACE als auch für die Yttrium-90-Dosis nach SIRT ein Zusammenhang mit dem Tumoransprechen nachgewiesen^{51, 100}. Für mit SIRT behandelte Metastasen konnte dieser Zusammenhang nicht

gezeigt werden, was am ehesten auf die Heterogenität der Kohorte und die naturgemäß weniger ausgeprägte Hypervaskularisation von z.B. CRC-Metastasen zurückzuführen ist ⁵¹.

Die Korrelation von Tumorenancement, Lipiodoldeposition und anschließender Tumornekrose wurde bereits im Tiermodell untersucht und schließlich in zwei prospektiven Patientenstudien bestätigt ^{48, 50, 100}. Unter Hinzunahme automatisierter Bildanalyse-Werkzeuge ist auch eine spezifischere Korrelation von Verteilungsmustern und Dichtegraden des Lipiodols mit der Tumorantwort möglich ¹¹⁴. Für entsprechende Analysen werden derzeit zusätzlich angefertigte CT-Scans (ca. 24 Stunden nach TACE) verwendet, die eine Quantifizierung der Objektdichte anhand der Hounsfield-Einheiten ermöglichen. Um die zusätzliche Strahlenexposition des Patienten im Rahmen dieser postinterventionellen CT zu vermeiden, sollte in Zukunft eine Lipiodolquantifizierung bereits auf den periinterventionellen Cone-Beam-CT-Scans angestrebt werden, um noch während der Behandlung möglicherweise unterbehandelte Tumorareale zu identifizieren, nachzubehandeln und direkt das Risiko für Tumorrezidive zu reduzieren. Die Cone-Beam-CT ist ein Verfahren der digitalen Volumentomografie, das mit üblichen klinisch eingesetzten Angiographieanlagen durchführbar ist. Röntgenröhre und Bildverstärker der Angiographianlage rotieren dabei um den Patienten und erzeugen so während der Intervention dreidimensionale Bilddaten mit deutlich geringerer Strahlenexposition gegenüber der konventionellen CT ^{115, 116}. In der klinischen Routine werden die periinterventionellen Cone-Beam-CT-Aufnahmen primär zur qualitativen Auswertung von dem interventionellen Radiologen für ein besseres dreidimensionales Verständnis der hepatischen Gefäßversorgung und eine zielgerichtete Applikation des Lipiodol-Chemotherapie-Gemisches oder der Yttrium-90-Partikel herangezogen (sog. „Targeting“). Eine quantitative Auswertung ist aufgrund der fehlenden Normierung der Grauwerte, der nach wie vor limitierten Verfügbarkeit von Systemen zur Fusion der periinterventionellen Cone-Beam-CT mit der prätherapeutischen MRT und der lediglich digital errechneten volumetrischen Bildinformation zum aktuellen Zeitpunkt nur eingeschränkt möglich.

Bei der Patientenselektion für lokoregionäre Therapien hat sich in verschiedenen Studien ein Vorteil aus der Kombination radiologischer und klinischer Parameter für die Vorhersage des Tumoransprechens ergeben ^{54, 55}. Eine besondere Rolle spielt hierbei die Leberzirrhose, da sich mindestens 80% der HCC auf dem Boden einer Leberzirrhose entwickeln. Durch die veränderte Parenchymstruktur und die alterierten Druckverhältnisse in den Lebervenen und die retrograde Füllung der Portalvenenäste beeinflusst der Grad der Leberzirrhose die Leber- und Tumorperfusion ^{117, 118}. Die Leberzirrhose kann anhand klinischer und Laborparameter mittels des Child-Pugh-Scores klassifiziert werden. Bei Patienten mit HCC in höhergradiger Leberzirrhose (Child-Pugh B) zeigte sich ein höherer hepatopulmonaler Shunt in der Evaluation mit ^{99m}Tc-MAA und eine ungünstigere intrahepatische Verteilung des Yttrium-90 im Leberparenchym außerhalb des Tumors. Erwartungsgemäß ging diese Konstellation mit einem

schlechteren Tumoransprechen einher ⁵¹. Auch in der Behandlung mit cTACE ging eine Child-Pugh B Zirrhose mit einer erhöhten systemischen Doxorubicinverteilung einher, die ein potentiell höheres Risiko für Nebenwirkungen bedeutet, und sie korrelierte mit einem schlechteren Outcome nach cTACE ^{54, 55, 100}.

Angesichts der großen Mengen in der klinischen Routine erhobener Daten kann die Kombination unterschiedlicher klinischer und radiologischer Parameter sehr zeitaufwendig und für den behandelnden Arzt schwer durchführbar sein. Es ist daher künftig gut vorstellbar, dass validierte Zusammenhänge und Befundkonstellationen von Computersystemen erfasst und den behandelnden Ärzten vorgeschlagen werden (sog. „computer-aided diagnosis“, CAD). Isoliert betrachtet können automatisierte Bildanalyseverfahren wie Radiomics beispielsweise Tumorcharakteristika (z.B. nicht-sphärische Tumormorphologie als Indikator invasiven Tumorwachstums) in der präinterventionellen MRT aufzeigen, die mit dem Therapieansprechen nach lokoregionären Therapien korrelieren ¹¹⁰. Erstmals wurden in der interventionellen Onkologie auch Kombinationen aus klinischen und radiologischen Daten mittels supervidiertem Machine Learning zur automatischen Vorhersage des Tumoransprechens gemäß qEASL herangezogen. Hierbei zeigten sich ebenfalls das Tumorenancement und das Vorliegen einer Leberzirrhose als besonders aussagekräftige Prädiktoren der Therapiewirksamkeit ^{54, 55}.

Während supervidierte Machine Learning Algorithmen eine Vorbereitung des Trainingssets durch den Anwender benötigen, sind komplexere Formen der KI, z.B. neuronale Netzwerke, eigenständiger und können zur Entscheidungsfindung auch Parameter identifizieren und heranziehen, die sich mit bloßem Auge nicht erschließen. Für die Detektion und Segmentierung von HCC und die Klassifizierung von Lebertumoren konnten im experimentellen Setting solche neuronalen Netzwerke bereits erfolgreich angewendet werden ¹¹⁹⁻¹²¹. Ähnlich wie beim menschlichen Gehirn ist auch die Performance neuronaler Netzwerke von ihrer Erfahrung abhängig und davon, wie viele Daten sie bereits „gesehen“ und prozessiert haben. Unter dem viel diskutierten Stichwort „Big Data“ gilt es daher aktuell, multizentrische und damit große Datenbanken zu sammeln, die den Netzwerken zugeführt werden und unsere Ergebnisse aus kleineren Kohorten validieren.

3.2 Molekulare MRT-Bildgebung des extrazellulären Tumor-pH

Eine weitere Überlegung zur Identifizierung von Biomarkern für eine frühzeitige Vorhersage der Tumoransprechens unterscheidet zwischen morphologischen und funktionellen Veränderungen des Tumors und seiner TMU. Ziel mehrerer Studien in dieser Habilitationsschrift war die spezifische Charakterisierung der Lebertumoren basierend auf molekularen Erkenntnissen aus der Karzinogenese von Lebertumoren gemäß der „Hallmarks of Cancer“ ^{56, 122, 123}. Insbesondere wurde eine pH-spezifische MRS-Methode zur Bildgebung von Lebertumoren etabliert, die den Tumor und seine TMU funktionell und auf molekularer Ebene charakterisiert und frühzeitige

posttherapeutische Veränderungen detektiert, die potentiell entscheidend für die Tumorrezidivbildung sind.

Für die Modellierung der komplexen Interaktionen von Tumor, Leber, und Immunsystem wurde zunächst eine organotypische 3D Zellkultur gewählt, welche durch die Einbettung von Tumorzellen in Kollagen das HCC-Wachstum bei Leberzirrhose imitiert¹²⁴. Traditionelle Monolayer-Zellkulturen sind häufig vulnerabler gegenüber applizierten Therapeutika und Therapieeffekte können somit überschätzt werden. 3D Zellkulturen besitzen hingegen ein höheres translationales Potential, da die Penetration und Distribution der Therapeutika in den Kulturen die Verteilung in der zirrhotischen Leber simuliert^{79, 125}. Hauptbestandteil der hier untersuchten organotypischen 3D Kulturen war Kollagen I, welches auch beim Menschen vermehrt in zirrhotischem Lebergewebe nachweisbar ist¹²⁴. Für künftige Versuche können die 3D Kulturen durch Ko-Kulturen anderer Zelltypen des Tumorstromas, z.B. Makrophagen oder Fibrozyten ergänzt werden, um den Verhältnissen in der in vivo TMU noch näher zu kommen.

Schließlich war ein experimenteller Versuchsaufbau in immunkompetenten tumortragenden Tieren unerlässlich. Die Tierversuche im VX2-Kaninchentumormodell hatten das Ziel, ein höchstmögliches Ausmaß an klinisch-relevanten Informationen aus einem für die humane Tumorummunologie repräsentativen Modell zu gewinnen, um diese Erkenntnisse zeitnah auf die Klinik übertragen zu können. Gegenüber vielen anderen Maus- und Rattentumormodellen sind die Experimentaltiere immunkompetent und eignen sich daher für die Untersuchung des Immunsystems. Auch wenn den VX2-Tumoren keine Leberzirrhose zugrunde liegt, ist die maligne Entartung der Tumorzellen ursprünglich Virus-induziert und ihre orthotope Implantation in die Kaninchenleber löst eine bekanntermaßen starke lokale Immunreaktion aus^{33, 34, 105}. Obwohl histologisch nicht dem humanen HCC entsprechend, eignet sich das VX2-Tumormodell sehr gut zur Erforschung humaner Lebertumoren, da die Tumoren arteriell hypervaskularisiert sind und sich daher in der Bildgebung ähnlich wie das HCC darstellen. Weiterhin sind VX2-Tumoren hyperglykolytisch und weisen in ihrer TMU einen niedrigen extrazellulären pH auf, der mittels molekularer MRS nicht-invasiv gemessen werden kann^{89, 126}. Ein bedeutender Vorteil des VX2-Modells für die translationale Forschung ist die Größe der Versuchstiere, die eine Untersuchung in klinischen MRT-Scannern und eine selektive TACE-Behandlung mit routinemäßig klinisch verwendetem Equipment ermöglicht^{48, 89, 105, 127}.

Unsere Ergebnisse aus der molekularen Bildgebung im VX2-Kaninchentumormodell zeigen, dass der pH der TMU nach cTACE graduell anstieg⁸⁹. Auch wenn innerhalb des Überwachungszeitraums von zwei Wochen keine vollständige Neutralisierung des Tumor-pH erreicht wurde, legen diese Ergebnisse nahe, dass die Neutralisierung des pH als Marker für das Tumoransprechen nach cTACE verwendet werden kann.

Dem niedrigen pH unbehandelter Tumoren liegen primär eine gesteigerte Glukoseaufnahme in die Tumoren und erhöhte Glykolyseraten mit entsprechend gesteigerter Laktatproduktion zugrunde („Warburg-Effekt“). Die Leber zeichnet sich jedoch durch ihre vielseitigen Stoffwechselaktivitäten wie Protein- und Gallensäuresynthese, Glykogenspeicherung und Biotransformation als metabolisch hochaktives Organ aus. Diese Eigenschaft macht die Bildgebung der metabolischen Aktivität von Lebertumoren aufgrund einer hohen Hintergrundaktivität, wie z.B. beim FDG-PET, besonders herausfordernd ¹²⁸. Darüber hinaus ist die Anwendung radioaktiver sowie fluoreszenzbasierter Methoden durch die Strahlenexposition oder die Notwendigkeit invasiver Messungen am Patienten limitiert ¹²⁹⁻¹³¹.

Daher wurden in den letzten Jahren verschiedene MRT-basierte Verfahren entwickelt, von denen insbesondere die hyperpolarisierte MRT und die sog. Chemical Exchange Saturation Transfer (CEST) Technik schwerpunktmäßig erforscht werden. Bei der CEST handelt es sich um eine Methode, welche anhand der Messung des Austausches zwischen Protonen in bestimmten Metaboliten und Protonen in freiem Wasser den metabolischen Flux oder auch pH messen kann ^{132, 133}. Ein Vorteil der CEST-Bildgebung ist die hohe örtliche Auflösung. Nachteile ergeben sich aus der Abhängigkeit von Temperatur und dem magnetischen Feld während der Messung sowie mangelnder Spezifität durch überlappende Signale verschiedener austauschbarer Hydroxy- und Aminogruppen ¹³⁴.

Die BIRDS-Methode beruht auf dem Prinzip des Chemical Shift Imaging und der Quantifizierung der pH-abhängigen Protonenverschiebung innerhalb der applizierten paramagnetischen Substanz TmDOTP. Gegenüber der CEST-Methode ist BIRDS weder von der Temperatur noch der Konzentration des applizierten TmDOTP abhängig und weniger anfällig gegenüber inhomogenen Magnetfeldern ¹³⁵. Zulassungsstudien für TmDOTP liegen jedoch noch nicht vor, sodass eine Translation in die Klinik bisher noch nicht stattgefunden hat.

Die Signalpeaks aus der BIRDS-MRS werden auf anatomische MRT-Sequenzen registriert, um eine räumliche, voxelweise Signalzuordnung und pH-Quantifizierung zu ermöglichen. In einer Subgruppe wurde daher eine unvollständige cTACE vorgenommen und der Tumor-pH zwei Wochen nach cTACE mittels MRS gemessen. Die vollständig embolisierten Tumoranteile wiesen hierbei einen signifikant höheren pH auf als die unterbehandelten Tumoranteile ⁸⁹. Diese Ergebnisse validieren den prognostischen Wert eines niedrigen Tumor-pH als quantifizierbaren Marker für vitale Tumorzellen. Der Nachweis von Tumorarealen mit niedrigem pH nach cTACE kann daher wegweisend sein für die Entscheidung zur erneuten komplettierenden cTACE oder Therapieumstellung und somit für die Verbesserung des klinischen Outcomes von Patienten mit HCC.

Obwohl es sich um eine etablierte und leitliniengerechte Therapie bei HCC handelt, stellt die TACE in der überwiegenden Anzahl der Fälle eine palliative Therapieoption dar und nur wenige

Patienten bleiben dauerhaft tumorfrei. Häufiger kommt es nach TACE bereits innerhalb der ersten sechs Monate zu Tumorrezidiven, welche die Prognose verschlechtern und die Überlebenszeit verringern⁹. Neben einer lokal unzureichenden Behandlung von Tumorarealen, die später zu einem Tumorrezidiv führen kann, wird als potentielle Ursache für die Rezidivbildung die molekulare Heterogenität von HCC und ihrer Mikroumgebung diskutiert¹³⁶. Letztere kann ein unterschiedliches Tumoransprechen bedingen und wird aktuell nicht ausreichend erfasst und entsprechend bei der Therapieauswahl nicht berücksichtigt. Gemäß des BCLC Systems ist die TACE als Standardtherapie im intermediären Stadium (BCLC B) vorgesehen. Während nur die manuell erfasste Tumorausdehnung und der allgemeine Performance Score dieses BCLC-Stadium definieren, bleiben potentiell prognostisch entscheidende Tumormorphologien, der dominante Tumormetabolismus oder zugrundeliegende Lebererkrankungen ohne Berücksichtigung¹³⁷. Die daraus resultierende Heterogenität der Patientenkohorte, die als BCLC B Stadium klassifiziert wird, spiegelt sich auch in den Ansprechraten auf die TACE wider¹³⁶. Aus diesen Beobachtungen lässt sich ableiten, dass die Einteilung der Krankheitsstadien anhand makroskopischer Tumorcharakteristika (z.B. gemäß etablierter Staging-Systeme wie BCLC) keine ausreichende Grundlage für die Indikationsstellung zur TACE und für das individuelle Therapieregime insgesamt darstellt¹³⁶.

Es besteht daher ein klinischer Bedarf an radiologischen Verfahren, die anhand individueller Tumoreigenschaften diejenigen Patienten selektieren, die für die Therapie mit TACE am besten geeignet sind. Damit können Limitationen und Vorgaben existenter Klassifikationssysteme aufgehoben werden. In diesem Kontext ist die Anwendung funktioneller molekularer Bildgebung wie der pH-spezifischen MRS auch zur prätherapeutischen Charakterisierung von Lebertumoren empfehlenswert, um Informationen über die individuelle Beschaffenheit und damit die Wahrscheinlichkeit eines Therapieansprechens zu gewinnen⁶⁵. Im Kaninchtumormodell wiesen die unbehandelten VX2-Lebertumoren signifikant niedrigere pH-Werte auf als das umgebende Leberparenchym⁸⁹. Während die VX2-Tumoren nach einem standardisierten Verfahren in die Kaninchenleber implantiert und dort analysiert wurden, wiesen die BIRDS-Messungen der organotypischen 3D Zellkulturen mit verschiedenen HCC-Zelllinien unterschiedliche pH-Werte auf. Dies unterstreicht den klinischen Nutzen einer molekularen Charakterisierung und Unterscheidung histologischer Subtypen humaner HCCs vor Therapiebeginn. Die pH-MRS könnte somit zukünftig neben den etablierten Untersuchungen ihre Anwendung in der individuellen Tumor-Charakterisierung finden¹⁰¹.

3.3 Molekulare immunzellspezifische MRT-Biomarker

Neben neuen Bildgebungstechniken zur Analyse funktioneller Tumoreigenschaften wie der metabolischen Aktivität können molekulare Tumorcharakteristika in der standardmäßigen MRT-Bildgebung durch Hinzunahme spezifischer, zielgerichteter MRT-Biomarker erhoben werden. Die Basis hierfür ist die fortschreitende Charakterisierung der sogenannten „Hallmarks of Cancer“⁵⁶.

Eine Möglichkeit zur Umsetzung ist die Übertragung eines Prinzips in die Radiologie, welches in der Nuklearmedizin weit verbreitet ist. Hierbei wird ein zielgerichteter Vektor (z.B. Antikörper) gegen eine Zielstruktur mit einem klinisch etablierten KM konjugiert, welches in der MRT sichtbar gemacht werden kann.

Im Allgemeinen bietet die MRT gegenüber nuklearmedizinischen Methoden die direkte anatomische Korrelation mit einem starken Weichteilkontrast und einer hohen örtlichen Auflösung. Verschiedene MRT-KM (z.B. Gd, Eisenoxidpartikel) kommen bereits in der klinischen Routine zum Einsatz¹³⁸⁻¹⁴⁰. Die bereits zugelassenen Gd-KM sind unspezifische KM, die sich intravaskulär verteilen und somit insbesondere über die Blutversorgung von Organen und von Raumforderungen Auskunft geben. Um die Blutversorgung beurteilen zu können, werden in der Regel Bilder in verschiedenen Zeitintervallen nach der KM-Applikation erstellt (sog. dynamische KM-Bildgebung). Diese dynamischen Beurteilungen sind insbesondere mit den zugelassenen makrozyklischen Gd-haltigen KM gut zu beurteilen (z.B. Dotarem, Guerbet; Gadovist, Bayer). Sie stellen aktuell die Grundlage für die Evaluation des Tumoransprechens nach TACE in der klinischen Routine (z.B. mittels mRECIST und qEASL) dar. Die für die Bildgebung der Leber zugelassenen linearen Gd-basierten KM (z.B. Primovist, Gadoxetsäure, Bayer; Multihance, Gadobensäure, Bracco Imaging) können aufgrund ihrer strukturellen Eigenschaften von den Hepatozyten aufgenommen werden. Sie zählen daher zu den intrazellulären, hepatospezifischen KM. Neben dynamischen KM-Phasen kann daher bei dieser Art von KM zusätzlich eine Bildgebung in der Spätphase erfolgen (ca. 20 min nach Administration). Durch ihre Hepatospezifität werden die genannten linearen KM von den Hepatozyten des extratumoralen Lebergewebes aufgenommen und führen dadurch zu einem parenchymalen Enhancement in der Spätphase. Gleichzeitig reichern Raumforderungen, die sich aus Zellen ohne Funktion oder ohne die Eigenschaften von Hepatozyten zusammensetzen (z.B. Zysten, Metastasen oder HCC), das KM nicht an und können so detektiert werden (sog. „Primovistspeicherdefekt“).

Während die zugelassenen Gd-KM die Detektion der Tumoren verbessern, können mit keinem der genannten KM Informationen über die Zellzusammensetzung von Geweben, z.B. eines Lebertumors oder der TMU gewonnen werden. Im Gegensatz dazu sollen die im Rahmen dieser Habilitationsarbeit neu entwickelten MRT-Biomarker zielgerichtet und zellspezifisch den Tumor und seine TMU charakterisieren und so die diagnostische Genauigkeit verbessern und interindividuelle Unterschiede der HCC auf molekularer Ebene hervorheben. Hierbei lag ein besonderer Fokus auf der nicht-invasiven MRT-Bildgebung peritumoraler Immunzellen.

Die Immunevasion der Tumorzellen spielt eine bedeutende Rolle in der Karzinogenese und liegt dem Konzept der Immuntherapie zugrunde. Die einleitend diskutierte selektive Wirksamkeit dieser Immuntherapeutika bei Patienten mit HCC beschränkt jedoch aktuell die Anwendung auf das fortgeschrittene Tumorstadium (BCLC C). Durch die Anwendung molekularer MRT-Biomarker

könnte allerdings eine verbesserte Patientenselektion erreicht und das Potential der Immuntherapien auch in früheren Krankheitsstadien bei geeigneten Patienten besser ausgeschöpft werden ^{80, 84}.

Zur Herstellung der MRT-Biomarker wurden Antikörper gegen antigen-präsentierende Zellen (anti-HLA-DR) mit einem Gd-Derivat konjugiert und intraarteriell appliziert. Nach 24 Stunden war auf fettgesättigten T1-gewichteten MRT-Sequenzen eine Signalanhebung um den VX2-Lebertumor in vivo sichtbar, welche durch die selektive Bindung Gd-markierter Antikörper an peritumorale Immunzellen entstand. Diese selektive Deposition von Gd konnte mittels immunhistochemischer und massenzytometrischer Messverfahren ex vivo validiert werden. Während in dieser Machbarkeitsstudie die intraarterielle Injektion primär einer selektiven Dosiserhöhung der MRT-Biomarker in der Leber und damit einer Kostenreduktion diene, sollte in künftigen Versuchen eine systemische Applikation angestrebt werden, um den Transfer in die klinische Anwendung am Patienten vorzubereiten.

Im Gegensatz zu Antikörper-basierten MRT-Biomarkern zirkulieren SPIONs nach intravenöser Administration im Blut und können von Makrophagen phagozytiert werden, die sich neben den Organen des retikuloendothelialen Systems insbesondere in den Bereichen sammeln, wo eine aktive Entzündung stattfindet ¹⁴¹. Das Eisen der SPIONs verändert die Relaxationszeit in der MRT und lässt sich daher als Signalveränderung (z.B. Signalabfall in T2-gewichteten Sequenzen) detektieren. Damit zählen SPIONs zu den intrazellulären KM. Einige SPION-KM sind bereits zugelassen, ihre Anwendbarkeit zur Detektion der lokalen Immunreaktion bei Tumoren ist jedoch noch nicht klinisch getestet. In unseren Vorversuchen konnten wir mittels SPION-MRT um die VX2-Lebertumoren eine relativ hohe Dichte an Makrophagen nachweisen und histologisch validieren ¹⁰⁵. Da die Verträglichkeit von SPIONs bereits nachgewiesen ist, ist als Folgestudie eine Testung im Menschen durchaus möglich.

Auch nuklearmedizinische Verfahren finden Anwendung beispielweise in der radioaktiven Markierung von Antigenen oder Rezeptoren, die in der Immunantwort auf den Tumor eine Schlüsselrolle spielen (z.B. PD-1), jedoch mit nur mäßiger Sensitivität, hohen damit verbundenen Kosten, dem Risiko der wiederholten Strahlenexposition und dem fehlenden Weichteilkontrast, wenn das PET nicht mit einem MRT gekoppelt ist ¹²⁷. Darüber hinaus konnte am Beispiel des PD-1 Rezeptor-PET kein signifikanter Zusammenhang von Rezeptorstatus und Prognose gezeigt werden, sodass oft noch zusätzliche Biopsien durchgeführt werden müssen ^{142, 143}. Hingegen ist die zellspezifische molekulare Bildgebung der Immunantwort ein vielversprechender Ansatz, um immunologische Reaktionen auf den Tumor zu visualisieren und in Abhängigkeit von der Anzahl nachweisbarer lokaler Immunzellinfiltrate sog. „hot tumors“ von „cold tumors“ zu unterscheiden. „Hot tumors“ mit einer vermehrten lokalen Immunantwort weisen potentiell eine bessere Tumorantwort auf Immuntherapien auf, während „cold tumors“ tendenziell schlechter ansprechen ^{59, 144}. Durch ihren nicht-invasiven Charakter haben die zellspezifischen MRT-Biomarker daher das Potential, Tumorbiopsien zu ersetzen und dem Patienten so unnötige

Interventionsrisiken zu ersparen, und sie können mehrfach, z.B. in der Verlaufsbeurteilung eingesetzt zu werden.

Da auch Tyrosinkinaseinhibitoren und Immuntherapeutika eine Reduktion der Vaskularisation beim HCC induzieren, werden auch dabei zum Teil die mRECIST Kriterien in Studien zur Verlaufsbeurteilung eingesetzt¹⁴⁵. Eine zusätzliche Herausforderung bei der Verlaufsbeurteilung von Tumoren, die mit einer Immuntherapie behandelt werden, sind atypische bildmorphologische Formen des Tumoransprechens, die von klassischen Chemotherapeutika bisher unbekannt waren^{146, 147}. Es lässt sich beispielsweise beobachten, dass Zieltumore nach Therapiebeginn mit Immuntherapien zunächst größer wurden, im weiteren Verlauf aber eine deutliche Größenregression im Sinne eines Tumoransprechens zeigten. Dieses Phänomen wird Pseudoprogression genannt und beruht auf einer initialen Größenzunahme des Tumors durch Invasion von Immunzellen in den Tumor. Hierdurch imponiert dieser in der Bildgebung größer, obwohl keine tatsächliche Proliferation maligner Zellen wie bei einer echten Progression stattgefunden hat¹⁴⁸. Eine bildbasierte Differenzierung zwischen Tumor- und Immunzellen ist mit den herkömmlichen Methoden und KM nicht möglich, sodass eine Unterscheidung nur im zeitlichen Verlauf möglich ist. Zur Berücksichtigung dieser temporären Phänomene wie Pseudoprogression wurden existente Evaluationskriterien daher so angepasst, dass Patienten mit einem Progress in der ersten Verlaufsbeurteilung nach Therapiebeginn zunächst weiterbehandelt werden und eine Therapieumstellung erst dann erfolgt, wenn sich der Progress in der darauffolgenden Bildgebung bestätigt^{148, 149}. Dieses Vorgehen führt bei Non-Respondern zu einer Verzögerung der Therapieumstellung und kann in der Folge eine Verschlechterung der Prognose bedeuten. Die neu entwickelten MRT-Biomarker können Immunzellen direkt markieren und würden hier eine nicht-invasive Unterscheidung zwischen Pseudoprogression und echten Progression ermöglichen. Insgesamt bietet diese frühzeitige Therapieerfolgskontrolle die Möglichkeit einer personalisierten Therapieplanung mit dem Ziel der Verbesserung des Gesamtüberlebens.

Neben der verbesserten Patientenselektion wird auch die Kombination von Immuntherapien mit lokoregionären Therapien hinsichtlich einer verbesserten Wirksamkeit bei HCC in klinischen Studien getestet (z.B. IMbrave 050 NCT04102098, PETAL-Trial NCT03397654). Die Infiltration von Immunzellen in die TMU nach TACE wurde bereits in klinischen Studien gezeigt und insbesondere auf die Freisetzung von TAA zurückgeführt, scheint jedoch erst mit einiger Verzögerung oder durch medikamentöse pH-Neutralisierung, z.B. mittels lokal applizierten Natriumbikarbonats einzutreten^{89, 105}. In unseren Versuchen im VX2-Lebertumormodell wurden jedoch direkt nach cTACE zunächst keine signifikante pH-Veränderung und eine gleichbleibende bis reduzierte peritumorale Immuzellinfiltration beobachtet¹⁰⁵. Ursächlich hierfür könnte die durch TACE als intraarterielles Embolisationsverfahren induzierte Ischämie des Tumors sein. Diese führt bekannterweise zu einer verstärkten Tumorphoxie und beeinflusst so die Interaktion von

Tumormetabolismus und lokaler Immunantwort^{65,71}. Insbesondere ist anzunehmen, dass subletal geschädigte, aber überlebende Tumorzellen, z.B. am Tumorrand, durch die Hypoxie zusätzlich anaerobe Glykolyse betreiben, Laktat produzieren und auch der Laktattransport aus dem Tumor durch die Embolisation der zuführenden Arterie geblockt wird^{150, 151}. Die exazerbierte Tumorazidose würde unter anderem die antitumorale Immunantwort hemmen und die Sensibilität gegenüber Chemo- und Strahlentherapie reduzieren und somit insgesamt das Überleben von Tumorzellen und die Rezidiventstehung begünstigen.

In diesem Zusammenhang können lokoregionäre Therapien auch durch die lokale Applikation von Substanzen genutzt werden, welche die TMU so konditionieren, dass die antitumorale Wirkung der TACE oder anderer Therapeutika verstärkt wird (z.B. mit Natriumbikarbonat). Die intraarterielle Infusion von Natriumbikarbonat während der cTACE erhöhte im VX2-Tumormodell messbar den extrazellulären pH des Tumors und seiner TMU und ging mit einer lokalen Immuzellinfiltration in die TMU einher¹⁰⁵. In unseren Versuchen in der organotypischen 3D Kultur wurde außerdem durch Behandlung mit 3-BrPA eine signifikante pH-Erhöhung erreicht, welche potentiell - ähnlich dem Natriumbikarbonat - auch mit einer Disinhibition der Immunsuppression eingehen könnte. Die antitumorale Wirksamkeit von 3-BrPA wurde zuvor in präklinischen Studien nachgewiesen^{60, 152}. Diese haben bereits den Weg für klinische Untersuchungen bei Patienten mit malignen Lebertumoren gebahnt, wobei durch eine intraarterielle Injektion des 3-BrPA zusätzlich methodisch-bedingt die Selektivität erhöht wurde. Darüber hinaus war ein klinischer Einsatz bisher nicht möglich, da durch nicht-selektive Alkylierung systemische Nebenwirkungen befürchtet wurden⁷⁶. In einer weiteren Arbeit, die nicht in diese Habilitationsschrift aufgenommen werden konnte, konnten wir jedoch zeigen, dass diese durch eine nanotechnologische Enkapsulierung des 3-BrPA umgangen werden können^{60, 79}.

3.4 Limitationen

Limitationen ergeben sich bei den klinischen Studien aus den relativ kleinen Fallzahlen (Originalarbeiten 1-3 und 7) und dem retrospektiven Charakter (Originalarbeiten 1, 3 und 7). Darüber hinaus wurden in den Originalarbeiten 1 und 2 sowohl Patienten mit HCC als auch mit anderen malignen Lebertumoren eingeschlossen (z.B. cholangiozelluläres Karzinom, Lebermetastasen). Letztere bilden eine relativ heterogene Gruppe in Bezug auf ihre Darstellung in der Schnittbildgebung und die Prognose. Hierdurch kann die Detektion signifikanter Ergebnisse erschwert werden, wobei aber gleichzeitig die klinische Patientenklientel für lokoregionäre Therapien widerspiegelt und somit ein robustes Datenset dargestellt wird. Das Studiendesign der präklinischen Studien (Originalarbeiten 4-6) ist maßgeblich durch das Ziel bestimmt, eine möglichst gute Übertragbarkeit der Ergebnisse in die klinische Praxis zu ermöglichen. Das dafür ausgewählte translationale VX2-Kaninchentumormodell hat den Nachteil, dass die Tumoren keine „echten“ HCC sind und ihnen keine Leberzirrhose zugrunde

liegt. Dennoch bietet das Tumormodell durch eine hohe Reproduzierbarkeit, die Ähnlichkeit der VX2-Tumoren zum HCC in der Bildgebung, immunkompetente Versuchstiere und die Größe der Kaninchen im Gegensatz zu Kleintieren ein geeignetes Setting für die Entwicklung der pH-MRS und immunologischen MRT-Biomarker mit einem großen klinischen Translationspotenzial.

4 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden radiologische Methoden der quantitativen Bildanalyse für die umfassende Charakterisierung maligner Lebertumoren und deren Veränderungen im Rahmen lokoregionärer Therapien untersucht. Die vorliegende Arbeit trägt zum einen dazu bei, die diagnostischen Fähigkeiten MR-basierter Methoden durch volumetrische und automatisierte Auswertungen (**Originalarbeiten 1-3 und 7**) sowie molekulare MRT-Methoden (**Originalarbeiten 4-6**) für das Gebiet der onkologischen Bildgebung zu erweitern. Zum anderen werden therapiespezifische (**Originalarbeiten 1-3 und 7**) und molekulare (**Originalarbeiten 4-6**) bildbasierte Marker im Kontext lokoregionärer Therapien untersucht. Dafür wurden umfassende Untersuchungen in vitro, in vivo im Tiermodell sowie in klinischen Studien durchgeführt, um die bildbasierten Marker schrittweise zu etablieren.

Zunächst wurde anhand einer retrospektiven Bildanalyse von 38 Patienten (n=23 HCC, n=15 andere Lebermalignome) vor und nach SIRT ein Modell zur volumetrischen Tumor- und Lebersegmentierung, multimodalen Bildregistrierung (MRT, CT, SPECT) und Quantifizierung der postinterventionellen SPECT erstellt (**Originalarbeit 1**). Bei allen Patienten zeigte sich das prozentuale Tumorenancement gemessen als ETV als prädiktiver Marker für die Yttrium-90-Verteilung, wobei vitale, stark vaskularisierte Tumoren mit hohem ETV mehr Yttrium-90 aufnahmen. Somit ist die Verwendung des ETV als tumorspezifischer Marker geeignet, um potentiell die invasive Testangiographie zu ersetzen, die Indikationsstellung für eine SIRT zu personalisieren und so die Erfolgchancen der SIRT zu vergrößern bei gleichzeitig reduziertem Risiko therapieassoziiertes Komplikationen. Im Gegensatz dazu begünstigte eine eingeschränkte Leberfunktion (Child-Pugh-B) eine extratumorale Yttrium-90-Anreicherung und einen erhöhten hepatopulmonalem Shunt. Bei HCC konnte die Yttrium-90-Verteilung schließlich als therapiespezifischer Surrogatmarker für das Tumoransprechen nach SIRT etabliert werden. Die Arbeit trägt dazu bei, einen Algorithmus zur Quantifizierung der in der klinischen Routine rein qualitativ beurteilten Yttrium-90-Verteilung in der SPECT zu etablieren, sodass bereits wenige Stunden nach SIRT eine Abschätzung des Therapieeffektes ermöglicht wird.

Im folgenden Schritt wurde dieses Konzept eines therapiespezifischen Biomarkers im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie (ClinicalTrials.gov: NCT02753881) auf eine andere IAT, die Lipiodol-basierte cTACE übertragen (**Originalarbeit 2**). Eingeschlossen wurden 30 Patienten mit malignen Lebertumoren (n=26 HCC, n=4 andere Lebermalignome), welche mit einer cTACE behandelt wurden. Vor sowie zu neun Zeitpunkten nach der Behandlung (5, 10, 20, 40 Minuten; 1, 2, 4, 24 Stunden; 3-4 Wochen) wurde die systemische Verteilung des lokal applizierten Doxorubicin und seines Metaboliten Doxorubicinol analysiert. Während die Mehrheit der rezenten pharmakokinetischen Studien Formen der DEB-TACE untersuchen, liefert diese prospektive Studie einen neuen Referenzstandard für die cTACE, wie sie heutzutage in der klinischen Routine vorwiegend praktiziert wird. Als klinisch besonders relevant stellte sich

heraus, dass die Lipiodolverteilung auf der postinterventionellen CT (segmental vs. multisegmental vs. lobär) mit den peripheren Spitzenkonzentrationen (C_{max}) von Doxorubicin und Doxorubicinol korrelierte. Auch ein hohes ETV und eine eingeschränkte Leberfunktion (Child-Pugh B) gingen mit erhöhten Doxorubicin- C_{max} einher. Während der Fokus dieser Studie auf der Pharmakokinetik des lokal applizierten Chemotherapeutikums lag, wurde auch im Kontext der cTACE - ähnlich wie Yttrium-90 nach SIRT bei HCC - das ETV als prädiktiver Marker für die Lipiodolverteilung in den Tumor und das Tumoransprechen identifiziert.

Während die vorherigen Studien Methoden der volumetrischen, semiautomatischen Segmentierung und Bildanalyse verwendeten, wurden in der folgenden „Proof-of-Concept“ Studie (**Originalarbeit 3**) radiologische und klinische Daten von 36 Patienten mit HCC untersucht, um erstmalig die diagnostische Genauigkeit für die Vorhersage des Tumoransprechens auf TACE durch Hinzunahme supervidierter Machine Learning Algorithmen (Random Forest und Logistische Regression) zu verbessern. Anhand der enhancement-basierten, volumetrischen qEASL-Kriterien wurden die Patienten als Responder oder Non-Responder eingestuft (Outcome-Label). Beide Algorithmen sagten das Tumoransprechen mit einer Gesamtgenauigkeit von 78% voraus (Sensitivität 62,5%, Spezifität 82,1%). Analog zu den zuvor genannten Studien wurden als stärkste Prädiktoren für ein Tumoransprechen nach TACE eine klinische (Vorliegen einer Leberzirrhose) und eine bildgebende Variable (relative Tumorsignalintensität) identifiziert. Es konnte außerdem die Empfehlung ausgesprochen werden, sowohl Bilddaten als auch klinische Daten in einem Modell zu berücksichtigen. Angesichts des Mangels an evidenzbasierten Richtlinien zur Unterstützung des Einsatzes einer bestimmten IAT gegenüber anderen, kann der Einsatz von Machine Learning-Algorithmen in der klinischen Routine die Therapieentscheidung und Patientenselektion unter Berücksichtigung aller verfügbaren Daten unterstützen.

Eine Herausforderung in der Onkologie im Allgemeinen und der Therapie des HCC im Speziellen ist die molekulare Heterogenität von Tumoren und deren TMU. In den folgenden Arbeiten wurde daher angestrebt, konventionelle radiologische Methoden um spezifische, molekulare Bildgebungstechniken zu erweitern, die den Tumor und seine TMU nicht-invasiv charakterisieren. Ein Kennzeichen maligner Lebertumoren auf molekularer Ebene ist der "Warburg-Effekt", bei dem die Glykolyserate sauerstoffunabhängig ansteigt und eine Akkumulation von Protonen und Laktat im Extrazellulärraum resultiert ⁵⁶. Die dadurch bedingte pH-Absenkung in der TMU begünstigt das Tumorwachstum, reduziert die Wirksamkeit vieler Tumortherapieprogramme und verschlechtert so die Prognose ⁵⁸. Daher wurde insbesondere die Fähigkeit der MRT zur quantitativen Überwachung des Tumor-pH als funktioneller Surrogat-Biomarker für die Vitalität von Tumorzellen untersucht.

Hierfür wurde eine pH-spezifische MRS-Technik entwickelt und zunächst in organotypischen Kollagen-basierten 3D Zellkulturen getestet (**Originalarbeit 4**). Diese simulieren durch die

Interaktionen der Tumorzellen mit der extrazellulären Matrix das Tumorwachstum in vivo besser als konventionelle Monolayer-Zellkulturen und haben gegenüber in vivo-Versuchen den Vorteil, Untersuchungen an humanen Zelllinien mit hohem Durchsatz zu ermöglichen. Im Vergleich zu Hepatozyten wurde bei vier Leberkrebszelllinien ein saurer pH festgestellt, welcher mit einer Überexpression von GLUT-1 korrelierte. Während die Zugabe von Glukose den pH in den Krebszelllinien signifikant senkte, normalisierte die Behandlung mit dem antiglykolytischen 3-BrPA bereits in subletalen Dosierungen den Tumor-pH. Die Ergebnisse legen nahe, dass der Tumor-pH als funktioneller Vitalitätsparameter eine frühere und empfindlichere Überwachung des Tumoransprechens auf eine Therapie ermöglicht. Der pH-Status des Tumors und der TMU geht als Mitursache für die dann folgenden morphologischen Veränderungen (messbar mit z.B. Proliferationsassays in vitro, Tumorbildgebung in vivo) diesen voraus. Die Studie stellte erstmalig eine Hochdurchsatz-pH-Kartierungsplattform vor, die für effiziente in vitro-Arzneimitteltests verwendet werden und dazu beitragen kann, die Medikamentenwahl zu personalisieren und gezielte Strategien zur Abschwächung von Tumorresistenzmechanismen zu entwerfen.

Die Erkenntnisse wurden in der nachfolgenden translationalen Studie (**Originalarbeit 5**) auf das orthotope VX2-Kaninchentumormodell für Lebertumoren übertragen, um den Tumor-pH in vivo als Biomarker für den Therapieerfolg nach cTACE zu untersuchen. Zweiunddreißig Lebertumor-tragende Kaninchen erhielten eine longitudinale Bildgebung an klinischen 3 Tesla-MRT- und CT-Scannern vor und bis zu 2 Wochen nach vollständiger cTACE. Wie in der 3D-Zellkultur zeigten unbehandelte VX2-Tumoren einen signifikant niedrigeren pH als das Leberparenchym, welcher mit einer erhöhten Expression der metabolischen Marker GLUT-1 und LAMP-2 in den Lebertumoren einherging. Nach vollständiger cTACE wurde ein allmählicher Anstieg des Tumor-pH innerhalb von 2 Wochen beobachtet, der mit der abnehmenden Nachweisbarkeit der metabolischen Marker korrelierte. Zusätzlich zeigte die pH-Kartierung in einer Subgruppenanalyse nach unvollständiger cTACE sowohl einen niedrigen pH vitaler Tumorresiduen als auch einen erhöhten Tumor-pH in den behandelten Regionen. Die Arbeit zeigte somit erstmalig die Anwendung der MRS-basierten pH-Bildgebung als longitudinales Überwachungsinstrument für Lebertumore nach cTACE und legt die Normalisierung des Tumor-pH als frühen funktionellen Biomarker für einen Therapieerfolg nahe.

Die in dieser Habilitationsschrift vorgelegten Originalarbeiten zur molekularen Tumorbildgebung vollziehen bezüglich der Etablierung und Anwendungsbereiche der pH-MRS somit eine Entwicklung, welche durch die **Originalarbeit 6** abgeschlossen wird. In dieser Arbeit wurden die Erkenntnisse über den Tumor-pH sowie die Möglichkeit der in vivo Bildgebung ebendieses genutzt, um eine therapeutische Strategie zu entwickeln, die TMU für eine potentiell effektivere immuno-onkologische Therapie zu konditionieren. Insgesamt wurden 21 VX2-Lebertumor-tragende Kaninchen untersucht. Es konnte eine signifikante Erhöhung des Tumor-pH durch die Kombination von cTACE mit einer vorangehenden Natriumbikarbonat-Injektion in die

tumorzuführenden Arterien erreicht werden. Zusätzlich zeigte sich in den immunhistochemischen Färbungen, dass der niedrige pH unbehandelter Lebertumoren sowie von Tumoren kurz nach cTACE mit einer relativ geringen peri- und intratumoralen Infiltration antigen-präsentierender Zellen einherging, die durch die pH-Modulation mit Natriumbikarbonat verstärkt werden konnte. Um dieses immuno-metabolische Wechselspiel in vivo zu visualisieren, war ein weiteres Ziel dieser Arbeit die Entwicklung molekularer, immunzellenspezifischer MRT-Biomarker. Hierfür wurden sowohl Eisenoxidpartikel, die von peritumoralen Makrophagen phagozytiert werden, als auch neu entwickelte Gd-markierte Antikörper gegen antigen-präsentierende Zellen in der TMU hergestellt. Nach Applikation dieser immunzellenspezifischen Sonden waren in der MRT lokalisierte peritumorale Signalalterationen messbar, welche mittels radiologisch-pathologischer Korrelationsanalysen als selektive Depositionen der MRT-Biomarker validiert werden konnten. Neben einer besseren Stratifizierung von Patienten, kann eine solche nicht-invasive Immunphänotypisierung der TMU auch in der Evaluation des Tumoransprechens nach immuno-onkologischen Therapien eine Rolle spielen, um frühzeitig beispielsweise zwischen echter und Pseudoprogression (temporäre Infiltration des Tumors mit Immunzellen) zu unterscheiden.

Auch im Hinblick auf eine Phänotypisierung der systemischen Immunantwort konnten neue Impulse gesetzt werden. In **Originalarbeit 7** wurde in einer retrospektiven Fallanalyse von 46 Patienten mit therapienaivem HCC erstmals der Zusammenhang des zellulären Immunprofils mit Radiomics-basierten Tumorcharakteristika und das Outcome nach TACE beschrieben. Dieser zeigte sich für aus dem Differenzialblutbild errechnete Verhältnisse von Immunzellen, wobei eine hohe NLR und PLR mit einem invasiven Tumorwachstum sowie einem schlechteren Tumoransprechen nach qEASL-Kriterien und einem kürzeren PFS korrelierten. Die Studie suggeriert den prognostischen Wert innovativer Radiomics-basierter Bildparameter sowie leicht verfügbarer, quantitativer immunologischer Biomarker für das Outcome von Patienten mit HCC nach TACE. Gleichzeitig ruft sie zur kritischen Betrachtung etablierter klinischer Leitlinien (z.B. BCLC) auf, in welche die hier genannten Parameter leicht implementiert werden könnten. Die Arbeit legt außerdem nahe, dass die Kombination radiologischer und klinischer Daten ein Paradigma zur personalisierten Anwendung lokoregionärer Therapien des HCC darstellt.

In dieser Habilitationsschrift wurden zwei Aspekte der aktuellen radiologischen Forschung aufgegriffen. Zum einen widmete sich die Arbeit der verbesserten Quantifizierung bereits etablierter, morphologischer Charakteristika von Lebertumoren und therapiespezifischer bildbasierter Marker für das Ansprechen auf IAT. Zum anderen wurden neue Methoden der molekularen Bildgebung in einem schrittweisen Versuchsaufbau entwickelt und etabliert, welche die TMU charakterisieren und so neue Biomarker für Lebertumoren im Kontext lokoregionärer Therapien bereitstellen. Auch wenn eine breite Anwendung der vorgestellten Techniken bisher nur in Teilen umgesetzt ist, wurde ihre Durchführbarkeit bereits in translationalen oder klinischen

Studien untersucht, um die Umsetzung in die Routineversorgung von Patienten mit HCC zu bahnen. Es ist ein weiterer Schritt auf dem Weg, die angemessene individuelle Therapiestrategie mit einem optimalen Verhältnis aus Therapiewirkung und Nebenwirkungen und der daraus resultierenden Belastung für die schwerkranken Patienten zu finden.

Ein wesentlicher Antrieb für diese Forschung war meine Neugierde. Aus erwarteten und zufälligen Beobachtungen der einen Studie entwickelten sich neue Impulse und Fragestellungen für die nächste. In diesem Zusammenhang denke ich an die Worte eines britischen Philosophen und Mathematikers:

„Necessity is the mother of invention is a silly proverb. Necessity is the mother of futile dodges is much closer to the truth. The basis of growth of modern invention is science, and science is almost wholly the outgrowth of pleasurable intellectual curiosity.“

—Alfred North Whitehead (1861–1947)

Das übergeordnete Ziel meiner Forschung ist jedoch geleitet durch den Hippokratischen Eid und das ärztliche Bedürfnis, meinen Patienten zu helfen, welche mich stets daran erinnern, bei allen aufregenden medizinischen Entwicklungen die klinische Relevanz für den Patienten nicht aus den Augen zu verlieren.

5 In dieser Habilitationsschrift verwendete Publikationen

Originalarbeit 1:

Schobert I, Chapiro J, Nezami N, Hamm CA, Gebauer B, Lin M, Pollak J, Saperstein L, Schlachter T, **Savic LJ**.

Quantitative Imaging Biomarkers for ⁹⁰Y Distribution on Bremsstrahlung SPECT After Resin-Based Radioembolization.

J Nucl Med. 2019 Aug;60(8):1066-1072. doi: 10.2967/jnumed.118.219691.

Originalarbeit 2:

Savic LJ, Chapiro J, Funai E, Bousabarah K, Schobert IT, Isufi E, Geschwind JH, Stark S, He P, Rudek MA, Perez Lozada JC, Ayyagari R, Pollak J, Schlachter T.

Prospective study of Lipiodol distribution as an imaging marker for doxorubicin pharmacokinetics during conventional transarterial chemoembolization of liver malignancies.

Eur Radiol. 2020 Oct 15. doi: 10.1007/s00330-020-07380-w. Epub ahead of print (Zugriffsdatum: 17.01.2021).

Originalarbeit 3:

Abajian A, Murali N, **Savic LJ**, Laage-Gaupp FM, Nezami N, Duncan JS, Schlachter T, Lin M, Geschwind JF, Chapiro J.

Predicting Treatment Response to Intra-arterial Therapies for Hepatocellular Carcinoma with the Use of Supervised Machine Learning-An Artificial Intelligence Concept.

J Vasc Interv Radiol. 2018 Jun;29(6):850-857.e1. doi: 10.1016/j.jvir.2018.01.769.

Originalarbeit 4:

Savic LJ*, Schobert IT*, Hamm CA, Adam L, Hyder F, Coman D.

A high-throughput imaging platform to characterize extracellular pH in organotypic three-dimensional in vitro models of liver cancer.

NMR in Biomed. 2021 Mar;34(3):e4465. doi: 10.1002/nbm.4465. **equal contributions*

Originalarbeit 5:

Savic LJ, Schobert IT, Peters D, Walsh JJ, Laage-Gaupp FM, Hamm CA, Tritz N, Doemel LA, Lin M, Sinusas A, Schlachter T, Duncan JS, Hyder F, Coman D, Chapiro J.

Molecular Imaging of Extracellular Tumor pH to Reveal Effects of Locoregional Therapy on Liver Cancer Microenvironment.

Clin Cancer Res. 2020 Jan 15;26(2):428-438. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1702.

Originalarbeit 6:

Savic LJ, Doemel LA, Schobert IT, Montgomery RR, Joshi N, Walsh JJ, Santana J, Pekurovsky V, Zhang X, Lin M, Adam L, Boustani A, Duncan J, Leng L, Bucala RJ, Goldberg SN, Hyder F, Coman D, Chapiro J.

Molecular MRI of the Immuno-Metabolic Interplay in a Rabbit Liver Tumor Model: A Biomarker for Resistance Mechanisms in Tumor-targeted Therapy?

Radiology. 2020 Sep;296(3):575-583. doi: 10.1148/radiol.2020200373.

Originalarbeit 7:

Schobert IT*, **Savic LJ***, Chapiro J, Bousabarah K, Chen E, Laage-Gaupp F, Tefera J, Nezami N, Lin M, Pollak J, Schlachter T.

Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictors of tumor response in hepatocellular carcinoma after DEB-TACE.

Eur Radiol. 2020 Oct;30(10):5663-5673. doi: 10.1007/s00330-020-06931-5. *equal contributions

6 Literaturverzeichnis

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. Nov 2018;68(6):394-424. doi:10.3322/caac.21492
2. Kim HS, Chapiro J, Geschwind JH. From the Guest Editor: Interventional Oncology: The Fourth Pillar of Oncology. *Cancer J*. 2016 Nov/Dec 2016;22(6):363-364. doi:10.1097/PPO.000000000000235
3. Hong K, McBride JD, Georgiades CS, et al. Salvage therapy for liver-dominant colorectal metastatic adenocarcinoma: comparison between transcatheter arterial chemoembolization versus yttrium-90 radioembolization. *J Vasc Interv Radiol*. Mar 2009;20(3):360-7. doi:10.1016/j.jvir.2008.11.019
4. Dufour JF, Bargellini I, De Maria N, De Simone P, Goulis I, Marinho RT. Intermediate hepatocellular carcinoma: current treatments and future perspectives. *Ann Oncol*. Apr 2013;24 Suppl 2:ii24-9. doi:10.1093/annonc/mdt054
5. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. Apr 2012;56(4):908-43. doi:10.1016/j.jhep.2011.12.001
6. Bruix J, Han KH, Gores G, Llovet JM, Mazzaferro V. Liver cancer: Approaching a personalized care. *J Hepatol*. Apr 2015;62(1 Suppl):S144-56. doi:10.1016/j.jhep.2015.02.007
7. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet (London, England)*. Mar 31 2018;391(10127):1301-1314. doi:10.1016/s0140-6736(18)30010-2
8. Harada N, Shirabe K, Maeda T, Kayashima H, Takaki S, Maehara Y. Comparison of the Outcomes of Patients with Hepatocellular Carcinoma and Portal Hypertension After Liver Resection Versus Radiofrequency Ablation. *World J Surg*. Jul 2016;40(7):1709-19. doi:10.1007/s00268-016-3465-6
9. Lencioni R, de Baere T, Soulen MC, Rilling WS, Geschwind JF. Lipiodol transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: A systematic review of efficacy and safety data. *Hepatology*. Jul 2016;64(1):106-16. doi:10.1002/hep.28453
10. Crissien AM, Frenette C. Current management of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. Mar 2014;10(3):153-61.
11. Song JE, Kim DY. Conventional vs drug-eluting beads transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. Jun 28 2017;9(18):808-814. doi:10.4254/wjh.v9.i18.808
12. Baur J, Ritter CO, Germer CT, Klein I, Kickuth R, Steger U. Transarterial chemoembolization with drug-eluting beads versus conventional transarterial chemoembolization in locally advanced hepatocellular carcinoma. *Hepat Med*. 2016;8:69-74. doi:10.2147/hmer.S105395
13. European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. Jul 2018;69(1):182-236. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.019
14. de Baere T, Arai Y, Lencioni R, et al. Treatment of Liver Tumors with Lipiodol TACE: Technical Recommendations from Experts Opinion. *Cardiovasc Intervent Radiol*. Mar 2016;39(3):334-43. doi:10.1007/s00270-015-1208-y
15. Brace CL. Radiofrequency and microwave ablation of the liver, lung, kidney, and bone: what are the differences? *Curr Probl Diagn Radiol*. May-Jun 2009;38(3):135-43. doi:10.1067/j.cpradiol.2007.10.001
16. Vogelstein B. Cancer Genome Landscapes (Review). *Science*. 2013;339:1546-58. doi:10.1126/science.1235122

17. Lencioni R. Loco-regional treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. Aug 2010;52(2):762-73. doi:10.1002/hep.23725
18. Morse MA, Sun W, Kim R, et al. The Role of Angiogenesis in Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 02 2019;25(3):912-920. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1254
19. Makramalla A, Itri JN, Choe KA, Ristagno RL. Transarterial Therapies for Hepatocellular Carcinoma. *Semin Roentgenol*. Apr 2016;51(2):95-105. doi:10.1053/j.ro.2016.02.005
20. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat Protoc*. 2006;1(2):581-5. doi:10.1038/nprot.2006.83
21. Idee JM, Guiu B. Use of Lipiodol as a drug-delivery system for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: a review. *Crit Rev Oncol Hematol*. Dec 2013;88(3):530-49. doi:10.1016/j.critrevonc.2013.07.003
22. Memon K, Lewandowski RJ, Kulik L, Riaz A, Mulcahy MF, Salem R. Radioembolization for primary and metastatic liver cancer. *Semin Radiat Oncol*. Oct 2011;21(4):294-302. doi:10.1016/j.semradonc.2011.05.004
23. Salem R, Lewandowski RJ, Sato KT, et al. Technical aspects of radioembolization with 90Y microspheres. *Tech Vasc Interv Radiol*. Mar 2007;10(1):12-29. doi:10.1053/j.tvir.2007.08.001
24. Padia SA, Johnson GE, Horton KJ, et al. Segmental Yttrium-90 Radioembolization versus Segmental Chemoembolization for Localized Hepatocellular Carcinoma: Results of a Single-Center, Retrospective, Propensity Score-Matched Study. *J Vasc Interv Radiol*. Jun 2017;28(6):777-785 e1. doi:10.1016/j.jvir.2017.02.018
25. Vouche M, Habib A, Ward TJ, et al. Unresectable solitary hepatocellular carcinoma not amenable to radiofrequency ablation: multicenter radiology-pathology correlation and survival of radiation segmentectomy. *Hepatology*. Jul 2014;60(1):192-201. doi:10.1002/hep.27057
26. Venkatanarasimha N, Gogna A, Tong KTA, et al. Radioembolisation of hepatocellular carcinoma: a primer. *Clin Radiol*. Dec 2017;72(12):1002-1013. doi:10.1016/j.crad.2017.07.021
27. Piana PM, Bar V, Doyle L, et al. Early arterial stasis during resin-based yttrium-90 radioembolization: incidence and preliminary outcomes. *HPB (Oxford)*. Apr 2014;16(4):336-41. doi:10.1111/hpb.12135
28. Vilgrain V, Pereira H, Assenat E, et al. Efficacy and safety of selective internal radiotherapy with yttrium-90 resin microspheres compared with sorafenib in locally advanced and inoperable hepatocellular carcinoma (SARAH): an open-label randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. Dec 2017;18(12):1624-1636. doi:10.1016/S1470-2045(17)30683-6
29. Chow PKH, Gandhi M, Tan SB, et al. SIRveNIB: Selective Internal Radiation Therapy Versus Sorafenib in Asia-Pacific Patients With Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Oncol*. Jul 1 2018;36(19):1913-1921. doi:10.1200/JCO.2017.76.0892
30. Wasan HS, Gibbs P, Sharma NK, et al. First-line selective internal radiotherapy plus chemotherapy versus chemotherapy alone in patients with liver metastases from colorectal cancer (FOXFIRE, SIRFLOX, and FOXFIRE-Global): a combined analysis of three multicentre, randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol*. Sep 2017;18(9):1159-1171. doi:10.1016/S1470-2045(17)30457-6
31. Molvar C, Lewandowski R. Yttrium-90 Radioembolization of Hepatocellular Carcinoma-Performance, Technical Advances, and Future Concepts. *Semin Intervent Radiol*. Dec 2015;32(4):388-97. doi:10.1055/s-0035-1564704
32. Cho ES, Choi JY. MRI features of hepatocellular carcinoma related to biologic behavior. *Korean J Radiol*. May-Jun 2015;16(3):449-64. doi:10.3348/kjr.2015.16.3.449

33. Vossen JA, Buijs M, Syed L, et al. Development of a new orthotopic animal model of metastatic liver cancer in the rabbit VX2 model: effect on metastases after partial hepatectomy, intra-arterial treatment with 3-bromopyruvate and chemoembolization. *Clin Exp Metastasis*. 2008;25(7):811-7. doi:10.1007/s10585-008-9195-x
34. Parvinian A, Casadaban LC, Gaba RC. Development, growth, propagation, and angiographic utilization of the rabbit VX2 model of liver cancer: a pictorial primer and "how to" guide. *Diagn Interv Radiol*. Jul-Aug 2014;20(4):335-340. doi:10.5152/dir.2014.13415
35. Morana G, Salviato E, Guarise A. Contrast agents for hepatic MRI. *Cancer Imaging*. Oct 2007;7 Spec No A:S24-7. doi:10.1102/1470-7330.2007.9001
36. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. Jan 2009;45(2):228-47. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026
37. Kroencke TJ, Scheurig C, Poellinger A, Gronewold M, Hamm B. Uterine artery embolization for leiomyomas: percentage of infarction predicts clinical outcome. *Radiology*. Jun 2010;255(3):834-41. doi:10.1148/radiol.10090977
38. Lencioni R, Llovet JM. Modified RECIST (mRECIST) assessment for hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis*. Feb 2010;30(1):52-60. doi:10.1055/s-0030-1247132
39. Riaz A, Memon K, Miller FH, et al. Role of the EASL, RECIST, and WHO response guidelines alone or in combination for hepatocellular carcinoma: radiologic-pathologic correlation. *J Hepatol*. Apr 2011;54(4):695-704. doi:10.1016/j.jhep.2010.10.004
40. Bruix J, Sherman M, Llovet JM, et al. Clinical management of hepatocellular carcinoma. Conclusions of the Barcelona-2000 EASL conference. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. Sep 2001;35(3):421-30.
41. Joo I, Kim HC, Kim GM, Paeng JC. Imaging Evaluation Following (90)Y Radioembolization of Liver Tumors: What Radiologists Should Know. *Korean J Radiol*. Mar-Apr 2018;19(2):209-222. doi:10.3348/kjr.2018.19.2.209
42. Semaan S, Makkar J, Lewis S, Chatterji M, Kim E, Taouli B. Imaging of Hepatocellular Carcinoma Response After (90)Y Radioembolization. *AJR Am J Roentgenol*. Nov 2017;209(5):W263-W276. doi:10.2214/AJR.17.17993
43. Bonekamp D, Bonekamp S, Halappa VG, et al. Interobserver agreement of semi-automated and manual measurements of functional MRI metrics of treatment response in hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol*. Mar 2014;83(3):487-96. doi:10.1016/j.ejrad.2013.11.016
44. Chapiro J, Lin M, Duran R, Scherthaner RE, Geschwind JF. Assessing tumor response after loco-regional liver cancer therapies: the role of 3D MRI. *Expert Rev Anticancer Ther*. Feb 2015;15(2):199-205. doi:10.1586/14737140.2015.978861
45. Chapiro J, Duran R, Lin M, et al. Identifying Staging Markers for Hepatocellular Carcinoma before Transarterial Chemoembolization: Comparison of Three-dimensional Quantitative versus Non-three-dimensional Imaging Markers. *Radiology*. Dec 2014;141180. doi:10.1148/radiol.14141180
46. Chapiro J, Wood LD, Lin M, et al. Radiologic-pathologic analysis of contrast-enhanced and diffusion-weighted MR imaging in patients with HCC after TACE: diagnostic accuracy of 3D quantitative image analysis. *Radiology*. Dec 2014;273(3):746-58. doi:10.1148/radiol.14140033
47. Chapiro J, Duran R, Lin M, et al. Early survival prediction after intra-arterial therapies: a 3D quantitative MRI assessment of tumour response after TACE or radioembolization of colorectal cancer metastases to the liver. *Eur Radiol*. Jan 2015;doi:10.1007/s00330-015-3595-5
48. van Breugel JMM, Geschwind JF, Mirpour S, et al. Theranostic application of lipiodol for transarterial chemoembolization in a VX2 rabbit liver tumor model. *Theranostics*. 2019;9(13):3674-3686. doi:10.7150/thno.32943

49. Horikawa M, Miyayama S, Irie T, Kaji T, Arai Y. Development of Conventional Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinomas in Japan: Historical, Strategic, and Technical Review. *AJR Am J Roentgenol.* Oct 2015;205(4):764-73. doi:10.2214/AJR.15.14825
50. Miszczuk MA, Chapiro J, Geschwind JH, et al. Lipiodol as an Imaging Biomarker of Tumor Response After Conventional Transarterial Chemoembolization: Prospective Clinical Validation in Patients with Primary and Secondary Liver Cancer. *Transl Oncol.* Mar 2020;13(3):100742. doi:10.1016/j.tranon.2020.01.003
51. Schobert I, Chapiro J, Nezami N, et al. Quantitative imaging biomarkers for Yttrium-90 distribution on Bremsstrahlung single photon emission computed tomography after resin-based radioembolization. *J Nucl Med.* Jan 17 2019;doi:10.2967/jnumed.118.219691
52. Hamm CA, Beetz NL, Savic LJ, Penzkofer T. [Artificial intelligence and radiomics in MRI-based prostate diagnostics]. *Radiologe.* Jan 2020;60(1):48-55. doi:10.1007/s00117-019-00613-0
53. Lambin P, Leijenaar RTH, Deist TM, et al. Radiomics: the bridge between medical imaging and personalized medicine. *Nat Rev Clin Oncol.* Dec 2017;14(12):749-762. doi:10.1038/nrclinonc.2017.141
54. Abajian A, Murali N, Savic LJ, et al. Predicting Treatment Response to Intra-arterial Therapies for Hepatocellular Carcinoma with the Use of Supervised Machine Learning-An Artificial Intelligence Concept. *J Vasc Interv Radiol.* 06 2018;29(6):850-857.e1. doi:10.1016/j.jvir.2018.01.769
55. Abajian A, Murali N, Savic LJ, et al. Predicting Treatment Response to Image-Guided Therapies Using Machine Learning: An Example for Trans-Arterial Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *J Vis Exp.* 10 2018;(140)doi:10.3791/58382
56. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* Mar 2011;144(5):646-74. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
57. Talks KL, Turley H, Gatter KC, et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1alpha and HIF-2alpha in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages. *Am J Pathol.* Aug 2000;157(2):411-21.
58. Pillai SR, Damaghi M, Marunaka Y, Spugnini EP, Fais S, Gillies RJ. Causes, consequences, and therapy of tumors acidosis. *Cancer Metastasis Rev.* 06 2019;38(1-2):205-222. doi:10.1007/s10555-019-09792-7
59. Roth GS, Decaens T. Liver immunotolerance and hepatocellular carcinoma: Pathophysiological mechanisms and therapeutic perspectives. *Eur J Cancer.* Dec 2017;87:101-112. doi:10.1016/j.ejca.2017.10.010
60. Savic LJ, Chapiro J, Duwe G, Geschwind JF. Targeting glucose metabolism in cancer: new class of agents for loco-regional and systemic therapy of liver cancer and beyond? *Hepat Oncol.* Jan 2016;3(1):19-28. doi:10.2217/hep.15.36
61. Warburg O, Wind F, Negelein E. THE METABOLISM OF TUMORS IN THE BODY. *J Gen Physiol.* Mar 1927;8(6):519-30.
62. Trojan J, Schroeder O, Raedle J, et al. Fluorine-18 FDG positron emission tomography for imaging of hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol.* Nov 1999;94(11):3314-9. doi:10.1111/j.1572-0241.1999.01544.x
63. Schobert I, Chapiro J, Pucar D, Saperstein L, Savic LJ. Fluorodeoxyglucose PET for Monitoring Response to Embolotherapy (Transarterial Chemoembolization) in Primary and Metastatic Liver Tumors. *PET Clin.* Oct 2019;14(4):437-445. doi:10.1016/j.cpet.2019.06.008
64. WARBURG O. On respiratory impairment in cancer cells. *Science.* Aug 1956;124(3215):269-70.

65. Buck MD, Sowell RT, Kaech SM, Pearce EL. Metabolic Instruction of Immunity. *Cell*. May 04 2017;169(4):570-586. doi:10.1016/j.cell.2017.04.004
66. Lunt SY, Vander Heiden MG. Aerobic glycolysis: meeting the metabolic requirements of cell proliferation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2011;27:441-64. doi:10.1146/annurev-cellbio-092910-154237
67. Martinez GV, Zhang X, García-Martín ML, et al. Imaging the extracellular pH of tumors by MRI after injection of a single cocktail of T1 and T2 contrast agents. *NMR Biomed*. Dec 2011;24(10):1380-91. doi:10.1002/nbm.1701
68. Calcinotto A, Filipazzi P, Grioni M, et al. Modulation of microenvironment acidity reverses anergy in human and murine tumor-infiltrating T lymphocytes. *Cancer Res*. Jun 1 2012;72(11):2746-56. doi:10.1158/0008-5472.Can-11-1272
69. Turbitt WJ, Demark-Wahnefried W, Peterson CM, Norian LA. Targeting Glucose Metabolism to Enhance Immunotherapy: Emerging Evidence on Intermittent Fasting and Calorie Restriction Mimetics. *Front Immunol*. 2019;10:1402. doi:10.3389/fimmu.2019.01402
70. Ho PC, Kaech SM. Reenergizing T cell anti-tumor immunity by harnessing immunometabolic checkpoints and machineries. *Curr Opin Immunol*. Jun 2017;46:38-44. doi:10.1016/j.coi.2017.04.003
71. Taylor CT, Colgan SP. Regulation of immunity and inflammation by hypoxia in immunological niches. *Nat Rev Immunol*. Dec 2017;17(12):774-785. doi:10.1038/nri.2017.103
72. Végran F, Boidot R, Michiels C, Sonveaux P, Feron O. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF- κ B/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis. *Cancer Res*. Apr 2011;71(7):2550-60. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-2828
73. Pértéga-Gomes N, Vizcaíno JR, Miranda-Gonçalves V, et al. Monocarboxylate transporter 4 (MCT4) and CD147 overexpression is associated with poor prognosis in prostate cancer. *BMC Cancer*. 2011;11:312. doi:10.1186/1471-2407-11-312
74. Feron O. Pyruvate into lactate and back: from the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother Oncol*. Sep 2009;92(3):329-33. doi:10.1016/j.radonc.2009.06.025
75. Celine Pinheiro AL-F. *Role of monocarboxylate transporters in human cancers_ state of the art*. Vol. 44. 2012:127-139.
76. Savic LJ. Einsatz und Evaluation bildgestützter Verfahren zur Erfassung des Tumoransprechens nach loko-regionären und systemischen Therapien (Dissertation). *Charité - Universitätsmedizin Berlin*. June 2017.
77. Pinheiro C, Longatto-Filho A, Azevedo-Silva J, Casal M, Schmitt FC, Baltazar F. Role of monocarboxylate transporters in human cancers: state of the art. *J Bioenerg Biomembr*. Feb 2012;44(1):127-39. doi:10.1007/s10863-012-9428-1
78. Liapi E, Geschwind JF, Vali M, et al. Assessment of tumoricidal efficacy and response to treatment with 18F-FDG PET/CT after intraarterial infusion with the antiglycolytic agent 3-bromopyruvate in the VX2 model of liver tumor. *J Nucl Med*. Feb 2011;52(2):225-30. doi:10.2967/jnumed.110.083162
79. Chapiro J, Sur S, Savic LJ, et al. Systemic Delivery of Microencapsulated 3-Bromopyruvate for the Therapy of Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*. Oct 2014;doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1271
80. Marquardt JU, Saborowski A, Czauderna C, Vogel A. The Changing Landscape of Systemic Treatment of Advanced Hepatocellular Carcinoma: New Targeted Agents and Immunotherapies. *Target Oncol*. Feb 2019;doi:10.1007/s11523-019-00624-w

81. Prieto J, Melero I, Sangro B. Immunological landscape and immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. Dec 2015;12(12):681-700. doi:10.1038/nrgastro.2015.173
82. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. Dec 19-26 2002;420(6917):860-7. doi:10.1038/nature01322
83. Unitt E, Rushbrook SM, Marshall A, et al. Compromised lymphocytes infiltrate hepatocellular carcinoma: the role of T-regulatory cells. *Hepatology*. Apr 2005;41(4):722-30. doi:10.1002/hep.20644
84. El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet*. Jun 24 2017;389(10088):2492-2502. doi:10.1016/S0140-6736(17)31046-2
85. Finn RS, Qin S, Ikeda M, et al. Atezolizumab plus Bevacizumab in Unresectable Hepatocellular Carcinoma. *N Engl J Med*. 05 2020;382(20):1894-1905. doi:10.1056/NEJMoa1915745
86. Lee MS, Ryoo BY, Hsu CH, et al. Atezolizumab with or without bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma (GO30140): an open-label, multicentre, phase 1b study. *Lancet Oncol*. 06 2020;21(6):808-820. doi:10.1016/S1470-2045(20)30156-X
87. Hack SP, Spahn J, Chen M, et al. IMbrave 050: a Phase III trial of atezolizumab plus bevacizumab in high-risk hepatocellular carcinoma after curative resection or ablation. *Future Oncol*. May 2020;16(15):975-989. doi:10.2217/fon-2020-0162
88. Mizukoshi E, Yamashita T, Arai K, et al. Enhancement of tumor-associated antigen-specific T cell responses by radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. Apr 2013;57(4):1448-57. doi:10.1002/hep.26153
89. Savic LJ, Schobert IT, Peters D, et al. Molecular Imaging of Extracellular Tumor pH to Reveal Effects of Locoregional Therapy on Liver Cancer Microenvironment. *Clin Cancer Res*. Jan 15 2020;26(2):428-438. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1702
90. Badiyan S, Bhooshan N, Chuong MD, et al. Correlation of radiation dose and activity with clinical outcomes in metastatic colorectal cancer after selective internal radiation therapy using yttrium-90 resin microspheres. *Nucl Med Commun*. Oct 2018;39(10):915-920. doi:10.1097/MNM.0000000000000887
91. Liu DM, Salem R, Bui JT, et al. Angiographic considerations in patients undergoing liver-directed therapy. *J Vasc Interv Radiol*. Jul 2005;16(7):911-35. doi:10.1097/01.RVI.0000164324.79242.B2
92. Savic LJ, Lin M, Duran R, et al. Three-Dimensional Quantitative Assessment of Lesion Response to MR-guided High-Intensity Focused Ultrasound Treatment of Uterine Fibroids. *Acad Radiol*. Sep 2015;22(9):1199-1205. doi:10.1016/j.acra.2015.05.008
93. Kanematsu T, Furuta T, Takenaka K, et al. A 5-year experience of lipiodolization: selective regional chemotherapy for 200 patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*. Jul 1989;10(1):98-102.
94. Park C, Choi SI, Kim H, Yoo HS, Lee YB. Distribution of Lipiodol in hepatocellular carcinoma. Article. *Liver*. 1990;10(2):72-78. doi:10.1111/j.1600-0676.1990.tb00439.x
95. de Baere T, Dufaux J, Roche A, et al. Circulatory alterations induced by intra-arterial injection of iodized oil and emulsions of iodized oil and doxorubicin: experimental study. *Radiology*. Jan 1995;194(1):165-70. doi:10.1148/radiology.194.1.7997545
96. Raoul JL, Heresbach D, Bretagne JF, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinomas. A study of the biodistribution and pharmacokinetics of doxorubicin. *Cancer*. Aug 1

- 1992;70(3):585-90. doi:10.1002/1097-0142(19920801)70:3<585::aid-cnrc2820700308>3.0.co;2-#
97. Varela M, Real MI, Burrel M, et al. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol*. Mar 2007;46(3):474-81. doi:10.1016/j.jhep.2006.10.020
98. Lammer J, Malagari K, Vogl T, et al. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol*. Feb 2010;33(1):41-52. doi:10.1007/s00270-009-9711-7
99. Golfieri R, Giampalma E, Renzulli M, et al. Randomised controlled trial of doxorubicin-eluting beads vs conventional chemoembolisation for hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer*. Jul 2014;111(2):255-64. doi:10.1038/bjc.2014.199
100. Savic LJ, Chapiro J, Funai E, et al. Prospective study of Lipiodol distribution as an imaging marker for doxorubicin pharmacokinetics during conventional transarterial chemoembolization of liver malignancies. *Eur Radiol*. Oct 2020;doi:10.1007/s00330-020-07380-w
101. Savic LJ, Schobert IT, Hamm CA, Adam LC, Hyder F, Coman D. A high-throughput imaging platform to characterize extracellular pH in organotypic three-dimensional in vitro models of liver cancer. *NMR in Biomedicine*. 2020;(e4465)doi:10.1002/nbm.4465
102. Fischer K, Hoffmann P, Voelkl S, et al. Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*. May 1 2007;109(9):3812-9. doi:10.1182/blood-2006-07-035972
103. Damaghi M, Gillies R. Phenotypic changes of acid-adapted cancer cells push them toward aggressiveness in their evolution in the tumor microenvironment. *Cell Cycle*. Oct 2 2017;16(19):1739-1743. doi:10.1080/15384101.2016.1231284
104. Vegran F, Boidot R, Michiels C, Sonveaux P, Feron O. Lactate influx through the endothelial cell monocarboxylate transporter MCT1 supports an NF-kappaB/IL-8 pathway that drives tumor angiogenesis. *Cancer Res*. Apr 1 2011;71(7):2550-60. doi:10.1158/0008-5472.can-10-2828
105. Savic LJ, Doemel LA, Schobert IT, et al. Molecular MRI of the Immuno-Metabolic Interplay in a Rabbit Liver Tumor Model: A Biomarker for Resistance Mechanisms in Tumor-targeted Therapy? *Radiology*. Sep 2020;296(3):575-583. doi:10.1148/radiol.2020200373
106. Kuang DM, Zhao Q, Wu Y, et al. Peritumoral neutrophils link inflammatory response to disease progression by fostering angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. May 2011;54(5):948-55. doi:10.1016/j.jhep.2010.08.041
107. Bambace NM, Holmes CE. The platelet contribution to cancer progression. *J Thromb Haemost*. Feb 2011;9(2):237-49. doi:10.1111/j.1538-7836.2010.04131.x
108. Zhou DS, Xu L, Luo YL, et al. Inflammation scores predict survival for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma patients after transarterial chemoembolization. *World J Gastroenterol*. May 14 2015;21(18):5582-90. doi:10.3748/wjg.v21.i18.5582
109. Zheng J, Cai J, Li H, et al. Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Platelet to Lymphocyte Ratio as Prognostic Predictors for Hepatocellular Carcinoma Patients with Various Treatments: a Meta-Analysis and Systematic Review. *Cell Physiol Biochem*. 2017;44(3):967-981. doi:10.1159/000485396
110. Schobert IT, Savic LJ, Chapiro J, et al. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictors of tumor response in hepatocellular carcinoma after DEB-TACE. *Eur Radiol*. May 2020;doi:10.1007/s00330-020-06931-5
111. Chapiro J, Wood LD, Lin M, et al. Radiologic-Pathologic Analysis of Contrast-enhanced and Diffusion-weighted MR Imaging in Patients with HCC after TACE: Diagnostic Accuracy of 3D Quantitative Image Analysis. *Radiology*. Jul 2014;140033. doi:10.1148/radiol.14140033

112. Liver EAFTSOT, Cancer EOFRATO. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol.* Apr 2012;56(4):908-43. doi:10.1016/j.jhep.2011.12.001
113. Riaz A, Kulik L, Lewandowski RJ, et al. Radiologic-pathologic correlation of hepatocellular carcinoma treated with internal radiation using yttrium-90 microspheres. *Hepatology.* Apr 2009;49(4):1185-93. doi:10.1002/hep.22747
114. Stark S, Wang C, Savic LJ, et al. Automated feature quantification of Lipiodol as imaging biomarker to predict therapeutic efficacy of conventional transarterial chemoembolization of liver cancer. *Sci Rep.* 10 2020;10(1):18026. doi:10.1038/s41598-020-75120-7
115. Wang Z, Chen R, Duran R, et al. Intraprocedural 3D Quantification of Lipiodol Deposition on Cone-Beam CT Predicts Tumor Response After Transarterial Chemoembolization in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol.* Dec 2015;38(6):1548-56. doi:10.1007/s00270-015-1129-9
116. Hu J, Maybody M, Cao G, et al. Lipiodol retention pattern assessed by cone beam computed tomography during conventional transarterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: accuracy and correlation with response. *Cancer Imaging.* Oct 2016;16(1):32. doi:10.1186/s40644-016-0090-4
117. Chebib I, Shabani-Rad MT, Chow MS, Zhang J, Gao ZH. Microvessel density and clinicopathologic characteristics in hepatocellular carcinoma with and without cirrhosis. *Biomark Insights.* Feb 2007;2:59-68.
118. Wang Q, Koniaris LG, Milgrom DP, et al. CT and MRI imaging and interpretation of hepatic arterioportal shunts. *Transl Gastroenterol Hepatol.* 2019;4:34. doi:10.21037/tgh.2019.05.05
119. Hamm CA, Wang CJ, Savic LJ, et al. Deep learning for liver tumor diagnosis part I: development of a convolutional neural network classifier for multi-phasic MRI. *Eur Radiol.* Jul 2019;29(7):3338-3347. doi:10.1007/s00330-019-06205-9
120. Wang CJ, Hamm CA, Savic LJ, et al. Deep learning for liver tumor diagnosis part II: convolutional neural network interpretation using radiologic imaging features. *Eur Radiol.* Jul 2019;29(7):3348-3357. doi:10.1007/s00330-019-06214-8
121. Bousabarah K, Letzen B, Tefera J, et al. Automated detection and delineation of hepatocellular carcinoma on multiphasic contrast-enhanced MRI using deep learning. *Abdom Radiol (NY).* Jun 2020;doi:10.1007/s00261-020-02604-5
122. Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev.* Feb 2010;20(1):51-6. doi:10.1016/j.gde.2009.10.009
123. Muz B, de la Puente P, Azab F, Azab AK. The role of hypoxia in cancer progression, angiogenesis, metastasis, and resistance to therapy. *Hypoxia (Auckl).* 2015;3:83-92. doi:10.2147/HP.S93413
124. Karsdal MA, Nielsen SH, Leeming DJ, et al. The good and the bad collagens of fibrosis - Their role in signaling and organ function. *Adv Drug Deliv Rev.* Jul 2017;doi:10.1016/j.addr.2017.07.014
125. Ewald AJ. Practical considerations for long-term time-lapse imaging of epithelial morphogenesis in three-dimensional organotypic cultures. *Cold Spring Harb Protoc.* Feb 2013;2013(2):100-17. doi:10.1101/pdb.top072884
126. Ko YH, Pedersen PL, Geschwind JF. Glucose catabolism in the rabbit VX2 tumor model for liver cancer: characterization and targeting hexokinase. *Cancer Lett.* Nov 2001;173(1):83-91.
127. Coman D, Peters DC, Walsh JJ, et al. Extracellular pH mapping of liver cancer on a clinical 3T MRI scanner. *Magn Reson Med.* 05 2020;83(5):1553-1564. doi:10.1002/mrm.28035

128. Cho Y, Lee DH, Lee YB, et al. Does 18F-FDG positron emission tomography-computed tomography have a role in initial staging of hepatocellular carcinoma? *PLoS One*. 2014;9(8):e105679. doi:10.1371/journal.pone.0105679
129. Wyatt LC, Lewis JS, Andreev OA, Reshetnyak YK, Engelman DM. Applications of pH-LIP Technology for Cancer Imaging and Therapy. *Trends Biotechnol*. Jul 2017;35(7):653-664. doi:10.1016/j.tibtech.2017.03.014
130. Haris M, Yadav SK, Rizwan A, et al. Molecular magnetic resonance imaging in cancer. *J Transl Med*. Sep 23 2015;13:313. doi:10.1186/s12967-015-0659-x
131. Anemone A, Consolino L, Arena F, Capozza M, Longo DL. Imaging tumor acidosis: a survey of the available techniques for mapping in vivo tumor pH. *Cancer Metastasis Rev*. Feb 2019;doi:10.1007/s10555-019-09782-9
132. DeBrosse C, Nanga RP, Bagga P, et al. Lactate Chemical Exchange Saturation Transfer (LATEST) Imaging in vivo A Biomarker for LDH Activity. *Sci Rep*. Jan 22 2016;6:19517. doi:10.1038/srep19517
133. Hancu I, Dixon WT, Woods M, Vinogradov E, Sherry AD, Lenkinski RE. CEST and PARACEST MR contrast agents. *Acta Radiol*. Oct 2010;51(8):910-23. doi:10.3109/02841851.2010.502126
134. Kim J, Wu Y, Guo Y, Zheng H, Sun PZ. A review of optimization and quantification techniques for chemical exchange saturation transfer MRI toward sensitive in vivo imaging. *Contrast Media Mol Imaging*. 2015 May-Jun 2015;10(3):163-178. doi:10.1002/cmml.1628
135. Coman D, Peters DC, Walsh JJ, et al. Extracellular pH mapping of liver cancer on a clinical 3T MRI scanner. *Magn Reson Med*. Nov 2019;doi:10.1002/mrm.28035
136. Bolondi L, Burroughs A, Dufour JF, et al. Heterogeneity of patients with intermediate (BCLC B) Hepatocellular Carcinoma: proposal for a subclassification to facilitate treatment decisions. *Semin Liver Dis*. Nov 2012;32(4):348-59. doi:10.1055/s-0032-1329906
137. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009;45(2):228-247. doi:10.1016/j.ejca.2008.10.026
138. Iv M, Samghabadi P, Holdsworth S, et al. Quantification of Macrophages in High-Grade Gliomas by Using Ferumoxytol-enhanced MRI: A Pilot Study. *Radiology*. Jan 2019;290(1):198-206. doi:10.1148/radiol.2018181204
139. Hope TA, Doherty A, Fu Y, Aslam R, Qayyum A, Brasch RC. Gadolinium accumulation and fibrosis in the liver after administration of gadoxetate disodium in a rat model of active hepatic fibrosis. *Radiology*. Aug 2012;264(2):423-7. doi:10.1148/radiol.12112453
140. Luo X, Peng X, Hou J, Wu S, Shen J, Wang L. Folic acid-functionalized polyethylenimine superparamagnetic iron oxide nanoparticles as theranostic agents for magnetic resonance imaging and PD-L1 siRNA delivery for gastric cancer. *Int J Nanomedicine*. 2017;12:5331-5343. doi:10.2147/IJN.S137245
141. Sharkey J, Starkey Lewis PJ, Barrow M, et al. Functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles provide highly efficient iron-labeling in macrophages for magnetic resonance-based detection in vivo. *Cytotherapy*. Apr 2017;19(4):555-569. doi:10.1016/j.jcyt.2017.01.003
142. Chatterjee S, Lesniak WG, Nimmagadda S. Noninvasive Imaging of Immune Checkpoint Ligand PD-L1 in Tumors and Metastases for Guiding Immunotherapy. *Mol Imaging*. Jan-Dec 2017;16:1536012117718459. doi:10.1177/1536012117718459
143. Mayer AT, Natarajan A, Gordon SR, et al. Practical Immuno-PET Radiotracer Design Considerations for Human Immune Checkpoint Imaging. *J Nucl Med*. Apr 2017;58(4):538-546. doi:10.2967/jnumed.116.177659

144. Tomaszewski W, Sanchez-Perez L, Gajewski TF, Sampson JH. Brain Tumor Micro-environment and Host State - Implications for Immunotherapy. *Clin Cancer Res*. Feb 25 2019;doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-1627
145. Meyer T, Palmer DH, Cheng AL, Hocke J, Loembe AB, Yen CJ. mRECIST to predict survival in advanced hepatocellular carcinoma: Analysis of two randomised phase II trials comparing nintedanib vs sorafenib. *Liver Int*. Jul 2017;37(7):1047-1055. doi:10.1111/liv.13359
146. Onesti CE, Frères P, Jerusalem G. Atypical patterns of response to immune checkpoint inhibitors: interpreting pseudoprogression and hyperprogression in decision making for patients' treatment. *J Thorac Dis*. Jan 2019;11(1):35-38. doi:10.21037/jtd.2018.12.47
147. Gerwing M, Herrmann K, Helfen A, et al. The beginning of the end for conventional RECIST - novel therapies require novel imaging approaches. *Nat Rev Clin Oncol*. Feb 2019;doi:10.1038/s41571-019-0169-5
148. Tazdait M, Mezquita L, Lahmar J, et al. Patterns of responses in metastatic NSCLC during PD-1 or PDL-1 inhibitor therapy: Comparison of RECIST 1.1, irRECIST and iRECIST criteria. *Eur J Cancer*. Jan 2018;88:38-47. doi:10.1016/j.ejca.2017.10.017
149. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol*. Mar 2017;18(3):e143-e152. doi:10.1016/S1470-2045(17)30074-8
150. Huber V, Camisaschi C, Berzi A, et al. Cancer acidity: An ultimate frontier of tumor immune escape and a novel target of immunomodulation. *Semin Cancer Biol*. Apr 2017;43:74-89. doi:10.1016/j.semcancer.2017.03.001
151. Lee HL, Jang JW, Lee SW, et al. Inflammatory cytokines and change of Th1/Th2 balance as prognostic indicators for hepatocellular carcinoma in patients treated with transarterial chemoembolization. *Sci Rep*. Mar 1 2019;9(1):3260. doi:10.1038/s41598-019-40078-8
152. Liapi E, Geschwind JF, Vali M, et al. Assessment of tumoricidal efficacy and response to treatment with 18F-FDG PET/CT after intraarterial infusion with the antiglycolytic agent 3-bromopyruvate in the VX2 model of liver tumor. *J Nucl Med*. Feb 2011;52(2):225-30. doi:10.2967/jnumed.110.083162

Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Bernd Hamm für sein Vertrauen, seine Ratschläge und die kontinuierliche Unterstützung in meinen beruflichen Ambitionen bedanken. Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. Bernhard Gebauer danken, der mich bereits als Studentin in meinem sechsten Semester für die Radiologie und insbesondere die interventionelle Onkologie begeistern konnte und mich seither als klinischer und wissenschaftlicher Mentor begleitet hat. Er hat mich stets in meinen Forschungsvorhaben unterstützt und mir gleichzeitig allen Freiraum für meine wissenschaftliche Entfaltung gegeben, welcher für eine solche Arbeit notwendig ist. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. Rolf W. Günther, der mich als wissenschaftlicher Mentor seit meiner Promotion begleitet und mich stets in meiner Laufbahn beraten hat. Ich würde mir wünschen, dass diese Verbindungen über diese Arbeit hinaus noch lange bestehen bleiben.

Als unmittelbarem wissenschaftlichem Mentor und Kollegen möchte ich Herrn Dr. Julius Chapiro danken, der mich in die Grundlagen der translationalen Forschung im Allgemeinen und die Tierversuche im Speziellen eingeführt hat. Seinem organisatorischen Talent und seiner unvergleichlichen Art, sich mit Kolleginnen und Kollegen zu vernetzen, eifere ich stets nach.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern des „Yale Interventional Oncology Lab“, des „Minimally Invasive Tumor Therapies (MITT) Lab“ und den Studierenden unseres „Rising Star“ Doktorandenaustausches für ihren Einsatz und die Unterstützung bei den Tierexperimenten bedanken. Ich habe das Gefühl, dass wir uns auf dem Weg gegenseitig unterstützt haben und zu vielen Kolleginnen und Kollegen besteht auch über die Arbeit hinaus ein freundschaftliches Verhältnis. Darüber bin ich sehr froh und dankbar.

Meiner Kollegin Frau Anne Frisch danke ich für die hervorragende Koordination der Lehrtätigkeiten in der Radiologie.

Zuletzt und ganz besonders bedanke ich mich bei meinen Eltern, meiner Schwester Gesa und meinem Freund Charlie. Ohne Eure andauernde Motivation, das Vertrauen, dass ich „es schaffen kann“, das kritische Auge und offene Ohr, wenn es benötigt wurde, und Euer Verständnis für die Herausforderung und meine Ambitionen wäre eine solche Arbeit nicht möglich gewesen. Euch gebührt mein größter Dank.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

17.01.2021

.....
Datum

.....
Unterschrift