

Wichtig für individualisierte Erstlinien-Behandlungsoptionen

Prädiktive Biomarker-Testung beim NSCLC

In den letzten Jahren erfolgte die detaillierte molekulargenetische Charakterisierung des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms (NSCLC). Diese ergänzt die histopathologische Einteilung gemäss der aktuellen WHO-Klassifikation (2015) der Lungentumoren. Die Identifikation von Treibermutationen der Tumorentstehung und -progression hat die Entwicklung von zielgerichteten Therapien ermöglicht. Dieser Beitrag präsentiert die molekularen Testungen, die im Hinblick auf gegenwärtig in der Schweiz als Erstlinientherapie zugelassene zielgerichtete Behandlungsoptionen des NSCLC von Bedeutung sind. Dazu zählen EGFR-Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI), ALK-TKI und Inhibitoren des PD-1/PD-L1-Immunecheckpunkts.



Prof. Dr. med.
Wolfram Jochum
St. Gallen

Bedeutung zu, da Osimertinib, ein oraler irreversibler EGFR-TKI der 3. Generation, sowohl gegen aktivierende EGFR-Mutationen als auch gegen die T790M-Mutation wirksam ist. Bei Vorliegen einer T790M-Mutation kann durch Wechsel auf eine Therapie mit Osimertinib das Patientenüberleben trotz Resistenzmutation verlängert werden. Die Testung auf eine EGFR T790M-Mutation kann sowohl an Tumorgewebe als auch an im Blutplasma zirkulierenden Tumor-DNA (ctDNA, Liquid Biopsy) durchgeführt werden. Ein Vorteil der ctDNA-Untersuchung ist, dass die Entnahme einer Blutprobe weniger invasiv ist als die Entnahme einer Zell-/Gewebeprobe. Der Nachweis der EGFR T790M-Mutation im Plasma setzt jedoch eine ausreichend hohe ctDNA-Konzentration im Blut voraus und kann daher zu falsch-negativen Ergebnissen führen.



Ces dernières années, la caractérisation génétique moléculaire détaillée du cancer du poumon à non petites cellules (NSCLC) a été mise en place. Celle-ci complète la classification histopathologique de la classification actuelle de l'OMS (2015) des tumeurs du poumon. L'identification des mutations pilote dans le développement et la progression de tumeurs a permis le développement de thérapies ciblées. Cet article présente les tests moléculaires qui sont importants pour les traitements ciblés du NSCLC en première ligne actuellement approuvés en Suisse. Ceux-ci comprennent les inhibiteurs de la tyrosine kinase de l'EGFR (TKI), les ALK-TKI et les inhibiteurs de «l'immunocheckpoint» PD-1/PD-L1.

ALK-Translokation

3–5% der NSCLC tragen eine Translokation des ALK-Gens. Mehr als drei ALK-Fusionspartner (u.a. EML4, KIF5B, TFG) und mehrere Varianten der EML4-ALK Translokation sind bekannt. Gemeinsam ist den Translokationen des ALK-Gens, dass sie zu einer Überex-

Bei Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC mit spezifischen molekulargenetischen Veränderungen zeigen zielgerichtete Therapien eine vergleichbare oder bessere Wirksamkeit als eine platin-basierte Chemotherapie. Die Untersuchung prädiktiver Biomarker hat das Ziel, die Patienten zu identifizieren, die vermutlich auf eine zielgerichtete Behandlung ansprechen.

EGFR-Mutationen

EGFR-TKI werden als Erstlinientherapie bei NSCLC mit aktivierenden EGFR-Mutationen (u.a. Exon 19-Deletionen, L858R-Substitution) eingesetzt. In Europa beträgt die EGFR-Mutationshäufigkeit bis zu 15% der NSCLC. EGFR-Mutationen werden meistens mittels Sequenzierung des EGFR-Gens (Exon 18–21) nachgewiesen, alternativ kommen Verfahren wie die allelspezifische Polymerasekettenreaktion zur Anwendung (Abb. 1). Bei 60–80% der Patienten mit EGFR-mutiertem NSCLC führen EGFR-TKI zu einem Therapieansprechen mit einem mittleren progressionsfreien Überleben von rund 12 Monaten. Bei allen Patienten tritt unter der EGFR-TKI-Therapie eine sekundäre EGFR-TKI-Resistenz der Tumorzellen auf. Diese wird häufig (50–60%) durch eine zusätzliche EGFR-Mutation (T790M-Substitution) verursacht, während andere Resistenzmechanismen (MET-Amplifikation, HER2-Amplifikation, PIK3CA-Mutation, oder Transformation in ein kleinzelliges neuroendokrines Karzinom) seltener beobachtet werden. Dem Nachweis einer T790M-Resistenzmutation kommt besondere klinische

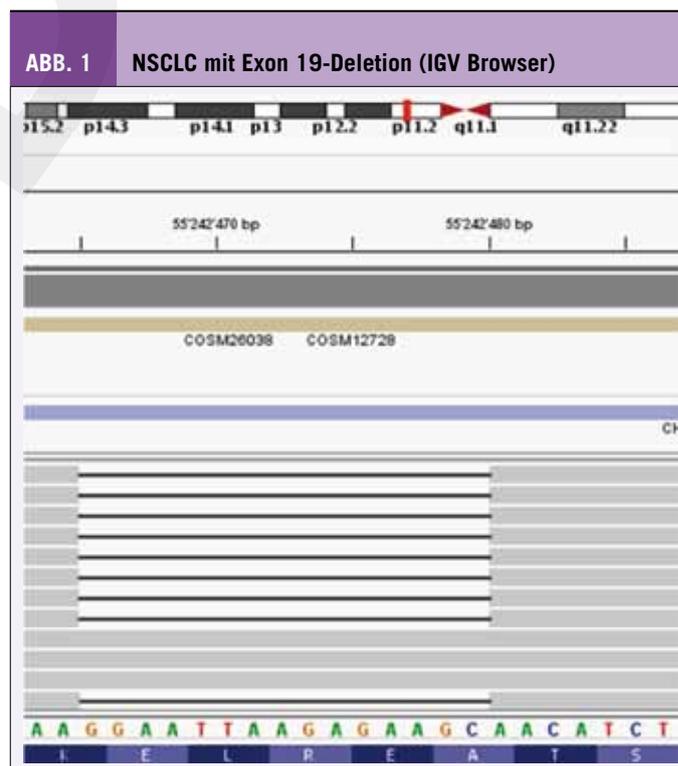


ABB. 1 NSCLC mit Exon 19-Deletion (IGV Browser)

ABB. 2 NSCLC mit ALK-Translokation (ALK-FISH mit Break-apart-Sonde)

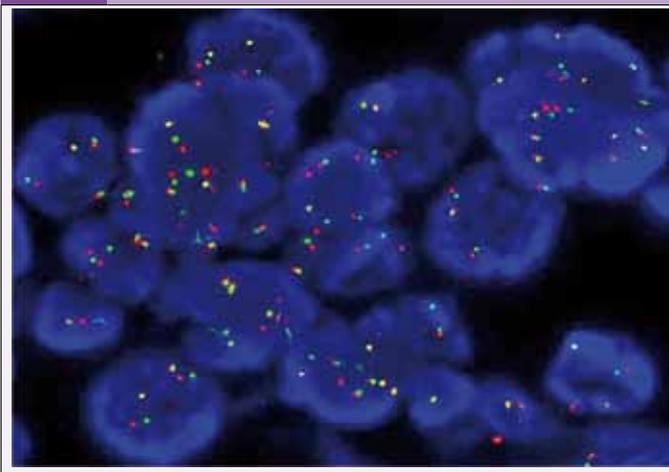
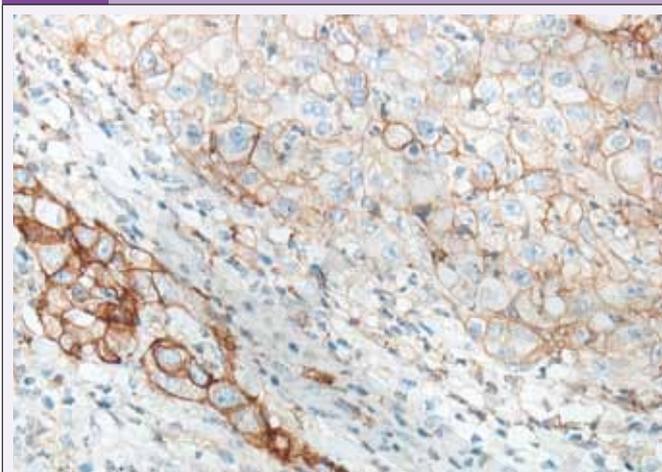


ABB. 3 NSCLC mit heterogener PD-L1-Expression der Tumorzellen (SP142 Immunfärbung).



pression des ALK-Proteins führen. Die ALK-Translokation wird in der Regel durch Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) mit Break-apart-Sonden nachgewiesen (Abb.2). Als Screening- und/oder Bestätigungsverfahren kann auch die ALK-Immunfärbung eingesetzt werden. Für die Interpretation der ALK-FISH steht ein klinisch validierter Schwellenwert (15% Karzinomzellen mit Splitsignalen) für einen positiven ALK-Translokationsstatus zur Verfügung, während das Ergebnis der ALK-Immunfärbung durch verschiedene präanalytische (u.a. Fixation) und analytische Parameter (u.a. Primärantikörper, Detektionssystem, Färbeprotokoll) beeinflusst wird. Für die beiden am besten etablierten ALK-Antikörper (5A4, D5F3) erfolgt die Auswertung semi-quantitativ nach unterschiedlichen Kriterien. Bei immunhistochemisch eindeutig negativen bzw. eindeutig positiven Tumoren wurde eine hohe Konkordanz mit dem ALK-FISH-Ergebnis beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass auch die ALK-Immunfärbung in der Lage ist, NSCLC mit positivem ALK-Status zu identifizieren. Die therapeutische Bedeutung von IHC-negativen/FISH-positiven bzw. IHC-positiven/FISH-negativen Ergebnissen ist noch nicht abschliessend geklärt. Bei einem positiven ALK-Status können ALK-TKI zur Behandlung des NSCLC verwendet werden. Unter der Therapie mit ALK-TKI kommt es regelhaft zu einer Krankheitsprogression infolge sekundärer Resistenz der Tumorzellen. Verschiedene molekulare Mechanismen der erworbenen ALK-TKI-Resistenz sind bekannt (ALK-Mutationen, ALK-Amplifikation, MET-Aktivierung). Im Gegensatz zum Nachweis der EGFR T790M-Mutation hat die Testung auf genetische Veränderungen, die mit einer ALK-TKI-Resistenz assoziiert sind, bislang keinen Eingang in die molekularpathologische Routinediagnostik gefunden.

ROS1-Translokation

In 1–2% der NSCLC findet sich eine Translokation des ROS1-Gens. Diese führt zu einer Aktivierung der ROS1-Tyrosinkinase durch Überexpression. In vitro hemmt Crizotinib nicht nur die ALK-Tyrosinkinase, sondern auch die MET- und ROS1-Tyrosinasen. Die Wirksamkeit von Crizotinib bei NSCLC mit ROS1-Translokation wurde in klinischen Studien bestätigt. Die ROS1-Translokation wird durch Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH) mit Break-apart-Sonden nachgewiesen. Als Screening- und/oder Bestätigungsverfahren kann auch die ROS1-Immunfärbung eingesetzt werden, wobei sich in der IHC-/FISH-basierten Diagnostik des ROS1-Status die im Grundsatz gleichen Herausforderungen stellen wie bei der Untersuchung des ALK-Status.

TAB. 1 Prädiktive Biomarker-Testung bei fortgeschrittenem NSCLC vor Beginn einer Erstlinientherapie

Prädiktiver Biomarker	Nachweismethoden	Therapieoption *
EGFR-Mutation	Sanger Sequenzierung Pyrosequenzierung Hochparallele Sequenzierung (NGS) Allel-spezifische PCR	EGFR-Tyrosinkinase-Inhibitor (Afatinib, Erlotinib, Gefitinib, Osimertinib)
ALK-Translokation	Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH)	ALK-Tyrosinkinase-Inhibitor (Alectinib, Ceritinib, Crizotinib)
ROS1-Translokation	Fluoreszenz-In-situ-Hybridisierung (FISH)	Crizotinib
PD-L1-Expression	Immunhistochemie	PD-1/PD-L1 Immuncheckpunkt-Inhibitor (Atezolizumab, Nivolumab, Pembrolizumab)

* Wirkstoffe mit Swissmedic-Zulassung (Stand 31.07.2017)

PD-L1-Expression

Weniger als 20% der Patienten mit metastasiertem NSCLC weisen eine therapeutisch nutzbare genetische Aberration auf. Inhibitoren des PD-1/PD-L1-Immuncheckpunkts zeigen Wirksamkeit bei rund 20% der Patienten mit metastasiertem NSCLC. Es besteht eine Assoziation zwischen dem relativen Anteil der Tumorzellen mit PD-L1-Expression (Tumor-Proportion-Score, TPS) und dem Ansprechen auf PD-1/PD-L1-Inhibitoren. Allerdings ermöglicht der TPS keine zuverlässige Vorhersage eines Therapieansprechens im Einzelfall. Die PD-L1-Expression wird mittels Immunhistochemie an Tumorzellen untersucht. Hierzu stehen mehrere diagnostische Antikörper (22C3, 28-8, SP142, SP263) und Immunfärbepattformen zur Verfügung, die sich teilweise hinsichtlich Spezifität, Sensitivität, Färbeverhalten, Auswertekriterien und Schwellenwerte für Positivität unterscheiden (Abb.3). Weiterhin sind die regulatorischen Anforderungen der verschiedenen PD-1/PD-L1-Inhibitoren bezüglich PD-L1-Expression heterogen. So ist die Verwendung von Pembrolizumab als Erstlinientherapie an einen TPS von mindestens 50% gebunden, während Nivolumab als Zweilinientherapie unabhängig von der PD-L1-Expression eingesetzt werden kann.

Ausblick

Ausser den bereits genannten wurden weitere onkogene Treiber-mutationen (BRAF, HER2, KRAS, MET Exon 14 Skipping), Trans-

lokationen (NTRK1, RET) und Amplifikationen (FGFR1, MET) des NSCLC identifiziert. In ersten klinischen Studien zeigen entsprechende zielgerichtete Therapien Wirksamkeit, so dass damit zu rechnen ist, dass sich die Testung auf diese genetischen Veränderungen zukünftig zum klinischen Standard entwickeln wird. In zahlreichen Pathologie-Instituten wird die molekulare Diagnostik bereits mit hochparalleler Sequenzierung (Next Generation Sequencing, NGS) durchgeführt, so dass weitere Biomarker bei entsprechender klinischer Indikation/Nachfrage zeitnah in die molekularpathologische Routinediagnostik integriert werden können. Mit dem NGS-Verfahren kann auch RNA sequenziert werden, so dass das Verfahren auch für den Nachweis von Fusionstranskripten (ALK, ROS1) eingesetzt werden kann. Molekulargenetische Analysen an ctDNA werden vor allem für die Beurteilung des Therapieansprechens und für die Erfassung von unter einer spezifischen Therapie (EGFR-TKI, ALK-TKI) entstandenen Resistenzmutationen an Bedeutung gewinnen. Die prädiktive Bedeutung des PD-L1

TPS ist noch nicht abschliessend geklärt. Weitere Massnahmen zur Standardisierung der PD-L1-Testung sind erforderlich. Die klinische Wertigkeit neuerer Biomarker (Mutationslast, Genexpressionsprofile) wird zu klären sein.

Prof. Dr. med. Wolfram Jochum

Institut für Pathologie
Kantonsspital St. Gallen
Rorschacher Strasse 95, 9007 St. Gallen
wolfram.jochum@kssg.ch

Interessenkonflikt: Der Autor hat keine Interessenkonflikte im Zusammenhang mit diesem Beitrag deklariert.

Literatur:

Novello S, et al. Metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol. 2016 Sep;27 (suppl 5):v1-v27.

Take-Home Message

- ◆ Der molekularpathologische Nachweis von genetischen Aberrationen bei NSCLC ergänzt die histopathologische Diagnostik vor allem in fortgeschrittenen Tumorstadien
- ◆ Die Testung prädiktiver Biomarker identifiziert Patienten, die vermutlich auf eine zielgerichtete Behandlung ansprechen und ermöglicht so individualisierte Therapieempfehlungen
- ◆ Bei fortgeschrittenem NSCLC ist vor Beginn der Erstlinientherapie eine Testung der Tumorzellen auf EGFR-Mutationen, ALK- und ROS1-Translokationen sowie auf PD-L1-Expression indiziert

Messages à retenir

- ◆ La détection pathologique moléculaire d'aberrations génétiques dans le NSCLC complète le diagnostic histopathologique en particulier dans les stades avancés de la tumeur
- ◆ Les tests de biomarqueurs prédictifs identifient les patients éventuellement susceptibles de répondre à un traitement ciblé et permettent des recommandations de traitements individualisés
- ◆ Dans le NSCLC avancé, un test des cellules tumorales à des mutations de l'EGFR, ALK et translocations ROS1 ainsi que l'expression de PD-L1 est indiqué avant de commencer le traitement de première ligne