

# Translationale Forschung und Diagnostik beim Lungenkarzinom

**Genetisches Profiling unterschiedlichster Malignome hat in jüngster Vergangenheit zu einer zunehmend neuen Einteilung bisher grob histologisch definierter Tumorentitäten geführt. Diese auf molekularen Unterschieden beruhenden Subklassifizierungen wurden zum Großteil mit neuen Technologien charakterisiert und führen zunehmend zu spezifischeren Diagnosen, individuellen Prognosen sowie rationalen Therapieansätzen. Als Vorreiter dieses Fortschritts gilt die Einteilung maligner Lymphome. Diese Übersicht beschäftigt sich vorwiegend mit einem Ausschnitt relevanter molekularbiologischer Veränderungen, die in jüngster Zeit gefunden wurden und eine Subkategorisierung von nichtkleinzelligen Lungenkarzinomen rechtfertigen. Zudem lässt sich aus den hier aufgeführten Erkenntnissen eine Veränderung der Diagnostik weiterer Organsysteme ableiten.**

## EGFR- und KRAS-Mutationen

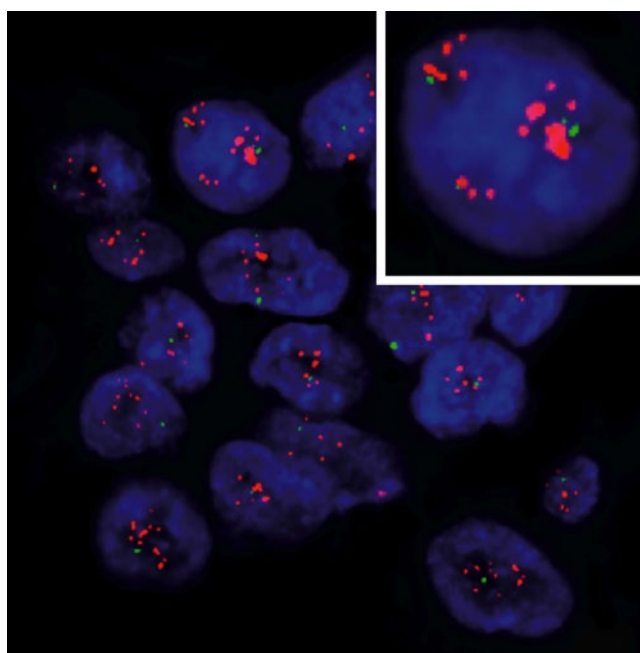
Die ersten beschriebenen klinisch relevanten molekularbiologischen Aberrationen, welche im translationalen Ansatz die Prognostizierbarkeit sowie Therapierbarkeit von Adenokarzinomen der Lunge nichtrauchender Patienten verändert haben, waren Mutationen im „epidermal growth factor receptor“ (EGFR; [1]).

Patienten, welche hier eine Mutation aufweisen (meist Exon 19, aber auch Exon 21), sprechen auf eine zielgerichtete Therapie mit den Tyrosin-Kinase-Inhibitoren (TKIs) Gefitinib oder Erlotinib besser an als Patienten ohne eine Mutation in diesem Bereich [1, 2].

Ein wichtiger Aspekt im Zusammenhang mit EGFR-Mutationen ist weitergehend die detailliertere genetische Subklassifikation der Lungenadenokarzinome durch Ein-/Ausschluss von KRAS-Mutationen. Mutationen im KRAS-Gen sind Einzelmutationen, welche meist in Codon 12 und 13 des Exons 2 auftreten. Bei Patienten, die einer Anti-EGFR-Therapie zugeführt werden sollen, ist es von

höchster Relevanz, den Mutationsstatus des KRAS-Gens zu bestimmen, da Patienten mit einer KRAS-Mutation resistent gegenüber einer Anti-EGFR-Therapie sind. Der Grund hierfür ist eine dauerhafte EGFR-unabhängige Aktivierung des EGFR-Signalweges. Interessanterweise schließen sich in der Regel EGFR- und KRAS-Mutationen aus.

Neben einer Relevanz für Therapieentscheidungen ist der prognostische Nutzen der beschriebenen Mutationen ein wichtiger Aspekt. KRAS-Mutationen sind mit einer schlechteren Prognose als Wildtype-KRAS vergesellschaftet. Die prognostische Relevanz einer EGFR-Überexpression bleibt jedoch strittig. Einige



**Abb. 1** ◀ Übersichtsaufnahme einer High-level-Amplifikation (HLA) in einem Plattenepithelkarzinom der Lunge. Eingefügt im rechten oberen Bildrand ist ein vergrößerter Nukleus mit HLA aus der Übersichtsaufnahme

Studien zeigten eine positive Korrelation von EGFR-Expression mit schlechtem Überleben [6, 7], während andere eine fehlende prognostische Assoziation beschrieben [4, 8, 9].

### EML4-ALK-Fusion

Ein weiterer Meilenstein in der Subklassifizierung von „non-small cell lung cancer“ (NSCLC) war die Identifikation einer Genfusionstranslokation des „echinoderm microtubule-associated protein-like 4“ (EML4)-Gens mit dem „anaplastic lymphoma kinase“ (ALK)-Gen. Diese Genfusion resultiert in einer aktivierten ALK-Kinase. Das Transkript dieser Genfusion wurde mit einer Frequenz von 6,7% in einer ostasiatischen Kohorte detektiert und trat unabhängig von der bisher bekannten EGFR-Mutation auf [10]. Somit war eine zweite genetische Subkategorie von NSCLC identifiziert. Im weiteren Verlauf zeigten Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen mit größeren kaukasischen Kohorten eine Fusionsfrequenz von 3,7% [11] bzw. 2,7% [12].

Seit August 2011 ist der ALK-Tyrosinkinase-Inhibitor Crizotinib für die Therapie von Patienten mit NSCLC mit diagnostizierter EML4-ALK-Genfusion zugelassen. Siebenundfünfzig Prozent der Patienten mit einer EML4-ALK-Genfusion sprechen auf die Therapie an und 33% der Patienten präsentierten sich mit stabilem Krankheitsverlauf. Dieses Ansprechen ist vor allem im Vergleich zur bisher angewandten Chemotherapie bemerkenswert, bei der in lediglich 10% der Fälle eine positive Ansprechrate zu vermerken ist [13]. Patienten ohne EML4-ALK-Genfusion zeigten kein Ansprechen auf den ALK-Tyrosinkinase-Inhibitor. Bei der Untersuchung von Patienten, welche nicht auf den ALK-Tyrosinkinase-Inhibitor angesprochen haben, gibt es Hinweise auf Crizotinib-resistente Mutationen in der ALK-Kinase-Domäne. Auch hieran kann man sehen, dass genetisch subkategorisierte Tumoren einer detaillierteren Klassifizierung bedürfen, um einen prädiktiven Wert abschätzen zu können.

Pathologe 2012 · [Suppl 2] 33:269–272 DOI 10.1007/s00292-012-1664-y  
© Springer-Verlag 2012

F. Göke · S. Perner

## Translationale Forschung und Diagnostik beim Lungenkarzinom

### Zusammenfassung

Malignome der Lunge sind die häufigste tumorassoziierte Todesursache weltweit. Lange Zeit wurden Lungenkarzinome lediglich in kleinzellige („small cell lung cancer“, SCLC) und nichtkleinzellige Karzinome („non-small cell lung cancer“, NSCLC) unterteilt, wobei hier Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome die häufigsten Entitäten darstellen. Diese grobe Einteilung gilt jedoch als überholt, da durch die molekulare Aufschlüsselung genetischer Aberrationen ständig neue Subkategorien innerhalb bisher histologisch definierter Tumorentitäten entstehen. Durch diese detailliertere Beschreibung pulmonaler Malignome entstehen neue Kategorien mit spezifischer Tumordiagnose, individueller Prognose sowie rationalen Therapiemöglich-

keiten. Bislang galten die malignen Lymphome als Prototyp für eine sinnvolle Subkategorisierung einer Tumorentität unter Berücksichtigung pathognomonisch relevanter molekularer Veränderungen. Mittlerweile sind auch bei den Lungenkarzinomen molekulare Charakteristika integraler Bestandteil der Patientenversorgung. Darüber hinaus können auch Erkenntnisse aus der molekularen Kategorisierung der Lungenkarzinome als Modell für die Charakterisierung von Tumoren anderer Organsysteme gesehen werden.

### Schlüsselwörter

Lunge · Karzinom · Translational · Gezielte Therapie · Genetisches Profil

## Translational research and diagnostics in lung cancer

### Abstract

Lung cancer is the most common malignant disease leading to death worldwide. Histologically, it is broadly subcategorized into small cell lung cancer (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC), with the latter mainly consisting of the major entities adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. However, molecular profiling of various lung cancer entities has revealed major molecular differences within distinct histological tumor entities, resulting in the integration of molecular alterations in the subclassification of lung cancers. These findings can only estimate the genetic complexity of lung tumors. Large

scale molecular profiling has the potential to identify novel diagnostic, prognostic and predictive markers as well as therapeutic targets. Importantly, this recently arising categorization of lung carcinomas can be regarded as an example for the characterization of malignomas of other organ systems. The pioneer model for this molecular subcategorization is the classification of malignant lymphomas.

### Keywords

Lungs · Cancer · Translational · Genetic profiling · Targeted therapy

## Thyroidtranskriptionsfaktor 1

Weitere Studien zur Identifizierung wiederkehrender Genalterationen haben TTF1 („thyroid transcription factor 1“) als weiteren molekularen Biomarker identifiziert. Weir et al. [14] charakterisierten 2007 durch SNP („single nucleotide de-polymorphism“)-Arrays das Karzinomgenom von 371 Adenokarzinomen der Lunge. Hierbei entdeckte die Gruppe, neben anderen amplifizierten und deletierten Regionen, mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) eine Amplifikation von NKX2-1 (TTF1) in 12% der Fälle. Mittels funktioneller Studien wurde der Transkriptionsfaktor TTF1 als Pro-

toonkogen identifiziert [14]. 2009 wurde dann von Perner et al. [15] eine Amplifikationsfrequenz von 13% High-level-Amplifikationen (HLA) in Adenokarzinomen und 9% Low-level-Amplifikationen (LLA) bei Plattenepithelkarzinomen der Lunge beschrieben. Des Weiteren resultiert eine HLA im TTF1-Gen sowohl in Adenokarzinomen als auch in Plattenepithelkarzinomen in einer erhöhten Proteinexpression.

TTF1 kann als prognostischer Marker Verwendung finden: Adenokarzinompatienten mit einer erhöhten TTF1-Proteinexpression haben eine bessere Prognose als solche mit einer niedrigen TTF1-Proteinexpression [15]. Weiterhin wird TTF1


lediglich in Schilddrüse, Lunge und dem zentralen Nervensystem exprimiert, sodass eine immunhistochemische Identifikation des Proteins nahezu spezifische Rückschlüsse auf die Entität des untersuchten Gewebes zulässt.

## SOX2

Im Jahr 2009 beschrieben Bass et al. [16] SOX2 („sex determining region Y-box 2“) als ein amplifiziertes Onkogen in Plattenepithelkarzinomen der Lunge. Während TTF1 die deutlichste Genanreicherung in Adenokarzinomen der Lunge darstellt, ist SOX2 die signifikanteste Genanreicherung in dieser pulmonalen Tumorentität. 2011 beschrieben Wilbertz et al. eine SOX2-Amplifikationsfrequenz von ca. 6% in Adenokarzinomen und ca. 66% in Plattenepithelkarzinomen der Lunge [17]. Interessanterweise zeigte sich eine erhöhte mRNA-Expression in SOX2-amplifizierten im Vergleich zu nichtamplifizierten Fällen [16] und auch eine erhöhte Proteinexpression scheint die Folge von Genamplifikationen des SOX2-Gens zu sein [17]. Die Assoziation von SOX2-Überexpression und Prognose bleibt umstritten, so zeigten wir eine bessere Prognose bei SOX2-Proteinexpression [17], während andere Autoren eine SOX2-Expression mit einer schlechteren Prognose verbanden [18, 19].

## “Fibroblast growth factor receptor 1“

Im Laufe der letzten Jahre kamen ständig neue Genaberrationen mit prognostischer, prädiktiver oder therapeutischer Relevanz hinzu. So beschrieben Weiss et al. [20] 2012 erstmals Amplifikationen im „fibroblast growth factor receptor 1“ (FGFR1) in Plattenepithelkarzinomen der Lunge. FGFR1-amplifizierte Zellen zeigten in vitro und in vivo ein signifikant besseres Ansprechen auf FGFR-Inhibitoren als nicht-FGFR1-amplifizierte Zellen [20]. Auch im Tiermodell konnte durch orale Gabe eines gezielten Inhibitors gegen FGF-Rezeptoren eine Reduktion des Tumorumfanges erreicht werden.

Als Folge werden aktuell Patienten mit FGFR1-amplifizierten Plattenepithelkarzinomen in Phase-I-klinischen Studien mit FGFR-Inhibitoren therapiert. 2012 konnten wir das therapeutische Spektrum auf metastasierte Tumoren erweitern, indem wir zeigten, dass der FGFR1-Amplifikationsstatus in die lokoregionären Lymphknotenmetastasen übertragen wird ([21],  **Abb. 1**). FGFR1-Amplifikationen sind die ersten therapeutisch angreifbaren Genaberrationen für Plattenepithelkarzinome der Lunge.

## FGFR1 in Plattenepithelkarzinomen anderer Lokalisationen

Da bei anderen genetischen Aberrationen wie SOX2- oder EGFR-Mutationen nicht die Lokalisation, sondern die histologische Entität für das organübergreifende Auftreten wichtig war, haben wir zudem weitere Plattenepithelkarzinome auf Amplifikationen im FGFR1-Genlokus untersucht. In Plattenepithelkarzinomen des Penis, der Cervix uteri sowie der Haut scheint eine Genamplifikation des FGFR1-Gens nur eine untergeordnete Rolle zu spielen [21]. Bereits 2007 beschrieben Freier et al. [22] jedoch eine bemerkenswerte Amplifikationsrate von 17% in oralen Plattenepithelkarzinomen. Erste unpublizierte Daten deuten darauf hin, dass diese Genaberration nicht nur in oralen Plattenepithelkarzinomen, sondern auch in Plattenepithelkarzinomen aller anderen Hals-Nasen-Ohren-Lokalisationen auftritt. Weiterhin überträgt sich die Amplifikation auch hier in den meisten Fällen auf lokoregionäre Metastasen.

Weitere Untersuchungen sind nötig, um eine genaue Amplifikationsfrequenz festzulegen und in funktionellen Studien einen möglichen neuen zielgerichteten Therapieansatz aufzudecken sowie gegebenenfalls einen prädiktiven oder prognostischen Wert zu eruieren.

Hier steht eine Anzeige.

## Fazit für die Praxis

Genetisches Profiling hat zur Identifikation von Subklassen der vormals beschriebenen groben histologischen Klassifizierung von Malignomen der Lunge geführt. Eine Identifikation der diagnostisch, prognostisch und therapeutisch bedeutsamen Marker ist für eine zeitgemäße adäquate Patientenversorgung unerlässlich, da für den einzelnen Patienten weitreichende Konsequenzen in Form von personalisierter Therapie und individueller Prognose resultieren. Neben Lymphomen können Malignome der Lunge als Modellerkrankung für rationale Subklassifikationen auf der Basis molekularer Veränderungen angesehen werden.

## Korrespondenzadresse

### Prof. Dr. S. Perner

Abteilung für Prostatakarzinom-Forschung,  
Institut für Pathologie,  
Universitätsklinikum Bonn  
Sigmund-Freud-Str. 25, 53127 Bonn  
sven.perner1972@gmail.com

### Interessenkonflikt.

Der korrespondierende Autor gibt für sich und seinen Koautor an, dass kein Interessenkonflikt besteht. The supplement this article is part of is not sponsored by the industry.

## Literatur

- Lynch TJ, Bell DW, Sordella R et al (2004) Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350:2129–2139
- Weinstein IB, Joe AK (2006) Mechanisms of disease: oncogene addiction: a rationale for molecular targeting in cancer therapy. *Nat Clin Pract Oncol* 3:448–457
- Pao W, Miller VA, Kris MG (2004) Targeting the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase with gefitinib (Iressa) in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Semin Cancer Biol* 14:33–40
- Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA Jr et al (2003) Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol* 21:3798–3807
- Reinmuth N, Brandt B, Kunze WP et al (2000) Ploidy, expression of erbB1, erbB2, P53 and amplification of erbB1, erbB2 and erbB3 in non-small cell lung cancer. *Eur Respir J* 16:991–996
- Ohsaki Y, Tanno S, Fujita Y et al (2000) Epidermal growth factor receptor expression correlates with poor prognosis in non-small cell lung cancer patients with p53 overexpression. *Oncol Rep* 7:603–607
- Volm M, Rittgen W, Drings P (1998) Prognostic value of ERBB-1, VEGF, cyclin A, FOS, JUN and MYC in patients with squamous cell lung carcinomas. *Br J Cancer* 77:663–669
- Rusch V, Klimstra D, Venkatraman E et al (1997) Overexpression of the epidermal growth factor receptor and its ligand transforming growth factor alpha is frequent in resectable non-small cell lung cancer but does not predict tumor progression. *Clin Cancer Res* 3:515–522
- Pfeiffer P, Clausen PP, Andersen K et al (1996) Lack of prognostic significance of epidermal growth factor receptor and the oncoprotein p185HER-2 in patients with systemically untreated non-small-cell lung cancer: an immunohistochemical study on cryosections. *Br J Cancer* 74:86–91
- Soda M, Choi YL, Enomoto M et al (2007) Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 448:561–566
- Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y et al (2008) EML4-ALK fusion is linked to histological characteristics in a subset of lung cancers. *J Thorac Oncol* 3:13–17
- Perner S, Wagner PL, Demichelis F et al (2008) EML4-ALK fusion lung cancer: a rare acquired event. *Neoplasia* 10:298–302
- Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR et al (2010) Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 363:1693–1703
- Weir BA, Woo MS, Getz G et al (2007) Characterizing the cancer genome in lung adenocarcinoma. *Nature* 450:893–898
- Perner S, Wagner PL, Soltermann A et al (2009) TTF1 expression in non-small cell lung carcinoma: association with TTF1 gene amplification and improved survival. *J Pathol* 217:65–72
- Bass AJ, Watanabe H, Mermel CH et al (2009) SOX2 is an amplified lineage-survival oncogene in lung and esophageal squamous cell carcinomas. *Nat Genet* 41:1238–1242
- Wilbertz T, Wagner P, Petersen K et al (2011) SOX2 gene amplification and protein overexpression are associated with better outcome in squamous cell lung cancer. *Mod Pathol* 24:944–953
- Neumann J, Bahr F, Horst D et al (2011) SOX2 expression correlates with lymph-node metastases and distant spread in right-sided colon cancer. *BMC Cancer* 11:518
- Du L, Yang Y, Xiao X et al (2011) Sox2 nuclear expression is closely associated with poor prognosis in patients with histologically node-negative oral tongue squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 47:709–713
- Weiss J, Sos ML, Seidel D et al (2010) Frequent and focal FGFR1 amplification associates with therapeutically tractable FGFR1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med* 2:62ra93
- Goeko F, Franzen A, Menon R et al (2012) Rationale for treatment of metastatic squamous cell carcinoma of the lung using FGFR Inhibitors. *Chest*
- Freier K, Schwaenen C, Sticht C et al (2007) Recurrent FGFR1 amplification and high FGFR1 protein expression in oral squamous cell carcinoma (OSCC). *Oral Oncol* 43:60–66