

Gastroenterologie 2012 · 7:24–29
DOI 10.1007/s11377-011-0607-0
Online publiziert: 6. Januar 2012
© Springer-Verlag 2012

Redaktion

R.M. Schmid, München
J. F. Riemann, Ludwigshafen

T.J. Ettrich

Klinik für Innere Medizin I, Universitätsklinikum, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle

KRAS und weitere Signalmoleküle für die Therapieentscheidung beim metastasierten Kolonkarzinom

Hintergrund

Kolorektale Karzinome (KRK) sind mit etwa 640.000 Todesfällen pro Jahr weltweit die dritthäufigste Krebstodesursache. In Europa sind sie die zweithäufigsten Karzinome mit etwa 380.000 Fällen pro Jahr und auch die zweithäufigste Krebstodesursache mit etwa 200.000 Todesfällen pro Jahr [4]. In den letzten Jahren ist die KRK-bedingte Mortalität stetig gesunken. Im metastasierten Stadium ist dies in erster Linie auf neue Chemotherapeutika (Oxaliplatin, Irinotecan), die neuen zielgerichteten Substanzen (Anti-EGFR-, Anti-VEGF-Antikörper) und geänderte Therapiestrategien, z. B. die Resektion von Metastasen bei KRK-Patienten mit isolierten Leber- und/oder Lungenmetastasen zurückzuführen.

Derzeit beschränkt sich die zielgerichtete Therapie beim metastasierten kolorektalen Karzinom in der klinischen Anwendung auf 2 Angriffspunkte:

- Blockierung des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors („epidermal growth factor receptor“, EGFR) mit den monoklonalen Antikörpern Cetuximab (chimär) und Panitumumab (human),
- Hemmung der Tumorangiogenese unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers Bevacizumab, der gegen den „vascular endothelial growth factor“ (VEGF) gerichtet ist.

Zahlreiche weitere Zielmoleküle werden derzeit in klinischen Studien evaluiert und es wurden auch schon Ergebnisse mitgeteilt; sie sind aber noch nicht für die Indikation „kolorektales Karzinom“ zugelassen (z. B. Afibercept, Regorafenib).

Blockade des EGFR-Signalwegs beim metastasierten KRK

Der EGFR- oder HER1-Rezeptor ist ein Glykoprotein aus der Reihe der transmembranären Rezeptortyrosinkinase und das erste Mitglied der HER-Rezeptor-Familie, zu der auch der aus der Therapie des Mammakarzinoms und des Adenokarzinoms des Magens bekannte HER2-Rezeptor gehört. Unterschiedliche Liganden wie z. B. der epidermale Wachstumsfaktor (EGF), Transforming-Growth-Faktor (TGF), Epiregulin, Betacellulin und Amphiregulin binden an den EGF-Rezeptor und führen über eine Dimerisation und Autophosphorylierung des Rezeptors zur Aktivierung der intrazellulären Signalkaskade, die Zellproliferation, Angiogenese und Apoptoseverhalten der Zelle moduliert [39]. Expression oder gar Überexpression des EGFR finden sich bei ca. 80% aller KRK, was klinisch mit einer verkürzten Überlebenszeit und einer gesteigerten Metastasierungsrate einhergeht [14, 27]. Angriffspunkte, um diesen Signalweg zu beeinflussen, gibt es im gesamten Verlauf der Signalkaskade, vom Liganden bis zu den einzelnen Signalmolekülen. In der klinischen Anwendung befinden sich allerdings momentan nur die EGFR-blockierenden Antikörper Cetuximab und Panitumumab.

Gibt es prädiktive Signalmoleküle für das Ansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie?

EGFR-Gen-Kopien

Die Menge an *EGFR*-Gen-Kopien im Tumorgewebe scheint mit der Ansprechrate für eine Anti-EGFR-Therapie zu korrelieren

[28]. Es zeigt sich jedoch eine große Heterogenität hinsichtlich der Konzentration von *EGFR*-Gen-Kopien im Tumorgewebe [31], so dass eine Verwendung dieses Markers im klinischen Alltag wenig zweckmäßig und praktikabel ist und daher routinemäßig unterbleibt.

Weitere Genexpressionsprofilanalysen zeigten, dass Patienten mit Tumoren, die die EGFR-Liganden Epiregulin (EREG) und Amphiregulin (AREG) hoch exprimieren, eine höhere Wahrscheinlichkeit haben, von einer Therapie mit Cetuximab zu profitieren. Patienten mit einer hohen Expression von EREG oder AREG im Tumor hatten ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben als Patienten, bei denen diese beiden Faktoren im Tumor nur niedrig exprimiert waren. Es zeigte sich, dass Patienten, deren Tumor eine Mutation im *KRAS*-Gen aufwies, eine signifikant geringere Krankheitskontrollrate hatten, als Patienten mit *KRAS*-Wildtyp im Tumor [20]. Aber was ist *KRAS* eigentlich genau?

KRAS

KRAS gehört zur Familie der RAS-GTP-bindenden und -spaltenden Proteine, ähnlich wie *NRAS* und *HRAS*. RAS-GTPasen wechseln von einer GTP-gebundenen, aktiven Form zu einer GDP-gebundenen, inaktiven Form. Sie übernehmen häufig die Rolle eines Mediators in der Signalweiterleitung von durch Rezeptortyrosinkinasen induzierten Signalwegen wie z. B. dem EGFR-Signalweg. Durch sog. aktivierende Mutationen wird *KRAS* konstitutiv aktiv, da die GTPase, also die GTP-spaltende Funktion, durch die Mutation inaktiviert wird und das Protein in seiner aktiven, GTP-gebundenen Form verbleibt.

KRAS-Mutationen finden sich häufig in gastrointestinalen Tumoren, beim KRK in etwa 40% der Fälle. Meist liegt eine Punktmutation im Codon 12 bzw. 13 des *KRAS*-Onkogens zugrunde. Die COSMIC-Datenbank gibt folgende Häufigkeiten an: für G12D 36%, G12V 22%, G12C 9%, G12A 7%, G12S 6%, und G13D 19%. Diese aktivierenden *KRAS*-Mutationen treten früh in der Adenom-Karzinom-Sequenz auf. Der Nachweis einer *KRAS*-Mutation kann mittels konventioneller Sequenzierung oder quantitativer Polymerasekettenreaktion (PCR) an in Paraffin eingebetteten Gewebeproben durchgeführt werden. Da die Mutation zu 95% in der Metastase vorliegt, wenn sie im Primärtumor nachweisbar war und umgekehrt, eignen sich Biopsien aus beiden Quellen, um die Mutationsanalyse durchzuführen und das Ergebnis ist als repräsentativ für den Gesamttumor anzusehen [36].

Bisher ist immer noch nicht schlüssig geklärt, welche intrazellulären Konsequenzen eine aktivierende Mutation von endogenem *KRAS* wirklich hat. Eine konstitutive Aktivierung von RAS-regulierten Signalwegen wie der MEK-ERK-Kaskade durch endogenes, aktives *KRAS* (im Gegensatz zu ektop exprimiertem aktivem *KRAS*) lässt sich mit den konventionell eingesetzten Analyseverfahren (z. B. aktivitätsspezifische Antikörper gegen Proteinkinasen) nicht überzeugend nachweisen.

► Bei einer aktivierenden *KRAS*-Mutation ist eine gegen EGFR gerichtete Therapie mit Cetuximab oder Panitumumab nicht wirksam.

Bereits präklinische Daten deuteten darauf hin, dass der antiproliferative Effekt einer gegen den EGFR gerichteten Therapie durch die mutationsbedingte, konstitutive Aktivierung von *KRAS* aufgehoben sein könnte. Dass eine aktivierende *KRAS*-Mutation die Vorhersage der Nichtwirksamkeit einer Anti-EGFR-Therapie erlaubt, zeigte sich zuerst in retrospektiven Analysen kleinerer klinischer Studien [25] und schließlich auch in großen Patientenkohorten, die entweder Cetuximab- [8] oder Panitumumab beinhaltende Therapien erhalten hatten [1, 12, 41].

In einer Studie, in der Panitumumab als Monotherapie bei Patienten mit

chemotherapierefraktärem KRK mit der besten supportiven Therapie („best supportive care“, BSC) verglichen wurde, zeigte sich ein Gesamtumoransprechen („overall response rate“, ORR) von 17% bei den *KRAS*-Wildtyp-Patienten im Vergleich zu 0% bei den Patienten mit nachgewiesener *KRAS*-Mutation. Das mediane Überleben war mit 12,3 Wochen in der *KRAS*-Wildtyp-Population im Vergleich zu 7,4 Wochen in der *KRAS*-mutierten Gruppe deutlich verlängert. Das bedeutet, dass diese Patientengruppe nicht von der Anti-EGFR-Therapie mit Panitumumab im Vergleich zu BSC profitiert hat [19].

Gleichermaßen brachte der Einsatz von Cetuximab kein zusätzliches Ansprechen in der Kombination mit Irinotecan bei einer kleinen Kohorte von Patienten mit chemotherapierefraktärem KRK und nachgewiesener *KRAS*-Mutation [8]. Diese Ergebnisse bestätigten sich in einer randomisierten Phase-III-Studie gegen BSC: Auch hier zeigte nur die Gruppe mit *KRAS*-Wildtyp-Tumoren und Cetuximab ein verbesserte Prognose mit einem Gesamtüberleben („overall survival“, OS) von 9,5 gegen 4,5 Monate. Die *KRAS*-mutierten Patienten zeigten hingegen wieder keinen Unterschied zur Kontrollgruppe mit BSC [19].

Auch Studien, in denen Cetuximab in der Erstlinientherapie mit Kombinationschemotherapien wie FOLFIRI (Crystal-Studie) oder FOLFOX4 (OPUS) kombiniert worden war, wurden retrospektiv hinsichtlich des Einflusses einer *KRAS*-Mutation auf die Wirkung einer Anti-EGFR-Therapie ausgewertet. Es zeigte sich, dass in der gesamten Studienpopulation mit beiden Chemotherapieregimen die Kombination mit Cetuximab bereits das Tumoransprechen (ORR) in beiden Studien und das mediane progressionsfreie PFS („progression-free survival“, PFS) in der größeren Studie (Crystal) verbesserte. Eine noch deutlichere Verbesserung von ORR und medianem PFS durch Hinzunahme des Antikörpers zeigte sich in beiden Studien, wenn nur Patienten mit *KRAS*-Wildtyp-Status im Tumor berücksichtigt wurden.

- *ORR plus/minus Cetuximab:*
 - OPUS: 61% vs. 37%, $p = 0,011$;
 - CRYSTAL: 59% vs. 43%, $p = 0,003$.

- *Medianes PFS plus/minus Cetuximab:*
 - OPUS: 7,7 vs. 7,2 Monate, HR 0,57, $p = 0,016$;
 - CRYSTAL: 9,9 vs. 8,7 Monate, HR 0,68, $p = 0,017$.

Im Gegensatz dazu brachte die Addition von Cetuximab zu FOLFOX oder FOLFIRI keinen Vorteil für Patienten mit *KRAS*-mutiertem metastasiertem KRK (mKRK). Bemerkenswerterweise hatte diese Patientengruppe sogar ein signifikant kürzeres medianes PFS, wenn Cetuximab mit FOLFOX4 kombiniert wurde [3, 43]. In beiden Studien hatte der *KRAS*-Mutations-Status keinen Einfluss auf die Prognose in den jeweiligen Kontrollarmen, in denen eine reine Kombinationschemotherapie (FOLFOX4 bzw. FOLFIRI) appliziert wurde. Dies impliziert, dass der *KRAS*-Status vornehmlich ein prädiktiver Marker für das Ansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie, aber zumindest in der Erstlinientherapie kein prognostischer Marker ist.

Klinische Studien zur Kombination von Panitumumab in der Erstlinientherapie mit FOLFOX (PRIME Studie) [10] und in der Zweitlinientherapie mit Irinotecan (20050181-Studie) [30] bestätigten die Effektivität einer Kombination mit dem Anti-EGFR-Antikörper für das Tumoransprechen und das progressionsfreie Überleben nur in der Gruppe der Patienten mit *KRAS*-Wildtyp-Status im Tumor. Wiederum schienen in der PRIME-Studie Patienten mit einer *KRAS*-Mutation, die eine oxaliplatinhaltige Chemotherapie gemeinsam mit dem Anti-EGFR-Antikörper erhielten, einen eher ungünstigeren Verlauf ihrer Erkrankung zu haben (manifestiert durch ein kürzeres PFS; [10]).

Der *KRAS*-Status ist damit ein negativ-prädiktiver Marker, d. h., er sagt lediglich das Nichtansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie bei Vorliegen einer *KRAS*-Mutation im Tumor voraus, nicht aber das Ansprechen auf eine solche Therapie.

In den letzten Monaten gaben retrospektive Auswertungen der oben genannten Studien zur Kombination von Cetuximab mit Kombinationschemotherapie in der Erstlinientherapie Hinweise darauf, dass nicht alle *RAS*-Mutationen einen gleichermaßen negativ-prädiktiven Aussagewert für eine Anti-EGFR-Thera-

pie haben könnten. Bereits vor mehreren Jahren publizierte Daten zeigen, dass sich RAS-Mutationen in Codon 12 und 13 hinsichtlich ihrer Tumorbiologie unterscheiden [13]. Es gibt klinische Hinweise, dass eine G13D-Mutation prognostisch ungünstig ist. Bei Vorliegen einer G13D-Mutation des KRAS-Gens im Tumor könnten jedoch Patienten von einer Anti-EGFR-Therapie mit Cetuximab hinsichtlich OS und PFS profitieren, und zwar in der Erstlinientherapie wie auch in fortgeschrittenen Therapielinien [7, 42]. Allerdings lag diese Mutation nur bei etwa 8% der Patienten in den Studien vor, und die Konfidenzintervalle streuten breit.

Aktuelle analog ausgewertete Daten der Phase-III-Studien zum Einsatz von Panitumumab in der Erst- und Zweitlinientherapie des metastasierten KRK – Panitumumab plus FOLFOX4 („first-line“) oder FOLFIRI („second-line“) – zeigen jedoch bei einer ausgiebigen Analyse der Korrelation von Mutationen im KRAS-Gen und PFS bzw. OS für die häufigsten Mutationen (G12A, G12C, G12D, G12R, G12S, G12V, G13D) ein völlig anderes Bild. Hier fand sich in der Erstlinientherapie nur für die G12C-Mutation ein etwas besseres PFS bei Einsatz von Panitumumab, nicht aber für die G13D-Mutation. In der Zweitlinientherapie ergaben sich sehr geringe Vorteile bei Vorliegen einer G13D-, aber auch einer G12C- oder einer G12S-Mutation zugunsten des panitumumabhaltigen Behandlungsarms bei großen Konfidenzintervallen. Hinsichtlich des Gesamtüberlebens schienen Patienten mit einer G12V-Mutation im Tumor von einer Therapie mit Panitumumab zu profitieren, während Patienten mit einer G13D-Mutation im Tumor ein signifikant besseres Überleben im Kontrollarm hatten. In der Zweitlinientherapie war das Überleben bei Patienten mit einer G13D-Mutation im Tumor wiederum besser im Panitumumab-Arm [29].

Wie lässt sich diese widersprüchliche Datenlage erklären? Unterschiede zwischen den verwendeten Antikörpern könnten eine Rolle spielen. Wahrscheinlicher ist aber, dass es aufgrund der relativ geringen Zahl von Patienten mit bestimmten KRAS-Mutationen in den jeweiligen retrospektiven Analysen zu Ver-

Gastroenterologie 2012 · 7:24–29 DOI 10.1007/s11377-011-0607-0
© Springer-Verlag 2012

T.J. Ettrich

KRAS und weitere Signalmoleküle für die Therapieentscheidung beim metastasierten Kolonkarzinom

Zusammenfassung

Die „zielgerichtete Therapie“ hat in den letzten Jahren in die gesamte Onkologie Einzug gehalten, insbesondere auch in die Behandlung des kolorektalen Karzinoms. Diese Entwicklung ist das Ergebnis von zunehmendem Wissen über Signalkaskaden in Tumoren in vitro und in vivo, die eine wesentliche Rolle bei der Regulation von Zellüberleben, Tumorwachstum und Metastasierung spielen. Dies führte zur Entwicklung von Strategien, tumorrelevante Signalkaskaden selektiv zu unterbrechen und idealerweise mit zielgerichteten Medikamenten nur den Tumor, nicht aber andere Organe oder Zellsysteme zu treffen. Im Bereich des kolorektalen Karzinoms hat nicht zuletzt die Einführung von zielgerichteten Therapien eine deutlichen Verbesserung von Tumoransprechen, progressionsfreiem Überleben und Gesamt-

überleben gebracht – allerdings nicht für alle Patienten, die mit diesen Medikamenten behandelt werden. Es stellt sich also zunehmend die Frage nach prädiktiven Markern für eine Therapie mit diesen – auch kostenintensiven – Therapeutika, die eine Vorhersage erlauben, ob ein Patient von einer bestimmten zielgerichteten Therapie profitieren wird. Im vorliegenden Beitrag wird der aktuelle Stand und Stellenwert prädiktiver Marker für zielgerichtete Therapiestrategien gegen den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor beim metastasierten kolorektalen Karzinom dargestellt.

Schlüsselwörter

Kolorektales Karzinom · Systemische Therapie · Angiogenese-Inhibitoren · Proteinkinase-Inhibitoren · EGF-Rezeptor

K-ras and other signal molecules for therapy decision-making in metastasized colorectal cancer

Abstract

In recent years targeted therapy has made an impact in all aspects of oncology but in particular in the treatment of colorectal cancer. This development is the result of increasing knowledge on signal cascades in tumors in vitro and in vivo which play an essential role in the regulation of cell survival, tumor growth and metastasis. This has led to the development of strategies to interrupt signal cascades relevant for tumors and ideally with targeted medications to affect only the tumor and not other organs or cell systems. In the field of colorectal cancer the implementation of targeted therapies has if nothing else brought a clear improvement in tumor response, progression-free survival and to-

tal survival; however, not for all patients treated with these medications. There is therefore an increasing demand for predictive markers for therapy with these, even cost-intensive, therapeutics which allow a prediction whether a patient will profit from a certain targeted therapy. In this article the current state of the art and value of predictive markers for targeted therapy strategies against epidermal growth factor receptor for metastasized colorectal cancer will be presented.

Keywords

Neoplasms, colorectal · Systemic therapy · Angiogenesis inhibitors · Protein kinase inhibitors · Epidermal growth factor receptor

zerrungen kommt, da PFS und OS ja auch noch von anderen Faktoren im Tumor beeinflusst werden. Aus diesen Gründen empfiehlt es sich aktuell außerhalb von Studien *nicht*, Patienten mit bestimmten KRAS-Mutationen im Tumor doch mit einer Anti-EGFR-Therapie zu behandeln.

NRAS

NRAS ist ebenfalls eine RAS-Isoform. NRAS-Mutationen in kolorektalen Karzi-

nomen sind mit etwa 3% betroffener Patienten vergleichsweise selten. Bei Patienten mit NRAS-Mutationen im Tumor war das Ansprechen von chemorefraktären KRAS-Wildtyp-Tumoren auf eine Therapie mit Cetuximab deutlich schlechter: 7,7% bei Vorliegen einer NRAS-Mutation vs. 38,1% in NRAS-Wildtyp-Tumoren [6]. Auch bei Kombination von Irinotecan mit Cetuximab scheinen Patienten mit einer NRAS-Mutation im Tumor

nicht von der Therapie mit Cetuximab zu profitieren [40].

Angesichts der spärlichen Datenlage und der geringen Patientenzahl mit *NRAS*-Mutationen erscheint eine routinemäßige Bestimmung von *NRAS*-Mutationen vor Beginn einer Anti-EGFR-Therapie derzeit nicht geboten.

BRAF

BRAF ist eine Serin-Threonin-Kinase und ein Protoonkogen, das RAS in der EGFR-Signalkaskade nachgeordnet ist (Abb. 1). Aktivierende *BRAF*-Mutationen, vornehmlich in Position V600E, finden sich bei 8–10% aller KRK. Das Gewebe dieser Tumoren zeichnet sich durch Lymphozyteninfiltration und eine geringgradige, auch muzinöse Differenzierung aus. Anatomisch finden sich *BRAF*-mutierte Karzinome häufig im proximalen Kolon. Mutationen im *BRAF*- und *KRAS*-Gen schließen sich gegenseitig aus, so dass *BRAF*-Mutationen nur in *KRAS*-Wildtyp-Tumoren vorkommen [34]. Mutiertes *BRAF* fungiert als Wachstums- und Überlebensstimulus speziell in KRK-Zellen mit Mikrosatelliteninstabilität [24].

In einer retrospektiven Analyse (11 der 79 Patienten mit einer *BRAF*-V600E-Mutation im mKRK) zeigte kein Patient mit *BRAF*-Mutation ein Ansprechen der chemorefrakten Tumoren auf eine Anti-EGFR-Therapie mit Cetuximab bzw. Panitumumab. Umgekehrt zeigte sich bei keinem der Patienten mit Tumoransprechen eine *BRAF*-Mutation. Patienten mit *BRAF*-mutierten KRK hatten ein signifikant verkürztes PFS und OS im Vergleich zu *BRAF*-Wildtyp-Patienten [9]. In einer ähnlichen Analyse ergab sich ein Tumoransprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie von 8,3% bei Vorliegen einer *BRAF*-Mutation im Tumor im Vergleich zu 38% bei *BRAF*-Wildtyp-Tumoren [5].

Auch in einer Analyse der sogenannten PICCOLO-Studie (Irinotecan plus/minus Panitumumab bei chemotherapieresistentem mKRK; [40]) zeigte sich bei 29% aller Patienten mit *KRAS*-Wildtyp eine oder mehrere aktivierende Mutationen, z. B. *BRAF*, *NRAS*, *PIK3K* oder *KRAS*-146. Bei Vorliegen einer dieser Mutationen im Tumor profitierten die Patienten nicht von einer Therapie mit Panitumumab hinsichtlich des Parameters

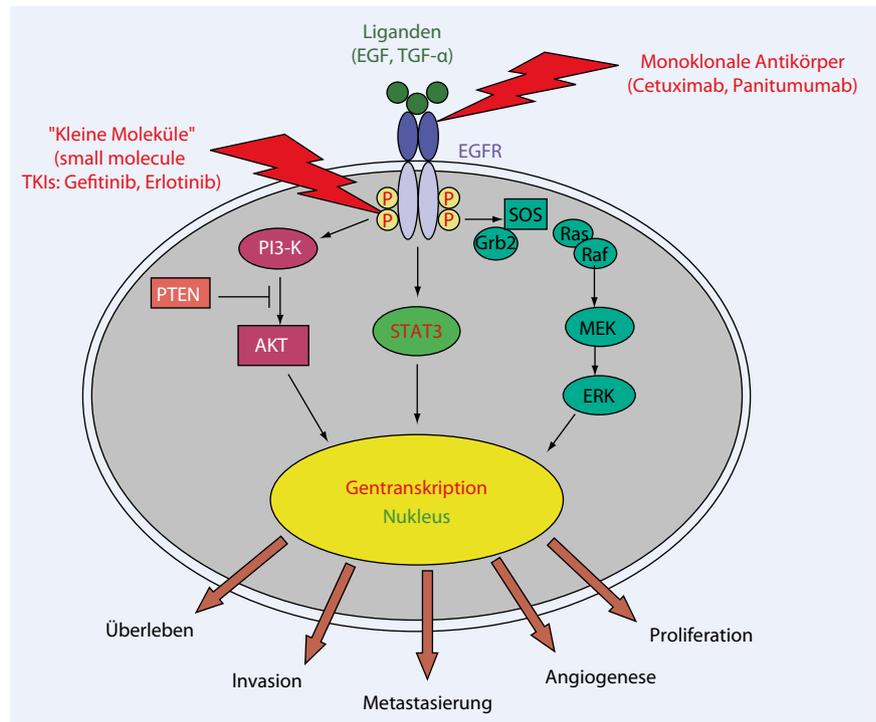


Abb. 1 ▲ Der EGFR-Signalweg. Die Ligandenbindung an EGFR der Zelloberfläche induziert die Phosphorylierung von mehreren intrazellulären Tyrosinresten, die Downstream-Signalkaskaden aktivieren: hauptsächlich den MAPK-Signalweg, den PI3K-KT-Signalweg und den JAK/STAT-Signalweg. Diese Signalwege regulieren Gene, die zu Zellproliferation, Zellüberleben und Zellinvasion, Angiogenese und Metastasierung beitragen. Eine gezielte EGFR-Hemmung könnte entweder mit monoklonalen Antikörpern erfolgen, die an die extrazelluläre EGFR-Domäne binden, oder mit kleinmolekularen TKIs, die an die intrazelluläre Domäne binden. *EGF(R)* epidermal growth factor (receptor), *TGF* transforming growth factor, *TKI* Tyrosinkinaseinhibitor. (Aus [44])

Überleben. Im Gegenteil, es zeigte sich sogar ein nicht signifikanter Trend zu einem kürzeren Überleben bei einer Anti-EGFR-Therapie und Vorliegen einer *BRAF*-Mutation im Tumor.

Aus einer retrospektiven Analyse der oben beschriebenen CRYSTAL-Studie (FOLFIRI plus Cetuximab in der Erstlinientherapie) ergaben sich Hinweise darauf, dass eine *BRAF*-Mutation eher prognostisch, aber nicht prädiktiv für ein Therapieansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie in der Erstlinientherapie ist [22]. In der Erstlinientherapie ist eine *BRAF*-Mutation also mit einer deutlich ungünstigeren Prognose assoziiert, auch wenn Patienten nur eine Chemotherapie erhalten. Erhalten Patienten trotz dieser ungünstigen Prognose eine Zweit- oder Drittlinientherapie, dann könnte eine *BRAF*-Mutation auch ein negativ-prädiktiver Faktor für eine gegen den EGFR gerichtete Therapie sein [40]. Diese Interpretation der Daten steht allerdings unter

dem Vorbehalt, dass *BRAF*-Mutationen selten sind. Daher ist die in den retrospektiven Analysen ausgewertete Fallzahl klein, so dass Verzerrungen durchaus möglich sind. Während prospektive Studien zu dieser Fragestellung durchaus wünschenswert sind, erscheint aufgrund der aktuellen Datenlage die routinemäßige Untersuchung von *KRAS*-Wildtyp-Tumoren hinsichtlich ihres *BRAF*-Mutations-Status vor Durchführen einer Anti-EGFR-Therapie nicht indiziert.

PTEN und PI3-Kinase

Ein weiterer potenziell prädiktiver Biomarker für das Ansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie ist der Expressionsstatus von PTEN („phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10“). PTEN ist eine Phosphatase, die PI3-Kinase (PI3K) dephosphoryliert und damit inaktiviert. Ein Verlust von PTEN führt zu einer dauerhaften Aktivierung dieses Signalwegs und zu einer Apoptose-

resistenz der Tumorzellen. In vitro zeigen KRK-Zellen bei Verlust von PTEN eine Resistenz gegenüber Cetuximab [17]. In einer retrospektiven Analyse konnte gezeigt werden, dass die PTEN-Expression im Gegensatz zum KRAS-Mutations-Status im Primärtumor und in den Metastasen variiert. Nur der PTEN-Expressions-Status in den Metastasen korrelierte signifikant mit dem Tumorsprechen und dem progressionsfreien Überleben bei Patienten mit mKRK unter einer Therapie mit Irinotecan und Cetuximab (RR: PTEN⁺-Tumoren 36%, PTEN⁻-Tumoren 5%; medianes PFS: PTEN⁺-Tumoren 4,7 Monate, PTEN⁻-Tumoren 3,3 Monate; [26]). Von anderen Gruppen gibt es hier widersprüchliche Daten zur Rolle von PTEN als prädiktivem Marker [33, 37]. Der Verlust von PTEN scheint vor allem ein Hinweis auf eine aggressivere Tumorerkrankung zu sein und hat damit am ehesten prognostische Bedeutung [38]. Größere Studien sind nötig, um die Evidenz von PTEN als prädiktivem Marker des Ansprechens auf eine Anti-EGFR-Therapie zu verstärken.

Mutationen in der *PI3-Kinase* wurden bei 14,5% der KRK beschrieben. Davon liegen etwa 70% in Exon 9 und etwa 20% in Exon 20. Exon-9-Mutationen hatte in chemotherapieresistenten Tumoren keine Bedeutung hinsichtlich des Ansprechens auf eine gegen EGFR gerichtete Therapie. Bei Vorliegen einer Exon-20-Mutation war das Ansprechen auf eine Anti-EGFR-Therapie allerdings 0%, verglichen mit 36,8% bei Vorliegen von *PI3K*-Wildtyp. Auch medianes PFS und OS waren bei Vorliegen einer Exon-20-Mutation in *PI3K* signifikant schlechter [5].

Weitere Signalmoleküle

Verschiedene Signalmoleküle wie IGF-IR („insulin-like growth factor I rezeptor“), EpCAM, DR5 („death receptor 5“) und viele mehr sind aktuell Bestandteil klinischer Untersuchungen. Über ihren prädiktiven oder prognostischen Wert hinsichtlich der Therapie des metastasierten KRK lässt sich aktuell jedoch noch keine definitive Aussage treffen.

Hemmung der Tumorangiogenese

Maligne Tumoren benötigen ab einer gewissen Größe (>2–3 mm) ein eigenes Netz von Gefäßen, um die Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr zu gewährleisten [11]. Mit der Entdeckung von VEGF („vascular endothelial growth factor“), der durch Aktivierung von Rezeptortyrosinkinasen das Wachstum von Endothelzellen stimuliert, war ein guter Angriffspunkt für die Blockade der Tumorangiogenese gefunden [2, 21].

Im klinischen Alltag findet heute im Bereich des metastasierten KRK vor allem der monoklonale, humanisierte VEGF-Antikörper Bevacizumab Anwendung, der an VEGF bindet und dieses dadurch neutralisiert. Als Einzelsubstanz ist Bevacizumab bei mKRK-Patienten nicht effektiv. In Kombination mit Chemotherapeutika hat Bevacizumab in zahlreichen klinischen Studien eine deutliche Verbesserung des progressionsfreien Überlebens und auch des Gesamtüberlebens in der Erst- und Zweitlinientherapie des mKRK gezeigt.

Es gab Hinweise, dass im Blut zirkulierendes VEGF ein Surrogatparameter für Angiogenese und damit Tumorprogression bei onkologischen Patienten sein könnte [32]. Heute weiß man, dass vom Tumor sezerniertes VEGF erst dann signifikant nachweisbar wird, wenn die Tumormasse bereits hoch ist. Damit scheidet zirkulierendes VEGF als sensibler Marker einer angiogenesehemmenden Therapie aus [35]. Auch die VEGF-Konzentration im Primärtumor oder im VEGF-Signalweg weiter abwärts lokalisierte Signalmoleküle wie C-RAF, p53 oder Mediatoren der Angiogenese wie TSP-2 sind keine prädiktiven Marker für das Ansprechen auf eine VEGF-Therapie [15, 16, 18]

Somit gibt es aktuell keinen prädiktiven Biomarker für eine Angiogeneseinhibition, z. B. mit Bevacizumab. Der Erfolg der Antiangiogenesetherapie ist unabhängig vom KRAS-Status des Tumors, was sich damit erklären lässt, dass die Therapie primär auf das tumorassoziierte Gefäßsystem und nicht auf Karzinomzellen abzielt [15, 16]. Eventuell kann die Konzentration bestimmter Zytokine während der Chemotherapie als Marker für die Ak-

tivierung alternativer Signalwege der Angiogenese und damit als Marker für eine zunehmende Resistenz gegen ein VEGF-blockierendes Therapiekonzept gelten [23]. Aber auch hier sind weitergehende Untersuchungen notwendig.

Fazit für die Praxis

- Der *KRAS*-Status ist aktuell der beste (negativ-)prädiktive Biomarker für eine Therapie mit EGFR-blockierenden Antikörpern. Daher sollte der *KRAS*-Mutationsstatus vor Einleitung mit einer zielgerichteten Anti-EGFR-Therapie unbedingt ermittelt werden, unabhängig von etwaigen Kombinationspartnern oder der Chemotherapielinie. Aufgrund der hohen Konkordanz zwischen Primarius und Metastase hinsichtlich der *KRAS*-Mutation kann die Bestimmung aus beiden Geweben erfolgen.
- Wegen der negativ-prädiktiven Eigenschaft kann das Vorliegen eines *KRAS*-Wildtyps nicht automatisch mit einem Ansprechen auf eine gegen den EGFR gerichtete Therapie gleichgesetzt werden. Dies liegt auch darin begründet, dass es weitere Mutationen im Tumor gibt, die ein Ansprechen auf eine gegen EGFR gerichtete Therapie modulieren, z. T. sogar möglicherweise in Abhängigkeit von der Therapielinie, in welcher der Anti-EGFR-Antikörper eingesetzt wird.
- Zur Klärung des prädiktiven Charakters anderer Biomarker, die im KRK deutlich seltener mutiert auftreten (*NRAS*, *BRAF*, *PI3K*), sind weitere Studien nötig.
- Für die Angiogenesehemmung gibt es aktuell keinen prädiktiven Biomarker.

Korrespondenzadresse



Dr. T.J. Ettrich
Klinik für Innere Medizin I,
Universitätsklinikum,
Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Ernst-Grube-Str. 40, 01620 Halle
thomas.ettrich@
medizin.uni-halle.de

Interessenkonflikt. Der Autor weist auf folgende Beziehung hin: Übernahme der Reisekosten zum ASCO GI Cancer Symposium 2011 durch Merck Serono.

Literatur

- Amado RG, Wolf M, Peeters M et al (2008) Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 26: 1626–1634
- Baselga J, Arteaga CL (2005) Critical update and emerging trends in epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *J Clin Oncol* 23: 2445–2459
- Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al (2009) Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 27: 663–671
- Boyle P, Ferlay J (2005) Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol* 16: 481–488
- De Roock W, Claes B, Bernasconi D et al (2010) Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 11: 753–762
- De Roock W, De Vriendt V, Normanno N et al (2011) KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol* 12: 594–603
- De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F et al (2010) Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA* 304: 1812–1820
- De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J et al (2008) KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 19: 508–515
- Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F et al (2008) Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 26: 5705–5712
- Douillard JY, Siena S, Cassidy J et al (2010) Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 28: 4697–4705
- Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285: 1182–1186
- Freeman DJ, Juan T, Reiner M et al (2008) Association of K-ras mutational status and clinical outcomes in patients with metastatic colorectal cancer receiving panitumumab alone. *Clin Colorectal Cancer* 7: 184–190
- Guerrero I, Casanova I, Farre L et al (2000) K-ras codon 12 mutation induces higher level of resistance to apoptosis and predisposition to anchorage-independent growth than codon 13 mutation or proto-oncogene overexpression. *Cancer Res* 60: 6750–6756
- Hemming AW, Davis NL, Kluftinger A et al (1992) Prognostic markers of colorectal cancer: an evaluation of DNA content, epidermal growth factor receptor, and Ki-67. *J Surg Oncol* 51: 147–152
- Hurwitz HI, Yi J, Ince W et al (2009) The clinical benefit of bevacizumab in metastatic colorectal cancer is independent of K-ras mutation status: analysis of a phase III study of bevacizumab with chemotherapy in previously untreated metastatic colorectal cancer. *Oncologist* 14: 22–28
- Ince WL, Jubb AM, Holden SN et al (2005) Association of k-ras, b-raf, and p53 status with the treatment effect of bevacizumab. *J Natl Cancer Inst* 97: 981–989
- Jhawer M, Goel S, Wilson AJ et al (2008) PIK3CA mutation/PTEN expression status predicts response of colon cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab. *Cancer Res* 68: 1953–1961
- Jubb AM, Hurwitz HI, Bai W et al (2006) Impact of vascular endothelial growth factor-A expression, thrombospondin-2 expression, and microvessel density on the treatment effect of bevacizumab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 24: 217–227
- Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ et al (2008) K-ras mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *N Engl J Med* 359: 1757–1765
- Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ et al (2007) Expression of ephrins and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 25: 3230–3237
- Kim KJ, Li B, Winer J et al (1993) Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362(6423): 841–844
- Kohne CH (2009) Predictive biomarkers to improve treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): outcomes with cetuximab plus FOLFIRI in the CRYSTAL trial. *J Clin Oncol* 27: 15 s
- Kopetz S (2009) Levels of angiogenic cytokines prior to disease progression in metastatic colorectal cancer patients treated with bevacizumab. *ASCO Gastrointestinal Cancers Symposium*
- Li WQ, Kawakami K, Ruzsiewicz A et al (2006) BRAF mutations are associated with distinctive clinical, pathological and molecular features of colorectal cancer independently of microsatellite instability status. *Mol Cancer* 5: 2
- Lievre A, Bachet JB, Le Corre D et al (2006) KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 66: 3992–3995
- Loupakis F, Pollina L, Stasi I et al (2009) PTEN expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 27: 2622–2629
- Mayer A, Takimoto M, Fritz E et al (1993) The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen, epidermal growth factor receptor, and mdr gene expression in colorectal cancer. *Cancer* 71: 2454–2460
- Moroni M, Veronese S, Benvenuti S et al (2005) Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol* 6: 279–286
- Peeters M, Cohn A, Kohne CH et al (2011) Panitumumab in combination with cytotoxic chemotherapy for the treatment of metastatic colorectal carcinoma. *Clinical colorectal cancer*
- Peeters M, Price TJ, Cervantes A et al (2010) Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 28: 4706–4713
- Personeni N, Fieuws S, Piessevaux H et al (2008) Clinical usefulness of EGFR gene copy number as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab: a fluorescent in situ hybridization study. *Clin Cancer Res* 14: 5869–5876
- Poon RT, Fan ST, Wong J (2001) Clinical implications of circulating angiogenic factors in cancer patients. *J Clin Oncol* 19: 1207–1225
- Prenen H, De Schutter J, Jacobs B et al (2009) PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 15: 3184–3188
- Preto A, Figueiredo J, Velho S et al. (2008) BRAF provides proliferation and survival signals in MSI colorectal carcinoma cells displaying BRAF(V600E) but not KRAS mutations. *J Pathol* 214: 320–327
- Rudge JS, Holash J, Hylton D et al (2007) VEGF Trap complex formation measures production rates of VEGF, providing a biomarker for predicting efficacious angiogenic blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 18363–18370
- Santini D, Loupakis F, Vincenzi B et al (2008) High concordance of KRAS status between primary colorectal tumors and related metastatic sites: implications for clinical practice. *Oncologist* 13: 1270–1275
- Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F et al (2009) PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 69: 1851–1857
- Sawai H, Yasuda A, Ochi N et al (2008) Loss of PTEN expression is associated with colorectal cancer liver metastasis and poor patient survival. *BMC Gastroenterol* 8: 56
- Scaltriti M, Baselga J (2006) The epidermal growth factor receptor pathway: a model for targeted therapy. *Clin Cancer Res* 12: 5268–5272
- Seymour MT (2011) Addition of panitumumab to irinotecan: Results of PICCOLO, a randomized controlled trial in advanced colorectal cancer (aCRC). *J Clin Oncol (Suppl)*: 3523
- Siena S, Peeters M, Van Cutsem E et al (2007) Association of progression-free survival with patient-reported outcomes and survival: results from a randomised phase 3 trial of panitumumab. *Br J Cancer* 97: 1469–1474
- Tejpar S, Bokemeyer C, Celik I (2011) Influence of KRAS G13D mutations on outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with first-line chemotherapy with or without cetuximab. *ASCO Annual Meeting Abstract 3511*: Presented June 4, 2011
- Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E et al. (2009) Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 360: 1408–1417
- Li T, Perez-Soler R (2009) Skin toxicities associated with epidermal growth factor receptor inhibitors. *Target Oncol* 4: 107–119