



Personalisierte Medizin: Strukturen, Tumorboards, Visionen

Einleitung

Die stetige Weiterentwicklung und Optimierung von durchsatzfähigen molekulargenetischen Methoden, insbesondere der sogenannten Next-generation-sequencing (NGS)-Technologie, sowie die hieraus resultierende Möglichkeit zur detaillierten molekularen Charakterisierung individueller Tumorerkrankungen haben die Prognose etlicher maligner Erkrankungen in den vergangenen Jahren zum Teil erheblich verbessert. Systematische genomische Untersuchungen auf der Basis großer Patientenkohorten mit meist konventionell-histologisch definierten Tumorerkrankungen führten bereits zur Identifizierung medikamentös adressierbarer genetischer Veränderungen zahlreicher Krebsgene. Beispiele wie der Nachweis von Alterationen des EGF-Rezeptors beim nichtkleinzelligen Bronchialkarzinom oder BRAF-Mutationen beim malignen Melanom als Ansatzpunkte für spezifische Kinaseinhibitoren illustrieren eindrücklich die Bedeutung prädiktiver Biomarker ebenso wie das Potenzial zielgerichtet wirksamer Therapien und haben bei diesen Tumorentitäten innerhalb kurzer Zeit zu neuen und erfolgreichen diagnostischen wie auch therapeutischen Algorithmen geführt [1, 2]. Zudem zeigt sich in Verbindung mit der Möglichkeit zur Hochdurchsatzsequenzierung von DNA und RNA immer mehr, dass auch die detaillierte genomische Analyse von Tumorerkrankungen einzelner Patienten, auch als „N-of-1-Studien“ bezeichnet, wichtige Einblicke in deren Tumorbiologie liefern und zur Identifikation genetisch ver-

schiedener Subentitäten beitragen kann, die in unterschiedlicher Weise zielgerichtet behandelt werden können. Dies trifft zum Beispiel für die Identifikation inaktivierender TSC1-Mutationen und aktivierender mTOR-Mutationen beim Harnblasenkarzinom als molekulare Rationale für eine erfolgreiche Therapie mit mTOR-Inhibitoren oder den Nachweis medikamentös adressierbarer FGFR-Fusionen über verschiedene Erkrankungsentitäten hinweg zu [3–5]. Auch im Hinblick auf immuntherapeutische Strategien wie die Immuncheckpointinhibition zeichnet sich in zunehmendem Maße eine prädiktive Bedeutung molekularer Diagnostik mit Bestimmung der Mutationslast und der Charakterisierung besonders immunogener Mutationen ab [6].

Die Vielzahl der möglichen molekularen Zielstrukturen und die Verfügbarkeit zahlreicher – bereits zugelassener oder in Entwicklung befindlicher – zielgerichteter Medikamente, die an unterschiedlichen Komponenten krebstreibender Signalkaskaden angreifen können, haben zu einem Umdenken weg vom bislang zulassungsrelevanten klassischen Phase-I-III-Studiendesign hin zu modernen, teils adaptiven Basket- oder Umbrellastudienprotokollen geführt. Im Fall der Basketstudien handelt es sich um Studien mit zielgerichteten Behandlungsstrategien, in die Patienten unabhängig von der histologischen Entität auf Basis der zugrunde liegenden molekularen Alterationen eingeschlossen werden. Hierdurch können zum einen aussagekräftige Fallzahlen erreicht, zum anderen auch seltene Tumorerkrankungen und

Tumorentitäten mit sehr geringer Inzidenz einer bestimmten Alteration eingeschlossen werden. Umbrellastudien zielen auf unterschiedliche molekulare Subtypen innerhalb meist großer Tumorentitäten ab, die in der Folge molekular stratifiziert und auf dieser Basis unterschiedlichen Behandlungsmöglichkeiten zugeteilt werden. Zahlreiche erfolgreiche Studien der letzten Jahre zeigen, dass diese auf einer molekularbiologischen Hypothese beruhenden Studienkonzepte eine deutlich effizientere und schnellere Generierung aussagekräftiger klinischer Daten [7] und eine raschere Zulassung wirksamer Medikamente für erfolgreich therapierte Patientengruppen ermöglichen. Innerhalb großer Initiativen wie des Molecular-Analysis-for-Therapy-Choice (MATCH)-Programms des National Cancer Institute [8] oder des Targeted Agent and Profiling Utilization Registry (TAPUR) der American Society of Clinical Oncology [9] soll zudem die Fragestellung beantwortet werden, inwieweit der Einsatz einer breiten molekularen Diagnostik im klinischen Kontext die Prognose der auf Basis dieser Befunde behandelten Patienten zu verbessern vermag.

Klinische Anwendung NGS-basierter molekularer Diagnostik

Nachdem die technischen Voraussetzungen für eine NGS-basierte Diagnostik mittels Ganzexom-, Transkriptom- oder auch Ganzgenomsequenzierung grundsätzlich gegeben sind und die Kosten für diese Untersuchungen sinken, stellt

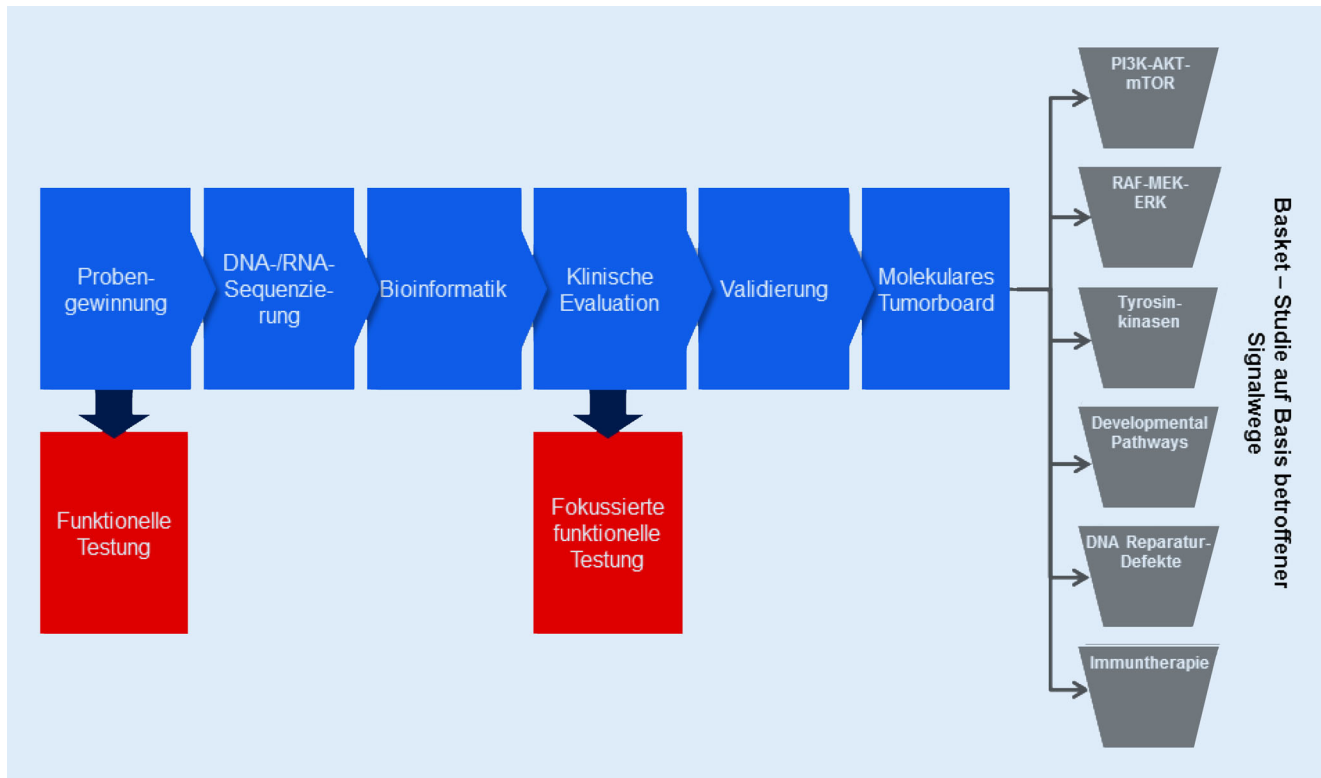


Abb. 1 ▲ Ablauf und Arbeitsschritte des NCT MASTER-Programms. Innerhalb der Beobachtungsstudie wird zunächst die Anwendbarkeit einer NGS-basierten molekularen Diagnostik im klinischen Kontext untersucht. Der Erfolg der unterschiedlichen molekular stratifizierten Behandlungsstrategien wird in 7 Kategorien (Baskets) untersucht, die jeweils spezifische genetische Alterationen beinhalten. Kategorien, die Hinweise auf die Wirksamkeit der jeweiligen Therapie generieren, sollen zukünftig im Rahmen molekular stratifizierter Basketstudien untersucht werden

sich für viele klinisch tätige Onkologen wie auch onkologische Patienten die Frage nach klinischen Einsatzmöglichkeiten dieser innovativen diagnostischen Werkzeuge. Mit der klinischen Implementierung ergeben sich zahlreiche neue Anforderungen an die Infrastruktur entsprechender Zentren. Ebenso müssen die klinischen Abläufe in vielen Bereichen adaptiert und in bestimmten Aspekten neu etabliert werden. Ein wesentlicher Unterschied zum Einsatz der NGS-Sequenzierung im wissenschaftlichen Kontext ist der in der Klinik oftmals gegebene zeitliche Faktor, insbesondere in Situationen, in denen etablierte Therapiemöglichkeiten nahezu ausgeschöpft sind. Zudem müssen die komplexen genomischen Daten in aussagekräftige und anwendbare molekulare Befunde überführt und im klinischen Kontext validiert werden.

Um die Möglichkeit einer praktischen Umsetzung NGS-basierter molekularer Diagnostik im tatsächlichen Behandlungskontext systematisch zu

untersuchen, wurde 2012 in Heidelberg das NCT MASTER (Molecularly Aided Stratification for Tumor Eradication Research)-Programm initiiert, innerhalb dessen ein klinischer Ablauf (Abb. 1) etabliert werden konnte, der die geschilderten spezifischen Anforderungen an die klinische Anwendung einer Tumorgenomsequenzierung berücksichtigt. Mithilfe einer gewachsenen Infrastruktur und unter dem Dach des DKFZ-Heidelberg Center for Personalized Oncology (DKFZ-HIPO) sowie des NCT Precision Oncology Program (NCT POP) bildet die interdisziplinäre Zusammenarbeit der Genomics and Proteomics Core Facility des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ), des bioinformatischen Campus, des pathologischen Instituts sowie der klinischen Abteilungen des Nationalen Centrums für Tumorerkrankungen (NCT) Heidelberg und des Universitätsklinikums Heidelberg die Grundlage für eine klinische Umsetzung personalisierter The-

rapiekonzepte auf dem Boden einer umfangreichen molekularen Diagnostik individueller Tumorerkrankungen. Der hierfür etablierte Arbeitsablauf beinhaltet die Gewinnung und Asservation von Frischmaterial im Rahmen operativer Eingriffe oder mittels Tumorbiopsie, die histopathologische Untersuchung an Gefrierschnitten mit Verifizierung eines ausreichenden Tumorzellgehalts, die DNA- und RNA-Aufbereitung mit anschließender Sequenzierung und bioinformatischer Analyse bis hin zur molekularpathologischen Validierung prognostisch oder therapeutisch bedeutsamer Alterationen sowie der klinischen Bewertung der Daten. Eine Studienzentrale sowie eine umfangreiche Biobank komplettieren die Infrastruktur.

Spezifische Anforderungen an Materialgewinnung und Probenverarbeitung

Aufgrund der besonderen Anforderungen, die im Rahmen der klinischen Anwendung NGS-basierter molekularer Diagnostik an die DNA- und RNA-Qualität gestellt werden müssen, ist die Asservation von Frischgewebe notwendig. Im Hinblick auf die mitunter längeren Transportwege sowie die Zusammenarbeit mit zahlreichen externen Kooperationspartnern ist hierbei eine sorgfältige logistische Planung notwendig, um Qualitätsverluste aufgrund zu langer Lagerungs- oder Transportzeiten bei Raumlufttemperatur zu vermeiden. Obwohl im Hinblick auf die Vermeidung weiterer Biopsien eine Materialgewinnung bei Operationen, z. B. im Rahmen der Erstdiagnose, auf den ersten Blick praktisch erscheint, ist zu diesem Zeitpunkt asserviertes Material oftmals nicht sinnvoll nutzbar, um im weiteren Verlauf therapeutische Entscheidungen treffen zu können, da sowohl im spontanen Erkrankungsverlauf als auch unter vorangegangenen konventionellen und zielgerichteten Therapien erhebliche, oft therapeutisch entscheidende Veränderungen des Mutationsspektrums, wie z. B. sekundäre Resistenzmechanismen, auftreten können. Optimalerweise sollte eine Biopsie daher zu einem Zeitpunkt erfolgen, an dem abzusehen ist, dass sich durch die etablierten Standardtherapien keine Krankungskontrolle erreichen lässt, sodass eine NGS-basierte Diagnostik mit der Folge einer zumeist indikationsfremden oder „experimentellen“ Therapie indiziert erscheint. Proben mit einem Tumorzellgehalt unter 20 % sind erfahrungsgemäß nicht für die Sequenzierung im klinischen Kontext geeignet, sodass unmittelbar nach Materialeingang eine histopathologische Begutachtung der Kryoschnitte erfolgt, durch die ein ausreichender Anteil von Tumorzellen verifiziert wird. Als Keimbahnkontrolle dienen bei soliden Tumoren in der Regel Leukozyten aus peripherem Blut, bei leukämisch verlaufenden hämatologischen Erkrankungen Mundschleimhautabstriche oder Speichelproben. Nach Aufarbeitung der Tu-

medgen 2016 · 28:452–459 DOI 10.1007/s11825-016-0111-5
© Springer Medizin Verlag GmbH 2017

C. Heining · P. Horak · S. Gröschel · H. Glimm · S. Fröhling

Personalisierte Medizin: Strukturen, Tumorboards, Visionen

Zusammenfassung

Die zunehmende Berücksichtigung molekularer Charakteristika in der Therapieauswahl hat bei etlichen histologisch nicht weiter zu differenzierenden Tumorentitäten zu einer relevanten Prognoseverbesserung geführt. Beispiele wie das EGFR-mutierte Bronchialkarzinom oder das BRAF-mutierte maligne Melanom, die effektiv durch Kinaseinhibitoren behandelt werden können, ebenso wie neue Einblicke in genetische Determinanten des Ansprechens auf eine Immuncheckpointblockade lassen darauf hoffen, dass diese Ansätze auch bei anderen Tumorentitäten, Proteinfamilien und Medikamentenklassen Anwendung finden werden. Moderne Hochdurchsatzverfahren zur Sequenzierung von DNA und RNA können detaillierte Informationen über alle somatischen Alterationen in Krebsgenomen

liefern und werden zunehmend bezahlbar. Die Integration dieser Analytik in klinische Abläufe stellt aber eine große Herausforderung dar. Innerhalb des NCT MASTER-Programms wurde ein standardisierter Arbeitsablauf etabliert, der ein interdisziplinäres Molekulares Tumorboard beinhaltet und eine umfassende Tumorgenomsequenzierung im klinischen Kontext ermöglicht. Im Rahmen molekular stratifizierter Studienkonzepte gilt es nun, die Umsetzung individueller Therapieempfehlungen und die Evaluation der Therapieresultate zu optimieren.

Schlüsselwörter

Präzisionsonkologie · Ganzexomsequenzierung · Molekulares Tumorboard · Basketstudien

Personalized medicine: structures, tumor boards, visions

Abstract

For several cancer types, outcomes have improved significantly by patient stratification and individualization of treatment based on the molecular characteristics of histologically identical tumors. The potential of genomics to improve the management of distinct tumor entities is exemplified by EGFR mutant lung cancer and BRAF mutant melanoma, which can be targeted by small-molecule kinase inhibitors, as well as by the recent discovery of genetic determinants of clinical benefit from immune checkpoint blockade. It will likely be possible to extend this paradigm to other entities, protein families and classes of drugs. Advances in high-throughput DNA/RNA sequencing provide accurate information about all somatic alterations in cancer genomes at decreasing costs.

However, it remains a challenge to integrate these analyses into a clinical setting. Within the NCT MASTER program, a standardized workflow including a multidisciplinary molecular tumor board was implemented and allows for tumor genome sequencing within a clinical context. These efforts may pave the way for molecularly stratified treatment trials to optimize the clinical implementation of biology-guided therapeutic interventions as well as the systematic evaluation of patient outcomes.

Keywords

Precision oncology · Whole-exome sequencing · Molecular tumor board · Basket trials

morbiopsien und standardisierter DNA- und RNA-Extraktion sowie abschließender Qualitätskontrolle in einem spezialisierten „sample processing laboratory“ erfolgt in den meisten Fällen eine Ganzexom- oder Ganzgenomsequenzierung, die durch Expressionsdaten aus einer Transkriptomsequenzierung komplettiert wird. Hierdurch werden auf DNA-Ebene Punktmutationen, kleine Insertionen und Deletionen, Kopienzahlver-

änderungen und in gewissem Umfang Genfusionen detektiert. Die Darstellung der Expression betroffener Gene auf RNA-Ebene gibt zusätzliche Hinweise auf die klinische Relevanz der gefundenen Alterationen. Der grundsätzliche Benefit, der aus dieser umfassenden genomischen Diagnostik resultiert, ist die weitgehend ergebnisoffene Suche nach molekularen Alterationen, durch die auch bislang nicht bekannte oder zu-

Tab. 1 Kategorien der von genetischen Alterationen betroffenen Signalwege und zellulären Prozesse sowie mögliche therapeutische Konsequenzen

Betroffene Signalwege/Prozesse	Mögliche therapeutische Konsequenzen
Tyrosinkinasen	„Small-molecule“-Inhibitoren, Antikörper
PI3K-AKT-mTOR	„Small-molecule“-Inhibitoren
RAF-MEK-ERK	„Small-molecule“-Inhibitoren
Developmental Pathways (z. B. Hedgehog)	„Small-molecule“-Inhibitoren
DNA-Reparatur	Platinhaltige Chemotherapie, PARP-Inhibitoren
Zellzyklus	CDK4-/CDK6-Inhibitoren
Hypermutation	Immuncheckpointinhibitoren

Tab. 2 Ein- und Ausschlusskriterien des NCT/DKTK MASTER-Programms

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
Alter ≥ 18 Jahre und ≤ 50 Jahre und/oder	Etablierte kurative Therapie verfügbar
Sehr seltene Tumorentität (Inzidenz $< 1/100.000$ pro Jahr)	Keine aktuelle oder absehbare systemische Therapieindikation
	Fehlen einer Einverständniserklärung
	Fehlende Möglichkeit einer adäquaten Biopsiegewinnung
	Lebenserwartung < 6 Monate oder Karnofsky-Index ≤ 70
	Fehlen einer messbaren Erkrankungsaktivität

mindest nicht im Kontext der jeweiligen Entität beschriebene Veränderungen mit möglicher klinischer Bedeutung detektiert werden können.

Bioinformatische Analyse und molekularpathologische Validierung

Die bioinformatische Analytik umfasst die Annotation von Punktmutationen, kleinen Deletionen und Insertionen sowie Kopienzahlveränderungen auf Basis der DNA-Sequenzierungsdaten. Die Detektion erworbener tumorspezifischer Mutationen erfolgt durch den Vergleich von Tumor-DNA mit der Keimbahn-DNA desselben Patienten. Zusätzlich werden möglicherweise therapeutisch relevante Keimbahnmutationen wie Alterationen in DNA-Reparaturenzymen erfasst. Unter Berücksichtigung der Resultate der RNA-Sequenzierung können weiterhin Aussagen darüber getroffen werden, inwieweit sich Mutationen, Amplifikationen oder Deletionen auch auf die Expression betroffener Gene auswirken und damit die klinische Relevanz abgeschätzt werden kann.

Ein kritischer Punkt für die Verwendung von NGS-Daten im klinischen Kontext ist ihre Beurteilung in Bezug auf ihre medizinische Relevanz und mögliche therapeutische Konsequenzen. Im gegebenen Kontext können nur bei we-

nigen Patienten molekulare Alterationen detektiert werden, deren therapeutische Relevanz bereits für die vorliegende Tumorentität belegt werden konnte. Zu großem Anteil basieren die klinische Entscheidungsfindung und die therapeutischen Empfehlungen daher auf Analogieschlüssen anhand vorhandener Daten und Erfahrungen bei anderen Tumorentitäten, bei denen bereits eine prädiktive Bedeutung und therapeutische Wertigkeit der vorliegenden Alteration gezeigt werden konnte. Andere Therapieempfehlungen wiederum stützen sich ausschließlich auf präklinische Daten oder Rückschlüsse auf den Aktivierungszustand bekannter Signalwege, aus denen eine molekularbiologisch begründbare Annahme der Wirksamkeit eines zielgerichteten Wirkstoffes in der vorliegenden Situation resultiert.

Angesichts der sich hieraus ergebenden Heterogenität von Therapieempfehlungen erfolgt eine Gruppierung der Befunde in übergeordnete therapeutisch relevante Kategorien (■ Tab. 1), die die klinische Entscheidungsfindung erleichtern und strukturieren. Die Kategorisierung auf Basis der unterschiedlichen zielgerichteten Therapiestrategien umfasst alterierte Tyrosinkinasen und weitere Komponenten rekurrent betroffener Signalkaskaden wie dem PI3K-AKT-mTOR-, dem RAF-MEK-ERK- und dem Hedgehog-Signalweg. Weitere

Kategorien bilden Defekte in Effektoren der DNA-Reparatur, Alterationen in der Regulation des Zellzyklus und die Gruppe der hypermutierten Tumoren, die durch eine Vielzahl von Punktmutationen und/oder Insertionen und Deletionen in mehreren Signalwegen charakterisiert sind und mit einem vergleichsweise guten Ansprechen auf eine Immuntherapie mit Checkpointinhibitoren einherzugehen scheinen [10–12].

Die molekularpathologische Validierung klinisch relevanter Ergebnisse erfolgt durch Sanger-Sequenzierung annotierter Mutationen, den immunhistochemischen Nachweis von etablierten Zielstrukturen, wie z. B. ERBB2, oder den Nachweis von Amplifikationen oder Translokationen durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung. Vor allem bei bislang nicht beschriebenen Alterationen, die innerhalb therapeutisch relevanter Genregionen liegen, ist allerdings in vielen Fällen keine konklusive Bewertung der Auswirkung auf die Gen- bzw. Proteinfunktion möglich. In selektierten Fällen kommt daher eine funktionelle Validierung zur Anwendung, um zu einer exakteren Charakterisierung eventuell proliferationsfördernder Eigenschaften und damit zu Aussagen über den möglichen Erfolg einer zielgerichteten Therapie zu gelangen.

Das Molekulare Tumorboard als zentrales Gremium zur klinischen Bewertung molekularer Diagnostik

Die Diskussion der erhobenen Befunde im Hinblick auf diagnostisch oder prädiktiv aussagekräftige Befunde und zielgerichtete Therapieoptionen erfolgt in einem interdisziplinär besetzten Molekularen Tumorboard, das in wöchentlichem Rhythmus stattfindet. Hier werden alle relevanten und von Seiten der Bioinformatik nach betroffenen Baskets kategorisierten genomischen Alterationen diskutiert. Aufgrund der Komplexität im Zusammenspiel verschiedener molekularer Veränderungen ist es zudem notwendig, dass die bioinformatisch aufbereiteten Daten bereits im Vorfeld detailliert auf ihre klinische Bedeutung hin untersucht werden. Diese medi-



Abb. 2 ▲ Zusammensetzung des interdisziplinären Molekularen Tumorboards. Die Vorstellung des jeweiligen klinischen Falls und relevanter klinischer Befunde erfolgt durch Vertreter der jeweiligen Fachabteilungen. Relevante molekulare Veränderungen und betroffene Baskets werden durch die Bioinformatik dargestellt. Translationale Onkologen ergänzen präklinische und klinische Daten zu relevanten Veränderungen, ehe interdisziplinäre Bewertung im Gesamtkontext erfolgt und Therapieempfehlungen formuliert werden

zinische Bewertung erfolgt in erster Linie durch translationale Onkologen. Zu diesem Zweck werden zunächst in der Literatur beschriebene Daten zu medikamentös adressierbaren oder diagnostisch relevanten Veränderungen gesammelt und alle beim individuellen Patienten annotierten, medizinisch relevanten Alterationen im molekularbiologischen Gesamtkontext betrachtet. Vor dem Hintergrund der aktuellen klinischen Situation werden anschließend Therapievorschläge formuliert, die die Grundlage für eine interdisziplinäre Diskussion im Tumorboard bilden. Therapeutisch entscheidende Veränderungen werden zuvor mit etablierten molekularpathologischen Methoden validiert.

Die interdisziplinäre Besetzung des Tumorboards besteht unter anderem aus Fachärzten der betreuenden onkologi-

schen Fachabteilungen und zuweisenden niedergelassenen Onkologen, translationalen Onkologen, Molekularpathologen, Mitgliedern der Studienzentrale, Fachärzten für Humangenetik sowie Bioinformatikern (Abb. 2). Mehrere kooperierende Zentren und einweisende Kliniken nehmen jeweils über eine Video- oder Telefonkonferenz teil. Nach Vorstellung des klinischen Falls durch Vertreter der jeweiligen Fachabteilungen erfolgt zunächst die Darstellung möglicherweise relevanter Veränderungen und betroffener Baskets durch die Bioinformatik. Translationale Onkologen ergänzen präklinische und klinische Daten zu diagnose- und therapierelevanten Veränderungen und bewerten diese im klinischen Gesamtkontext. Nach interdisziplinärer Besprechung der möglichen klinischen Konsequenzen und individuellen Therapieempfehlungen erfolgt im

Fall mehrerer Therapiealternativen eine Wertung anhand eines – auf Basis von präklinischen und klinischen Daten oder molekularbiologischen Erwägungen zugeleiteten – Evidenzlevels (Abb. 3). Analog zum Vorgehen bei entitätenspezifischen Tumorboards werden die Therapieempfehlungen im klinischen Dokumentationssystem abgelegt und archiviert.

Um therapierelevante Ergebnisse mit dem Patienten besprechen zu können, wurde eine spezialisierte Ambulanz für personalisierte Onkologie geschaffen, in der bereits initial über alle Aspekte der geplanten molekularen Diagnostik aufgeklärt wird und im weiteren Verlauf Befunde besprochen sowie Therapien durchgeführt und überwacht werden können. Da im Rahmen der umfangreichen molekularen Diagnostik auch Keimbahnalterationen erfasst werden, die – wie im Fall von Defekten bestimmter DNA-Reparaturenzyme – therapeutisch relevant sein können oder inzidentell auftreten und einer humangenetischen Bewertung bedürfen, ist eine enge Kooperation mit Fachkollegen der Humangenetik von essenzieller Bedeutung. Die Patienten werden bereits vor Beginn der Analytik ausführlich auf die Möglichkeit einer Detektion von Keimbahnveränderungen sowie mögliche Konsequenzen hingewiesen. Die Aufklärung umfasst zudem Ausmaß und Art der geplanten molekularen Analysen, die Speicherung und Verwertung der erhobenen Daten sowie die erneute Kontaktaufnahme im Falle klinischer Konsequenzen. Sie erfolgt auf der Basis einer unter ausführlicher Berücksichtigung ethischer Gesichtspunkte verfassten Einverständniserklärung. Die Indikation zur humangenetischen Beratung wird im Rahmen des Tumorboards durch die teilnehmenden Humangenetiker gestellt, die die jeweiligen Sequenzierungsdaten der Patienten ebenfalls bereits im Vorfeld erhalten und bewerten. Die Besprechung und humangenetische Beratung im Falle relevanter Keimbahnbefunde erfolgt ausschließlich durch spezialisierte Fachärzte für Humangenetik.

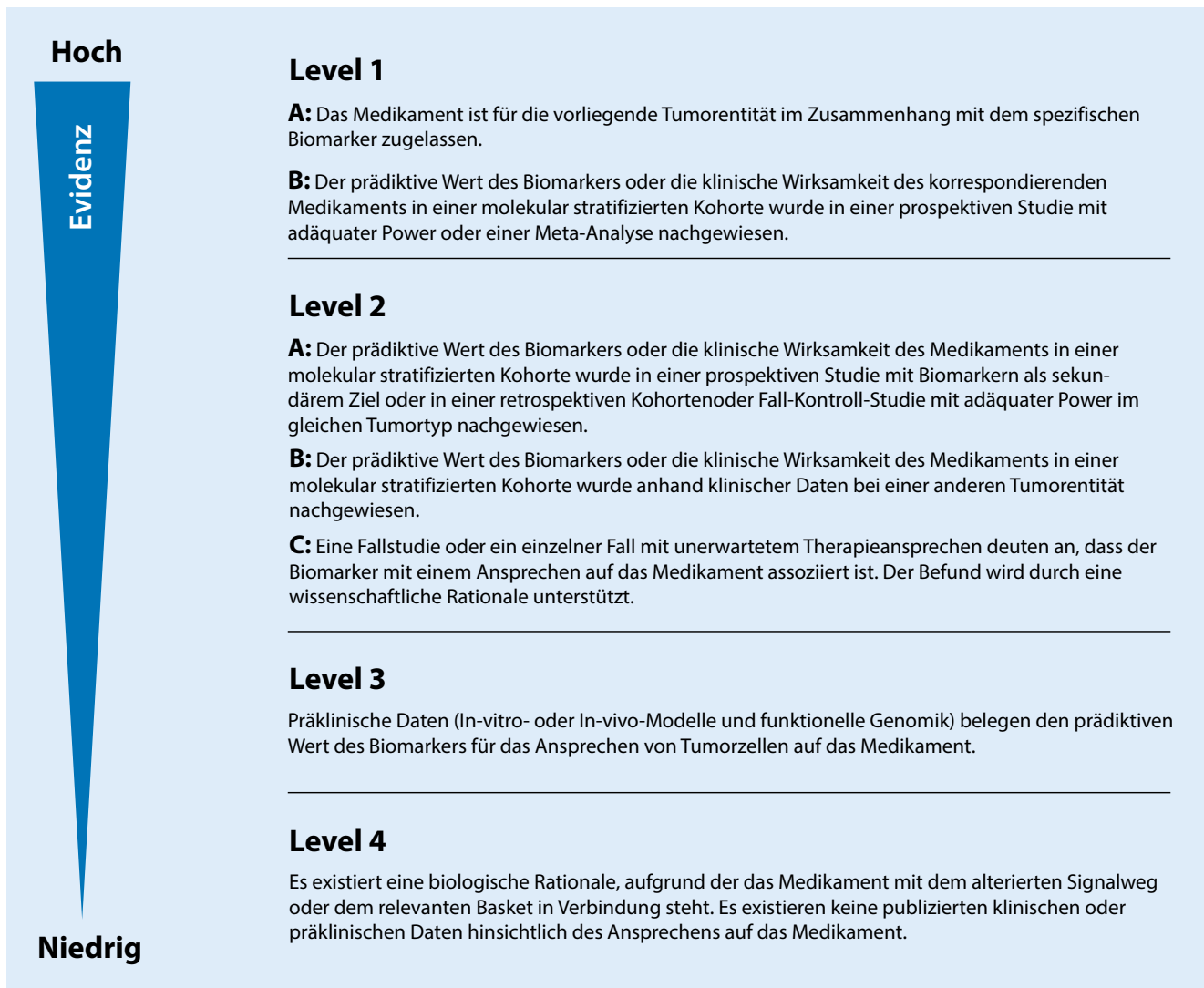


Abb. 3 ▲ Evidenzlevel von Therapieempfehlungen. Die klinische Priorisierung relevanter molekularer Veränderungen erfolgt auf der Basis präklinischer und klinischer Daten oder molekularbiologischer Erwägungen, die eine Zuordnung zu 4 unterschiedlichen Evidenzlevels ermöglichen

Aktuelle Entwicklungen und Visionen

Vor dem Hintergrund des komplexen Ablaufs und der damit verbundenen Anforderungen an die Infrastruktur wie auch finanzielle und personelle Ressourcen, die für jeden einzelnen Patienten aufgewendet werden müssen, ist bislang keine flächendeckende Anwendung einer umfassenden NGS-basierten molekularen Diagnostik möglich. Dennoch ist das dargestellte Programm längst nicht mehr eine nur auf einen Standort begrenzte Initiative. Durch bundesweite Kooperationen mit den Zentren des Deutschen Konsortiums für Translationale Onkologie

(DKTK) können mittlerweile unter dem Dach des DKTK MASTER-Programms an mehreren Standorten mit jeweils eigenem Ethikvotum Patienten eingeschlossen und die jeweiligen Tumoren über den geschilderten Workflow sequenziert werden. Hierdurch wird die molekulare Diagnostik auch Patienten einer Vielzahl von Kliniken und Praxen, die im Einzugsgebiet der jeweiligen Zentren liegen, deutlich leichter zugänglich. Durch die multizentrische Beteiligung am gemeinsamen Molekularen Tumorboard profitieren eingeschlossene Patienten zudem von spezifischen Expertisen der einzelnen Standorte.

Aufgrund der limitierten Kapazitäten und Ressourcen muss der Einschluss von Patienten bislang auf bestimmte Patientengruppen begrenzt werden, die spezifische Einschlusskriterien wie junges Patientenalter oder das Vorliegen einer sehr seltenen Tumorentität (■ Tab. 2) erfüllen müssen. Im bisherigen Verlauf des Programms konnten 452 Patienten im Molekularen Tumorboard besprochen werden (Stand: 4. November 2016). Therapeutisch adressierbare Alterationen wurden in ca. 60 % der Fälle detektiert. Bei etwa 25 % dieser Patienten konnte bereits eine auf Empfehlungen des Molekularen Tumorboards basierende Therapie initiiert werden. Der Erfolg und tatsächliche

klinische Wert diagnostischer NGS-Sequenzierungsprogramme wird allerdings daran gemessen werden, in welchem Umfang sich die exakte molekulare Charakterisierung von Tumorerkrankungen in zielgerichtete therapeutische Interventionen und eine Prognoseverbesserung übersetzen lässt oder sich zumindest Patientengruppen selektionieren lassen, die in besonderer Weise von einer solch umfangreichen Diagnostik profitieren. Diese Frage wird sich naturgemäß erst bei deutlich größeren Fallzahlen und längerer Nachbeobachtungszeit zuverlässig beantworten lassen, auch wenn etliche Einzelfälle mit zum Teil lang anhaltenden Stabilisierungen und Remissionen zuvor therapierefraktärer Erkrankungen den grundsätzlichen Wert des Programmes unterstreichen [13–16].

Eine wesentliche praktische Herausforderung für den klinischen Alltag stellt weiterhin die begrenzte Verfügbarkeit zielgerichteter Therapeutika dar, da die jeweilige Zulassung oftmals auf wenige Entitäten beschränkt ist. Auch klinische Studien erlauben oftmals nur den Einschluss weniger, auf Basis histologischer Kriterien definierter Tumorentitäten. Erscheint ein bislang bei der vorliegenden Erkrankung nicht zugelassenes Medikament aufgrund der molekularen Tumorcharakteristika und in der aktuellen Erkrankungssituation medizinisch indiziert und erfolgversprechend, bleiben grundsätzlich mehrere Möglichkeiten, dem Patienten eine entsprechende Therapie zu ermöglichen. Da in vielen Fällen der Einschluss in eine klinische Studie nicht möglich ist, kann zunächst eine Kontaktaufnahme mit Arzneimittelherstellern sinnvoll sein, die den erforderlichen Wirkstoff indikationsfremd in klinischen Studien einsetzen. Im Falle einer bei anderen Indikationen zugelassenen Therapie kann die Prüfung einer Kostenübernahme für einen Off-label-Gebrauch durch den Medizinischen Dienst der Krankenkassen beantragt werden. Oftmals unterstützt dabei eine auf spezifischen molekularen Befunden basierende Rationale für eine zielgerichtete Therapie sowie ein entsprechender Beschluss des Molekularen Tumorboards eine Kostenzusage.

Unabhängig hiervon erscheint eine Behandlung im Kontext molekular stratifizierter Studien aus wissenschaftlicher wie auch klinischer Sicht weitaus wünschenswerter. Gerade im Bezug auf innovative zielgerichtete Therapien stellen sich hier moderne, zum Teil adaptive Basketstudien, in die Patienten unabhängig von der zugrunde liegenden Tumorerkrankung eingeschlossen und innerhalb derer verschiedene, möglicherweise aufeinander aufbauende Hypothesen beantwortet werden können, als zielführend und bisherigen Studienkonzepten deutlich überlegen dar [17, 18]. Wesentliches Ziel des DKTK ist es daher, einen möglichst großen Anteil von Patienten auf der Basis der bereits im MASTER-Programm definierten Kategorien genetischer Alterationen innerhalb innovativer Studien behandeln zu können. Eine entsprechende Basket-/Umbrellastudie mit adaptivem Design, die CRAFT (Continuous Reassessment with Flexible Extension)-Studie, ist bereits in fortgeschrittener Planung. In Phase 1b dieser Studie sollen Patienten eine, an das molekulare Profil ihres Tumors angepasste, experimentelle Therapie erhalten. Die Identifizierung eines Patienten, der auf die zielgerichtete Therapie anspricht, hat dann eine entitätenspezifische Prävalenztestung in einer DKTK-weiten Validierungskohorte zur Konsequenz. Falls es sich bei der initial nachgewiesenen Mutation um eine rezurrenente Veränderung handelt, ist vorgesehen, dass sich das gesamte Konsortium auf die Rekrutierung zusätzlicher Patienten in einarmige Phase 2-Studien fokussiert, die in einem adaptiven Design kontinuierlich geöffnet und auch wieder geschlossen werden können. Langfristiges Ziel wird es sein, durch den kontinuierlichen Ausbau des DKTK MASTER-Programms sowie die Initiierung innovativer onkologischer Studien einer noch wesentlich größeren Anzahl von Patienten sowohl eine NGS-basierte molekulare Diagnostik als auch eine darauf aufbauende personalisierte Therapiekonzepte anbieten zu können.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. med. S. Fröhling

Abteilung Translationale Onkologie, Nationales Centrum für Tumorerkrankungen Heidelberg, Deutsches Krebsforschungszentrum, Universitätsklinikum Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 460, 69120 Heidelberg, Deutschland
stefan.froehling@nct-heidelberg.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. C. Heining, P. Horak, S. Gröschel, H. Glimm und S. Fröhling geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen beteiligten Patienten liegt eine Einverständniserklärung vor.

Literatur

1. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA (2007) Epidermal growth factor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer* 7:169–181
2. Bollag G, Tsai J, Zhang J, Zhang C, Ibrahim P, Nolop K, Hirth P (2012) Vemurafenib: the first drug approved for BRAF-mutant cancer. *Nat Rev Drug Discov* 11:873–886
3. Iyer G, Hanrahan AJ, Milowsky MI, Al-Ahmadie H, Scott SN, Janakiraman M, Pirun M, Sander C, Socci ND, Ostrovskaya I, Viale A, Heguy A, Peng L, Chan TA, Bochner B, Bajorin DF, Berger MF, Taylor BS, Solit DB (2012) Genome sequencing identifies a basis for everolimus sensitivity. *Science* 338:221
4. Wagle N, Grabner BC, Van Allen EM, Hodis E, Jacobus S, Supko JG, Stewart M, Choueiri TK, Gandhi L, Cleary JM, Elfikey AA, Taplin ME, Stack EC, Signoretti S, Loda M, Shapiro GI, Sabatini DM, Lander ES, Gabriel SB, Kantoff PW, Garraway LA, Rosenberg JE (2014) Activating mTOR mutations in a patient with an extraordinary response on a phase I trial of everolimus and pazopanib. *Cancer Discov* 4:546–553
5. Wu YM, Su F, Kalyana-Sundaram S, Khazanov N, Ateeq B, Cao X, Lonigro RJ, Vats P, Wang R, Lin SF, Cheng AJ, Kunju LP, Siddiqui J, Tomlins SA, Wyngaard P, Sadis S, Roychowdhury S, Hussain MH, Feng FY, Zalupski MM, Talpaz M, Pienta KJ, Rhodes DR, Robinson DR, Chinnaiyan AM (2013) Identification of targetable FGFR gene fusions in diverse cancers. *Cancer Discov* 3:636–647
6. Lipson EJ, Forde PM, Hammers HJ, Emens LA, Taube JM, Topalian SL (2015) Antagonists of PD-1 and PD-L1 in cancer treatment. *Semin Oncol* 42:587–600
7. Redig AJ, Jänne PA (2015) Basket trials and the evolution of clinical trial design in an era of genomic medicine. *J Clin Oncol* 33:975
8. Brower V (2015) NCI-MATCH pairs tumor mutations with matching drugs. *Nat Biotechnol* 33:790–791
9. <https://www.asco.org/research-progress/clinical-trials/targeted-agent-profiling-utilization-registry-study>

10. Van Allen EM, Miao D, Schilling B, Shukla SA, Blank C, Zimmer L, Sucker A, Hillen U, Foppen MH, Goldinger SM, Utikal J, Hassel JC, Weide B, Kaehler KC, Loquai C, Mohr P, Gutzmer R, Dummer R, Gabriel S, Wu CJ, Schadendorf D, Garraway LA (2015) Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science* 350:207–211
11. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, Kvistborg P, Makarov V, Havel JJ, Lee W, Yuan J, Wong P, Ho TS, Miller ML, Rekhtman N, Moreira AL, Ibrahim F, Bruggeman C, Gasmfi B, Zappasodi R, Maeda Y, Sander C, Garon EB, Merghoub T, Wolchok JD, Schumacher TN, Chan TA (2015) Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 348:124–128
12. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, Yuan J, Zaretsky JM, Desrichard A, Walsh LA, Postow MA, Wong P, Ho TS, Hollmann TJ, Bruggeman C, Kannan K, Li Y, Elipenahli C, Liu C, Harbison CT, Wang L, Ribas A, Wolchok JD, Chan TA (2014) Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med* 371:2189–2199
13. Dieter SM, Heining C, Agaimy A, Huebschmann D, Bonekamp D, Hutter B, Ehrenberg KR, Fröhlich M, Schlesner M, Scholl C, Schlemmer HP, Wolf S, Mavratzas A, Jung CS, Gröschel S, Kalle CV, Eils R, Brors B, Penzel R, Kriegsmann M, Reuss DE, Schirmacher P, Stenzinger A, Federspil PA, Weichert W, Glimm H, Fröhling S (2016) Mutant KIT as imatinib-sensitive target in metastatic sinonasal carcinoma. *Ann Oncol*. doi:10.1093/annonc/mdw446
14. Chudasama P, Renner M, Straub M, Mughal SS, Hutter B, Kosaloglu Z, Schweßinger R, Scheffler M, Alldinger I, Schimmack S, Persigehl T, Kobe C, Jäger D, von Kalle C, Schirmacher P, Beckhaus MK, Wolf S, Heining C, Gröschel S, Wolf J, Brors B, Weichert W, Glimm H, Scholl C, Mechtersheimer G, Specht K, Fröhling S (2016) Targeting fibroblast growth factor receptor 1 for treatment of soft-tissue sarcoma. *Clin Cancer Res*. doi:10.1158/1078-0432.ccr-16-0860
15. Czink E, Heining C, Weber TF, Lasitschka F, Schemmer P, Schirmacher P, Weiss KH, Glimm H, Brors B, Weichert W, Jäger D, Fröhling S, Springfield C (2016) Durable remission under dual HER2 blockade with trastuzumab and pertuzumab in a patient with metastatic gallbladder cancer. *Z Gastroenterol* 54:426–430
16. Gröschel S, Bommer M, Hutter B, Budczies J, Bonekamp D, Heining C, Fröhlich M, Hübschmann D, Geörg C, Richter D, Pfarr N, Pfützte K, Wolf S, Schirmacher P, Jäger D, von Kalle C, Brors B, Glimm H, Weichert W, Stenzinger A, Fröhling S (2016) Integration of genomics and histology reveals diagnosis and effective therapy of refractory cancer of unknown primary with PDL1 amplification. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. doi:10.1101/mcs.a001180
17. Berry DA (2011) Adaptive clinical trials in oncology. *Nat Rev Clin Oncol* 9:199–207
18. Berry DA (2016) Emerging innovations in clinical trial design. *Clin Pharmacol Ther* 99:82–91

Krebs: Störung der Genregulation aktiviert Zellentwicklungsgene

Ein Konsortium unter Federführung der Universität Leipzig hat in umfangreichen Analysen tausender Tumoren herausgefunden, dass unterschiedliche Krebsarten eine gemeinsame fehlerhafte Regulation bestimmter Gene aufweisen.

In der nun vorliegenden Arbeit stellte ein interdisziplinäres Forscherteam unter der Leitung von Dr. Dr. Steve Hoffmann und Dr. Stephan Bernhart von der Universität Leipzig eine bedeutende Veränderung des bivalenten Chromatins in einer großen Anzahl von Proben aus unterschiedlichen Tumoren fest. Diese Veränderung ging außerdem mit einer deutlich erhöhten DNA-Methylierung einher.

Letztere war bisher dafür bekannt, die Übertragung von DNA in RNA zu unterbinden. Tatsächlich stellten die Forscher jetzt jedoch eine Aktivierung der Zellentwicklungsgene fest. Das lässt vermuten, dass dieser Mechanismus zur Entstehung oder Weiterentwicklung von Tumoren beiträgt.

“Wir analysierten Daten zu Lymphdrüsenkrebs. Dabei fiel uns auf, dass viele Gene, die epigenetisch abgeschaltet sein sollten, verstärkt aktiv sind. Dieses unerwartete Ergebnis hat uns neugierig gemacht. Wir haben die Aktivität dieser Gene daher auch in anderen Krebsarten untersucht“, erklärt Dr. Stephan Bernhart. Zur Überraschung der Forscher beobachteten sie dort den gleichen Effekt. “Unsere Daten legen nahe, dass sich Krebsarten, die klinisch und biologisch sehr verschieden sind, in diesem Phänomen gleichen“, resümiert Prof. Dr. Reiner Siebert vom Institut für Humangenetik der Universitätsmedizin Ulm. Zusätzliche, an der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU) durchgeführte Experimente erhärteten die Hinweise auf eine verstärkte Aktivierung dieser Gene unabhängig von der Herkunft des Tumors.

“Eine der wichtigen Aufgaben in der Krebsforschung ist es, eindeutig zwischen Tumorzellen und normalen Zellen zu unterscheiden. Wir konnten nun zeigen, dass die beobachteten epigenetischen Veränderungen sehr oft ausreichen, um eine präzise Vorhersage zu machen. Da wir das in allen 19 analysier-

ten Krebsstypen beobachten, könnte es sich hier um etwas handeln, das nicht nur für das Verständnis der Krebsentstehung und -entwicklung von Bedeutung ist, sondern auch für die klinische Praxis“, betont Dr. Dr. Steve Hoffmann aus der Bioinformatik-Arbeitsgruppe der Universität Leipzig. Prof. Dr. Dr. Lesca Holdt vom Institut für Laboratoriumsmedizin an der LMU präzisiert: “Wenn eine Aktivierung bestimmter Gene im Tumorgewebe, aber nicht im gesunden Gewebe des gleichen Patienten nachgewiesen werden kann, dann ergeben sich hierdurch vielleicht auch neue diagnostische Ansätze.“

Literatur: Bernhart S., Kretzmer H., Holdt L. et al. (2016) Changes of bivalent chromatin coincide with increased expression of developmental genes in cancer. *Scientific Reports* 6, doi:10.1038/srep37393

Quelle: Universität Leipzig, www.uni-leipzig.de