

Aus der Klinik für Innere Medizin V

- Pneumologie, Allergologie, Beatmungs- und Umweltmedizin -

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Robert Bals

PD-1 und PD-L1 Konzentrationen im Serum und in der bronchoalveolären Lavage als Biomarker für die Chronisch Obstruktive Lungenkrankheit (COPD) – eine Pilotstudie

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der medizinischen Fakultät

Der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2026

vorgelegt von Kai Borchardt

geb. am: 09.08.1986 in Hagen

Tag des Kolloquiums:	17. Juni 2026
Dekan:	Univ.-Prof. Dr. med. dent. M. Hannig
1. Berichterstatter:	Prof. Dr. Dr. Robert Bals
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Thomas Volk
3. Berichterstatter:	Prof. Dr. Tim Meyer

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1 Zusammenfassung/Abstract	7
1.1 Deutsche Zusammenfassung.....	7
1.2 English Abstract.....	7
2 Einleitung und Fragestellung	9
2.1 Die Chronisch Obstruktive Lungenerkrankung (COPD).....	9
2.1.1 Definition	9
2.1.2 Ätiologie und Epidemiologie	9
2.1.3 Risikofaktoren	9
2.1.4 Diagnostik und Einteilung der COPD nach Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)	10
2.1.5 Therapie und Prognose.....	12
2.2 Biomarker	15
2.2.1 Geschichte der Biomarker	15
2.2.2 Die Biologie des PD-1/PD-L1-Systems.....	16
2.2.3 Immuncheckpoints in der Tumorthherapie	17
2.3 Fragestellung.....	18
3 Material und Methodik.....	19
3.1 Patientenkollektiv	19
3.2 Einverständniserklärung und Ethikvotum.....	19
3.3 Material.....	20
3.4 Bearbeitung der BAL.....	21
3.5 Bearbeitung der Blutproben.....	22
3.6 Klinische Angaben.....	22
3.7 Analyse der Proben.....	23
3.8 Software.....	24
3.9 Statistische Methoden	24
4 Ergebnisse	25

4.1	Die Patientenkohorte.....	25
4.2	Raucherstatus	27
4.3	Nebendiagnosen.....	27
4.4	Spirometrie	28
4.5	Die Konzentrationen von PD-1/ PD-L1 in Serum und BAL	30
4.5.1	Korrelation der PD-1 und PD-L1-Spiegel in Serum und BAL	30
4.5.2	Konzentration der Marker bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten.....	37
4.5.3	Der Einfluss des Geschlechts auf die Markerkonzentrationen.....	44
4.5.4	Der Einfluss des Gewichts auf die Markerkonzentrationen	45
4.5.5	Der Einfluss des Schweregrades der Obstruktion auf die Markerkonzentrationen..	46
4.5.6	Der Einfluss des Raucherstatus auf die Markerkonzentrationen.....	47
4.6	Lineare und nichtlineare Zusammenhänge	48
5	Diskussion	52
5.1	Der Zusammenhang zwischen löslichem PD-1 und PD-L1 bei COPD.....	52
5.2	Geschlechtsspezifische Unterschiede	53
5.3	Einfluss des Körpergewichts	54
5.4	Einfluss des Schweregrades der Obstruktion auf Markerkonzentration	54
5.5	Raucherstatus	55
5.6	Limitationen der Studie	56
5.7	Ausblick.....	57
	Danksagungen.....	69
6	Abbildungsverzeichnis	70
7	Tabellenverzeichnis.....	72
8	Lebenslauf.....	73

Abkürzungsverzeichnis

ARDS	Acute Respiratory Distress Syndrome
BAL	Bronchoalveoläre Lavage
BALF	Bronchoalveoläre Lavage-Fluid
BEST	Biomarkers, EndpointS and other Tools
BMI	Body Mass Index
BRCA 1	Breast Cancer Antigen 1
BRCA 2	Breast Cancer Antigen 2
BSA	Bovines Serum Albumin
cAMP	Zyklisches Adenosin Monophosphat
CAT	COPD Assessment Test
CD279	Cluster of differentiation 279
CD4	Cluster of differentiation 4
CD8	Cluster of differentiation 8
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease
CPAP	Continuous positive airway pressure
CT	Computertomographie
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated Protein 4
DLCO	Diffusionskapazität der Lunge für Kohlenstoffmonoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
FEV ₁	Forciertes expiratorisches Volumen (Einsekundenkapazität)
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
HIF-1	Hypoxieinduzierter Faktor-1

HRP	Meerrettich Peroxidase
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
ICS	Inhalatives Corticosteroid
IFN- γ	Interferon- γ
IL-2	Interleukin 2
INR	International normalized Ratio
LTOT	Long-term oxygen therapy
MHC-I	Major histocompatibility complex
mMRC	Modified Medical Research Council
NF-kappaB	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
NSCLC	Non-Small-Cell Lung Cancer
PBS	Phosphate Buffered Saline
PD-L1	Programmed Death Ligand 1
PD-1	Programmed Death Protein 1
PDE4-Inhibitor	Phosphodiesterase 4 Inhibitor
PE	Phycoerythrin
PE-Ca	Plattenepithelkarzinom
PET	Positronenemissionstomographie
Rpm	Rounds per minute
SCLC	Small Cell Lung Cancer
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF-Alpha	Tumornekrosefaktor Alpha
UICC	Union for International Cancer Control
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes

USA	United States of America
WHO	World Health Organisation
ZNS	Zentrales Nervensystem

1 Zusammenfassung/Abstract

1.1 Deutsche Zusammenfassung

Einleitung: Die Chronisch obstruktive Lungenerkrankung ist eine häufige und für die weltweiten Gesundheitssysteme hochrelevante Erkrankung, die mit einer chronischen Entzündung der Atemwege einhergeht. Das PD-1/PD-L1-System ist ein mittlerweile gut verstandener Teil des Immunsystems und bei der Therapie verschiedener Tumorerkrankungen als Biomarker und Therapietarget etabliert. Bislang existieren für die COPD noch keine laborchemischen Biomarker mit therapeutischen oder prognostischen Implikationen. Gleichwohl besteht hier ein großer Bedarf.

Ziele: Diese Arbeit vergleicht eine Patientengruppe mit COPD und eine Kontrollgruppe ohne COPD im Hinblick auf Lungenfunktion und die Konzentrationen der löslichen Biomarker der PD-1/PD-L1-Achse in Serum und bronchoalveolärer Lavage (BAL).

Methoden: Patienten mit verschiedenen Lungenerkrankungen, die im Zeitraum 11/2016 bis 08/2019 bronchoskopiert und einer BAL unterzogen wurden, wurden hinsichtlich wichtiger biometrischer Daten und Anhand der Konzentration der löslichen Biomarker PD-1 und PD-L1 in Serum und BAL verglichen. Die Daten wurden im Rahmen der PULMOHOM-Studie gewonnen und ausgewertet.

Ergebnisse: Es konnten hochsignifikante Korrelationen von PD-1 und PD-L1 innerhalb der BAL-Proben (Spearman $\rho = 0,712$, $p < 0,001$ bei obstruktiven Patienten) und teils auch zwischen BAL und Serumproben (Spearman $\rho = 0,340$, $p = 0,021$ für BAL PD-1/ Serum PD-1 bei obstruktiven Patienten) nachgewiesen werden. Innerhalb der Serumproben konnten wir ebenfalls Korrelationen finden, allerdings in geringerer Ausprägung (Spearman $\rho = 0,336$, $p = 0,02$ für Serum PD-1/PD-L1 bei obstruktiven Patienten). Bei den nicht-obstruktiven Patienten waren diese Korrelationen ebenfalls signifikant. Wir fanden keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Konzentration von PD-1/ PD-L1 und dem Schweregrad der Obstruktion. In multivariablen Modellen zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Einfluss der Marker auf die Lungenfunktion unter Adjustierung auf Geschlecht, Alter, Body Mass Index sowie gerauchte Pack Years.

Zusammenfassung: In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation der löslichen PD-1/PD-L1 Achse in BAL und Serum besteht. Bei fehlendem Zusammenhang zur Lungenfunktion erscheint die PD-1/PD-L1-Achse als Biomarker für den Schweregrad der COPD zum jetzigen Stand weniger geeignet.

1.2 English Abstract

Introduction: The Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) is a common and highly relevant disease with a massive impact on global healthcare systems. It is characterized by chronic airway

inflammation. The PD-1/PD-L1-System is a well-defined and investigated part of the immune system and is widely used in the treatment and surveillance of various malignant diseases. For the COPD, however, there is no such biomarker with therapeutic or prognostic implications. There is a huge need for such biomarkers, nonetheless.

Aim: This study compares two groups of patients with and without COPD in regards of the expression of the soluble PD-1/PD-L1 axis in serum and bronchoalveolar lavage.

Methods: We investigated Patients receiving bronchoscopy with bronchoalveolar lavage from November 2016 to August 2019 in regards of important clinical characteristics and the concentrations of PD-1/ PD-L1 in serum and BAL samples.

Results: There were highly significant correlations of PD-1 and PD-L1 in terms of BAL samples (Spearman rho = 0.712, $p < 0.001$ in COPD- patients) and to a lesser degree between BAL and serum samples (Spearman rho = 0.340, $p = 0.021$ for BAL PD-1/ Serum PD-1 in COPD patients). There were correlations within the serum samples as well (Spearman rho = 0.336, $p = 0.02$ for serum PD-1/PD-L1 in COPD patients). In the non-obstructive patients, these findings were also significant. However, there were no significant correlations between the biomarkers and the severity of airway obstruction. Multivariate modelling showed no significant impact on lung function after adjusting for age, sex, body mass index and smoking history.

Conclusion: This study found a correlation between PD-1 and PD-L1 in BAL and Serum. An impact on lung function, however, could not be shown. This makes the PD-1/PD-L1 Axis not suitable as a biomarker for COPD.

2 Einleitung und Fragestellung

2.1 Die Chronisch Obstruktive Lungenerkrankung (COPD)

2.1.1 Definition

Die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (Chronic Obstructive Pulmonary Disease, (COPD)) ist eine heterogene Lungenerkrankung, die regelhaft mit chronischen respiratorischen Symptomen wie Husten, Dyspnoe, vermehrtem Sputum mit oder ohne Exazerbationen einhergeht. Ursächlich sind jeweils irreversible Veränderungen der Atemwege (Bronchitis oder Bronchiolitis) oder der Alveolen, was als Emphysem bezeichnet wird. Diese Veränderungen sind Ausdruck einer progredienten und persistierenden Atemwegsobstruktion [47].

2.1.2 Ätiologie und Epidemiologie

Im Jahr 2023 befand sich die COPD auf Platz 3 der weltweiten Todesursachenstatistik [73]. Damit ist die Häufigkeit der COPD innerhalb von vier Jahrzehnten deutlich angestiegen, 1990 lag sie noch auf Platz 5 der Todesursachen [89]. Die Prävalenz der COPD ist von Land zu Land unterschiedlich. Weltweit finden sich die höchsten Prävalenzen in Kapstadt mit 23%, gefolgt von Kasachstan und der Mongolei (im Mittel 21,8%) und im Iran (16,9-22,2%). Manche Städte wie beispielsweise Salzburg (26%) und München (21%) zeigen im Vergleich zu den übrigen europäischen Städten höhere Prävalenzen. Die meisten Regionen der Welt zeigen Prävalenzen zwischen 9 und 15% für COPD, das Schlusslicht bilden Südindien (Bangalore 4,4%), Abu Dhabi (3,7%). Für die spärlichen besiedelten Gebiete wie beispielsweise Grönland fehlen bislang verlässliche epidemiologische Daten [16]. Seit 2002 existiert aufgrund der hohen Relevanz der COPD für die Allgemeinbevölkerung ein „World COPD Day“. Dadurch soll jährlich am 16. November die Erkrankung besser bekannt gemacht werden [2].

2.1.3 Risikofaktoren

Der Zusammenhang zwischen der Entstehung der COPD und Tabakkonsum (Aktiv- und Passivrauchen) ist mittlerweile unumstritten. Verschiedenste Studien haben hinreichenden Zusammenhang sowohl zwischen Tabakrauch und messbarer Atemwegsobstruktion [48,62] als auch ein erhöhtes Risiko für COPD und deren Exazerbation aufgezeigt [87]. Darüber hinaus gelten verschiedene weitere Faktoren als Risiko, wie Exposition gegenüber organischen Stäuben und bakteriellen-, sowie Pilzantigenen bei beispielsweise landwirtschaftlicher Arbeit. Auch die Exposition gegenüber weiteren inhalativen Noxen gilt als risikoassoziiert (Baumwollstäube aus der Textilindustrie, Stäube aus Bergwerken und der Metallindustrie, Holzstäube und auch Bauschutt)

[29]. Neben diesen bekannten Risikofaktoren hat auch eine Studie einen deutlichen Zusammenhang zwischen COPD-assoziiierter Hospitalisierung bzw. Mortalität und einer Exposition gegenüber u.a. Feinstaub und Stickoxiden aufgezeigt [44]. Zusätzlich spielen auch genetische Faktoren in der Suszeptibilität für die Ausbildung der COPD eine Rolle. Der bekannteste genetische Faktor in der Entstehung der COPD ist der Alpha-1-Antitrypsin-Mangel. Dieser zeigt sich allerdings nur für etwa 3% der COPD-Fälle verantwortlich [102]. Darüber hinaus sind viele weitere Assoziationen mit Genvarianten (z.B. mit Interleukin 4, -6, -13 und anderen Signalwegen) und der Entstehung einer COPD bekannt, aber bisher weitaus weniger gut erforscht [18].

2.1.4 Diagnostik und Einteilung der COPD nach Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD)

Notwendig zur Diagnosestellung ist neben dem anamnestischen Kontext die Spirometrie und hier zur Einteilung in Stadien das forcierte expiratorische Volumen (FEV_1).

Setzt man die FEV_1 in Relation zur forcierten Vitalkapazität ergibt sich der sogenannte Tiffeneau-Index (Robert Tiffeneau und André Pinelli, 1947) [107].

Die Diagnose einer COPD kann dann bei einem postbronchodilatatorisch gemessenen Tiffeneau-Index von unter 0,7 gestellt werden [47]. Nach den aktuellen GOLD-Kriterien wird die COPD wie folgt eingeteilt:

Tabelle 1: Stadieneinteilung der COPD nach GOLD; Nach: Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (2023 REPORT); Alle FEV_1 -Angaben beziehen sich auf postbronchodilatatorisch gemessene Werte, Abkürzungen: COPD= Chronic obstructive pulmonary disease, FEV_1 = Forcierte Einsekundenkapazität, GOLD= Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease

Stadium	Schweregrad der Obstruktion	FEV_1
GOLD 1	Mild	$\geq 80\%$
GOLD 2	Moderate	$\geq 50\%$ bis $< 80\%$
GOLD 3	Severe	$\geq 30\%$ bis $< 50\%$
GOLD 4	Very severe	$< 30\%$

Neben der Einteilung der COPD nach apparativ objektivierbaren Kriterien wird eine weitere Eingruppierung der COPD nach dem Schweregrad der subjektiv empfundenen Symptomatik vorgenommen. Anwendung finden dabei verschiedene Fragebögen (z.B. der COPD Assessment Test (CAT) oder die „modified Medical Research Council“ (mMRC) Dyspnoe-Skala), die die subjektive Symptomatik der Patienten erfassen.

Tabelle 2 zeigt die mittels der erhobenen Daten erfolgte Einteilung der Patienten nun neben den spirometrisch erfassten GOLD-Stadien noch in die Kategorien A, B und E.

*Tabelle 2: Einteilung in Schweregrade anhand Symptomlast und Exazerbationshäufigkeit
Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (2023
REPORT); Abkürzungen: CAT= COPD Assessment Test; mMRC= Modified Medical Research Council*

≥ 2 moderate Exazerbationen/Jahr oder ≥ 1 Exazerbation mit Krankenhauseinweisung	E	
Keine Exazerbation oder eine moderate Exazerbation/Jahr ohne Krankenhauseinweisung	A	B
	CAT < 10, mMRC 0 - 1	CAT ≥ 10, mMRC ≥ 2

Darüber hinaus stehen noch weitere Möglichkeiten zur Verfügung, um die Diagnose der COPD weiter zu erhärten und die Ausprägung der Erkrankung weiter zu klassifizieren. Diese werden nachfolgend weiter ausgeführt.

Bildgebung

Obwohl ein Röntgenbild des Thorax für die Diagnosestellung der COPD nicht zwingend erforderlich ist, so eignet es sich gut zur Detektion bzw. zum Ausschluss relevanter Begleiterkrankungen (z.B. einer Lungenfibrose oder Bronchiektasen, muskuloskelettaler Erkrankungen, kardiovaskuläre Komorbiditäten). Klassische radiologische Merkmale der COPD beinhalten Zeichen der Lungenüberblähung (abgeflachte Zwerchfellkuppeln, vermehrte retrosternale Transparenz sowie insgesamt hypertransparentes Lungengewebe). Computertomographische (CT) Bildgebung ist kein Teil der Routinediagnostik, kann aber bei Patienten mit Bronchiektasen oder hohem Lungenkrebsrisiko hilfreich sein (hier insbesondere bei Patienten mit Lungenemphysem). Bei geplanter chirurgischer oder endoskopischer Lungenvolumenreduktion ist eine vorherige Computertomographie ebenso sinnvoll [41,59]. Auch für die Evaluation einer eventuellen Lungentransplantation ist die CT notwendig.

Evaluation der Lungenvolumina und der Diffusionskapazität

Rasch zu Beginn ihrer Erkrankung fallen COPD-Patienten durch einen Anstieg ihres Residualvolumens als Ausdruck der Lungenüberblähung auf. Mit fortschreitender Erkrankung entsteht durch die andauernde Flusslimitation eine Zunahme der totalen Lungenskapazität (TLC). Diese Veränderungen lassen sich durch Bodyplethysmographie oder weniger genau durch die Heliumdilutionsmethode bestimmen. Auch wenn die Messung der Diffusionskapazität (DLCO) zur Behandlung von COPD-Patienten nicht unbedingt erforderlich ist, lässt sich damit der funktionelle

Einfluss einer Emphysembildung quantifizieren. Dies kann bei Patienten, die im Vergleich mit ihrer spirometrisch gemessenen Lungenfunktion über ungewöhnlich starke Dyspnoe klagen, hilfreich sein [28].

Arterielle Blutgasanalyse

Die arterielle Blutgasanalyse dient zur Evaluation einer eventuell notwendigen Sauerstofftherapie und sollte bei allen Patienten durchgeführt werden, die klinische Zeichen eines respiratorischen Versagens oder eines Rechtsherzversagens aufweisen. Im Falle einer peripheren Sauerstoffsättigung von weniger als 92% sollte eine arterielle Blutgasanalyse durchgeführt werden [5,58].

Evaluation der Übungsbelastbarkeit und der Leistungsfähigkeit im Alltag

Objektiv gemessene Beeinträchtigung der körperlichen Leistungsfähigkeit etwa im 6-Minuten-Gehtest ist ein aussagekräftiger Prädiktor [21,88] der individuellen Prognose [31,80,83]. So ist im letzten Jahr vor dem Tod eines Patienten häufig ein Abfall der Testleistungen festzustellen [84]. Gehtests sind darüber hinaus auch hilfreich bei der Verlaufs- und Erfolgskontrolle von Behandlungen [23]. Zusätzlich können Fahrrad- oder Laufbandergometrie helfen, weitere Diagnosen, z.B. Herz-Kreislaufkrankungen aufzudecken bzw. auszuschließen.

Eine Erfassung der körperlichen Aktivität im Alltag der Patienten kann eine stärkere Aussagekraft haben als die im Versuch gemessenen Leistungswerte. Hierzu stehen mittlerweile eine Reihe von Geräten bzw. Methoden wie Schrittzähler, Accelerometer und weitere zur Verfügung [49].

2.1.5 Therapie und Prognose

Die medikamentöse Therapie der COPD dient der Symptomverbesserung, reduziert die Häufigkeit und die Schwere von Exazerbation und verbessert die allgemeine Leistungsfähigkeit und Lebensqualität. Bis heute gibt es allerdings noch keine Untersuchungen, die zeigen, dass durch konsequente Therapie der COPD eine langfristige Verschlechterung der Lungenfunktion verhindert werden kann [6,7,82,106].

Neben der medikamentösen Therapie existiert noch die Möglichkeit der endoskopischen bzw. chirurgischen Lungenvolumenreduktion. Diese Verfahren dienen allerdings lediglich der Symptomlinderung und können nur bei wenigen Patienten das Überleben verlängern [100].

Darüber hinaus existieren noch weitere nicht-medikamentöse Therapieansätze wie Sauerstoffgabe und Heimbeatmung, die nachfolgend ebenfalls weiter ausgeführt werden.

Nikotinkarenz

COPD-Patienten mit fortgesetztem Nikotinkonsum erleben eine schnellere Krankheitsprogression, häufigere Exazerbationen und eine insgesamt höhere Sterblichkeit [10,46,71]. Etwa 40% der COPD-Patienten setzen ihren Nikotinkonsum trotz Kenntnis über die negativen Auswirkungen auf den Krankheitsverlauf fort [71]. Nikotinkarenz hat das größte Potential den Krankheitsverlauf positiv zu beeinflussen. Beim Erreichen einer dauerhaften Nikotinkarenz scheint eine Kombination aus Verhaltenstherapie und medikamentöser Unterstützung den größten Effekt zu haben [109]. Neben dem Rauchstopp des einzelnen Patienten verringert auch ein gesetzliches Rauchverbot zum Beispiel an öffentlichen Plätzen das Auftreten der COPD und anderer mit dem Rauchen assoziierter Erkrankungen [26].

Rehabilitation

Die Durchführung einer Rehabilitationsmaßnahme bei Patienten mit COPD führt zu einer Reduktion der subjektiv empfundenen Dyspnoe, zu einer Steigerung der individuellen Übungsbelastbarkeit und zu einer Steigerung der Lebensqualität. Hierbei empfiehlt sich ein multimodales Konzept, das unter anderem körperliches Training, Verhaltenstherapie und ernährungsmedizinische Beratung beinhaltet [75].

Bronchodilatoren

Bronchodilatoren verbessern die FEV₁ und andere spirometrisch objektivierbare Parameter. Die Wirkung beruht auf einer Herabsetzung des Tonus der glatten Bronchialmuskulatur und somit einer Erweiterung der kleinen Atemwege. Bronchodilatoren reduzieren die Lungenüberblähung in Ruhe und unter Belastung [78,79] und verbessern die körperliche Leistungsfähigkeit. Allerdings ist das Therapieansprechen unter Belastung bei Patienten mit schwerer und sehr schwerer COPD ausgehend von den Ruhewerten individuell unterschiedlich und nur schlecht anhand der Änderung der FEV₁ zu prognostizieren [13].

Die Kombination von Bronchodilatoren mit verschiedenen Wirkmechanismen und Wirkdauern geht mit einer verbesserten bronchodilatatorischen Wirkung und mit einer Verringerung der Nebenwirkungen im Vergleich zur Monotherapie einher [22,50].

Inhalative Corticosteroide (ICS)

In vitro Versuche haben gezeigt, dass die COPD-assoziierte Entzündungsreaktion nur ein begrenztes Ansprechen auf Corticosteroide aufweist. Dabei können verschiedene Wirkstoffe das Ansprechen auf eine Steroidtherapie verbessern [17]. Bei Patienten mit mittelschwerer bis schwerer COPD und mit Exazerbationen haben sich ICS in Kombination mit LABA als wirksamer erwiesen als die Monotherapie im Hinblick auf Lungenfunktion, Allgemeinzustand, sowie Exazerbationshäufigkeit-

und -schwere [74]. Studien zeigten allerdings eine dosisabhängige Risikoerhöhung bezüglich des Auftretens von Pneumonien [115].

Orale Phosphodiesterase-4-Inhibitoren (Roflumilast)

Bei Patienten, die trotz einer adäquaten Therapie mit inhalativen Bronchodilatoren unter häufigen Exazerbationen leiden, kann eine Therapie mit einem Phosphodiesterase-4-Inhibitor (PDE-4-Inhibitor) erwogen werden [12].

Die intrazelluläre Hemmung von PDE4 führt zur Hemmung des Abbaus von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP). Dies wiederum führt zu einer Vielzahl an antiinflammatorischen Effekten und soll so die Krankheitslast verringern. Mehrere klinische Studien konnten bisher zeigen, dass die Therapie mit Roflumilast zu einer signifikanten Verbesserung der Lungenfunktion und letztlich auch der Exazerbationshäufigkeit führt [91,111].

Sauerstofftherapie (Long-term oxygen therapy, LTOT)

Bereits in den 1980er Jahren konnte in zwei randomisierte kontrollierten Studien gezeigt werden, dass die ambulante Langzeitsupplementation (15-18 Stunden täglich) von Sauerstoff eine praktikable Methode ist, um bei Patienten, die in Ruhe eine Hypoxämie aufweisen (arterieller Sauerstoffpartialdruck $\leq 55\text{mmHg}$ oder bei Vorliegen eines Cor pulmonale $\leq 60\text{mmHg}$) das Langzeitüberleben zu verbessern [54,104]. Bei Patienten mit lediglich mäßiger Hypoxämie in Ruhe sollte eine LTOT jedoch nicht routinemäßig verordnet werden, da für diese Patienten kein Überlebensvorteil gezeigt werden konnte [61].

Heimbeatmung (Continuous positive airway pressure, CPAP)

Es konnte gezeigt werden, dass eine Heimbeatmung bei chronisch hyperkapnischen Patienten sowohl das Sterberisiko als auch das Risiko einer Krankenhauseinweisung signifikant zu reduzieren vermag [64].

Monoklonale Antikörper (Dupilumab)

Der Wirkstoff Dupilumab ist ein humaner monoklonaler Antikörper gegen Interleukin-4 und Interleukin-13, welche maßgebliche Faktoren der Typ-2-Entzündung sind.

In zwei randomisierten, placebokontrollierten, doppelblinden Phase-III-Studien bei Erwachsenen mit mittelschwerer bis schwerer COPD, erhöhten Eosinophilen (≥ 300 Zellen/ μl im peripheren Blut) und bereits bestehender maximaler Inhalativtherapie konnte gezeigt werden, dass die moderaten bis schweren Exazerbationen unter einer Therapie mit Dupilumab abnahmen. Ebenso fanden sich positive Auswirkungen auf FEV₁ und Lebensqualität [14]. Seit Juli 2024 ist Dupilumab als Add-on-

Erhaltungstherapie für Erwachsene mit unzureichend kontrollierter COPD mit Eosinophilen ≥ 300 Zellen/ μ l zugelassen [113].

2.2 Biomarker

2.2.1 Geschichte der Biomarker

Als „Biomarker“ bezeichnet man die Mess- und Verwendbarkeit einer physiologischen Substanz, Kenngröße und dergleichen, um daran physiologische oder pathophysiologische Vorgänge vergleichbar zu machen und auch den Erfolg therapeutischer Interventionen zu überprüfen und sogar vorherzusagen [9]. Die amerikanische Food and Drug Administration (FDA) definiert in ihrem „The Biomarkers, EndpointS and other Tools“ (BEST) Glossar sieben verschiedene Arten von Biomarkern. Zunächst einmal existieren im BEST-Glossar Biomarker für die Anfälligkeit bzw. das Risiko für die Entstehung oder das Auftreten einer bestimmten Erkrankung. Hier sei beispielsweise die Faktor-V-Leiden-Mutation als Risikofaktor für das Auftreten thrombotischer Krankheitsbilder zu nennen [37]. Daneben werden auch diagnostische Biomarker wie beispielsweise der Chlorid-Schweißtest bei der Mukoviszidose aufgeführt. Diese dienen der Sicherung einer Diagnose oder der Einteilung von Patienten in bestimmte Untergruppen einer Erkrankung [38]. Ebenso werden Biomarker zur Verlaufs- bzw. Erfolgskontrolle einer Therapie beschrieben („Monitoring“-Biomarker) [39]. Hierzu zählen unter anderem die FEV₁ als wichtiger Marker zur Verlaufskontrolle und Evaluation des Therapieansprechens bei der COPD [1]. Als nächstes werden Marker zur Prognoseabschätzung und Biomarker mit prädiktivem Wert benannt. Hier zu nennen sind zum Beispiel die Breast Cancer Gene 1 und 2 (BRCA 1+2) dessen Mutationen zum einen das Risiko für das Auftreten eines Karzinoms der Mamma determinieren, zum anderen genutzt werden können, um eine prognostische Aussage über ein Therapieansprechen zu treffen [34,35]. Als letztes werden Parameter genannt, die Rückschlüsse auf ein Therapieansprechen oder Marker zur Abschätzung der Therapiesicherheit genannt. Zu ersteren zählt unter anderem die „International Normalized Ratio“ (INR) zur Messung des Ansprechens auf eine Therapie mit Vitamin-K-Antagonisten, zu letzteren kann beispielsweise die frequenzkorrigierte QT-Zeit (QTc-Zeit) als Risikomarker für das Auftreten von Torsade de Pointes-Tachykardien unter Therapie mit QT-Zeit verlängernden Medikamenten genannt werden [36,40]. Als erster genetischer Biomarker und Risikofaktor für die Entwicklung einer COPD gilt seit 1963 die Serumspiegelbestimmung des Alpha-1-Antitrypsins. Ein genetisch veranlagter Mangel an Alpha-1-Antitrypsin prädisponiert zur Entwicklung eines Lungenemphysems, insbesondere in Kombination mit Tabakkonsum oder anderer inhalativer Noxen und sorgt auch bei Rauchkarenz für einen Progress der Erkrankung [103].

Ein in den letzten Jahren zunehmend wichtig gewordener Biomarker in der Tumorthherapie ist auch das Programmed Death Protein 1 (PD-1) und Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) -System, welches nachfolgend noch ausführlich beschrieben wird.

Für die COPD existieren derzeit bis auf die FEV₁ keine weiteren vergleichbaren klinisch relevanten biochemischen Marker, die zur Diagnose, zur Phänotypisierung oder zur Prognose verwendet werden können. Gleichwohl besteht hier bei hohem Druck auf die internationalen Gesundheitssysteme ein großer Bedarf.

2.2.2 Die Biologie des PD-1/PD-L1-Systems

PD-1 und sein Ligand PD-L1 sind Transmembranproteine mit einer immunglobulinähnlichen Extrazellulärdomäne für die Interaktionen und die Signaltransduktion ins Zellinnere. PD-1 (auch bekannt als cluster of differentiation 279 (CD279)) ist ein Typ I Transmembranrezeptor. Die PD-1 Expression findet vor allem auf einer Vielzahl von Immunzellen wie zum Beispiel auf CD4 und CD8 positiven T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, natürlichen Killerzellen (NK-Zellen), Monozyten, dendritischen Zellen, Makrophagen und Langerhanszellen statt. Die vermehrte PD-1-Expression auf dauerhaft in Antigenkontakt stehenden T-Zellen ist mitverantwortlich für eine Erschöpfung der T-Zell-Funktion [3,96]. Diese erschöpften T-Zellen zeigen regelhaft eine höhere u.a. PD-1-Expression, mit einer verringerten Fähigkeit zur Aufnahme von stimulierenden Signalen. Diese Erschöpfung tritt sowohl bei Tumorerkrankungen als auch bei chronischen Virusinfektionen auf und sorgt für eine Immunevasion [15]. PD-L1 findet sich im Wesentlichen auf der Oberfläche von professionellen antigenpräsentierenden Zellen (Makrophagen, B-Lymphozyten, dendritische Zellen) sowie auf der Oberfläche von Zellen die Antigene für cytotoxische CD8 positive-T-Lymphozyten auf ihrer Oberfläche präsentieren. Ebenso wird PD-L1 beispielsweise auf Endothelzellen von Blutgefäßen, Pankreasinseln, in Plazentazellen und Hoden exprimiert. Hier dient PD-L1 zur Verhinderung von Autoimmunität [30,42]. Bei Krebserkrankungen hemmt das PD-1/PD-L1-System die T-Zell-Proliferation sowie die Zytokinfreisetzung (insbesondere Tumornekrosefaktor α (TNF- α), Interleukin 2 (IL-2) und Interferon γ (IFN- γ) und die zytotoxische T-Zell-Aktivität, was letztlich zur Apoptose tumorspezifischer T-Lymphozyten führt und den Tumor zu einer Immunevasion befähigt [43,66,97]. Aus diesem Grund ist eine suffiziente Immunantwort auf Tumoren äußerst selten und lediglich in Einzelfällen beschrieben [24,69,108].

Mittlerweile konnten verschiedene Signalwege identifiziert werden, die sich auf die Expression von PD-1/PD-L1 auswirken. Hierunter fallen beispielsweise der Hypoxie-induzierte Faktor α (HIF-1), der „Signal transducer and activator of transcription 3“ (STAT3), und der „Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells“ (NF- κ B) [25]. Exemplarisch sind im Tierexperiment erhöhte HIF-1-Spiegel in hypoxischem Gewebe mit einer erhöhten PD-L1-Expression assoziiert.

Dies legt nahe, dass in hypoxischen Gebieten ein direkter negativer Einfluss auf die T-Zell-Funktion und somit auf die Stärke der Immunantwort besteht [76].

Mitverantwortlich für das Versagen der Immunantwort scheint daneben auch eine Herabregulierung von membranständigen „Major histocompatibility complex- I“ (MHC-I)-Molekülen und somit eine verringerte Erkennung der Tumorzellen durch cytotoxische T-Lymphozyten sowie eine durch die Ausschüttung immunsupprimierender Mediatoren vermittelte Immunsuppression in der unmittelbaren Umgebung des Tumors zu sein [56,72]. Ein wichtiges Merkmal dieser Tumormikroumgebung ist zudem die Hochregulation der Expression von PD-L1 [119].

Die gesteigerte Expression von PD-L1 konnte bisher auf einer ganzen Reihe solider Tumoren der meisten medizinischen Fachdisziplinen nachgewiesen werden. So können beispielsweise neben dem Bronchialkarzinom und dem malignen Melanom auch verschiedene gastrointestinale (Leber, Colon, Magen, Pankreas) und gynäkologische, aber auch Urothel- und diverse Kopf/Hals-Tumoren eine gesteigerte PD-L1-Expression aufweisen [20,53,60,67,77,105,114].

Neben der gesteigerten Bildung von PD-L1 konnte gezeigt werden, dass in unmittelbarer Nähe der Tumoren die PD-1-Expression auf tumorinfiltrierenden Lymphozyten gesteigert sein kann und ebenfalls zum Versagen der Immunantwort beiträgt [52].

Verschiedene Studien konnten belegen, dass eine Überexpression von PD-L1 in „Non-small-cell Lung Cancer“ (NSCLC) mit einer hohen Aggressivität und daher schlechten Prognose einhergeht, was sich auch auf andere Tumorentitäten übertragen lässt [56,72,98,99].

2.2.3 Immuncheckpoints in der Tumorthherapie

Der Begriff „Immuncheckpoint“ bezieht sich auf eine Reihe von Signalwegen, die essenziell für die Immunmodulation und den Erhalt bzw. die Etablierung einer Selbsttoleranz verschiedener körpereigener Gewebe sind. Es ist bekannt, dass Tumoren verschiedene Signalwege verwenden um ebenfalls eine Immuntoleranz, besonders im Hinblick auf die T-Zell-spezifische Immunreaktion zu bewirken. Da viele dieser Signalwege auf Rezeptor-Liganden-Interaktionen beruhen, bieten Immuncheckpoints bzw. deren Inhibition ein interessantes Ziel für die Tumorthherapie [81].

Der weltweit erste Checkpointinhibitor Ipilimumab wurde im Jahre 2011 zuerst von der amerikanischen FDA und wenig später von der europäischen EMA zur Therapie des malignen Melanoms zugelassen [27]. Ipilimumab richtet sich gegen das „Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4“ (CTLA-4) und zeigte als erstes Medikament dieser neuen Wirkstoffgruppe eine gute Wirksamkeit [94]. Neben Ipilimumab gegen CTLA-4 existieren mittlerweile noch diverse weitere Immuncheckpointinhibitoren. So haben sich beispielsweise die Anti-PD-1-Antikörper Nivolumab

und Pembrolizumab und auch der Anti-PD-L1-Antikörper Atezolizumab als klinisch wirksam bei verschiedenen Tumorerkrankungen wie dem NSCLC erwiesen [33,92,101].

2.3 Fragestellung

Die Biologie von PD-1 und PD-L1 bei verschiedenen Tumorerkrankungen ist mittlerweile recht gut verstanden und in der Literatur oft beschrieben. Bislang ist jedoch nicht bekannt, ob sich PD-1/PD-L1 im Serum oder der bronchoalveolären Lavage (BAL) als Biomarker für Patientinnen und Patienten mit COPD eignen. Diese Arbeit untersucht die COPD und mögliche Zusammenhänge zwischen den löslichen Formen der Biomarker PD-1 und PD-L1 und der Lungenfunktion.

Ziel dieser Dissertation ist es, neben der Lungenfunktion auch noch andere Faktoren wie das Geschlecht oder das Körpergewicht, den Rauchstatus und das Alter der Probanden als Einflussgrößen auf die Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 in Serum und BAL zu untersuchen und mögliche Zusammenhänge im Rahmen einer explorativen Pilotstudie zu identifizieren.

Folgende Fragen sollen beantwortet werden:

- 1) Gibt es einen Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von löslichem PD-1 und PD-L1 in BAL und Serum?
- 2) Gibt es eine Assoziation zwischen dem Vorliegen einer COPD und der PD1/PD-L1-Konzentration in Serum oder bronchoalveolärer Lavage (BAL)?
- 3) Hat der Schweregrad der COPD einen Einfluss auf die Konzentrationen der Biomarker?
- 4) Gibt es weitere Faktoren, die im Zusammenhang mit der PD-1/PD-L1-Konzentration bei Patienten mit COPD stehen?

3 Material und Methodik

3.1 Patientenkollektiv

Untersucht wurden bronchoalveoläre Lavageproben sowie Blutproben von 130 Patienten, die im Zeitraum November 2016 bis August 2019 in der Klinik für Pneumologie der Universitätsklinik Homburg/Saar bronchoskopiert und in die PULMOHOM Studienkohorte eingeschlossen wurden. Dabei waren folgende Patientengruppen von besonderem Interesse:

- Patienten mit bekannter COPD, häufig im Rahmen einer endoskopischen Lungenvolumenreduktion oder einer Prüfung der Kollateralventilation
- Patienten mit einer pulmonalen Raumforderung, Bronchoskopie häufig im Rahmen der Tumordiagnostik ohne das Vorhandensein einer COPD
- Patienten mit sowohl bestehender COPD als auch mit einer suspekten Raumforderung

Bei der Auswahl der Probanden wurde darauf geachtet, dass sich die jeweiligen Krankheitsbilder in einem stabilen Zustand befanden. Patienten, bei denen zum Zeitpunkt der Probeentnahme eine akute Exazerbation ihrer Erkrankung bestand, wurden vorab aus der Kohorte ausgeschlossen.

3.2 Einverständniserklärung und Ethikvotum

Die Studie erhielt ein positives Ethikvotum der Landesärztekammer des Saarlandes (Ethiknummer 105/12).

Von allen Patienten wurde nach ausführlicher Aufklärung eine schriftliche Einverständniserklärung eingeholt.

3.3 Material

Das für die Materialgewinnung und die Weiterverarbeitung verwendete Material ist in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Verwendetes Material für die Konservierung der Blut- und BAL-Proben
Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, EDTA= Ethylendiamintetraacetat

Material für die BAL	• 2 Stück 15ml Falcon-Röhrchen • Microliterpipette mit passenden Spitzen • Je Probe ein 1ml Tube für das Zellpellet • Je Probe 12 Stück 1ml Tubes für den Überstand
Material für die Blutentnahme	• Becton Dickinson (BD) Vacutainer Blutentnahmesystem 21G • Je Probe 2 Stück 6ml Citrat-Röhrchen • Je Probe 2 Stück 6ml Ethylendiamintetraacetat (EDTA)-Röhrchen • Je Probe 2 Stück 10ml Serumröhrchen • Je Probe 1 Stück PAXgene® -Röhrchen (PreAnalytiX, Hombrechtikon, Schweiz) • Je Probe 1 Stück Becton Dickinson P100 Röhrchen • Weiteres Verbrauchsmaterial Stauband, Tupfer, alkoholisches Hautdesinfektionsmittel • 6 Stück 7,5ml Sekundärröhrchen für den Überstand der zentrifugierten Proben. • Transferpipetten
Verwendete Geräte	• Panasonic Ultra-Low Temperature Freezer MDF-U700VX bei -80°C • Zentrifuge Beckman Coulter Allegra X-30R

3.4 Bearbeitung der BAL

Die Entnahme der BAL erfolgte hauptsächlich im Rahmen der Tumordiagnostik oder im Falle der COPD-Patienten im Rahmen einer Bronchoskopie zur Evaluation der Kollateralventilation oder ähnlichen Indikationen. Hierbei erfolgte die Durchführung der Bronchoskopie sowie die Aufklärung und Einholung der Einwilligung zur Teilnahme an unserer Studie durch das Fachärzteteam der Endoskopie der Klinik für Innere Medizin V des Universitätsklinikum des Saarlandes.

Für die BAL wurden während der Untersuchungen 100 ml sterile NaCl-Lösung endobronchial instilliert und der Rücklauf wiedergewonnen.

Von diesem Rücklauf wurden wiederum 10ml für die Studie verwendet. Der Rest ging in das klinikeigene Labor zur Tumor-bzw. Erregerdiagnostik. Die Probe wurde möglichst zeitnah zur Entnahme bei 1200 Umdrehungen pro Minute (rpm) und 20°C 10 Minuten lang zentrifugiert. Der so entstandene Überstand wurde in ein zweites Röhrchen überführt. Das so im ursprünglichen Röhrchen verbleibende Zellpellet wurde sofort mit 200µl des Überstandes resuspendiert und in ein einzelnes Röhrchen pipettiert (Abb. 1).

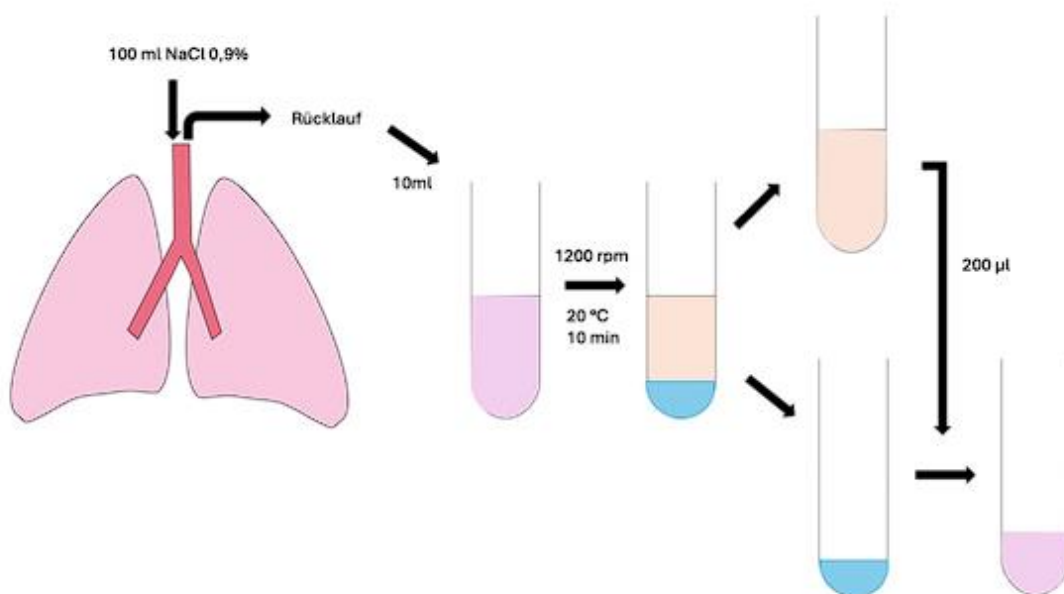


Abbildung 1: Ablauf der Probengewinnung. Endobronchiale Instillation von 100ml NaCl 0,9%. Wiedergewinnung des Rücklaufs. Davon Abpipettieren von 10ml. Zentrifugation der 10ml mit 1200 rpm für 10 Minuten bei 20°C. Abpipettieren des Überstands, Resuspension des entstandenen Zellpellets mit 200µl des Überstands.

Der Rest des Überstandes wurde zu je 750µl in 12 weitere Tubes pipettiert und alle Proben dann unmittelbar bis zur Analyse bei -80°C eingefroren.

3.5 Bearbeitung der Blutproben

Allen Studienteilnehmern wurde im Verlauf ihrer Untersuchung Blutproben durch den Autor dieser Arbeit für die Studie entnommen und aufgearbeitet.

Die Blutproben wurden in folgender Reihenfolge gewonnen:

- 2 mal Citrat
- 2 mal Serum
- 2 mal EDTA
- 1 mal BD P100
- 1 mal PAXgene ®

Nach der Entnahme wurde eines der EDTA-Röhrchen und das PAXgene-® Röhrchen sofort bei -80° eingefroren. Die beiden Citratröhrchen, das verbleibende EDTA-Röhrchen und die P100-Probe wurden bei 2500 x g und 20° 20 Minuten lang zentrifugiert.

Die Serumröhrchen wurde nach 30 Minuten Gerinnungszeit bei 1300 x g und 20°C 10 Minuten lang zentrifugiert.

Die hierbei entstehenden Überstände wurden mittels Transferpipetten in Sekundärröhrchen überführt und ebenfalls bei -80°C eingefroren.

Das EDTA-Pellet wurde ebenfalls konserviert, die restlichen Pellets verworfen.

3.6 Klinische Angaben

Zu jedem Patienten wurde im Anschluss an die Probengewinnung eine Datenerhebung durchgeführt. Die entsprechenden Informationen wurden vom Autor aus dem Klinikinformationssystem entnommen oder im Anamnesegespräch erhoben. Besonderer Wert wurde hierbei neben der aktuellen Diagnose, die bei Probenentnahme meistens noch ausstand, auf die Lungenfunktionswerte gelegt.

Die Erfassung der Daten erfolgte mittels einer bereits etablierten elektronischen Erfassung (electronic case report form, eCRF) der PULMOHOM-Patientenkohorte in Homburg.

Bei Vorliegen einer obstruktiven Ventilationsstörung und einer entsprechenden Noxe in der Vorgeschichte wurde die Diagnose einer COPD als gestellt angesehen.

3.7 Analyse der Proben

Die Konzentrationen von PD-L1 nach Herstellerangaben mit einem magnetischen Luminex-Assay bestimmt (R&D Systems, Minneapolis, USA), die PD-1-Werte wurde mit Hilfe eines „Enzyme-linked immunosorbent assay“ (ELISA) gemessen (R&D Systems, Minneapolis, USA).

Die Proben wurden vor der Messung auf Eis aufgetaut und anschließend bei 15000 rpm bei 4°C für 5 Minuten zentrifugiert. Bei nur sehr niedrigen Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 in den BAL-Proben, wurden diese unverdünnt in den Messungen verwendet. Die Serum-Proben wurden nach Herstellerangaben 1:2 mit Assay-Puffer (1 % Bovines Serum Albumin (BSA) in PBS (Phosphate Buffer Saline) verdünnt.

Luminex-Assay

Bei dem Luminex-Assay werden die Analyte über spezifische Antikörper an magnetische Beads gebunden. Die Beads sind mit einer Mischung aus Fluoreszenz-Farbstoffen markiert. Dadurch kann durch die Analyse-Software eine bestimmte Markierung einem Analyten zugeordnet werden. Darüber ist eine Multiplex-Messung mehrerer Analyte möglich. Die gebundenen Analyte werden von einem zweiten Antikörper erkannt, der wiederum mit einem Phycoerythrin-Farbstoff (PE) markiert ist. Über die Detektion von PE wird durch die Analyse-Software durch Vergleich mit einer Standardkurve die Konzentration ermittelt. Die Regressionsanalyse erfolgte durch eine 4-Punkt Spline-Interpolation der Fluoreszenzwerte der Standardkurve. Die Analyse erfolgte in Milliplex-Analyst.

Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA)

Für die Analyse von Proben durch einen ELISA wurden zunächst spezifische Antikörper an den Boden einer 96-Well-Platte gebunden. Die Anheftung erfolgte durch elektrostatische Wechselwirkungen des Antikörpers mit dem Polystyrol der Platte. Unspezifische Bindungen werden durch Inkubation mit einer 1%igen bovinen Serumalbumin-Lösung (BSA) in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) unterdrückt. Nach der Bindung des Analyten (PD-1) mit dem an der Platte immobilisierten Antikörper, erfolgte die Inkubation mit einem zweiten Antikörper (Detektionsantikörper), der an mehrere Stellen des Analyten binden kann. Dadurch kommt es zu einer ersten Verstärkung des Signals. Der Detektionsantikörper ist mit einem Biotin-Rest markiert. Daran binden im folgenden Schritt mehrere mit Streptavidin markierte Enzyme. Dadurch kommt es zu einer nochmaligen Verstärkung des Signals. Das Enzym Meerrettich-Peroxidase (HRP) katalysiert im letzten Schritt die Umsetzung des Substrates Tetramethylbenzidin (TMB), was zu einem Farbumschlag führt. Diese Reaktion wird mit verdünnter Schwefelsäure gestoppt. Die Intensität der Färbung wird mittels Absorptionsmessung in einem ELISA-Reader (SPECTROstar Omega, BMG Labtech, Ortenberg) gemessen und durch einen Vergleich mit einer Standardkurve

quantifiziert. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe der MARS Datenanalyse Software (BMG Labtech, Ortenberg).

3.8 Software

Die Textverarbeitung sowie die Erstellung der Diagramme erfolgten Mittels des Microsoft Office 365-Paketes für Windows (Version 2602, Microsoft Corporation, Redmont, WA, USA). Die statistischen Berechnungen erfolgten in IBM SPSS Statistics (Version 28.0.1.1, IBM Corp., Armonk, NY, USA) sowie in R (Version 4.5.2, R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich) unter Verwendung des Pakets rms.

3.9 Statistische Methoden

Bei der Prüfung auf Normalverteilung kam der Shapiro Wilk-Test zum Einsatz.

Bei normalverteilten Daten kam der t-Test zum Einsatz, bei nicht normalverteilten Daten der Mann-Whitney-U-Test.

Die Untersuchung auf etwaige Korrelationen erfolgte mit der Rangkorrelation nach Spearman.

Die Null-Hypothese wurde jeweils abgelehnt, wenn das Signifikanzniveau $p < 0,05$ war. Die jeweils angewandten Tests sind in den Abbildungsbeschreibungen enthalten.

Bei der vereinzelt Anwendung weiterer statistischer Verfahren sind diese in den Abbildungsbeschreibungen aufgeführt.

Für die Untersuchung auf lineare Zusammenhänge erfolgten Regressionsanalysen die jeweils auf Alter, Body Mass Index (BMI), den Rauchstatus und das Geschlecht adjustiert wurden.

Um darüber hinaus mögliche nichtlineare Zusammenhänge aufzuzeigen, wurden die Biomarker mittels Restricted Cubic Splines (RCS) mit vier Knoten modelliert. Die Positionen der Knoten wurden anhand der 5., 35., 65. und 95. Perzentil festgelegt. Aufgrund der rechtsschiefen Verteilung der Markerkonzentrationen wurde vorab eine logarithmische Transformation der Werte durchgeführt.

4 Ergebnisse

4.1 Die Patientenkohorte

Insgesamt wurden 175 Patienten für den Studieneinschluss gescreent. Nach Ausschluss von Patienten ohne spirometrische Daten, von Patienten mit einer reversiblen Atemwegsobstruktion oder zurückgezogener Einverständniserklärung wurden die Datensätze von 130 Probanden die wegen unterschiedlicher Fragestellung im Zeitraum von November 2016 bis August 2019 am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) in Homburg bronchoskopiert wurden ausgewertet. Es erfolgte zunächst eine Unterteilung in zwei Gruppen anhand der Spirometrie in Patienten mit einer irreversiblen Atemwegsobstruktion (n=59) und ohne irreversible Atemwegsobstruktion (n=71).

Abbildung 2 zeigt eine Übersicht über das erfolgte Patientenscreening und die Dropouts.

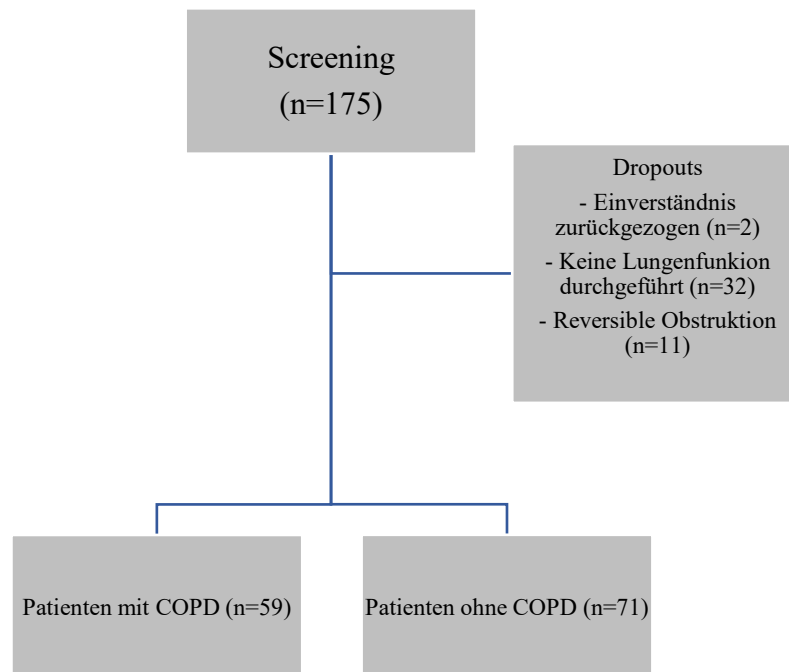


Abbildung 2: Flowchart der Patientenrekrutierung

Gescreent wurden 175 Patienten. 45 Patienten qualifizierten sich nicht. 130 Patienten wurden eingeschlossen, davon 59 Patienten mit COPD und 71 Patienten ohne COPD. Abkürzungen: COPD= Chronic obstructive pulmonary disease

Nach Einschluss wurden zunächst die beiden Gruppen hinsichtlich diverser biometrischer Charakteristika auf ihre Vergleichbarkeit hin untersucht (Tabelle 4). Außerdem erfolgte ein Vergleich im Hinblick auf spirometrische Charakteristika. Hier wurde die FEV₁ als Maß für den Schweregrad einer vorliegenden COPD herangezogen.

Tabelle 4: Baseline Charakteristika der Kohorte

Abkürzungen: BAL = Bronchoalveoläre Lavage; COPD = Chronic Obstructive Pulmonary Disease; PD-1 = Programmed Death Receptor 1; PD-L1 = Programmed Death Ligand 1; BMI = Body Mass Index; FEV₁ = Forciertes Expiratorisches Volumen; TLC = Totale Lungenkapazität; CRP = C-Reaktives Protein. Die Ergebnisse werden als n (%) oder Median (25.–75. Perzentil) dargestellt. *Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben; *t-Test für unabhängige Stichproben; †Exakter Test nach Fisher. Sofern nicht für alle Patienten Daten vorhanden waren, wird mit n die Anzahl der vorhandenen Datensätze bezeichnet.

Merkmal	COPD (n= 59)	Keine COPD (n = 71)	Signifikanz
Alter (Jahre)	69 (62,5 – 75)	64 (58 – 71) (n = 67)	$p = 0,007^*$
Geschlecht	(n = 57)	(n = 67)	$p = 0,518^+$
weiblich	18 (31,6%)	22 (32,8%)	
männlich	39 (68,4%)	45 (67,2%)	
Pack Years (py)	38,8 (20 – 52,5) (n = 46)	27,5 (0 – 41,3) (n = 62)	$p = 0,015^*$
BMI (kg/m ²)	25,9 (23,4 – 29,5) (n = 58)	26,9 (24,6 – 30,0) (n = 69)	$p = 0,531^*$
Größe (m)	1,70 (1,64 – 1,75) (n = 56)	1,70 (1,62 – 1,76)	$p = 0,463^*$
Gewicht (kg)	77,7 (64,9 – 85,9) (n = 56)	81,0 (65,8 – 88,6)	$p = 0,323^*$
FEV ₁ (L)	1,53 (1,09 – 1,88)	2,31 (1,76 – 2,74)	$p < 0,001^*$
TLC (L)	6,47 (5,37 – 7,39) (n = 58)	5,27 (4,68 – 6,20) (n = 70)	$p < 0,001^*$
Tiffeneau-Index	0,57 (0,47 – 0,64)	0,78 (0,73 – 0,84)	$p < 0,001^*$
Leukozytenzahl (1/nl)	8,3 (6,35 – 9,80) (n = 53)	8,5 (6,53 – 10,18) (n = 68)	$p = 0,524^*$
Erythrozytenzahl (1/nl)	4,45 (4,14 – 4,84) (n = 53)	4,57 (4,20 – 4,94) (n = 68)	$p = 0,221^*$
Thrombozytenzahl (1/nl)	266,0 (225,5 – 334,5) (n = 53)	287,5 (236,0 – 355,5) (n = 68)	$p = 0,441^*$
Hämoglobinwert (g/dl)	13,4 (12,3 – 14,6) (n = 53)	13,5 (12,1 – 14,7) (n = 67)	$p = 0,866^*$
Hämatokrit (%)	40 (35,5 – 43) (n = 53)	40 (37 – 42) (n = 68)	$p = 0,083^*$
Kreatininwert (mg/dl)	0,86 (0,75 – 1,15) (n = 53)	0,86 (0,73 – 1,02) (n = 67)	$p = 0,343^*$
Serumharnstoff (mg/dl)	31 (25 – 43) (n = 53)	29 (23,8 – 39,3) (n = 66)	$p = 0,512^*$
CRP (mg/l)	8,9 (32 – 22,7) (n = 53)	7,75 (2,2 – 27,9) (n = 68)	$p = 0,865^*$
Blutzucker (mg/dl)	106,0 (93,5 – 133,0) (n = 53)	107,0 (94,5– 129,0) (n = 66)	$p = 0,744^*$

Die beiden Patientengruppen unterschieden sich signifikant hinsichtlich ihrer Lungenfunktion ($p < 0,001$). Ebenso zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Altersverteilung ($p = 0,007$) und im Rauchverhalten. Bei den übrigen untersuchten Parametern zeigte sich kein signifikanter Unterschied.

4.2 Raucherstatus

Von den 130 Patienten gaben 79 (60,8%) an, derzeit Nichtraucher zu sein. 27 Patienten (20,8%) gaben an, derzeit zu rauchen. Bei 24 (18,4%) Patienten fehlte diese Angabe. Die Patienten mit COPD wiesen im Vergleich zu den Patienten ohne COPD eine signifikant höhere Anzahl an gerauchten Pack Years auf (im Median 38,8 vs. 27,5 Pack Years ($p = 0,015$)).

4.3 Nebendiagnosen

Neben dem Vorliegen einer obstruktiven Ventilationsstörung bzw. einer COPD wurden die Kohorte auch auf das Vorhandensein weiterer Nebendiagnosen untersucht.

Tabelle 5 zeigt die Verteilung der Nebendiagnosen zwischen den beiden Patientengruppen

Tabelle 5: Verteilung der Nebendiagnosen; Abkürzungen: COPD= Chronic obstructive pulmonary disease

Merkmal	COPD (n= 59)	Keine COPD (n = 71)	Signifikanz
Arterielle Hypertonie	28 (47,5%) (n = 52)	31 (43,7%) (n = 65)	$p = 0,317$
Koronare Herzerkrankung	9 (15,3%) (n = 52)	19 (26,8%) (n = 62)	$p = 0,076$
Herzinfarkt	2 (3,4%) (n = 52)	8 (11,3%) (n = 61)	$p = 0,079$
Schlaganfall	1 (1,7%) (n = 52)	3 (4,2%) (n = 61)	$p = 0,372$
Varikosis	2 (3,4%) (n = 52)	4 (5,6%) (n = 60)	$p = 0,410$
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	4 (6,8%) (n = 52)	3 (4,2%) (n = 61)	$p = 0,411$
Tiefe Venenthrombose	7 (11,9%) (n = 53)	4 (5,6%) (n = 62)	$p = 0,182$
Gastritis	3 (5,1%) (n = 54)	5 (7,0%) (n = 62)	$p = 0,438$
Gastrointestinale Ulcuserkrankung	3 (5,1%) (n = 52)	1 (1,4%) (n = 61)	$p = 0,251$
Cholezystitis	1 (1,7%) (n = 52)	1 (1,4%) (n = 61)	$p = 0,711$

Leberzirrhose	1 (1,7%) (n = 52)	0 (0%) (n = 61)	p = 0,460
Hyperthyreose	2 (3,4%) (n = 51)	4 (5,6%) (n = 61)	p = 0,428
Hypothyreose	3 (5,1%) (n = 51)	4 (5,6%) (n = 61)	p = 0,600
Diabetes mellitus (nicht insulinpflichtig)	7 (11,9%) (n = 51)	6 (8,5%) (n = 60)	p = 0,376
Diabetes mellitus (insulinpflichtig)	2 (3,4%) (n = 51)	6 (8,5%) (n = 60)	p = 0,195
Hyperlipoproteinämie	6 (10,2%) (n = 52)	11 (15,5%) (n = 61)	p = 0,244
Gicht	2 (3,4%) (n = 52)	5 (7,0%) (n = 61)	p = 0,290
Malignom	12 (20,3%) (n = 52)	12 (16,9%) (n = 61)	p = 0,416
Rheumatoide Arthritis	1 (1,7%) (n = 52)	4 (5,6%) (n = 61)	p = 0,236
Osteoporose	2 (3,4%) (n = 52)	3 (4,2%) (n = 62)	p = 0,576
Epilepsie	1 (1,7%) (n = 52)	2 (2,8%) (n = 62)	p = 0,566
Morbus Parkinson	1 (1,7%) (n = 52)	0 (0%) (n = 61)	p = 0,460
Sonstige psychiatrische Diagnosen	3 (5,1%) (n = 52)	2 (2,8%) (n = 61)	p = 0,424
Polyneuropathie	0 (0%) (n = 57)	1 (1,4%) (n = 61)	p = 0,540
Alkoholismus	0 (0%) (n = 57)	3 (4,2%) (n = 61)	p = 0,157

Es ergab sich bei der Verteilung der Nebendiagnosen kein signifikanter Unterschied zwischen der Kohorte mit COPD und der Kohorte ohne COPD.

4.4 Spirometrie

Es erfolgte die Kategorisierung der Studienpopulation anhand ihrer spirometrischen Daten. In Abbildung 3 sind die gemessenen FEV₁-Werte der Probanden dargestellt. Zunächst wurden die Patienten in zwei Kohorten aufgeteilt. Eine Gruppe bildeten diejenigen mit relevanter bronchialer

Obstruktion (Tiffeneau Index $< 0,7$) und die restlichen Patienten ohne Obstruktion. Die Patienten mit Obstruktion wiesen im Median eine FEV₁ vom Soll von 59,9% (49,0-72,1%) auf. Bei den Patienten ohne Obstruktion ließ sich eine FEV₁ in % vom Soll im Median von 79,9% (65,9-93,4%) finden. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war signifikant ($p < 0,001$).

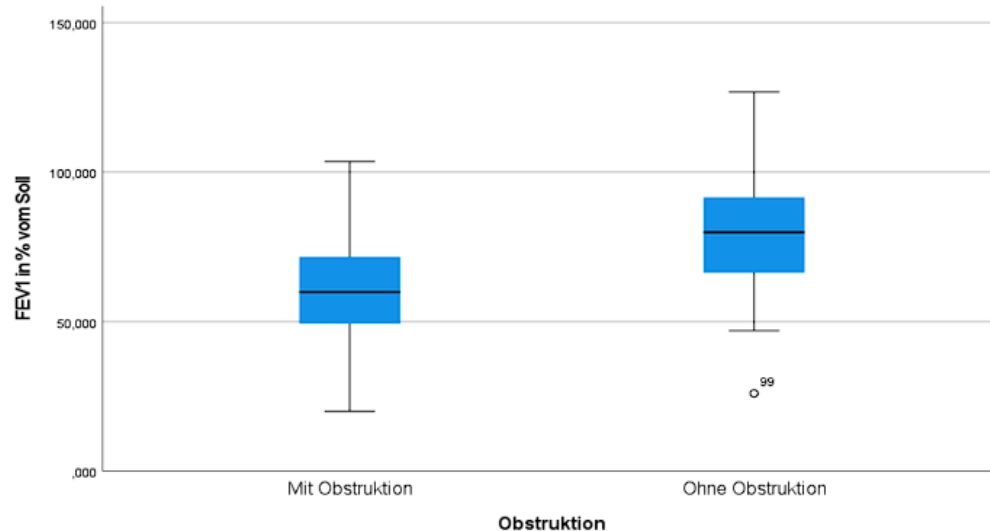


Abbildung 3: Verteilung der gemessenen FEV₁-Werte im Vergleich der beiden Patientengruppen, Abkürzungen: FEV₁= Forcierte Einsekundenkapazität

Die nachfolgende Abbildung 4 zeigt die Anzahl und Verteilung der COPD-Stadien Patienten nach GOLD.

Von den eingeschlossenen Probanden wiesen 59 eine irreversible Atemwegsobstruktion auf. Hierbei waren 9 Patienten der COPD GOLD I Kohorte zuzuordnen, 29 Patienten wiesen eine COPD im GOLD-Stadium II auf, 14 Patienten wiesen eine COPD im Stadium GOLD III auf und 7 Patienten konnten der COPD GOLD IV Kohorte zugeordnet werden.

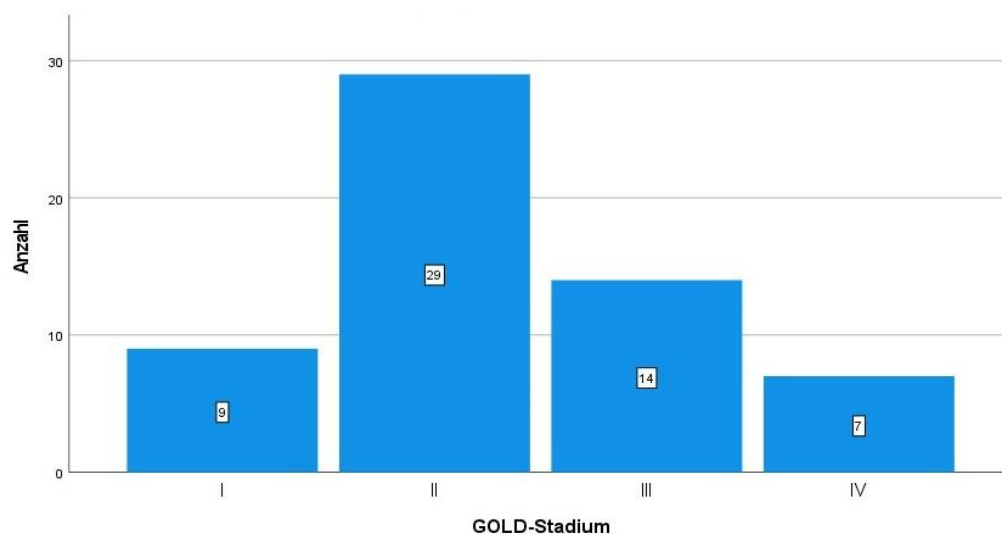


Abbildung4: Anzahl und Verteilung der COPD-Stadien nach GOLD, Abkürzungen: COPD= Chronic obstructive pulmonary disease, GOLD = Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease.

4.5 Die Konzentrationen von PD-1/ PD-L1 in Serum und BAL

Ausgewertet wurden die Serumkonzentrationen von PD-1/ PD-L1 sowie die entsprechenden Konzentrationen in BAL-Proben.

4.5.1 Korrelation der PD-1 und PD-L1-Spiegel in Serum und BAL

Die Abbildungen 5 bis 16 zeigen die Zusammenhänge zwischen den BAL- und Serumspiegeln bei obstruktiven und nicht-obstruktiven Patienten.

Zunächst wurden die Patienten **mit Atemwegsobstruktion** hinsichtlich PD-1 und PD-L1 untersucht.

4.5.1.1 Korrelationen PD-1 und PD-L1 bei Patienten mit bronchialer Obstruktion

Abb. 5 zeigt den Zusammenhang zwischen den Spiegeln von PD-1 und PD-L1 in der BAL bei Patienten mit Atemwegsobstruktion.

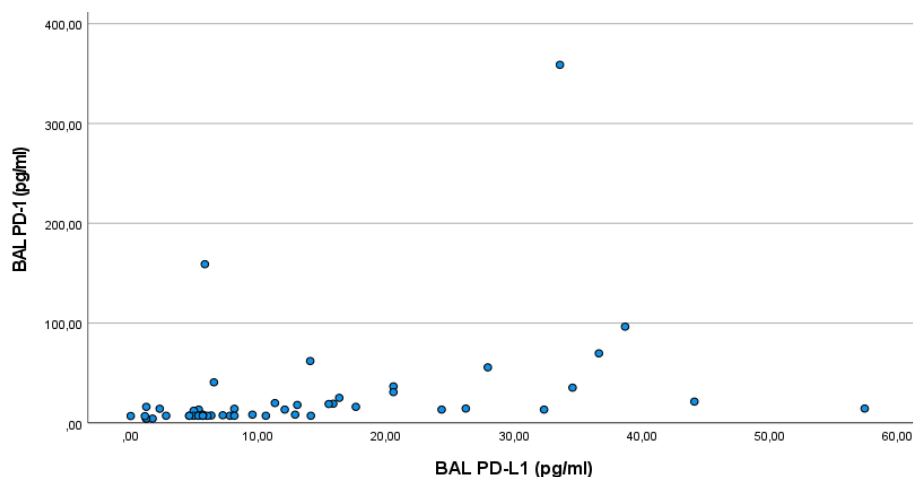


Abbildung 5: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 in der BAL bei obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand eine signifikante positive Korrelation zwischen den Messwerten von PD-1 und PD-L1 in der BAL bei obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,712$, $n = 50$, $p < 0,001$).

Die folgende Abbildung 6 zeigt den Zusammenhang der Konzentrationen von löslichem PD-1 in der BAL und im Serum bei obstruktiven Patienten.

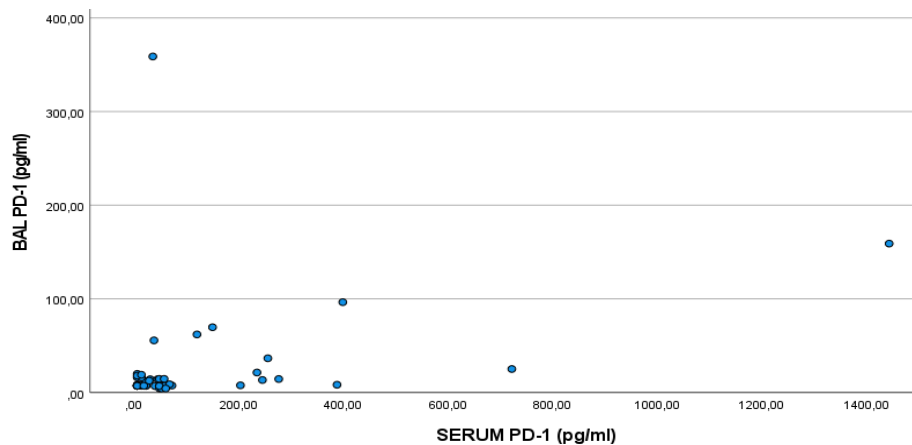


Abbildung 6: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-1 im Serum bei obstruktiven Patienten. Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1

Es bestand auch hier ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 in BAL und Serum bei obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,340$, $n = 46$, $p = 0,021$).

Folgend wurde der Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von BAL PD-1 und Serum PD-L1 bei obstruktiven Patienten untersucht (Abbildung 7).

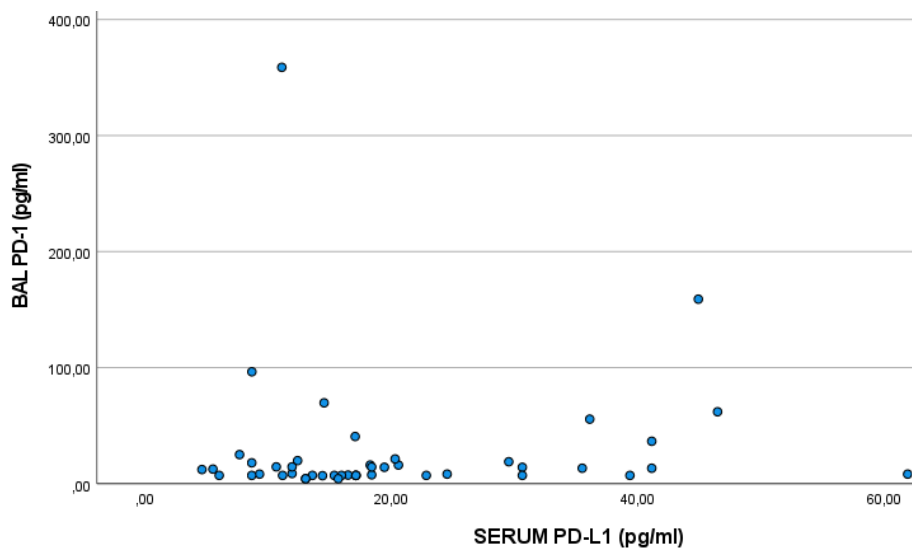


Abbildung 7: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-L1 im Serum bei obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand hier allerdings kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 in der BAL und PD-L1 im Serum bei den obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $p = 0,137$, $n = 46$, $p = 0,364$).

In der folgenden Abbildung 8 ist der Zusammenhang der Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum bei der Gruppe der obstruktiven Patienten dargestellt.

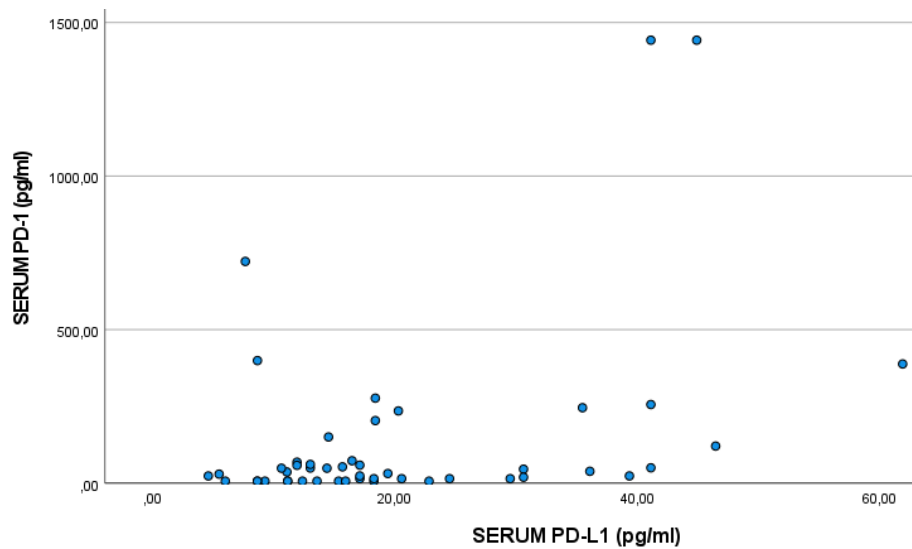


Abbildung 8: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum bei obstruktiven Patienten, Abkürzungen: PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Wir konnten hier wieder einen signifikanten positiven Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 und PD-L1 im Serum bei obstruktiven Patienten beobachten (Spearman-Rho $\rho = 0,336$, $n = 48$, $p = 0,020$).

In der folgenden Abbildung 9 sind die Zusammenhänge von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum bei den obstruktiven Patienten dargestellt.

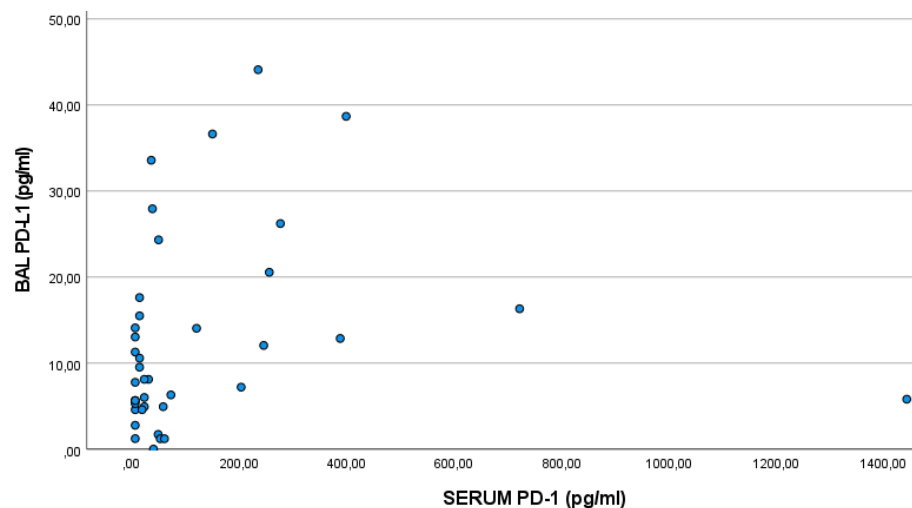


Abbildung 9: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum bei obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum bei obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,355$, $n = 40$, $p = 0,025$).

Nachfolgend sind in Abbildung 10 die Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen von PD-L1 in der BAL und im Serum dargestellt.

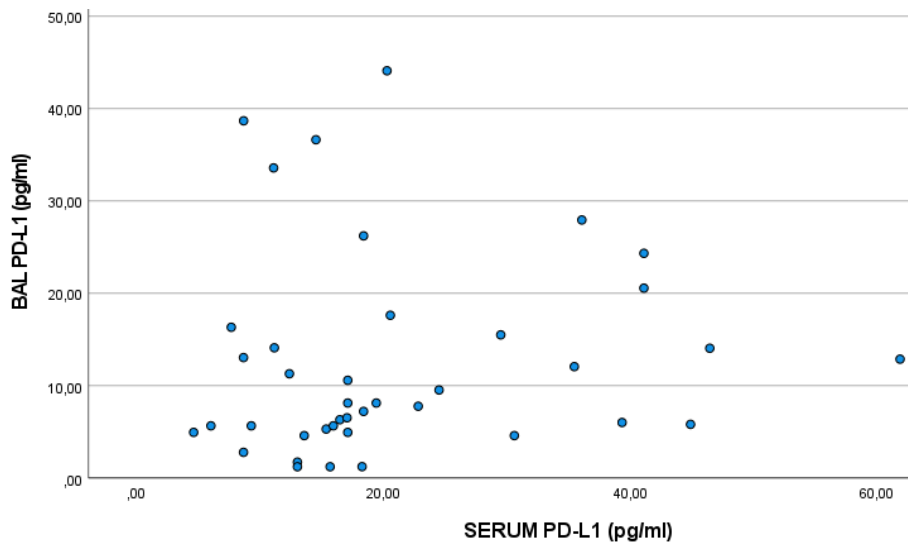


Abbildung 10: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-L1 in der BAL und im Serum bei obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Hierbei fanden wir wiederum keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den Markerkonzentrationen (Spearman-Rho $\rho = 0,234$, $n = 40$, $p = 0,147$).

4.5.1.2 Korrelationen von PD-1 und PD-L1 bei Patienten ohne bronchiale Obstruktion

Die folgenden Abbildungen 11 bis 16 zeigen nun die Zusammenhänge der Konzentrationen der gemessenen Biomarker bei der Kohorte der Patienten **ohne Atemwegsobstruktion** auf. In der folgenden Abbildung 11 sind zunächst die Zusammenhänge der Konzentrationen von BAL PD-1 und PD-L1 bei den nicht-obstruktiven Patienten dargestellt.

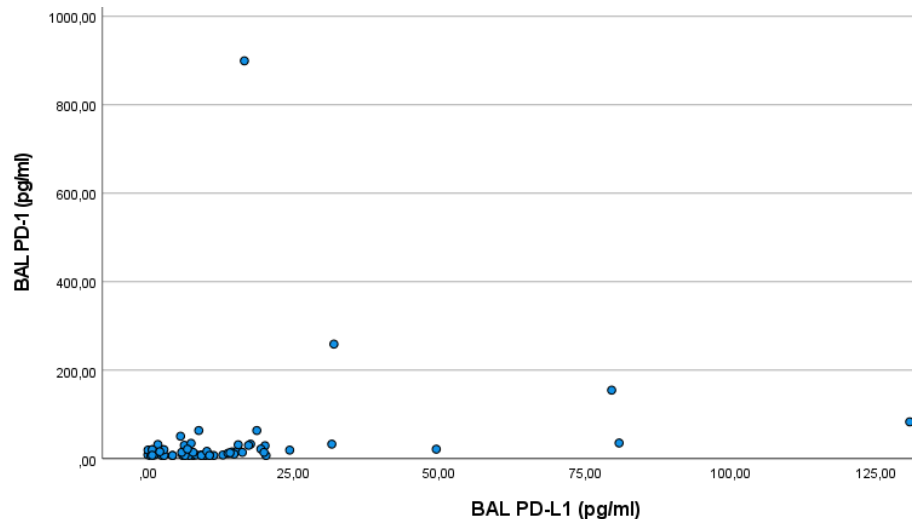


Abbildung 11: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD- und PD-L1 in der BAL bei nicht- obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 und PD-L1 in der BAL bei den nicht- obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,383$, $n = 60$, $p = 0,003$).

Die nachfolgende Darstellung 12 stellt die Zusammenhänge zwischen den Konzentrationen von BAL PD-1 und Serum PD-1 bei den Patienten ohne Atemwegsobstruktion dar.

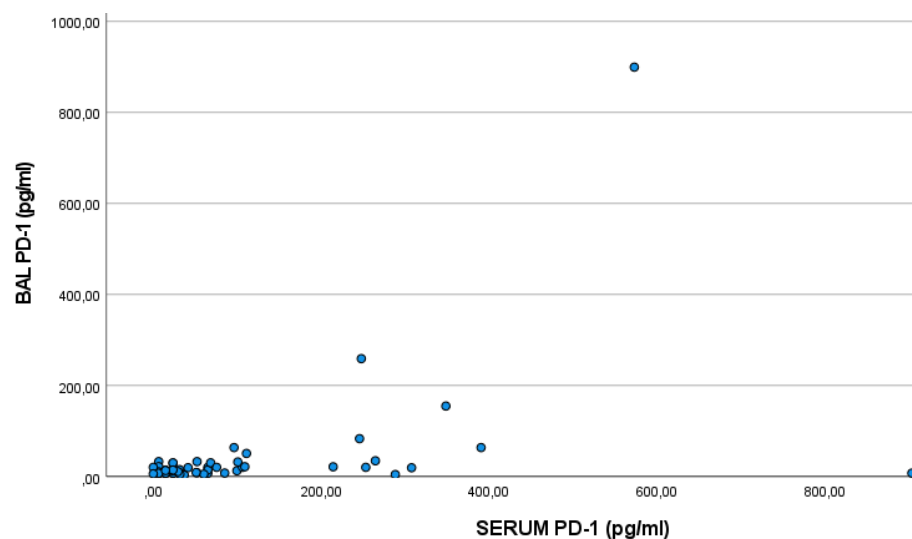


Abbildung 12: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-1 in Serum und BAL bei nicht-obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1

Es bestand ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 in der BAL und PD-1 im Serum bei nicht-obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,501$, $n = 60$, $p < 0,001$).

Folgend sind in Abbildung 13 die Zusammenhänge der Konzentrationen von BAL PD-1 und Serum PD-L1 bei der nicht-obstruktiven Gruppe aufgezeigt.

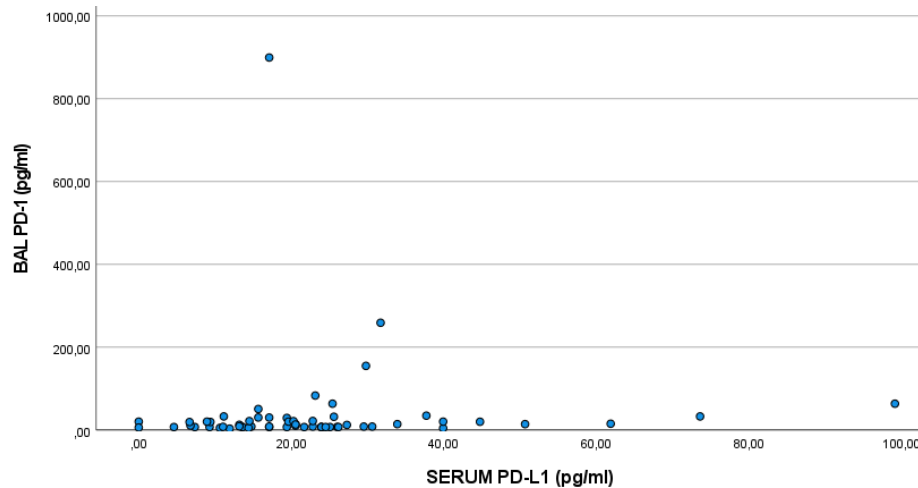


Abbildung 13: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-1 im Serum bei nicht- obstruktiven Patienten, Abkürzung: Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten in BAL und im Serum (Spearman-Rho $\rho = 0,257$, $n = 60$, $p = 0,048$).

Weiterhin wurden auch die Zusammenhänge der Konzentrationen von löslichem PD-1 und PD-L1 im Serum bei der Kohorte der nicht-obstruktiven Patienten untersucht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 14 dargestellt.

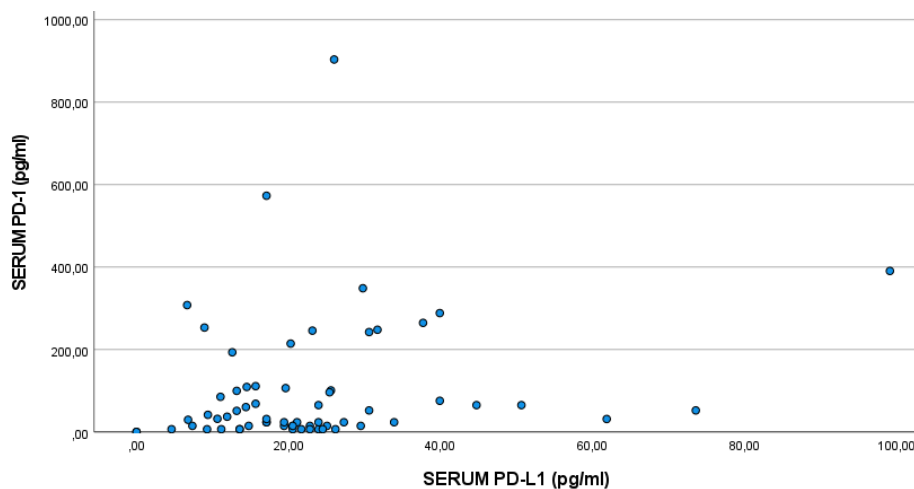


Abbildung 14: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum bei nicht- obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es bestand ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-1 und PD-L1 im Serum bei den nicht-obstruktiven Patienten (Spearman-Rho $\rho = 0,270$, $n = 63$, $p = 0,033$).

In Abbildung 15 ist der Vergleich der Konzentrationen von PD-L1 der BAL und PD-1 im Serum bei den nicht-obstruktiven Patienten dargestellt.

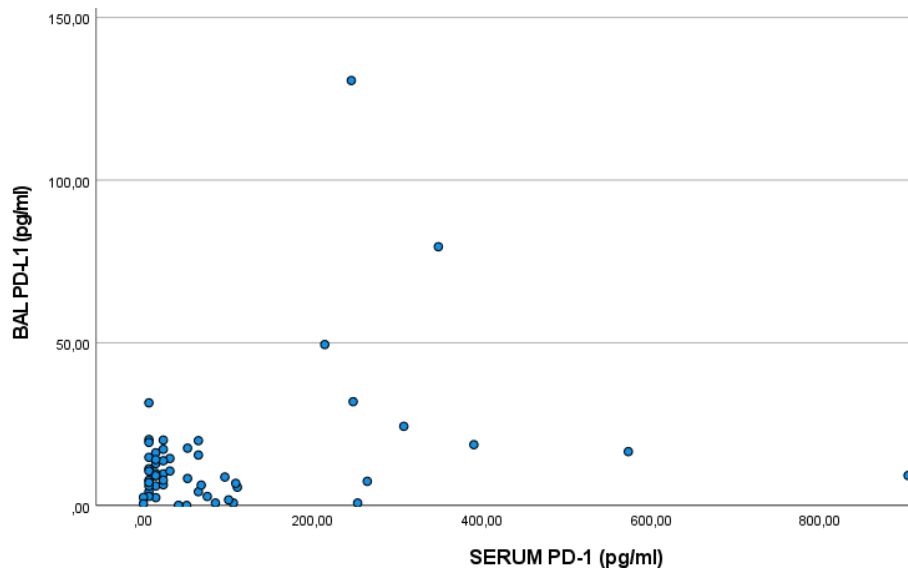


Abbildung 15: Korrelation der zwischen den Konzentrationen von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Bei der Auswertung fand sich allerdings kein signifikanter Zusammenhang der Konzentrationen der Biomarker (Spearman-Rho $\rho = 0,131$, $n = 54$, $p = 0,344$).

Zuletzt ist in Abbildung 16 noch der Zusammenhang zwischen den Messwerten von PD-L1 in Serum und BAL dargestellt.

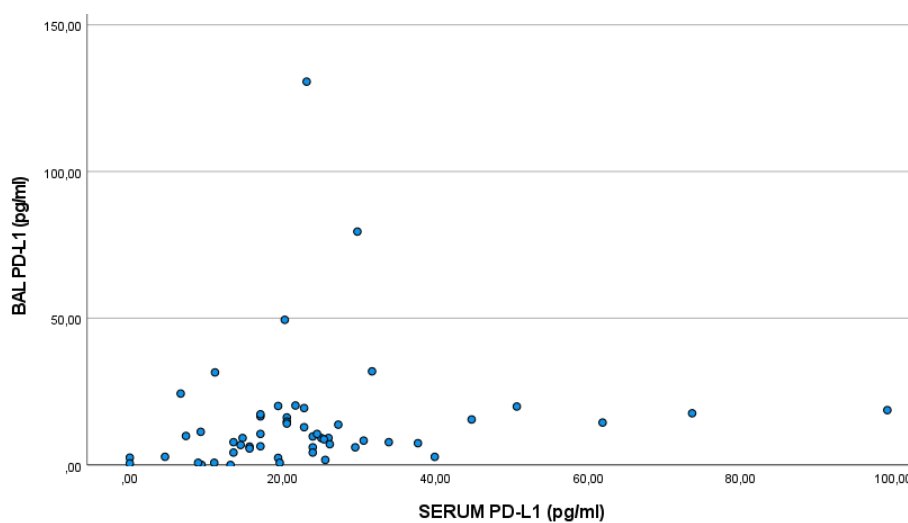


Abbildung 16: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-L1 in Serum und BAL, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Auch im Hinblick auf PD-L1 in BAL und Serum ließ sich ein signifikanter Zusammenhang der Konzentrationen der Biomarker bei den nicht-obstruktiven Patienten nachweisen (Spearman-Rho $\rho = 0,335$, $n = 54$, $p = 0,013$).

Zusammenfassend fand sich jeweils eine signifikante Korrelation von PD-1 und PD-L1 in den beiden untersuchten Medien BAL und Serum, und zwar sowohl bei Patienten mit als auch bei Patienten ohne Obstruktion. Außerdem fand sich eine Korrelation von PD-1 in Serum und BAL, ebenfalls unabhängig vom Vorhandensein einer Obstruktion. Die Werte von PD-L1 in BAL und Serum korrelierten bei beiden Patientengruppen nicht miteinander.

PD-1 in der BAL korrelierte nur bei Patienten ohne Obstruktion mit der PD-L1-Konzentration im Serum während PD-L1 in der BAL nur bei Patienten mit Obstruktion mit der PD-1-Konzentration im Serum korrelierte.

4.5.2 Konzentration der Marker bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten

Es erfolgte anschließend eine Auswertung der gemessenen Markerkonzentrationen hinsichtlich ihrer Unterschiede zwischen den beiden Patientengruppen mit und ohne COPD. Die beiden Patientengruppen wurden hinsichtlich ihrer spirometrischen Untersuchungen in Patienten mit einem postbronchodilatatorischen Tiffeneau-Index von $< 0,7$ bzw. $> 0,7$ unterteilt.

Anschließend wurden die Markerkonzentrationen der beiden Gruppen miteinander verglichen (Tabelle 6).

Hierbei ergab sich weder bei den Konzentrationen in der BAL noch bei den Konzentrationen im Serum ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,561$ für BAL PD-1; $p = 0,821$ für BAL-PD-L1; $p = 0,693$ für Serum PD-1 und $p = 0,179$ für Serum PD-L1).

Weiterhin wurden auch die Quotienten von BAL PD-1 und PD-L1 sowie Serum PD-1 und PD-L1 verglichen. Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,607$ für den Quotienten aus den Markerkonzentrationen im Serum und $p = 0,170$ für den Quotienten aus der BAL, jeweils Mann-Whitney-U-Test).

Tabelle 6: Messwerte der Konzentrationen der Biomarker PD-1 und PD-L1 in Serum und BAL. Die Ergebnisse werden als Median (25.-75. Perzentil) dargestellt. Die Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney-U-Test bestimmt. Sofern nicht für alle Patienten Daten vorhanden waren, wird mit n die Anzahl vorhandener Datensätze bezeichnet. Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1, COPD= Chronic obstructive pulmonary disease

Messwert/Probe	COPD (n= 59)	Keine COPD (n= 71)	Signifikanz
BAL PD-1 (pg/ml)	13,35 (7,16 – 19,17) (n= 56)	13,19 (7,16 – 21,76) (n = 67)	p = 0,561
BAL PD-L1 (pg/ml)	7,21 (4,59 – 16,32) (n = 55)	8,30 (2,41 – 15,50) (n = 67)	p = 0,821
Serum PD-1 (pg/ml)	37,67 (6,72 – 85,08) (n = 50)	31,95 (14,81 – 106,49) (n = 63)	p = 0,693
Serum PD-L1 (pg/ml)	16,77 (11,17 – 25,77) (n = 50)	20,57 (13,20 – 26,19) (n = 63)	p = 0,179
BAL PD-1/PD-L1- Quotient	1,45 (0,97 – 2,50) (n = 49)	1,41 (0,80 – 4,70) (n = 58)	p = 0,819
Serum PD-1/PD-L1- Quotient	2,11 (0,66 – 5,65) (n = 48)	1,89 (0,72 – 7,52) (n = 63)	p = 0,945
Serum PD-1/ BAL PD-1 Quotient	2,19 (0,84 – 7,62) (n = 52)	2,07 (0,94 – 5,28) (n = 59)	p = 0,908
Serum PD-1/ BAL PD-L1 Quotient	3,94 (1,19 – 11,91) (n = 39)	2,71 (1,14 – 13,34) (n = 50)	p = 0,694
Serum PD-L1/ BAL PD-1	1,37 (0,73 – 2,40) (n = 47)	1,56 (0,66 – 2,80) (n = 57)	p = 0,842
Serum PD-L1/ BAL PD-L1	2,43 (1,07- 3,08) (n = 40)	2,32 (1,03- 4,28) (n = 51)	p = 0,728

Es ergab sich zwischen den beiden Patientengruppen kein signifikanter Unterschied in den Konzentrationen der Biomarker.

In den nachfolgenden Abbildungen 17 bis 20 sind die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen zwischen den beiden Gruppen im Boxplot dargestellt.

Abbildung 17 zeigt den Vergleich der Konzentrationen der BAL PD-1-Messwerte zwischen den Patienten mit und ohne Obstruktion.

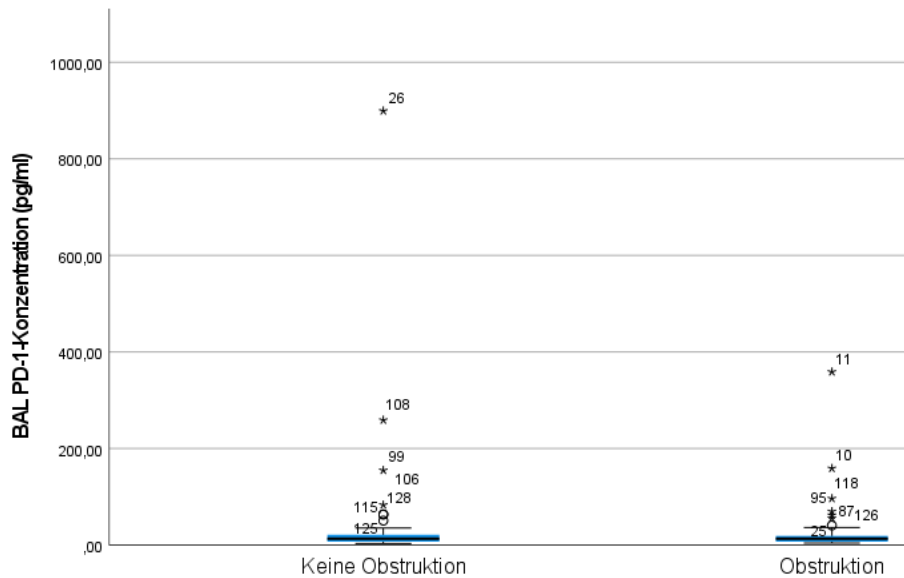


Abbildung 17: Konzentrationen von BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1

Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war nicht signifikant ($p = 0,561$, Mann-Whitney-U-Test).

Nachfolgend (Abbildung 18) ist die Darstellung der Messwerte von PD-L1 in der BAL und der entsprechende Vergleich der Gruppen mit und ohne Atemwegsobstruktion.

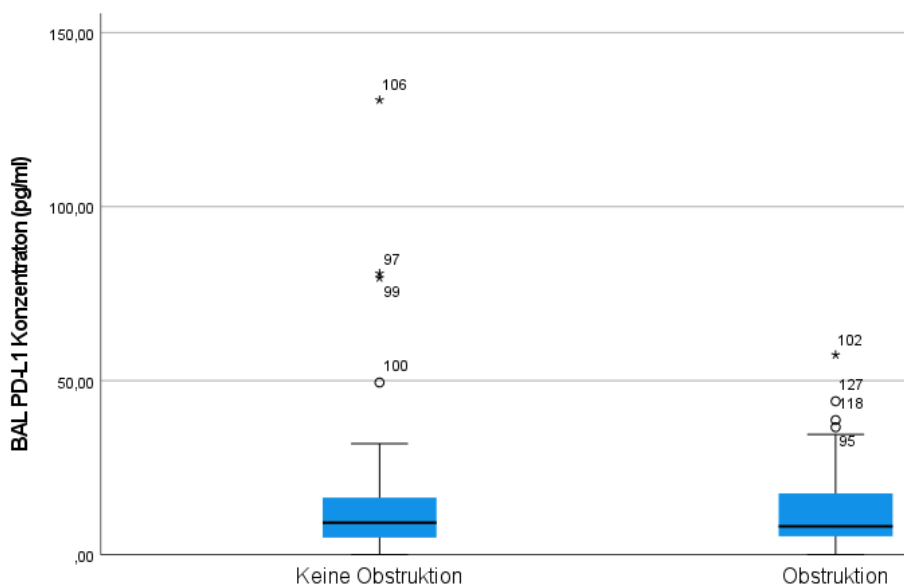


Abbildung 18: Konzentrationen von BAL PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Hierbei fanden wir ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,821$, Mann-Whitney-U-Test).

Ebenso getestet und zwischen den beiden Gruppen verglichen wurden die Messwerte von PD-1 im Serum (Abbildung 19).

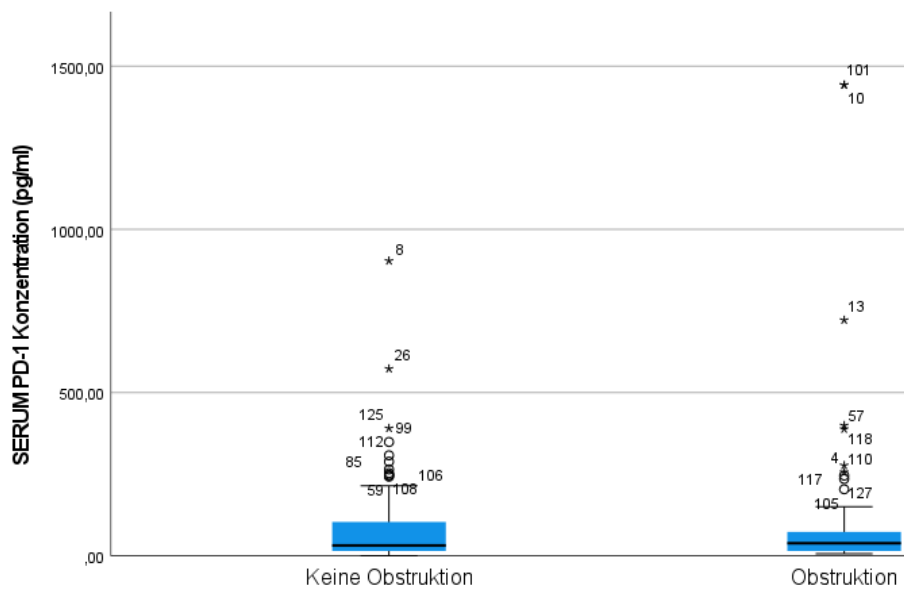


Abbildung 19: Konzentrationen von Serum PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: PD-1= Programmed Death Protein-1

Auch im Hinblick auf die Werte von Serum PD-1 fanden wir keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,693$, Mann-Whitney-U-Test)

Es erfolgte ebenso ein Vergleich der PD-L1-Werte im Serum zwischen obstruktiven und nicht-obstruktiven Patienten (Abbildung 20).

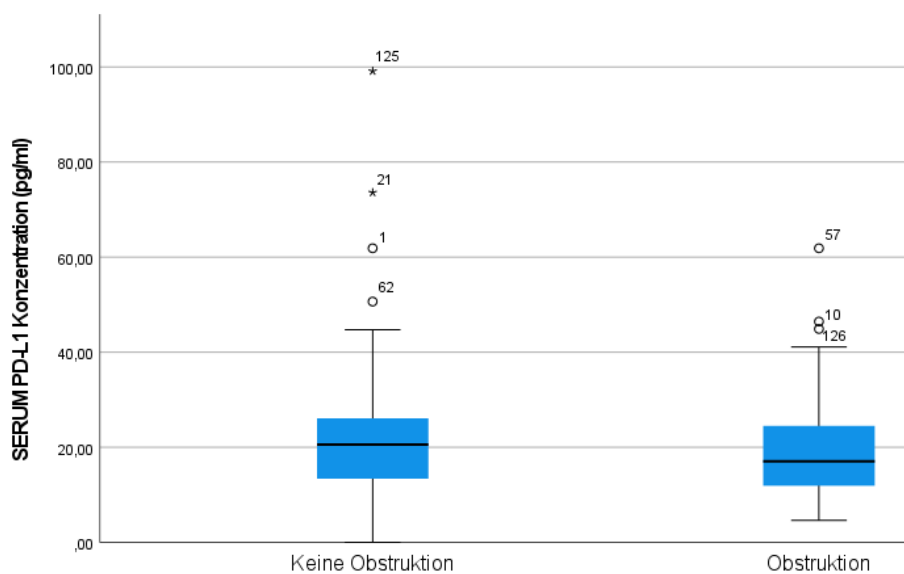


Abbildung 20: Konzentrationen von Serum PD-L1 bei obstruktiven und nicht- obstruktiven Patienten, Abkürzungen: PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Auch bei den Messwerten von PD-L1 im Serum ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Patientengruppen ($p = 0,179$, Mann-Whitney-U-Test)

Nach erfolgtem einfachem Vergleich der Messwerte erfolgte die Bildung entsprechender Messwertverhältnisse. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 21 bis 26 dargestellt. Abbildung 21 zeigt den Unterschied des Quotienten von PD-1 und PD-L1 aus den Messwerten der BAL-Proben.

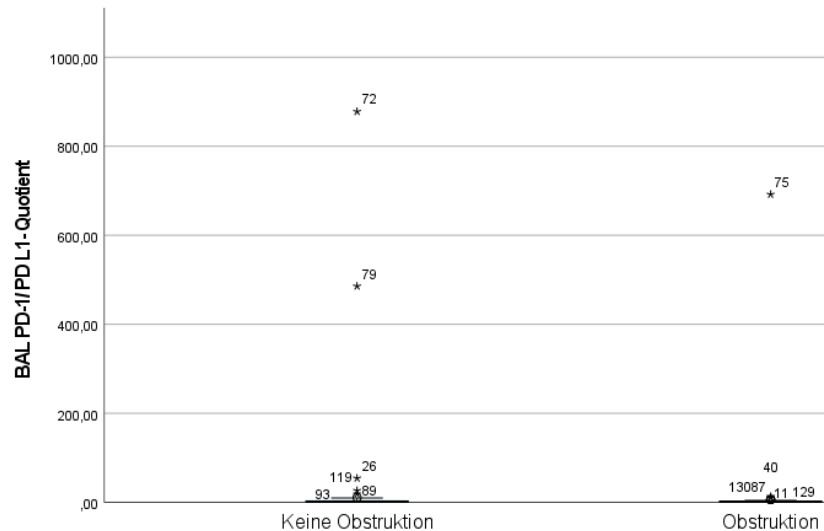


Abbildung 21: Quotienten der Konzentrationen von BAL PD-1 und PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

In der BAL ergab sich bei den Quotienten von PD-1 und PD-L1 kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,819$, Mann-Whitney-U-Test). Wir verglichen ebenso den Quotienten von PD-1 und PD-L1 im Serum zwischen den beiden Patientengruppen (Abbildung 22).

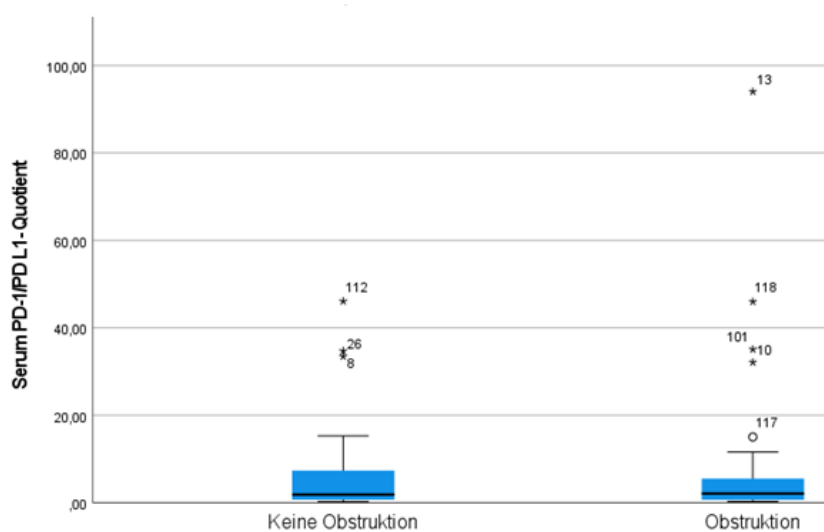


Abbildung 22: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Auch im Vergleich der Quotienten ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen im Hinblick auf die Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum ($p = 0,945$, Mann-Whitney-U-Test).

Nach Vergleich der Messwerte jeweils getrennt nach BAL und Serum erfolgte auch ein Vergleich der Konzentrationsverhältnisse zueinander. Diese sind in den Abbildungen 23 bis 26 dargestellt.

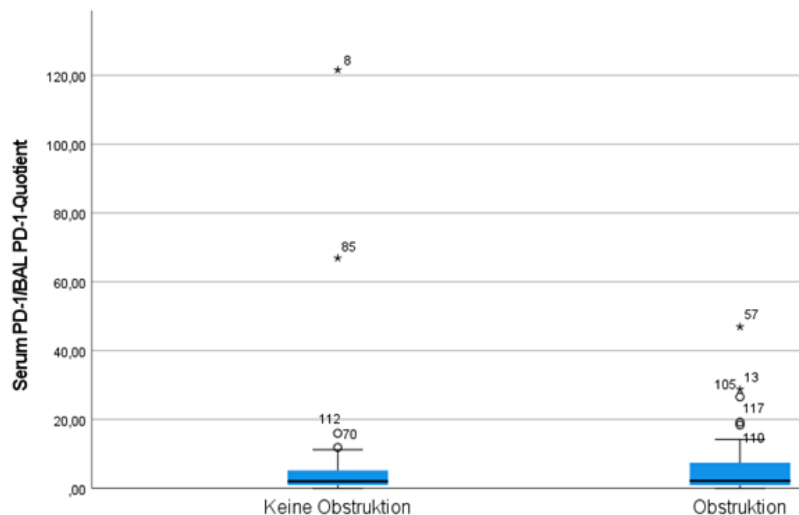


Abbildung 23: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1

Im Hinblick auf die Quotienten von PD-1 im Serum und PD-1 in der BAL ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,908$, Mann-Whitney-U-Test).

Nachfolgend ist in Abbildung 24 der Vergleich der Quotienten aus Serum PD-1 und BAL PD-L1 dargestellt.

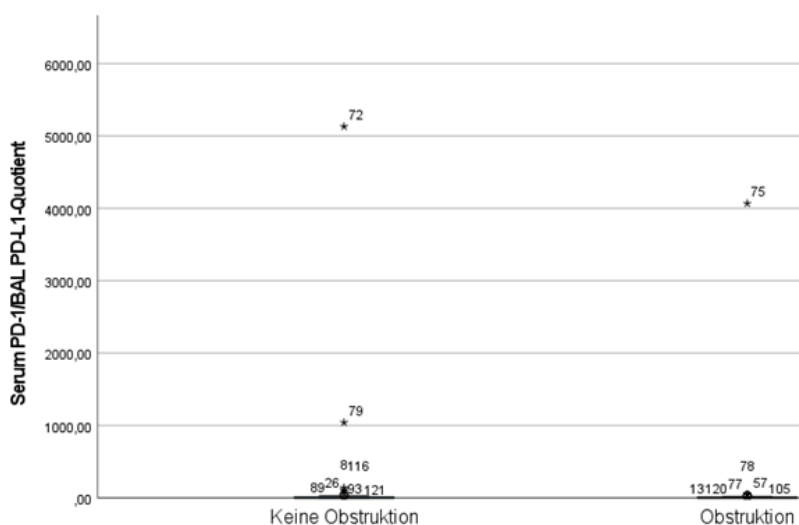


Abbildung 24: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es zeigte sich auch beim Vergleich von Serum PD-1 und BAL PD-L1 kein signifikanter Unterschied zwischen den Quotienten der Messwerte ($p = 0,694$, Mann-Whitney-U-Test). Die folgende Abbildung 25 zeigt den Vergleich von PD-L1 im Serum und PD-1 in der BAL zwischen den Patienten mit und ohne Atemwegsobstruktion.

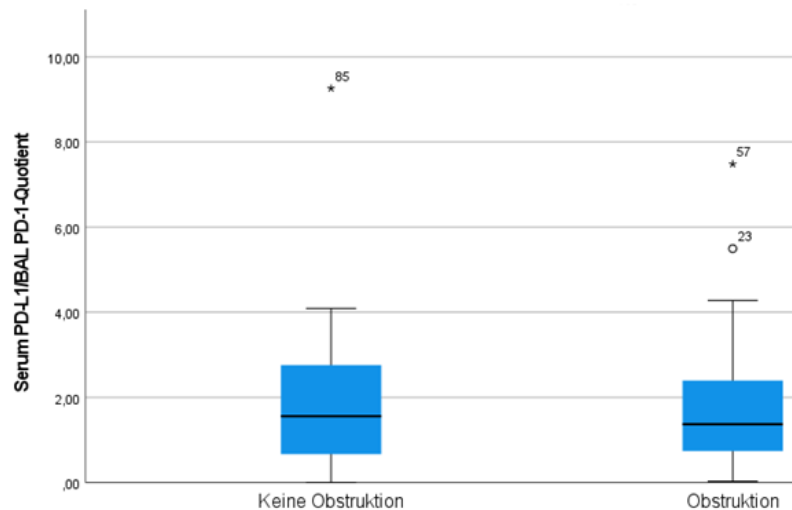


Abbildung 25: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Patientengruppen ($p = 0,842$, Mann-Whitney-U-Test). Zuletzt ist in Abbildung 25 der Vergleich des Quotienten der PD-L1-Werte aus Serum und BAL der beiden Gruppen aufgezeigt.

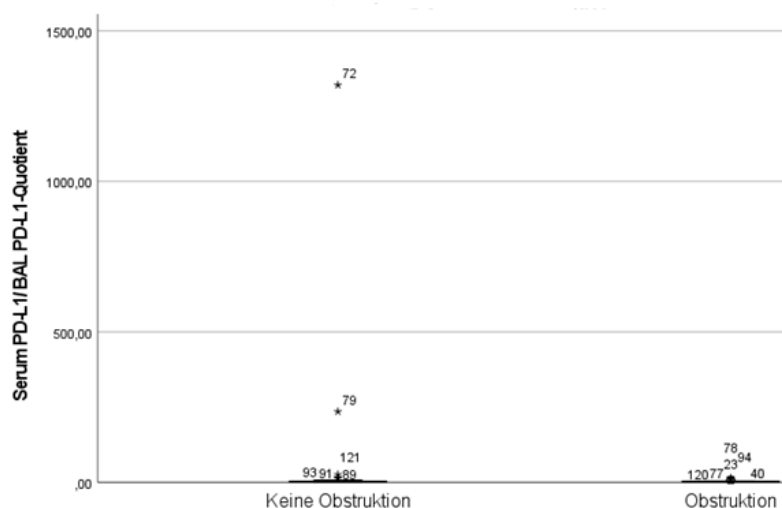


Abbildung 26: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Es ergab sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Testgruppen ($p = 0,728$, Mann-Whitney-U-Test)

4.5.3 Der Einfluss des Geschlechts auf die Markerkonzentrationen

Wir untersuchten die Patienten auch auf etwaige Unterschiede in den Markerkonzentrationen hinsichtlich des Geschlechts. Hierbei fanden wir keine signifikanten Unterschiede in den direkt gemessenen Konzentrationen (BAL PD-1 $p = 0,868$; BAL PD-L1 $p = 0,740$, Serum PD-1 $p = 0,184$, Serum PD-L1 $p = 0,568$).

Zusätzlich wurden die Quotienten aus den gleichnamigen Biomarkern im Serum sowie in der BAL untersucht. Hierbei ergab sich ein signifikanter Unterschied im Serum PD-1/PD-L1-Quotienten ($p = 0,032$) mit signifikant höheren Werten bei Männern.

Tabelle 7: Verteilung der Konzentrationen der Biomarker PD-1 und PD-L1 im Serum und in der BAL sowie der Quotienten aus PD-1/PD-L1 verteilt auf beide Geschlechter. Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage; COPD= Chronic Obstructive Pulmonary Disease; PD-1 = Programmed Death Receptor 1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1. Die Ergebnisse werden als Median (25.–75. Perzentil) dargestellt. Die Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney U Test bestimmt. Sofern nicht für alle Patienten Daten vorhanden waren, wird mit n die Anzahl der vorhandenen Datensätze bezeichnet.

Marker	Geschlecht		Signifikanz
	Männlich (n=84)	Weiblich (n=40)	
BAL PD-1 (pg/ml)	13,35 (7,16 – 22,59) (n = 78)	12,59 (7,16 – 19,89) (n = 39)	$p = 0,868$
BAL PD-L1 (pg/ml)	9,71 (5,3 – 19,39) (n = 71)	8,83 (5,77– 15,59) (n = 34)	$p = 0,740$
Serum PD-1 (pg/ml)	41,17 (14,81 – 195,97) (n = 74)	23,68 (12,79 – 78,07) (n = 34)	$p = 0,184$
Serum PD-L1 (pg/ml)	17,12 (11,17 – 30,21) (n = 73)	20,30 (13,59 – 24,52) (n = 35)	$p = 0,568$
BAL PD-1/PD-L1- Quotient	1,45 (0,85 – 2,58) (n = 69)	1,22 (0,88 – 2,23) (n = 33)	$p = 0,582$
Serum PD1/PD-L1- Quotient	3,12 (0,78 – 7,38) (n = 73)	1,04 (0,50 – 5,27) (n = 34)	$p = 0,032$
Serum PD-1/ BAL PD-1 Quotient	2,22 (0,94 – 6,67) (n = 73)	1,94 (0,94 – 3,82) (n = 34)	$p = 0,625$
Serum PD-1/ BAL PD-L1 Quotient	3,01 (1,34 – 17,15) (n = 58)	2,01 (0,98 – 5,94) (n = 28)	$p = 0,192$
Serum PD-L1/ BAL PD-1 Quotient	1,50 (0,65 – 2,66) (n = 67)	1,98 (0,99 – 2,99) (n = 33)	$p = 0,283$
Serum PD-L1/ BAL PD-L1 Quotient	1,99 (0,97 – 3,47) (n = 59)	2,57 (1,33 – 4,45) (n = 29)	$p = 0,327$

4.5.4 Der Einfluss des Gewichts auf die Markerkonzentrationen

Wir untersuchten ebenso den Einfluss des Körpergewichts auf die Konzentrationen der Biomarker. Tabelle 8 zeigt die Unterschiede der verschiedenen Marker und deren Quotienten hinsichtlich eines vorhandenen Übergewichts der Patienten. Als Grenze wurde die aktuelle WHO-Definition für Übergewicht herangezogen (Body Mass Index $\geq 25 \text{ kg/m}^2$). Es ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen übergewichtigen und nicht-übergewichtigen Patienten.

Tabelle 8: Der Zusammenhang von Übergewicht und den Konzentrationen der Biomarker, Abkürzungen: BAL = Bronchoalveoläre Lavage; BMI= Body Mass Index; PD1 = Programmed Death Receptor 1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1. Die Ergebnisse werden als Median (25.–75. Perzentil) dargestellt. Die Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney U Test bestimmt. Sofern nicht für alle Patienten Daten vorhanden waren, wird mit n die Anzahl der vorhandenen Datensätze bezeichnet.

Marker	BMI		Signifikanz
	Übergewicht ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) (n= 81)	Kein Übergewicht ($< 25 \text{ kg/m}^2$) (n=45)	
BAL PD-1(pg/ml)	14,16 (7,16 – 20,16) (n = 75)	10,5 (7,16 – 21,46) (n = 44)	$p = 0,452$
BAL PD-L1 (pg/ml)	10,58 (5,33 – 18,69) (n = 67)	7,42 (4,41 – 13,55) (n = 41)	$p = 0,132$
Serum PD-1 (pg/ml)	40,68 (14,81 – 209,17) (n = 69)	31,5 (10,77 – 103,69) (n = 41)	$p = 0,422$
Serum PD-L1(pg/ml)	18,28 (12,22 – 28,97) (n = 68)	19,43 (12,56 – 25,21) (n = 42)	$p = 0,815$
BAL PD-1/ PD-L1-Quotient	1,32 (0,84 – 2,73) (n = 66)	1,69 (0,94 – 2,97) (n = 39)	$p = 0,345$
Serum PD1/ PD-L1-Quotient	2,65 (0,70 – 6,77) (n = 68)	1,49 (0,72 – 5,58) (n = 41)	$p = 0,752$
Serum PD-1/ BAL PD-1 Quotient	2,07 (0,87– 6,01) (n = 69)	2,16 (0,94 – 5,28) (n = 39)	$p = 0,569$
Serum PD-1/ BAL PD-L1 Quotient	2,98 (1,18 – 20,38) (n = 55)	3,40 (1,34 – 9,04) (n = 34)	$p = 0,826$
Serum PD-L1/BAL PD-1 Quotient	1,56 (0,66 – 2,40) (n = 62)	1,41 (0,66 – 3,01) (n = 40)	$p = 0,978$
Serum PD-L1/BAL PD-L1 Quotient	2,47 (0,99 – 3,70) (n = 55)	2,36 (1,14 – 3,91) (n = 36)	$p = 0,752$

4.5.5 Der Einfluss des Schweregrades der Obstruktion auf die Markerkonzentrationen

Die Konzentrationen der Biomarker wurden innerhalb der Gruppe mit persistierender Atemwegsobstruktion auf eventuelle Zusammenhänge geprüft.

Die Patienten wurden anschließend anhand ihrer GOLD-Stadien auf Unterschiede zwischen den vier verschiedenen Gruppen untersucht (Tabelle 9).

Tabelle 9: Unterschied zwischen in den Markerkonzentrationen zwischen den COPD-Gruppen GOLD I bis GOLD IV, Abkürzungen: BAL = Bronchoalveoläre Lavage; COPD = Chronic Obstructive Pulmonary Disease; PD1 = Programmed Death Receptor 1, PD-L1 = Programmed Death Ligand-1. H = Teststatistik; df = Anzahl der Freiheitsgrade. Getestet wurde mittels Kruskal-Wallis-Test, Signifikanzniveau $p < 0.05$

Marker	Teststatistik (H =)	Freiheitsgrade (df =)	Anzahl (n =)	Signifikanz
BAL PD-1	2,745	3	56	$p = 0,433$
BAL PD-L1	2,349	3	50	$p = 0,503$
Serum PD-1	0,069	3	49	$p = 0,995$
Serum PD-L1	0,774	3	49	$p = 0,856$
BAL PD1/PD-L1- Quotient	1,792	3	49	$p = 0,617$
Serum PD1/ PD-L1-Quotient	0,172	3	48	$p = 0,982$
Serum PD-1/ BAL PD-1-Quotient	3,455	3	52	$p = 0,327$
Serum PD-1/ BAL PD-L1-Quotient	2,605	3	39	$p = 0,457$
Serum PD-L1/ BAL PD-1-Quotient	3,082	3	47	$p = 0,379$
Serum PD-L1/ BAL PD-L1-Quotient	2,748	3	40	$p = 0,432$

Es ergab sich beim Vergleich der vier COPD-Stadien kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Biomarkerkonzentrationen, weder in BAL noch im Serum.

Als nächstes wurden die Patienten in zwei Gruppen anhand ihrer FEV₁ in eine Gruppe mit leichter und eine Gruppe mit schwerer Obstruktion unterteilt. Als Cutoff diente hierbei ein Wert von 50% vom Soll, entsprechend einer Gruppe mit formaler COPD Gold I/II und einer Gruppe mit COPD

Gold III/IV. Auch beim Vergleich dieser beiden Gruppen fand sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Markerkonzentrationen (Tabelle 10).

Tabelle 10: Signifikanzniveaus der Biomarkerkonzentrationen zwischen den Gruppen mit leichter und schwerer Obstruktion. Zur Anwendung kam der Mann-Whitney-U-Test. Es zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppen mit leichter und schwerer Obstruktion. Abkürzungen: BAL = Bronchoalveoläre Lavage, PD-1 = Programmed Death Receptor 1, PD-L1 = Programmed Death Ligand-1

Marker	Signifikanz
BAL PD-1	$p = 0,938$
BAL PD-L1	$p = 0,928$
Serum PD-1	$p = 0,975$
Serum PD-L1	$p = 0,607$
BAL PD-1/PD-L1-Quotient	$p = 0,468$
Serum PD-1/PD-L1-Quotient	$p = 0,788$
Serum PD-1/BAL PD-1 Quotient	$p = 0,961$
Serum PD-1/BAL PD-L1 Quotient	$p = 0,884$
Serum PD-L1/BAL PD-1 Quotient	$p = 0,445$
Serum PD-L1/BAL PD-L1 Quotient	$p = 0,342$

4.5.6 Der Einfluss des Raucherstatus auf die Markerkonzentrationen

Hinsichtlich des aktuellen Raucherstatus fanden sich 27 (20,8%) Patienten mit aktivem Nikotinabusus, 79 Patienten (60,8%) rauchten zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht. Für 24 Patienten (18,4%) war der Raucherstatus nicht zu erheben.

Es fanden sich signifikante Unterschiede zwischen Rauchern und Nichtrauchern in der Höhe des Serum PD-1 ($p = 0,010$) und der BAL PD-1/PD-L1 bzw. Serum PD-1/PD-L1-Quotienten ($p = 0,007$ bzw. $p = 0,046$). Die Kohorte der Nichtraucher wiesen dabei jeweils höhere Konzentrationen auf als die Kohorte der Raucher. Die genauen Konzentrationen und Verhältnisse können Tabelle 11 entnommen werden.

Tabelle 11: Unterschied zwischen den Konzentrationen der Biomarker und deren Quotienten im Hinblick auf den Raucherstatus Die Ergebnisse werden als Median (25.–75. Perzentil) dargestellt. Die Gruppenunterschiede wurden mittels Mann-Whitney U Test bestimmt. Sofern nicht für alle Patienten Daten vorhanden waren, wird mit n die Anzahl der vorhandenen Datensätze bezeichnet. Abkürzungen: BAL = Bronchoalveoläre Lavage; COPD = Chronic Obstructive Pulmonary Disease; PD-1 = Programmed Death Receptor 1, PD-L1= Programmed Death Ligand-1

Marker	Raucher (n=27)	Nichtraucher (n=79)	Signifikanz
BAL PD-1 (pg/ml)	7,16 (7,16 – 17,21) (n = 25)	14,16 (7,16 – 21,05) (n=76)	$p = 0,120$
BAL PD-L1(pg/ml)	9,71 (5,65 – 18,69) (n= 23)	7,77 (4,23 – 15,85) (n=67)	$p = 0,395$
Serum PD-1 (pg/ml)	23,68 (6,72 – 48,81) (n = 26)	51,83 (14,81 – 128,30) (n=66)	$p = 0,010$
Serum PD-L1 (pg/ml)	16,41 (12,09 – 22,27) (n= 26)	17,7 (11,94 – 25,47) (n=66)	$p = 0,541$
BAL PD-1/PD-L1- Quotient	1,11 (0,73 – 2,12) (n = 22)	1,69 (0,92 – 6,11) (n=66)	$p = 0,007$
Serum PD-1/PD-L1- Quotient	1,07 (0,60 – 2,50) (n = 25)	3,84 (0,72 – 7,60) (n=66)	$p = 0,046$
Serum PD-1/BAL PD- 1 Quotient	0,94 (0,84 – 3,31) (n=24)	2,21 (0,94 – 6,62) (n=66)	$p = 0,091$
Serum PD-1/BAL PD- L1 Quotient	1,50 (0,67– 3,63) (n=20)	4,27 (1,37 – 18,9) (n=54)	$p = 0,015$
Serum PD-L1/BAL PD-1 Quotient	1,56 (0,72 – 3,02) (n=22)	1,56 (0,52 – 2,39) (n=63)	$p = 0,567$
Serum PD-L1/BAL PD-L1 Quotient	1,55 (1,08 – 3,56) (n=20)	2,57 (1,03 – 4,18) (n=55)	$p = 0,415$

4.6 Lineare und nichtlineare Zusammenhänge

Ein möglicher komplexer Zusammenhang zwischen Rauchstatus, BMI, Geschlecht und Alter und den Markerkonzentrationen wurde mittels linearer Regressionen geprüft.

Als abhängige Variable wurde jeweils die FEV₁ in % vom Soll gewählt.

Das Alter, das Geschlecht, der BMI sowie der Rauchstatus wurden aufgrund ihrer klinischen Relevanz als mögliche Confounder gewählt und in alle Modelle mit aufgenommen.

In den Tabellen 12 bis 15 sind die Ergebnisse der linearen Regressionen dargestellt.

Tabelle 12: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für BAL PD-1, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, BMI= Body Mass Index

Variable	Beta	95% KI	p-Wert
BAL PD-1	0,048	- 0,155 – 0,036	0,220
Alter (Jahre)	- 0,082	- 0,620 – 0,272	0,440
BMI (kg/m ²)	0,044	- 0,756 – 1,169	0,671
Geschlecht	- 0,147	- 16,68 – 3,00	0,171
PackYears	- 0,184	- 0,285 – 0,021	0,091

Das Gesamtsystem erwies sich als nicht signifikant ($p = 0,081$) und erklärte in diesem Fall nur 5% (korrigiertes $R^2 = 0,053$) der Varianz der FEV₁ vom Soll ($n = 93$).

Unter Adjustierung auf Alter, BMI, Geschlecht und PackYears ergab sich keine signifikante Assoziation zwischen den Spiegeln der BAL PD-1-Werte und der FEV₁ vom Soll. Auch die übrigen möglichen Confounder nahmen für sich allein genommen jeweils keinen signifikanten Einfluss auf die vorhergesagte FEV₁ vom Soll.

Tabelle 13: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für BAL PD-L1, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-L1= Programmed Death Ligand-1, BMI= Body Mass Index

Variable	Beta	95% KI	p-Wert
BAL PD-L1	- 0,123	- 0,406 – 0,122	0,287
Alter (Jahre)	- 0,022	- 0,539 – 0,444	0,847
BMI (kg/m ²)	0,077	- 0,663 – 1,395	0,481
Geschlecht	- 0,167	- 18,817 – 2,661	0,138
PackYears	- 0,204	- 0,32 – 0,02	0,086

Das Gesamtsystem war nicht signifikant ($p = 0,071$) und erklärte 6,3% (korrigiertes $R^2 = 0,063$) der Varianz der FEV₁ vom Soll ($n = 84$).

Unter Adjustierung auf Alter, BMI, Geschlecht und PackYears ergab sich auch im Hinblick auf die PD-L1 Spiegel in der BAL keine signifikante Assoziation zwischen den Spiegeln und der FEV₁ vom Soll. Auch die übrigen möglichen Confounder zeigten jeweils keinen signifikanten Einfluss auf die FEV₁ in % vom Soll.

Tabelle 14: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für Serum PD-1. Das Gesamtsystem war nicht signifikant ($p = 0,191$) und erklärte 3% (korrigiertes $R^2 = 0,030$) der Varianz der FEV₁ vom Soll ($n = 87$). Abkürzungen: PD-1 = Programmed Death Protein-1, BMI = Body Mass Index

Variable	Beta	95% KI	p-Wert
Serum PD-1	- 0,032	- 0,029 – 0,022	0,774
Alter (Jahre)	- 0,029	- 0,546 – 0,416	0,790
BMI (kg/m ²)	0,105	- 0,545 – 1,540	0,345
Geschlecht	- 0,156	- 18,542 – 3,205	0,164
PackYears	- 0,203	- 0,315 – 0,012	0,069

Unter Adjustierung auf Alter, BMI, Geschlecht und PackYears ergab sich auch im Hinblick auf die PD-1 Spiegel im Serum keine signifikante Assoziation zwischen den Spiegeln und der FEV₁ vom Soll. Ebenso ergab sich keine signifikante Assoziation zwischen der FEV₁ vom Soll und den anderen Einflussvariablen.

Tabelle 15: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für PD-L1. Das Gesamtsystem war nicht signifikant ($p = 0,116$) und erklärte 4,6% (korrigiertes $R^2 = 0,046$) der Varianz der FEV₁ vom Soll ($n = 87$). Abkürzungen: PD-1 = Programmed Death Protein-1, BMI = Body Mass Index

Variable	Beta	95% KI	p-Wert
Serum PD-L1	0,015	- 0,291 – 0,335	0,889
Alter (Jahre)	- 0,042	- 0,568 – 0,383	0,699
BMI (kg/m ²)	0,076	- 0,676 – 1,409	0,486
Geschlecht	- 0,171	- 19,09 – 2,288	0,122
PackYears	- 0,228	- 0,349 – - 0,008	0,040

Unter Adjustierung auf Alter, BMI, Geschlecht und PackYears ergab sich auch im Hinblick auf die PD-L1 Spiegel im Serum keine signifikante Assoziation zwischen den Spiegeln und der FEV₁ vom Soll. Wir fanden jedoch eine signifikante Assoziation des Rauchstatus mit der FEV₁ vom Soll.

Bei Fehlen eines linearen Zusammenhangs der BAL- und Serumspiegel von löslichem PD-1 und PD-L1 wurden ergänzend auch Modellierungen mittels Restricted Cubic Splines (RCS) durchgeführt. Die Anzahl der Knoten wurde vorab auf vier festgelegt.

Für jeden der vier untersuchten Biomarker wurde der Gesamteffekt auf die FEV₁ in % vom Soll, sowie das Vorliegen eines nichtlinearen Zusammenhangs getestet. Alle Modelle wurden für BMI, Alter, Geschlecht und Rauchexposition adjustiert. Die p-Werte der Effekte der FEV₁ in % vom Soll auf die Biomarkerkonzentrationen sind in Tabelle 16 dargestellt.

Tabelle 16: *p*-Werte der multiplen Regressionsmodelle unter Verwendung von Restricted Cubic Splines (RCS) Für Variablen ohne signifikante Nichtlinearität konnte kein *p*-Wert geschätzt werden. Diese Fälle wurden als NA= Nicht anwendbar angegeben. Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, BMI= Body Mass Index

Biomarker	p-Wert	p-Wert für nichtlinear
BAL PD-1	0,386	NA
BAL PD-L1	0,852	NA
Serum PD-1	0,773	NA
Serum PD-L1	0,374	NA

In der folgenden Tabelle 27 sind die Modellierungen der RCS grafisch dargestellt.

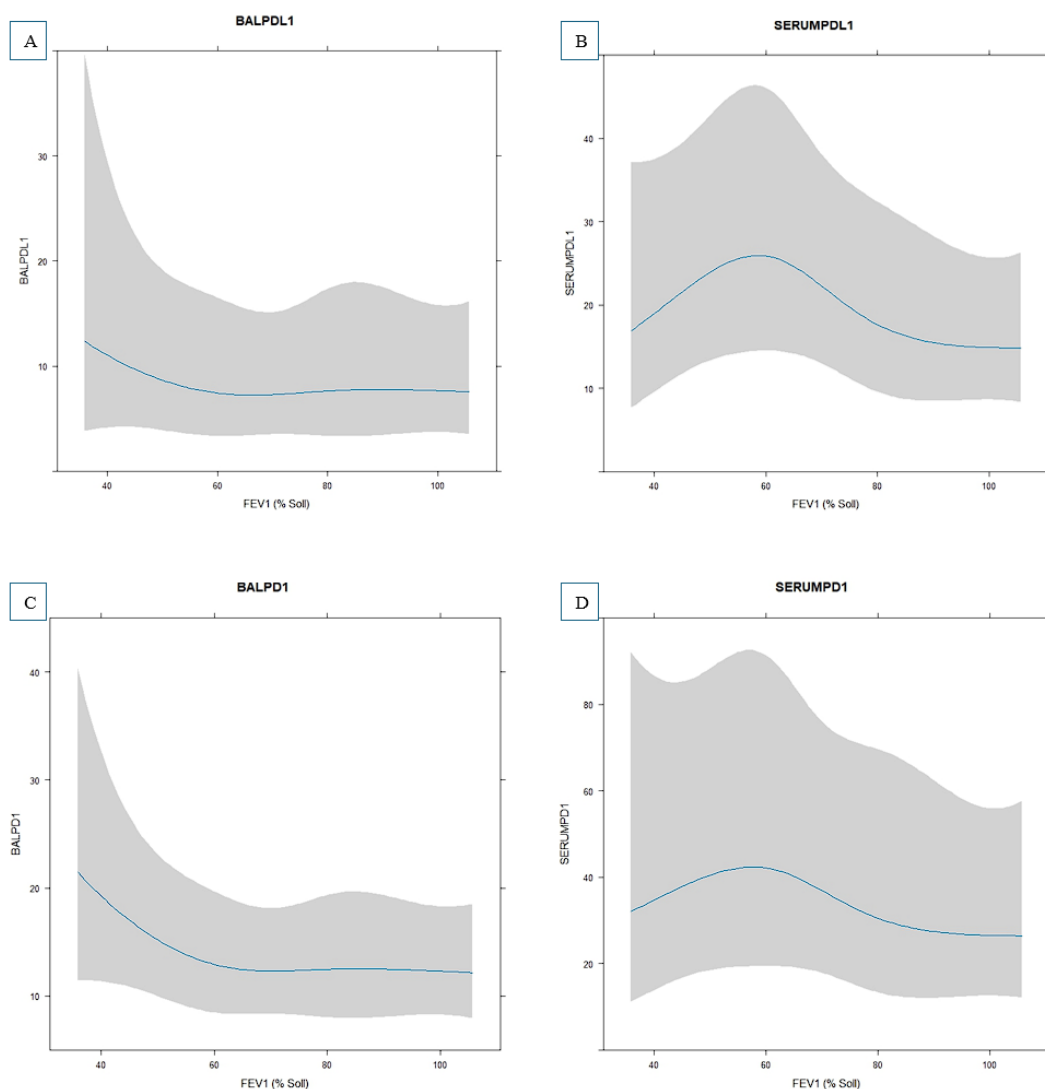


Abbildung 27: Modellierung der Assoziation aller vier untersuchten Biomarker mit der FEV₁ in % vom Soll, Abkürzungen: BAL= Bronchoalveoläre Lavage, PD-1= Programmed Death Protein-1, BMI= Body Mass Index

Für alle vier untersuchten Biomarker zeigte sich zusammenfassend nach Adjustierung auf die zuvor genannten Confounder weder eine lineare noch eine nichtlineare Assoziation mit der FEV₁ in % vom Soll.

5 Diskussion

PD-1 und PD-L1 sind mittlerweile als bedeutsame therapeutische Ziele bei verschiedenen Tumorerkrankungen etabliert. Auch das Vorliegen anderer Erkrankungen ist als Einflussfaktor auf die Konzentrationen dieser Biomarker bereits gut in der Literatur beschrieben [11]. Für die Bedeutung von PD-1 und PD-L1 bei COPD als eigenständige Krankheitsentität existieren bisher allerdings nur sehr wenige Daten. Unsere Literaturrecherche ergab bisher lediglich eine einzelne Arbeit von Ritzmann et al., welche die Konzentrationen von löslichem PD-1 und PD-L1 bei Patienten mit COPD gezielt untersucht hat. Sie konnte bereits am Mausmodell einen Einfluss der PD-1/PD-L1-Achse auf die neutrophile Inflammation und die damit einhergehende Schädigung des Lungengewebes bei COPD aufzeigen [93], auch die medikamentöse Blockade der PD-1/PD-L1-Achse zeigte im Tiermodell einen positiven Einfluss auf die Zerstörung von Lungengewebe.

In dieser Pilotstudie konnten keine signifikanten Unterschiede der Konzentrationen von PD-1 oder PD-L1 (Serum / BAL) zwischen Patienten mit und ohne COPD festgestellt werden.

5.1 Der Zusammenhang zwischen löslichem PD-1 und PD-L1 bei COPD

In dieser Arbeit konnte aufgezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen den Serum- und den BAL-Spiegeln von PD-1 und PD-L1 bei Patienten mit und ohne COPD zu existieren scheint.

Bei den Patienten ohne chronische Atemwegsobstruktion konnten wir diesen Zusammenhang ebenfalls aufzeigen. Dies bestätigt die Ergebnisse von Ritzmann et al., die ebenfalls Korrelationen der Marker in Serum und BAL nachweisen konnten [93]. Die vorliegende Arbeit konnte somit die Ergebnisse von Ritzmann et al. an einer größeren Kohorte validieren, wobei einschränkend erwähnt werden muss, dass ein Teil der Patienten in beiden Arbeiten identisch ist.

In unserer Studie waren die Konzentrationen der Biomarker zwischen den beiden Gruppen mit und ohne COPD nicht signifikant unterschiedlich. Die Pathophysiologie der COPD legt einen Unterschied zwischen den beiden Gruppen allerdings nahe. Die chronische Inflammation bei COPD-Patienten ist zwar mit einer erhöhten Zahl an Immunzellen in der Lunge assoziiert, diese sind durch dauerhafte Aktivierung allerdings erschöpft und in ihrer Funktion eingeschränkt. Diese Erschöpfung kann unter anderem prinzipiell durch eine Heraufregulierung der PD-1/PD-L1-Achse erklärt werden [112,116].

Zumindest in der akuten Exazerbation der COPD konnten Ritzmann et al. eine Heraufregulierung der PD-1/PD-L1-Achse nachweisen [93].

In einer weiteren Arbeit von Zhang et al. zeigte sich bei 54 Patienten mit COPD mit stabilem Krankheitsverlauf eine erhöhte Expression von PD-1 auf CD4-T-Zellen, aber nicht auf CD8-Zellen. Die löslichen Marker wurden hier nicht untersucht, sodass die Ergebnisse nicht direkt vergleichbar sind, aber einen Zusammenhang zwischen PD-1 und COPD nahelegen [117].

Darüber hinaus sind in unserer Studie die Ein- und Ausschlusskriterien bezüglich der Komorbiditäten deutlich liberaler ausgelegt, sodass die Markerkonzentrationen noch anderen Störgrößen unterliegen können.

In einer systematischen Analyse von Lin et al. im Jahr 2022 wurden 9 Kohortenstudien untersucht mit insgesamt 1044 Patienten mit nicht kleinzelligem Lungenkarzinom Stadium III – IV. Davon wiesen 432 Patienten als Komorbidität eine COPD auf. Die Arbeit fasste die bisherigen Erkenntnisse zur Wirksamkeit von PD-1/PD-L1-Inhibitoren bei Patienten mit und ohne COPD zusammen und fand in den meisten der eingeschlossenen Studien bessere klinische Ergebnisse mit höherem Gesamtüberleben und höherem progressionsfreiem Überleben bei Lungenkrebspatienten mit COPD die eine Therapie mit einem Checkpointinhibitor erhalten hatten [63].

Auch Mark et al. konnten 2017 zeigen, dass das Vorliegen einer COPD bei Patienten mit NSCLC und Checkpoint-Inhibitoren mit einem höheren progressionsfreien Intervall assoziiert ist als bei Patienten ohne COPD[65].

Obwohl in diesen Arbeiten jeweils nicht die Markerkonzentrationen per se gemessen wurden, lässt ein Überlebensvorteil der jeweiligen COPD-Kohorten auf einen relevanten Einfluss der PD-1/PD-L1-Achse auf die COPD schließen. Hier bieten sich möglicherweise für die Zukunft Forschungsansätze.

5.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Die gemessenen Konzentrationen der Biomarker waren in unserer Patientenkohorte zwischen Männern und Frauen nicht signifikant unterschiedlich. Lediglich der Quotient von PD-1/PD-L1 im Serum zeigte sich bei den Männern erhöht.

Der Quotient von löslichem PD-1 und PD-L1 ist in der Literatur bisher unzureichend untersucht, insbesondere nicht im Hinblick auf Patienten mit COPD. Gu et al. fanden erhöhte Serum PD-1 Konzentrationen bei Frauen in einer Kohorte mit NSCLC-Patienten. In der Kontrollkohorte ohne Lungenkarzinom zeigten sich keine geschlechtsspezifischen Unterschiede, was sich mit den Daten unserer Gesamtkohorte deckt [51].

Eine weitere Untersuchung von Rodriguez-Lara et al. zeigten hingegen eine höhere PD-L1-Expression bei Männern. Hierbei wurden allerdings auch wiederum nur die membranständigen Formen der Marker analysiert [95]. Inwiefern das Geschlecht jedoch tatsächlich kausal die

Markerkonzentrationen mit beeinflusst, bleibt bisher ungeklärt. Auch hier ergeben sich Ansatzpunkte für zukünftige Studien.

5.3 Einfluss des Körpergewichts

In unserer dieser Arbeit ergab sich kein Unterschied hinsichtlich der löslichen Biomarker PD-1/PD-L1 in Serum und BAL bei Patienten mit bzw. ohne Übergewicht.

In einer Studie aus 2022 von Katongole et al., die Patienten mit Prostatakarzinom hinsichtlich der löslichen Biomarker der PD-1/PD-L1-Achse untersucht, zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich Konzentrationen aus den Blutproben bei übergewichtigen Patienten [57]. Eine Untersuchung der Proben aus der BAL fand nicht statt.

Die Ergebnisse der Serumproben aus unserer Studie stimmen zwar mit Katongole et al. überein, möglicherweise ist jedoch die Vergleichbarkeit der Ergebnisse eingeschränkt. So haben Katongole et al. in ihrer Studie ausschließlich Patienten afrikanischer Abstammung untersucht, während in unserer Studienkohorte ausschließlich Patienten kaukasischer Abstammung eingeschlossen waren. Außerdem untersuchten Katongole et al. fragestellungsbedingt nur Männer. Zudem ist das Verhältnis der verschiedenen WHO-Gewichtsklassen in unserer Studie im Vergleich deutlich in Richtung übergewichtiger Patienten verschoben.

Seit langem ist außerdem bekannt, dass der Body Mass Index als Parameter zwar ein häufig verwendeter Parameter ist, als anthropometrische Größe jedoch nur Surrogatparameter für die eigentliche Körperzusammensetzung darstellt [86].

Der Zusammenhang zwischen der PD-1/PD-L1-Achse und dem BMI wird in einer aktuellen Untersuchung nochmals besonders deutlich. In einer Interventionsstudie von Akasheh et al. aus 2025 zeigten sich die PD-L1-Spiegel im Serum signifikant erniedrigt, nachdem die Patienten über einen Zeitraum von 12 Wochen gefastet und somit Gewicht abgenommen hatten[4]. Somit suggerieren die Daten der vorliegenden Arbeit in Zusammenschau mit der Literatur einen Zusammenhang zwischen Gewicht und PD-L1, möglicherweise im Rahmen einer chronischen Inflammation. Es benötigt auch hierzu weitere Forschung.

5.4 Einfluss des Schweregrades der Obstruktion auf Markerkonzentration

Es konnte kein Unterschied zwischen den verschiedenen Schweregraden der Obstruktion und der Konzentration von PD-L1 oder PD-1 im Serum oder in der BAL nachgewiesen werden. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Arbeit von Ritzmann et al., welche ebenfalls keinen Unterschied

zwischen Patienten mit COPD in den Stadien I und II und Patienten in den Stadien III und IV nachweisen konnten. Zwar zeigt eine Untersuchung von Polverino et al. aus 2022, dass PD-L1 bei COPD-Patienten in den milderen Stadien I und II im Vergleich zu den Patienten mit den Stadien III und IV erhöht ist (in Abhängigkeit des Rauchstatus), allerdings wurden von Polverino et al. nicht die löslichen Isoformen der Marker untersucht, sondern membranständige Formen aus Gewebeproben und Alveolarmakrophagen [85].

In einer Studie von McKentry et al, die PD-1 Expression auf CD8+-T-Zellen bei COPD gemessen hat, war PD-1 bei COPD Patienten im Vergleich zu den Kontrollen erhöht [68].

Zhang et al. untersuchten PD-1 auf CD4+ und CD8+ Zellen bei COPD und unterschieden je nach Grad der bronchialen Obstruktion. In einer Subgruppenanalyse konnte festgehalten werden, dass COPD Patienten mit GOLD I/II oder III/IV keine signifikanten Unterschiede von PD-1 Expression zeigten [118]. Sowohl bei McKentry et al., als auch bei Zhang et al. wurden jedoch nicht die löslichen Marker untersucht, sodass kein direkter Vergleich mit der vorliegenden Arbeit gezogen werden kann.

5.5 Raucherstatus

In unserer Kohorte zeigte sich die Konzentration von PD-1 im Serum bei Nichtrauchern signifikant erhöht im Vergleich zu Rauchern. Bei PD-L1 zeigten sich keine Unterschiede bezüglich des Rauchstatus. Es zeigten sich der Quotient von PD-1 und PD-L1 in der BAL, der Quotient von PD-1 und PD-L1 im Serum sowie der Quotient von Serum PD-1 und BAL PD-L1 bei den Nichtrauchern im Vergleich erhöht.

Die Ergebnisse der Literatur stützen sich vor allem auf die Ergebnisse aus der Forschung bei Patienten mit Lungenkarzinomen, bei denen sich bei rauchenden Patienten eine höhere Expression von PD-L1 auf den Tumorzellen zeigte [19].

Die löslichen Marker sind bislang schlechter untersucht.

In einer Studie aus 2018 von Wásen et al., die die Spiegel von löslichem PD-L1 zwischen Patienten mit und ohne rheumatoide Arthritis untersucht hat, zeigten sich signifikant niedrigere Spiegel von löslichem PD-L1 im Serum bei rauchenden Patienten [110]. Die Spiegel von löslichem PD-1 und deren Verhältnisse zueinander fanden allerdings hier keine Berücksichtigung, zusätzlich wurden von Wásen et al. keine BAL-Proben untersucht.

Der Unterschied zwischen unseren Daten und den Daten von Wásen et al. liegt möglicherweise an der Unterrepräsentation von Patienten mit rheumatoider Arthritis in unserer Kohorte. In unserer Studienkohorte waren nur insgesamt fünf Patienten mit rheumatoider Arthritis enthalten.

Ob außerdem die Ergebnisse von rauchenden Patienten mit COPD und rauchenden Patienten mit rheumatoider Arthritis vergleichbar sind, bleibt ungeklärt und zukünftigen Studien vorbehalten.

Dennoch ist insgesamt ein Unterschied der Markerkonzentrationen zwischen Rauchern und Nichtrauchern allerdings grundsätzlich als plausibel anzunehmen, da eine proinflammatorische Wirkung von Zigarettenrauch in der Literatur gut belegt ist und die PD-1/PD-L1-Achse bzw. deren lösliche Formen eine antiinflammatorische Wirkung über die Herabregulierung von Zytokinen aufweist [8,32,70].

5.6 Limitationen der Studie

Die Anzahl der untersuchten Patienten in unserer Kohorte war mit 130 Patienten niedrig. Möglicherweise ergeben sich daher keine statistischen Unterschiede, die bei einer größeren Kohorte aufgezeigt worden wären. Aus diesem Grund sind auch zukünftige Studien mit einer größeren Anzahl an Probanden sinnvoll. Eine detailliertere Untersuchung hinsichtlich des Einflusses beispielsweise von einzelnen Nebendiagnosen lässt bei der erwartbar niedrigen Patientenzahl vermutlich keine statistisch signifikanten Ergebnisse aufzeigen.

Als weitere Limitation ist weiterhin zu berücksichtigen, dass sie als monozentrische Studie durchgeführt worden ist. Dieser Umstand begrenzt möglicherweise die Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit denen zukünftiger Studien. Außerdem fanden sich in unserer Patientenkohorte ausschließlich Patienten kaukasischer Abstammung. Multizentrische Studien mit Patienten verschiedener Ethnien könnten möglicherweise in Zukunft aussagekräftigere Ergebnisse liefern.

Es muss außerdem berücksichtigt werden, dass in unsere Kohorte auch Patienten mit NSCLC und anderen Tumorerkrankungen eingeschlossen waren, bei denen die Rolle der membranständigen PD-1/PD-L1-Achse mittlerweile gut verstanden ist. Zukünftige Untersuchungen könnten hier zur Klärung, inwiefern die löslichen Biomarker eine Rolle spielen, beitragen [90].

In unserer Studie wurde kein Vergleich mit den membranständigen Markern im Lungengewebe vorgenommen. Es bleibt aktuell noch ungeklärt, ob die lösliche PD-1/PD-L1-Achse bei COPD-Patienten einen Zusammenhang mit den membranständigen Formen der entsprechenden Moleküle aufweist.

Hou et al. konnten 2025 aufzeigen, dass mehrere Isoformen von löslichem PD-L1 existieren [55]. Eine Messung bzw. Unterscheidung zwischen verschiedenen Isoformen der löslichen Biomarker fand in unserer Studie nicht statt.

Als weitere Einschränkung kommt sicherlich auch hinzu, dass unsere Stichproben nur einen Querschnitt und keine Entwicklung der Markerkonzentrationen über die Zeit, beispielsweise bei sich

ändernder Lungenfunktion abbilden. Somit konnten insgesamt auch keine kausalen Zusammenhänge zwischen den löslichen Biomarkern der PD-1/PD-L1-Achse und COPD detektiert werden.

Darüber hinaus ist die vorliegende Arbeit als eine explorative Analyse durchgeführt worden. Bei einer Vielzahl an möglichen Einflussgrößen auf die Markerkonzentrationen ist auf eine Korrektur für multiples Testen verzichtet worden. Die Ergebnisse sind daher eher als Ausgangspunkt für zukünftige Untersuchungen und zur Generierung von Hypothesen zu verstehen.

5.7 Ausblick

Der Zusammenhang von chronischen Lungenerkrankungen, in diesem Fall COPD, mit der PD-1/PL-1 Achse bietet interessante Angriffspunkte in diagnostischer als auch potenziell in therapeutischer Hinsicht. Medikamente zur Inhibition von PD-1/PD-L1 existieren bereits und verzeichnen gute Therapieerfolge bei mittlerweile der überwiegenden Zahl der Patienten mit Lungenkarzinom [45]. Bei der COPD hat dieser Medikamentengruppe bislang jedoch noch keine Bedeutung. Sollte sich hier nach weiteren Studien eine therapeutische Option bieten, wäre der Einsatz von PD-1/PD-L1-Inhibitoren auch bei der COPD perspektivisch denkbar.

Ein erster Ansatz zum Einsatz der PD-1/PD-L1-Achse bei der COPD findet sich in der nachgewiesenen Korrelation der Biomarker in BAL und im Serum.

Bei einer in dieser Studie nachgewiesenen Korrelation der Konzentrationen in der BAL mit den Spiegeln im Serum könnte bei entsprechend vorerkrankten Patienten und damit einhergehendem erhöhtem Risiko für periinterventionelle Komplikationen in Zukunft zum Beispiel auf die Durchführung einer BAL verzichtet werden. Stattdessen wäre in solchen Fällen eine risikoärmere und routinemäßig durchgeführten Blutentnahme eine denkbare Alternative zur Bronchoskopie mit BAL.

Weitere Studien zum möglichen diagnostischen Wert der PD-1/PD-L1-Achse bei der COPD sind jedoch erforderlich.

Literaturverzeichnis

1. Agusti A, Sin DD (2014) Biomarkers in COPD. *Clin Chest Med* 35:131–141
2. Agusti A, Vogelmeier CF (2022) World COPD Day 2022: your lungs for life. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 323:L615–L618
3. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, Rosenberg SA (2009) Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 114:1537–1544
4. Akasheh RT, Fantuzzi G, Varady KA, Cheng TYD, Kalam F (2025) Reduced Serum PD-L1 and Markers of Inflammation in Response to Alternate Day Fasting With a Low-Carbohydrate Intervention: A Secondary Analysis of a Single-Arm Trial. *Curr Dev Nutr* 9:104566
5. Amalakanti S, Pentakota MR (2015) Pulse Oximetry Overestimates Oxygen Saturation in COPD. *Respir Care* 61:423–427
6. Anthonisen NR (2011) Effects of Smoking Intervention and the Use of an Inhaled Anticholinergic Bronchodilator on the Rate of Decline of FEV1. *Jama* 306:1497
7. Anthonisen NR, Skali H, Pfeffer MA (2012) Long-term effect of inhaled budesonide in mild and moderate chronic obstructive pulmonary disease : a randomised controlled trial. *Lancet* 380:2095–2128
8. Arnson Y, Shoenfeld Y, Amital H (2010) Effects of tobacco smoke on immunity, inflammation and autoimmunity. *J Autoimmun* 23:J258–J265
9. Aronson JK, Ferner RE (2017) Biomarkers—a general review. *Curr Protoc Pharmacol* 2017:9.23.1–9.23.17
10. Au DH, Bryson CL, Chien JW, Sun H, Udris EM, Evans LE, Bradley KA (2009) The effects of smoking cessation on the risk of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *J Gen Intern Med* 24:457–463
11. Bailly C, Thuru X, Quesnel B (2021) Soluble programmed death ligand-1 (Spd-11): A pool of circulating proteins implicated in health and diseases. *Cancers (Basel)* 13:1–24
12. Behandlung S, Valdecoux M, Korrelation E, Inzidenz D, Auswahl D, Sulfonamidabk D, Cyclooxy- E, Substanz D, Azole L, Elimination D (2004) Wirkstoff AKTUELL. 3:8–9
13. Berger R, Smith D (1988) Effect of Inhaled Metaproterenol on Exercise Performance in Patients with Stable “Fixed” Airway Obstruction. *Am Rev Respir Dis* 138:624–629

14. Bhatt SP, Rabe KF, Hanania NA, Vogelmeier CF, Cole J, Bafadhel M, Christenson SA, Papi A, Singh D, Laws E, Mannent LP, Patel N, Staudinger HW, Yancopoulos GD, Mortensen ER, Akinlade B, Maloney J, Lu X, Bauer D, Bansal A, Robinson LB, Abdulai RM (2023) Dupilumab for COPD with Type 2 Inflammation Indicated by Eosinophil Counts. *N Engl J Med* 389:205–214
15. Blackburn SD, Shin H, Haining WN, Zou T, Workman CJ, Polley A, Betts MR, Freeman GJ, Vignali DAA, Wherry EJ (2009) Coregulation of CD8 + T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection. *10:29–37*
16. Blanco I, Diego I, Bueno P, Casas-Maldonado F, Miravittles M (2019) Geographic distribution of COPD prevalence in the world displayed by Geographic Information System maps. *Eur Respir J* 54:10–12
17. Boardman C, Chachi L, Gavrila A, Keenan CR, Perry MM, Xia YC, Meurs H, Sharma P (2014) Mechanisms of glucocorticoid action and insensitivity in airways disease. *Pulm Pharmacol Ther* 29:129–143
18. Bosse Y (2012) Updates on the COPD gene list. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 7:607
19. Calles A, Liao X, Sholl LM, Rodig SJ, Freeman GJ, Butaney M, Lydon C, Dahlberg SE, Hodi FS, Oxnard GR, Jackman DM, Jänne PA (2015) Expression of PD-1 and Its Ligands, PD-L1 and PD-L2, in Smokers and Never Smokers with KRAS-Mutant Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 10:1726–1735
20. Carcinoma C, Strome SE, Dong H, Tamura H, Voss SG, Flies DB, Tamada K, Salomao D, Cheville J, Hirano F, Lin W, Kasperbauer JL, Ballman K V, Chen L (2003) B7-H1 Blockade Augments Adoptive T-Cell Immunotherapy for Squamous. *Lab Med* 6501–6505
21. Casanova C, Cote CG, Marin JM, de Torres JP, Aguirre-Jaime A, Mendez R, Dordelly L, Cell BR (2007) The 6-min walking distance: Long term follow up in patients with COPD. *Eur Respir J* 29:535–540
22. Cazzola M, Molimard M (2010) The scientific rationale for combining long-acting β 2-agonists and muscarinic antagonists in COPD. *Pulm Pharmacol Ther* 23:257–267
23. Celli B, Tetzl K, Criner G, Polkey MI, Sciurba F, Casaburi R, Tal-Singer R, Kawata A, Merrill D, Rennard S (2016) The 6-minute-walk distance test as a chronic obstructive pulmonary disease stratification tool insights from the COPD biomarker qualification consortium. *Am J Respir Crit Care Med* 194:1483–1493
24. Cervinkova M, Kucerova P, Cizkova J (2017) Spontaneous regression of malignant melanoma - Is it based on the interplay between host immune system and melanoma antigens?

25. Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD (2016) Regulation of PD-L1: A novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol* 27:409–416
26. Christie J (2013) Legislative smoking bans for reducing secondhand smoke exposure, smoking prevalence and tobacco consumption. *Public Heal Concern Smoking, Alcohol Subst Use* 195–199
27. Committee for Medicinal Products for Human Use (2011) Assessment Report For Yervoy (ipilimumab). 44:1–71
28. De-Torres JP, Marín JM, Casanova C, Pinto-Plata V, Divo M, Cote C, Celli BR, Zulueta JJ (2016) Identification of COPD Patients at High Risk for Lung Cancer Mortality Using the COPD-LUCSS-DLCO. *Chest* 149:936–942
29. Diaz-Guzman E, Aryal S, Mannino DM (2012) Occupational Chronic Obstructive Pulmonary Disease: An Update. *Clin Chest Med* 33:625–636
30. Driessens G, Kline J, Gajewski TF (2009) Costimulatory and coinhibitory receptors in anti-tumor immunity. *Immunol Rev* 229:126–144
31. Durham MT, Smith PJ, Babyak MA, Mabe SK, Martinu T, Welty-Wolf KE, Emery CF, Palmer SM, Blumentha JA (2015) Six-minute-walk distance and accelerometry predict outcomes in chronic obstructive pulmonary disease independent of global initiative for chronic obstructive lung disease 2011 group. *Ann Am Thorac Soc* 12:349–356
32. Elisia I, Lam V, Cho B, Hay M, Li MY, Yeung M, Bu L, Jia W, Norton N, Lam S, Krystal G (2020) The effect of smoking on chronic inflammation, immune function and blood cell composition. *Sci Rep* 10:1–16
33. Emancipator K, Lee J-S, Gubens M, Felip E, Roach C, Eder JP, Balmanoukian AS, Goldman JW, Zhang J, Hellmann MD, Rutledge RZ, Patnaik A, Gandhi L, Rangwala R, Carcereny E, Aggarwal C, Ahn M-J, Horn L, Lunceford JK, Hui R, Hamid O, Leighl N, Lubiniecki GM, Soria J-C, Rizvi NA, Garon EB, Dolled-Filhart M (2015) Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 372:2018–2028
34. FDA-NIH Biomarker Working Group (2016) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet] Predictive biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402283/>
35. FDA-NIH Biomarker Working Group (2016) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other

- Tools) Resource [Internet]Prognostic Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402289/>
36. FDA-NIH Biomarker Working Group (2016) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]Safety Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402287/>
 37. FDA-NIH Biomarker Working Group (2020) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]Susceptibility/Risk Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402288/>
 38. FDA-NIH Biomarker Working Group (2020) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]Diagnostic Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402285/>
 39. FDA-NIH Biomarker Working Group (2021) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]Monitoring Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402282/>
 40. FDA-NIH Biomarker Working Group (2021) BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]Response Biomarker. Food and Drug Administration (US); National Institutes of Health (US), Silver Spring (MD); Bethesda (MD). URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK402286/>
 41. Fishman A, Martinez F, Naunheim K, Piantadosi S, Wise R, Ries A, Weinmann G, Wood DE (2003) A Randomized Trial Comparing Lung-Volume-Reduction Surgery with Medical Therapy for Severe Emphysema. *N Engl J Med* 348:2059–2073
 42. Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH (2010) The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 236:219–242
 43. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, Horton HF, Fouser L, Carter L, Ling V, Bowman MR, Carreno BM, Collins M, Wood CR, Honjo T (2000) Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 192:1027–34

44. Gan WQ, FitzGerald JM, Carlsten C, Sadatsafavi M, Brauer M (2013) Associations of ambient air pollution with chronic obstructive pulmonary disease hospitalization and mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 187:721–727
45. Garassino MC, Gadgeel S, Speranza G, Felip E, Esteban E, Dómine M, Hochmair MJ, Powell SF, Bischoff HG, Peled N, Grossi F, Jennens RR, Reck M, Hui R, Garon EB, Kurata T, Gray JE, Schwarzenberger P, Jensen E, Pietanza MC, Rodríguez-Abreu D (2023) Pembrolizumab Plus Pemetrexed and Platinum in Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Outcomes from the Phase 3 KEYNOTE-189 Study. *J Clin Oncol* 41:1992–1998
46. Godtfredsen NS, Lam TH, Hansel TT, Leon ME, Gray N, Dresler C, Burns DM, Prescott E, Vestbo J (2008) COPD-related morbidity and mortality after smoking cessation: Status of the evidence. *Eur Respir J* 32:844–853
47. GOLD (2015) Global Initiative for Chronic Obstructive Lung. *A Guid Heal Care Prof* 1:261–266
48. Gold DR, Wang X, Wypij D, Speizer FE, Ware JH, Dockery DW (2002) Effects of Cigarette Smoking on Lung Function in Adolescent Boys and Girls. *N Engl J Med* 335:931–937
49. Gore S, Blackwood J, Guyette M, Alsalaheen B (2017) Validity and Reliability of Accelerometers in Patients With COPD. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 1
50. Gross N, Tashkin D, Miller R, Oren J, Coleman W, Linberg S (1998) Inhalation by nebulization of albuterol-ipratropium combination (Dey combination) is superior to either agent alone in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 65:354–362
51. Gu Y, Tang YY, Wan JX, Zou JY, Lu CG, Zhu HS, Sheng SY, Wang YF, Liu HC, Yang J, Hong H (2022) Sex difference in the expression of PD-1 of non-small cell lung cancer. *Front Immunol* 13:1–14
52. Honjo T, Ishida M, Iwai Y, Tanaka Y, Okazaki T, Minato N (2002) Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci* 99:12293–12297
53. Honjo T, Minato N, Hamanishi J, Yamaguchi K, Yagi H, Okazaki T, Tanaka Y, Fujii S, Mandai M, Higuchi T, Iwasaki M, Takakura K (2007) Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci* 104:3360–3365
54. Hospitals US (1982) of Internal Medicine. *Ann Intern Med* 97:391–398

55. Hou P, Hu L, Zhang J, Zhou X, Xiao Y, Li L, Wu Q, Liu J, Lin Y, Chen L (2025) Characterization of alternative sPD-1 isoforms reveals that ECD sPD-1 signature predicts an efficient antitumor response. *Commun Biol* 8:
56. Kaklamanis L, Townsend A, Doussis-Anagnostopoulou IA, Mortensen N, Harris AL, Gatter KC (1994) Loss of major histocompatibility complex-encoded transporter associated with antigen presentation (TAP) in colorectal cancer. *Am J Pathol* 145:505–9
57. Katongole P, Sande OJ, Reynolds SJ, Joloba M, Kajumbula H, Kalungi S, Ssebambulidde K, Nakimuli C, Atuheirwe M, Orem J, Niyonzima N (2022) Soluble Programmed Death-Ligand 1 (sPD-L1) is Elevated in Aggressive Prostate Cancer Disease Among African Men. *Oncol Ther* 10:185–193
58. Kelly AM, McAlpine R, Kyle E (2001) How accurate are pulse oximeters in patients with acute exacerbations of chronic obstructive airways disease? *Respir Med* 95:336–340
59. Klooster K, ten Hacken NHT, Hartman JE, Kerstjens HAM, van Rikxoort EM, Slebos D-J (2015) Endobronchial Valves for Emphysema without Interlobar Collateral Ventilation. *N Engl J Med* 373:2325–2335
60. Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Nishimura M (2004) B7-H1 expression on non-small cell lung cancer cells and its relationship with tumor-infiltrating lymphocytes and their PD-1 expression. *Clin Cancer Res* 10:5094–5100
61. Lacasse Y, Casaburi R, Sliwinski P, Chaouat A, Fletcher E, Haidl P, Maltais F (2022) Home oxygen for moderate hypoxaemia in chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Respir Med* 10:1029–1037
62. Langhammer A, Johnsen R, Gulsvik A, Holmen TL, Bjerner L (2003) Sex differences in lung vulnerability to tobacco smoking. *Eur Respir J* 21:1017–1023
63. Lin M, Huang Z, Chen Y, Xiao H, Wang T (2022) Lung cancer patients with chronic obstructive pulmonary disease benefit from anti-PD-1/PD-L1 therapy. *Front Immunol* 13:1–12
64. Marin JM, Soriano JB, Carrizo SJ, Boldova A, Celli BR (2010) Outcomes in patients with chronic obstructive pulmonary disease and obstructive sleep apnea: The overlap syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 182:325–331
65. Mark NM, Kargl J, Busch SE, Yang GHY, Metz HE, Zhang H, Hubbard JJ, Pipavath SNJ, Madtes DK, McGarry Houghton A (2018) Chronic obstructive pulmonary disease alters immune cell composition and immune checkpoint inhibitor efficacy in non-small cell lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 197:325–336

66. Mary E. Keir, 1 Manish J. Butte, 1 Gordon J. Freeman 2 and Arlene H. Sharpe¹ 1Department (2008) PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Immunology* 26:677–704
67. Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Nakanishi J, Ueda S, Wada Y (2006) Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol Immunother* 56:1173–1182
68. McKendry RT, Spalluto CM, Burke H, Nicholas B, Cellura D, Al-Shamkhani A, Staples KJ, Wilkinson TMA (2016) Dysregulation of antiviral function of CD81 T cells in the chronic obstructive pulmonary disease lung role of the PD-1-PD-L1 axis. *Am J Respir Crit Care Med* 193:642–651
69. Miyoshi Y, Takayashiki N, Satoh H (2017) Spontaneous regression of FDG/PET positive lung adenocarcinoma in an elderly man. *Adv Respir Med* 85:246–249
70. Monaghan SF, Chung CS, Chen Y, Lomas-Neira J, Fairbrother WG, Heffernan DS, Cioffi WG, Ayala A (2016) Soluble programmed cell death receptor-1 (sPD-1): A potential biomarker with anti-inflammatory properties in human and experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS). *J Transl Med* 14:1–9
71. Montes de Oca M (2020) Smoking Cessation/Vaccinations. *Clin Chest Med* 41:495–512
72. Mu CY, Huang JA, Chen Y, Chen C, Zhang XG (2011) High expression of PD-L1 in lung cancer may contribute to poor prognosis and tumor cells immune escape through suppressing tumor infiltrating dendritic cells maturation. *Med Oncol* 28:682–688
73. Naghavi M, et al. (2025) Global burden of 292 causes of death in 204 countries and territories and 660 subnational locations, 1990–2023: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2023. *Lancet* 406:1811–1872
74. Nannini L, Poole P, Milan S, Kesterton A (2013) Combined corticosteroid and long-acting beta(2)-agonist in one inhaler versus inhaled corticosteroids alone for chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database of Systematic Rev* 40:1–141
75. Nici L, Donner C, Wouters E, Zuwallack R, Ambrosino N, Bourbeau J, Carone M, Celli B, Engelen M, Fahy B, Garvey C, Goldstein R, Gosselink R, Lareau S, MacIntyre N, Maltais F, Morgan M, O'Donnell D, Prefault C, Reardon J, Rochester C, Schols A, Singh S, Troosters T (2006) American thoracic society/European respiratory society statement on pulmonary rehabilitation. *Am J Respir Crit Care Med* 173:1390–1413
76. Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmim M, Karray S, Dessen P, Bronte V, Chouaib S (2014) PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced: MDSC-mediated T cell activation. *J Exp Med* 211:781–790

77. Nomi T, Sho M, Akahori T, Hamada K, Kubo A, Kanehiro H, Nakamura S, Enomoto K, Yagita H, Azuma M, Nakajima Y (2007) Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1 ligand/programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 13:2151–2157
78. O'Donnell DE, Flüge T, Gerken F, Hamilton A, Webb K, Aguilaniu B, Make B, Magnussen H (2004) Effects of tiotropium on lung hyperinflation, dyspnoea and exercise tolerance in COPD. *Eur Respir J* 23:832–840
79. O'Donnell DE, Sciurba F, Celli B, Mahler DA, Webb KA, Kalberg CJ, Knobil K (2006) Effect of fluticasone propionate/salmeterol on lung hyperinflation and exercise endurance in COPD. *Chest* 130:647–656
80. Oga T, Nishimura K, Tsukino M, Sato S, Hajiro T (2003) Analysis of the Factors Related to Mortality in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 167:544–549
81. Pardoll DM (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12:252–264
82. Pauwels RA, Löfdahl C-G, Laitinen LA, Schouten JP, Postma DS, Pride NB, Ohlsson S V. (2002) Long-Term Treatment with Inhaled Budesonide in Persons with Mild Chronic Obstructive Pulmonary Disease Who Continue Smoking. *N Engl J Med* 340:1948–1953
83. Pinto-Plata VM, Cote C, Cabral H, Taylor J, Celli BR (2004) The 6-min walk distance: Change over time and value as a predictor of survival in severe COPD. *Eur Respir J* 23:28–33
84. Polkey MI, Spruit MA, Edwards LD, Watkins ML, Pinto-Plata V, Vestbo J, Calverley PMA, Tal-Singer R, Agustí A, Bakke PS, Coxson HO, Lomas DA, MacNee W, Rennard S, Silverman EK, Miller BE, Crim C, Yates J, Wouters EFM, Celli B (2013) Six-Minute-Walk Test in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 187:382–386
85. Polverino F, Mirra D, Yang CX, Esposito R, Spaziano G, Rojas-Quintero J, Sgambato M, Piegari E, Cozzolino A, Cione E, Gallelli L, Capuozzo A, Santoriello C, Berrino L, de- Torres JP, Hackett TL, Polverino M, D'Agostino B (2022) Similar programmed death ligand 1 (PD-L1) expression profile in patients with mild COPD and lung cancer. *Sci Rep* 12:1–16
86. Prentice AM, Jebb SA (2001) Beyond body mass index. *Obes Rev* 2:141–147
87. Prescott E, Bjerg AM, Andersen PK, Lange P, Vestbo J (1997) Gender difference in smoking effects on lung function and risk of hospitalization for COPD: Results from a Danish longitudinal population study. *Eur Respir J* 10:822–827

88. Puente-Maestu L, Palange P, Casaburi R, Laveneziana P, Maltais F, Neder JA, O'Donnell DE, Onorati P, Porszasz J, Rabinovich R, Rossiter HB, Singh S, Troosters T, Ward S (2016) Use of exercise testing in the evaluation of interventional efficacy: An official ERS statement. *Eur Respir J* 47:429–460
89. Raherison C, Girodet PO (2009) Epidemiology of COPD. *Eur Respir Rev* 18:213–221
90. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csösz T, Fülöp A, Gottfried M, Peled N, Tafreshi A, Cuffe S, O'Brien M, Rao S, Hotta K, Leiby MA, Lubiniecki GM, Shentu Y, Rangwala R, Brahmer JR, KEYNOTE-024 Investigators (2016) Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 375:1823–1833
91. Rennard SI, Calverley PMA, Goehring UM, Bredenbröker D, Martinez FJ (2011) Reduction of exacerbations by the PDE4 inhibitor roflumilast - the importance of defining different subsets of patients with COPD. *Respir Res* 12:1–10
92. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, Gadgeel SM, Hida T, Kowalski DM, Dols MC, Cortinovis DL, Leach J, Polikoff J, Barrios C, Kabbinar F, Frontera OA, De Marinis F, Turna H, Lee JS, Ballinger M, Kowanetz M, He P, Chen DS, Sandler A, Gandara DR (2017) Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 389:255–265
93. Ritzmann F, Borchardt K, Vella G, Chitirala P, Angenendt A, Herr C, Menger MD, Hoth M, Lis A, Bohle RM, Bals R, Beisswenger C (2021) Blockade of PD-1 decreases neutrophilic inflammation and lung damage in experimental COPD. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol* 320:L958–L968
94. Robert C, Miller WH, Francis S, Chen T-T, Ibrahim R, Hoos A, O'Day S, Wolchok JD, Gascon P, Thomas L, Garbe C, Grob J-J, Lebbe C, Richards J, Maio M, Hauschild A, Baurain J-F, Weber J, Bondarenko I, Lotem M, Testori A, Harmankaya K, Davidson N, Humphrey R (2011) Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma. *N Engl J Med* 364:2517–2526
95. Rodriguez-Lara V, Giovanny SC, Avila-Costa MR, Whaley JJJV, Rodriguez-Cid JR, Ordoñez-Librado JL, Rodriguez-Maldonado E, Heredia-Jara NA (2023) Role of sex and sex hormones in PD-L1 expression in NSCLC: clinical and therapeutic implications. *Front Oncol* 13:1–9
96. Salmaninejad A, Valilou SF, Shabgah AG, Aslani S, Alimardani M, Pasdar A, Sahebkar A

- (2019) PD-1/PD-L1 pathway: Basic biology and role in cancer immunotherapy. *J Cell Physiol* 234:16824–16837
97. Sharma P, Allison JP (2015) Realising the promise: The future of immune checkpoint therapy. *Science* (80-) 348:
 98. Sho M, Gao Q, Yamato I, Wang X-Y, Qiu S-J, Xiao Y-S, Nakajima Y, Fan J, Zhou J, Li B-Z, Shi Y-H, Xu Y (2009) Overexpression of PD-L1 Significantly Associates with Tumor Aggressiveness and Postoperative Recurrence in Human Hepatocellular Carcinoma. *Clin Cancer Res* 15:971–979
 99. Song M, Chen D, Lu B, Wang C, Zhang J, Huang L, Wang X, Timmons CL, Hu J, Liu B, Wu X, Wang L, Wang J, Liu H (2013) PTEN Loss Increases PD-L1 Protein Expression and Affects the Correlation between PD-L1 Expression and Clinical Parameters in Colorectal Cancer. *PLoS One* 8:
 100. Stein Fowler, Sarah E., Goodman PD (2006) A Randomized Trial Comparing Lung-Volume–Reduction Surgery with Medical Therapy for Severe Emphysema. *N Engl J Med* 355:11–20
 101. Steins M, Chow LQ, Vokes EE, Rudin CM, Ready NE, Poddubskaya E, Gettinger SN, Borghaei H, Antonia SJ, Harbison CT, Graf Finckenstein F, Brahmer JR, Arrieta O, Fayette J, Rizvi N, Dorange C, Gerber DE, Blumenschein GR, Crinò L, Lena H, Holgado E, Felip E, Barlesi F, Horn L, Kohlhäufel M, Paz-Ares L, Spigel DR, Burgio MA (2015) Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 373:1627–1639
 102. Stoller JK, Aboussouan LS (2005) Stoller - Alpha 1 AT deficiency - *Lancet* 2005. 365:2225–2236
 103. Strange C (2020) Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Associated COPD. *Clin Chest Med* 41:339–345
 104. Stuart-Harris C, Bishop JM, Clark TJH (1981) Long term domiciliary oxygen therapy in chronic hypoxic cor pulmonale complicating chronic bronchitis and emphysema. *Lancet* 1:681–686
 105. Tamada K, Zhu G, Roche PC, Tamura H, Salomao DR, Celis E, Flies DB, Chen L, Lu J, Strome SE, Lennon VA, Dong H, Hirano F (2002) Erratum: Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 8:793–800
 106. Tashkin DP, Celli B, Senn S, Burkhart D, Kesten S, Menjoge S, Decramer M (2008) A 4-Year Trial of Tiotropium in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *N Engl J Med* 359:1543–54

107. TIFFENEAU R, PINELLI (1947) Circulating air and captive air in the exploration of the pulmonary ventilator function. *Paris Med* 37:624–628
108. Tsuchiya A, Yamagiwa S, Kawai H, Kamimura K, Terai S, Sakamaki A, Abe S, Takamura M (2017) Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma: A mini-review. *World J Gastroenterol* 23:3797
109. van Eerd EAM, van der Meer RM, van Schayck OCP, Kotz D (2016) Smoking cessation for people with chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2016:
110. Wasén C, Erlandsson MC, Bossios A, Ekerljung L, Malmhäll C, Töyrä Silfverswärd S, Pullerits R, Lundbäck B, Bokarewa MI (2018) Smoking Is Associated With Low Levels of Soluble PD-L1 in Rheumatoid Arthritis. *Front Immunol* 9:
111. Wedzicha JA, Calverley PM, Rabe KF (2016) Roflumilast: A review of its use in the treatment of COPD. *Int J COPD* 11:81–90
112. Wilkinson TMA (2017) Immune checkpoints in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir Rev* 26:
113. Winders T, Hudson P (2024) Dupixent approved in the EU as the first-ever targeted therapy for patients with COPD *. 1–6
114. Wu C, Zhu Y, Jiang J, Zhao J, Zhang XG, Xu N (2006) Immunohistochemical localization of programmed death-1 ligand-1 (PD-L1) in gastric carcinoma and its clinical significance. *Acta Histochem* 108:19–24
115. Yawn BP, Li Y, Tian H, Zhang J, Arcona S, Kahler KH (2013) Inhaled corticosteroid use in patients with chronic obstructive pulmonary disease and the risk of pneumonia: A retrospective claims data analysis. *Int J COPD* 8:295–304
116. Yi JS, Cox MA, Zajac AJ (2010) T-cell exhaustion: Characteristics, causes and conversion. *Immunology* 129:474–481
117. Zhang M, Wan Y, Han J, Li J, Gong H, Mu X (2024) The clinical association of programmed death-1/PD-L1 axis, myeloid derived suppressor cells subsets and regulatory T cells in peripheral blood of stable COPD patients. *PeerJ* 12:1–16
118. Zhang M, Wan Y, Han J, Li J, Gong H, Mu X (2024) The clinical association of programmed death-1/PD-L1 axis, myeloid derived suppressor cells subsets and regulatory T cells in peripheral blood of stable COPD patients. *PeerJ* 12:e16988
119. Zou W, Wolchok JD, Chen L (2016) PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med* 8:

Danksagungen

Zuallererst danke ich meinem Doktorvater Prof. Dr. Dr. Robert Bals, der mir dieses Thema überlassen hat. Weiterhin danke ich Martina Seibert, die immer ein offenes Ohr für mich hatte, wenn ich organisatorische Hilfe gebraucht habe. Außerdem möchte ich Dr. Katharina Rentz danken, ohne die die Rekrutierung der Patienten und die Gewinnung der Proben unmöglich gewesen wäre. Ein ebenso großer Dank geht an die Laborarbeitsgruppe um Dr. Christian Herr und Felix Ritzmann, die die laborchemischen Analysen übernommen haben.

Der größte Dank aber geht an meine Eltern Regina und Jörg die mir durch ihre unermüdliche Unterstützung das Medizinstudium erst ermöglicht haben sowie an meine Frau Jeannine, die mich moralisch bei der Erstellung dieser Arbeit unerschütterlich unterstützt hat.

6 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Ablauf der Probengewinnung	21
Abbildung 2: Flowchart der Patientenrekrutierung.....	25
Abbildung 3: Verteilung der gemessenen FEV ₁ -Werte im Vergleich der beiden Patientengruppen...	29
Abbildung 4: Anzahl und Verteilung der COPD-Stadien nach GOLD.	29
Abbildung 5: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 in der BAL bei obstruktiven Patienten.....	30
Abbildung 6: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-1 im Serum bei obstruktiven Patienten	31
Abbildung 7: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-L1 im Serum bei obstruktiven Patienten	31
Abbildung 8: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum bei obstruktiven Patienten.....	32
Abbildung 9: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum bei obstruktiven Patienten	32
Abbildung 10: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-L1 in der BAL und im Serum bei obstruktiven Patienten	33
Abbildung 11: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD- und PD-L1 in der BAL bei nicht- obstruktiven Patienten.....	34
Abbildung 12: Korrelation zwischen den Messwerten von PD-1 in Serum und BAL bei nicht- obstruktiven Patienten	34
Abbildung 13: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 in der BAL und PD-1 im Serum bei nicht- obstruktiven Patienten.....	35
Abbildung 14: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-1 und PD-L1 im Serum bei nicht- obstruktiven Patienten	35
Abbildung 15: Korrelation der zwischen den Konzentrationen von PD-L1 in der BAL und PD-1 im Serum	36
Abbildung 16: Korrelation zwischen den Konzentrationen von PD-L1 in Serum und BAL.....	36
Abbildung 17: Konzentrationen von BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	39
Abbildung 18: Konzentrationen von BAL PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	39
Abbildung 19: Konzentrationen von Serum PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	40

Abbildung 20: Konzentrationen von Serum PD-L1 bei obstruktiven und nicht- obstruktiven Patienten	40
Abbildung 21: Quotienten der Konzentrationen von BAL PD-1 und PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	41
Abbildung 22: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und PD-L1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	41
Abbildung 23: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	42
Abbildung 24: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	42
Abbildung 25: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	43
Abbildung 26: Quotienten der Konzentrationen von Serum PD-1 und BAL PD-1 bei obstruktiven und nicht obstruktiven Patienten	43
Abbildung 27: Modellierung der Assoziation aller vier untersuchten Biomarker mit der FEV ₁ in % vom Soll	51

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadieneinteilung der COPD nach GOLD	10
Tabelle 2: Einteilung in Schweregrade anhand Symptomlast und Exazerbationshäufigkeit	11
Tabelle 3: Verwendetes Material für die Konservierung der Blut- und BAL-Proben	20
Tabelle 4: Baseline Charakteristika der Kohorte	26
Tabelle 5: Verteilung der Nebendiagnosen	27
Tabelle 6: Messwerte der Konzentrationen der Biomarker PD-1 und PD-L1 in Serum und BAL..	38
Tabelle 7: Verteilung der Konzentrationen der Biomarker PD-1 und PD-L1 im Serum und in der BAL sowie der Quotienten aus PD-1/PD-L1	44
Tabelle 8: Der Zusammenhang von Übergewicht und den Konzentrationen der Biomarker	45
Tabelle 9: Unterschied zwischen in den Markerkonzentrationen zwischen den COPD-Gruppen GOLD I bis GOLD IV	46
Tabelle 10: Signifikanzniveaus der Biomarkerkonzentrationen zwischen den Gruppen mit leichter und schwerer Obstruktion	47
Tabelle 11: Unterschied zwischen den Konzentrationen der Biomarker und deren Quotienten im Hinblick auf den Raucherstatus.....	48
Tabelle 12: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für BAL PD-1	49
Tabelle 13: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für BAL PD-L1	49
Tabelle 14: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für Serum PD-1	50
Tabelle 15: Ergebnis der multivariablen linearen Regression für PD-L1	50
Tabelle 16: p-Werte der multiplen Regressionsmodelle unter Verwendung von Restricted Cubic Splines (RCS).....	51

8 Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.