

MOLEKULARE TESTUNG BEIM NICHT-KLEINZELLEN LUNGENKARZINOM

Prof. Dr. med. Martin Reck
LungenClinic Großhansdorf

VNR: 2760909011980930016 | Gültigkeit: 24.06.2022 – 24.06.2023

1 EINLEITUNG

Lungenkrebs ist mit mehr als zwei Millionen Neuerkrankungen im Jahr 2020 neben Brustkrebs die häufigste Krebsart weltweit. Zudem stellt Lungenkrebs vor kolorektalen Karzinomen mit Abstand die häufigste krebisbedingte Todesursache dar (Lungenkrebs: 18 % vs. kolorektale Karzinome: 9,4 %) [WHO 2020]. In Deutschland wurden 2017 ca. 57.000 Neuerkrankungen registriert [Zentrum für Krebsregisterdaten 2017]. Für das Jahr 2020 berechnete eine Prognose des Robert Koch-Instituts unter der Annahme einer Trendfortsetzung der Jahre 2000 – 2009 etwa 36.000 Neuerkrankungen bei Männern und 27.000 bei Frauen [Nowossadeck et al. 2014]. Insgesamt lässt sich über die letzten Jahrzehnte beobachten, dass die Inzidenz- und Mortalitätsraten bei Männern sinken, bei Frauen hingegen ansteigen [Zentrum für Krebsregisterdaten 2017]. Dies wird überwiegend auf die zuvor bei beiden Geschlechtern gegensätzliche Entwicklung des Tabakrauchens zurückgeführt, da Rauchen den Hauptrisikofaktor für die Entstehung von Lungenkrebs darstellt. Weitere Risikofaktoren sind kanzerogene Stoffe, wie Asbest und polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, natürliche Radonexposition, berufliche Strahlenexposition und Luftschadstoffe, wie Feinstaub und Dieselabgase [Zentrum für Krebsregisterdaten 2017].

Das Lungenkarzinom wird histologisch in das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom (*Non-Small Cell Lung Cancer*, NSCLC) und das kleinzellige Lungenkarzinom (*Small Cell Lung Cancer*, SCLC) eingeteilt. Darüber hinaus wird beim NSCLC zwischen Adenokarzinomen (46,1 % bei Frauen,

36,6 % bei Männern), Plattenepithelkarzinomen (15,1 % bei Frauen, 28,6 % bei Männern) und großzelligen Karzinomen (jeweils ca. 5 %) unterschieden [Kraywinkel und Schönfeld 2018]. Aufgrund fehlender bzw. unspezifischer Symptomatik erfolgt die Diagnose häufig erst in späten Stadien. So werden 35 – 40 % der NSCLC-Patient*innen erst im Stadium IV diagnostiziert [Onkopedia 2021]. Die Therapieoptionen hängen ebenfalls vom Stadium der Erkrankung ab, sie umfassen Operation, Chemotherapie, Strahlentherapie, Immuntherapie und zielgerichtete Therapien. Letztere sind in den zurückliegenden Jahren besonders in den Fokus von Forschung und Klinik gerückt, da beim NSCLC zahlreiche onkogene molekulare Treiber identifiziert und entsprechende zielgerichtete Wirkstoffe entwickelt werden konnten.

So wird mit den bereits zugelassenen zielgerichteten Therapien und den zu erwartenden Zulassungen für neue molekulare Treiber in naher Zukunft für mehr als die Hälfte der NSCLC-Patient*innen mit fortgeschrittenem Adenokarzinom eine zielgerichtete Therapie passend zum Mutationsstatus verfügbar sein [Thai et al. 2021]. Voraussetzung für die Anwendung der zielgerichteten Therapien ist jedoch eine breite und routinemäßige molekulare Diagnostik, um eine Identifikation vorhandener molekularer Treiber zu ermöglichen. Ziel dieser CME-Fortbildung ist es daher, eine aktuelle Übersicht zu molekularen Treibern und entsprechenden zielgerichteten Therapien beim NSCLC zu geben und die Bedeutung der molekularen Testung hervorzuheben.

2 MOLEKULARE TREIBER BEIM NSCLC

Bei sogenannten molekularen Treibern handelt es sich um genetische Veränderungen, die ein malignes Wachstum der Zellen zur Folge haben. Generell führen die genetischen Aberrationen zu einer konstitutiven Aktivierung von Signalkaskaden, z. B. über die Aktivierung von Tyrosinkinase, die das Zellüberleben, die Proliferation und die Differenzierung steuern. Bekannte genetische Veränderungen, die als onkogene Treiber beim NSCLC fungieren, sind Insertionen, Deletionen, Punktmutationen, Translokationen/Fusionen und Exon-Skipping-Mutationen. Beim NSCLC sind Mutationen der *EGFR*- und *KRAS*-Gene am häufigsten, sie werden bei etwa 17 % bzw. 29 % der Patient*innen nachgewiesen. Die meisten molekularen Treiber treten beim NSCLC jedoch mit einer niedrigen Frequenz von < 5 % auf [Schrock et al. 2016, Thai et al. 2021]. Eine Übersicht über die bislang identifizierten molekularen Treiber und ihre Häufigkeit beim metastasierten NSCLC zeigt Abbildung 1.

Die derzeit therapierelevanten molekularen Treiber werden im Folgenden genauer beleuchtet:

EGFR-Mutationen wurden beim NSCLC erstmals 2004 beschrieben, mittlerweile sind sowohl Insertionen und Deletionen als auch Punktmutationen bekannt. Die *EGFR*-Mutationen führen zu einer konstitutiven Aktivierung der Kinasefunktion des transmembranen Wachstumsfaktor-Rezeptors und somit auch der nachfolgenden Signalkaskade. Genetische Aberrationen, die eine Sensitivität gegenüber Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) aufweisen, sind überwiegend in Exon 19 und 21 lokalisiert. Am häufigsten treten die Exon-19-Deletion (*EGFR*^{del19}, 45 %) sowie die L858R-Aminosäuresubstitution (*EGFR*^{L858R}, 41 %) auf [Cheng et al. 2012]. Neben diesen klassischen *EGFR*-Mutationen gibt es eine Reihe seltener Mutationen (*Uncommon Mutations*), die Exon-20-Insertionen, Punktmutationen und komplexe Mutationen umfassen. Insbesondere erstere werden mittlerweile in verschiedenen klinischen Studien therapeutisch adressiert [Zhang et al. 2019b]. Mutationen, die eine Resistenz gegenüber TKI vermitteln, z. B. *EGFR*^{T790M}, befinden sich bevorzugt in Exon 20 [Cheng et al. 2012].

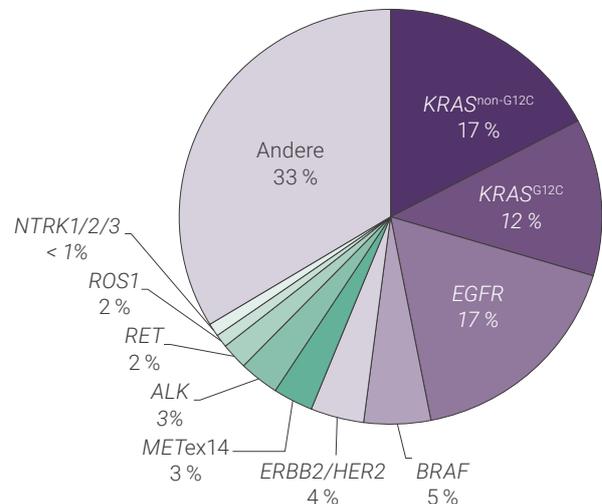


Abbildung 1: Häufigkeit onkogener Treiber beim NSCLC; modifiziert nach [Schrock et al. 2016, Thai et al. 2021].

Beim **ALK**-Gen handelt es sich beim molekularen Treiber um eine Translokation, die 2007 erstmalig bei einem NSCLC-Patienten nachgewiesen wurde. Aus einer Inversion auf Chromosom 2 resultiert ein EML4-ALK-Fusionsprotein, welches die gesamte intrazelluläre Kinasedomäne des ALK-Proteins und je nach Variante einen unterschiedlich langen Abschnitt des EML4-Proteins enthält. Neben EML4 wurden auch andere Fusionspartner beschrieben, die jedoch insgesamt selten sind. Das EML4-ALK-Fusionsprotein ist zur Ligandenunabhängigen Dimerisierung befähigt, was in einer konstitutiven Aktivierung der Kinasefunktion resultiert (Abbildung 2) [Shaw und Solomon 2011].

Auch beim **ROS1**-Gen handelt es sich beim molekularen Treiber um eine Translokation, die zur Bildung von Fusionsproteinen und einer dauerhaften Signaltransduktion führt. Die Fusionspartner von *ROS1* sind jedoch sehr divers. Bemerkenswerterweise besteht zwischen der ATP-Bindungsdomäne (dem typischen Angriffspunkt von TKI) von ALK und *ROS1* eine mehr als 80%ige Sequenzhomologie. Aus diesem Grund ist z. B. der TKI Crizotinib sowohl bei *ALK*- als auch bei *ROS1*-Translokationen wirksam (s. Kapitel 5) [Rossi et al. 2017].

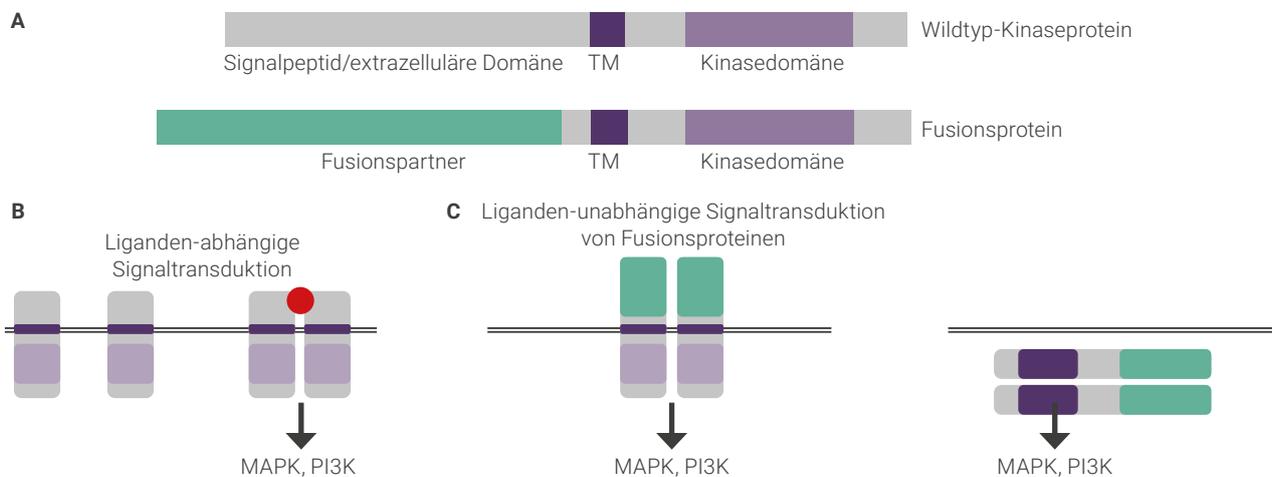


Abbildung 2: Gentranslokationen als onkogene Treiber; modifiziert nach [Farago und Azzoli 2017]. A) Schematische Darstellung der Domänenstruktur einer Wildtyp-Rezeptortyrosinkinase sowie eines Fusionsproteins. B) Schematische Darstellung einer Liganden-abhängigen Rezeptordimerisierung und Signaltransduktion bei Wildtyp-Rezeptortyrosinkinasen. C) Schematische Darstellung der Liganden-unabhängigen Dimerisierung und Signaltransduktion von Fusionsproteinen mit (links) bzw. ohne (rechts) Transmembrandomäne. MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase*; PI3K: *Phosphatidylinositol 3-Kinase*; TM: Transmembrandomäne

Die häufigste Mutation des *BRAF*-Gens ist eine Punktmutation, die zur Aminosäuresubstitution ***BRAF*^{V600E}** führt; sie macht etwa 60 % der *BRAF*-Mutationen beim NSCLC aus [Marchetti et al. 2011]. Im Gegensatz zu EGFR, ALK und ROS1 ist BRAF kein transmembraner Rezeptor, sondern eine intrazelluläre Kinase. Doch wie bei den zuvor genannten Rezeptoren resultiert aus der Konformationsänderung von BRAF eine konstitutive Aktivierung der Kinase unabhängig von extrazellulären Stimuli.

Die drei humanen ***NTRK***-Gene kodieren wiederum Rezeptortyrosinkinasen, die physiologisch u. a. vom Nervenwachstumsfaktor aktiviert werden. Beim NSCLC wurde 2013 erstmals eine *NTRK*-Translokation beschrieben. Bis heute wurden Fusionsproteine mit zahlreichen unterschiedlichen Fusionspartnern identifiziert. Allen gemein ist eine Liganden-unabhängige Aktivierung und Signaltransduktion, die eine Hyperproliferation und Hemmung der Apoptose induziert [Farago und Azzoli 2017, Stenzinger et al. 2021]. Das gleiche Prinzip gilt auch für das ***RET***-Gen, das ebenfalls für eine Rezeptortyrosinkinase kodiert und durch Translokationen onkogene Fusionsproteine hervorbringen kann. Der häufigste Fusionspartner ist das *KIF5B*-Gen, es wurden jedoch auch andere Fusionsvarianten beschrieben [Farago und Azzoli 2017].

Kürzlich wurden von der Europäischen Arzneimittelagentur (EMA) zielgerichtete Therapien für zwei weitere onkogene Treiber zugelassen. Dies betrifft zum einen das ***MET***-Gen, das den mesenchymal-epithelialen Transitionsfaktor kodiert. Ligand dieses Rezeptors ist der Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF). Die identifizierten genetischen Aberrationen umfassen sowohl Exon-14-Skipping-Mutationen als auch Amplifikationen, Fusionen und Überexpression [Liang und Wang 2020]. Bei ersteren handelt es sich um Mutationen, welche die Spleißstellen von Exon 14 betreffen und dazu führen, dass beim Spleißen der *messenger RNA* (mRNA) neben den Introns auch Exon 14 entfernt wird (*MET*_{ex14}-Skipping). In der Folge fehlt dem translatierten Protein eine Domäne, die für die Ubiquitin-vermittelte Degradation des Rezeptors essenziell ist (Abbildung 3). Da das Protein ansonsten funktionell ist, führt ein Ausbleiben des Abbaus zu einer verlängerten Signaltransduktion. Es sind mittlerweile mehr als 120 genetische Alterationen bekannt, die zu *MET*_{ex14}-Skipping führen [Frampton et al. 2015]. Bei der *MET*-Amplifikation liegt eine erhöhte Kopienzahl (GCN, *Gene Copy Number*) des *MET*-Gens vor, die ebenfalls in einer gesteigerten *MET*-Aktivität resultiert. Die *MET*-Amplifikation stellt zudem einen häufigen Resistenzmechanismus nach einer EGFR-TKI-Behandlung dar. So gehen 5 – 22 % der Resistenzen gegen EGFR-TKI der ersten und zweiten

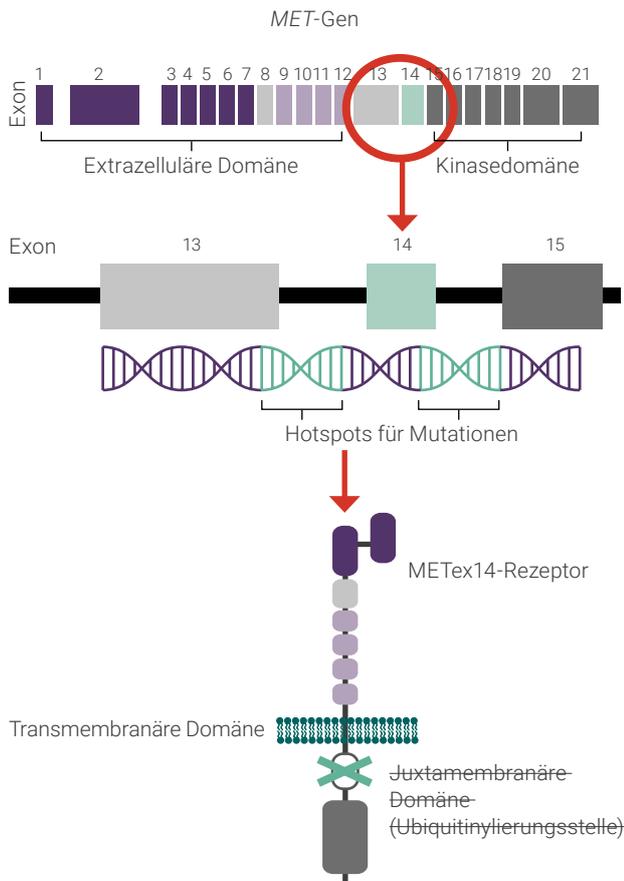


Abbildung 3: Schematische Darstellung von *MET*-Exon-14- (*MET*Ex14-)Skipping; modifiziert nach [Salgia et al. 2020].

Generation [Zhang et al. 2019c] sowie 15 – 19 % der Resistenzen gegen EGFR-TKI der dritten Generation [Papadimitrakopoulou et al. 2018, Ramalingam et al. 2018] auf eine *MET*-Amplifikation zurück.

Des Weiteren erteilte die EMA im Januar 2022 auch die Zulassung für einen GTPase-Inhibitor zur Behandlung von NSCLC mit *KRAS*^{G12C}-Mutation. Diese Punktmutation im Codon 12 des *KRAS*-Gens macht etwa 40 – 50 % aller *KRAS*-Mutationen in westlichen Populationen aus [Burns et al. 2020]. Die GTPase überträgt Signale von Oberflächenrezeptoren an unterschiedliche nachfolgende Signalkaskaden und wechselt dabei zwischen dem inaktiven GDP-(Guanosindiphosphat-)gebundenen und dem aktiven GTP-(Guanosintriphosphat-)gebundenen Zustand. Durch die Aminosäuresubstitution G12C wird die Hydrolyse von GTP in GDP verhindert und das Protein verharrt im aktiven Zustand [Burns et al. 2020].

Im Fokus intensiver Forschung und zahlreicher klinischer Studien steht zudem *ERBB2/HER2*, ein weiteres Mitglied der Familie epidermaler Wachstumsfaktorrezeptoren,

zu der auch *EGFR* gehört. Sowohl *ERBB2/HER2*-Amplifikationen und -Mutationen als auch Protein-Überexpressionen wurden bei Patient*innen mit NSCLC nachgewiesen. Die häufigste *ERBB2*-Mutation ist eine Insertion in Exon 20 (YVMA 776-779 ins), sie macht 80 – 90 % der *ERBB2*-Mutationen aus. Wie bereits für die anderen Tyrosinkinase beschrieben, führen die onkogenen Mutationen zu einer konstitutiven Aktivierung des Rezeptors und der nachfolgenden Signalkaskade [Zhao und Xia 2020].

Mutationsübergreifend wird für einige onkogene Treiber des NSCLC, dazu zählen *ALK*-, *ROS1*- und *NTRK*-Translokationen, angenommen, dass sie das Auftreten anderer molekularer Treiber ausschließen [Lin et al. 2017, Takahashi et al. 2010, Vaishnavi et al. 2013]. Bei anderen molekularen Treibern, wie *RET*-Translokationen oder der *BRAF*^{V600E}-Mutation, wurde diese Annahme zumindest in Einzelfällen bereits widerlegt [Marchetti et al. 2011, Zhang et al. 2019a]. Darüber hinaus scheint das Vorhandensein von molekularen Treibern beim NSCLC eng mit spezifischen klinisch-pathologischen Merkmalen verbunden zu sein. So treten *EGFR*-, *ALK*-, *ROS1*-, *BRAF*^{V600E}- und *RET*-Mutationen insbesondere bei Nichtraucher*innen, Adenokarzinomen, Frauen oder jüngeren Patient*innen mit NSCLC auf [Bergethon et al. 2012, Chen et al. 2014, Sacher et al. 2016, Schuette et al. 2015, Shaw und Solomon 2011, Takahashi et al. 2010, Wang et al. 2012]. *MET*Ex14-Skipping wurde hingegen besonders häufig bei Frauen, Nichtraucher*innen und älteren Patient*innen nachgewiesen [Vuong et al. 2018]. Molekulare Treiber können zudem mit einer vergleichsweise schlechten Prognose assoziiert sein. Beispielsweise beträgt die *Hazard Ratio* (HR) von NSCLC-Patient*innen mit *MET*Ex14-Skipping gegenüber *MET*-Wildtyp 1,82 [Vuong et al. 2018]. Lungentumoren mit *BRAF*^{V600E}-Mutation wiesen in einer retrospektiven Studie bei 80 % der Patient*innen einen aggressiven Typ auf und waren mit einem kürzeren krankheitsfreien Überleben und Gesamtüberleben (*Overall Survival*, OS) verbunden [Marchetti et al. 2011]. Zudem sprechen NSCLC-Patient*innen mit molekularen Treibern oft schlecht auf eine Immuntherapie an. Beispielsweise lag die objektive Ansprechrate auf eine Immuncheckpoint-Inhibitor-Monotherapie in einer retrospektiven Studie zwischen 0 % bei Patient*innen mit *ALK*-Translokation (n = 23) und 26 % bei Patient*innen mit *KRAS*-Mutation (n = 271) [Mazieres et al. 2019].

3 METHODEN UND BEDEUTUNG DER MOLEKULAREN TESTUNG

Zum Nachweis genetischer Veränderungen stehen unterschiedliche molekularbiologische Verfahren zur Verfügung. Zum Beispiel können Translokationen und Amplifikationen mithilfe der **Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung** (FISH) direkt im histologischen Schnittpräparat nachgewiesen werden. Dabei werden Fluoreszenzmarkierte DNA-Sonden in die Zellen eingebracht und binden spezifisch an die komplementären Genabschnitte. Die mikroskopische Analyse der Fluoreszenzsignale gibt Aufschluss über die Lokalisation und Kopienzahl des Zielgens. Vorteil dieser Methode ist es, dass die untersuchte genetische Aberration direkt einer Zelle zugeordnet wird und somit Informationen über die Heterogenität des Tumors gewonnen werden können. Jedoch ist die FISH auf die Detektion bekannter genetischer Veränderungen begrenzt und pro Analyse können nur wenige Mutationen untersucht werden, sodass die Methode nicht für ein Screening auf alle möglichen molekularen Treiber geeignet ist [Bauer und Wiesner 2021].

Die **Polymerasekettenreaktion** (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) ist eine Methode zur Vervielfältigung spezifischer DNA-Abschnitte und stellt eine wichtige Grundlage zahlreicher molekularbiologischer Analyseverfahren dar. Dies wurde 1993 durch die Verleihung des Chemie-Nobelpreises an die beiden Entwickler der PCR gewürdigt. Ausgangsmaterial für die PCR ist isolierte doppelsträngige DNA, die im ersten Schritt in Einzelstränge aufgeschmolzen wird (Denaturierung). Anschließend binden spezifische Primer an ihre komplementäre Sequenz (*Annealing*). Davon ausgehend wird der komplementäre DNA-Strang synthetisiert (Elongation). Durch eine 30- bis 40-fache Wiederholung dieses Zyklus steigt die Kopienzahl exponentiell. Das so gewonnene Material kann anschließend, z. B. mittels Gel- oder Kapillarelektrophorese, analysiert werden [Bauer und Wiesner 2021]. Deletionen oder Insertionen, die zu kürzeren bzw. längeren DNA-Abschnitten führen, können so nachgewiesen werden. Mithilfe der quantitativen PCR (qPCR) sind auch spezifische Mutationen detektierbar. Dafür werden Fluoreszenzmarkierte Sonden eingesetzt, die komplementär zur mutierten bzw. nicht mutierten DNA-Sequenz sind und im *Annealing*-Schritt an den entsprechenden Abschnitt binden. Während der Elongation werden die Sonden freigesetzt und das

Fluoreszenzlicht emittiert. Die Intensität der Fluoreszenz lässt Rückschlüsse auf die Menge der entsprechenden DNA im Ausgangsmaterial zu. Diese Methode ist schnell und relativ kostengünstig, wenn einzelne bekannte Mutationen untersucht werden sollen. Bei der reversen Transkriptions-(RT-)qPCR dient mRNA als Ausgangsmaterial, das in einem vorgelagerten Schritt zunächst in komplementäre DNA (cDNA) transkribiert wird, welche anschließend die qPCR-Schritte durchläuft. Dieses Verfahren ermöglicht beispielsweise den Nachweis von *MET*Ex14-Skipping auf mRNA-Ebene, indem die *MET*-Exon-13-Exon-15-fusionierte mRNA detektiert wird.

Die PCR stellt auch die Basis der **Sanger-Sequenzierung** dar, bei der die vollständige Basenabfolge des zuvor amplifizierten DNA-Abschnitts ermittelt wird. Während der letzten Elongation ist ein kleiner Anteil der Nukleotide je nach Base mit einem anderen Fluoreszenzfarbstoff markiert. Diese werden zufällig an unterschiedlichen Positionen in den neu synthetisierten Strängen eingebaut, worauf ein Abbruch der Synthese des jeweiligen Stranges erfolgt. Das Resultat sind unterschiedlich lange DNA-Stränge, die genau eine farbliche Markierung entsprechend der letzten eingebauten Base aufweisen. Die Stränge werden anschließend elektrophoretisch nach ihrer Größe getrennt. Dann wird der Reihe nach das Fluoreszenzsignal gemessen, aus dem sich die Basenabfolge rekonstruieren lässt (Abbildung 4) [Muzzey et al. 2015]. Auf diesem Wege kann eine Vielzahl an Mutationen innerhalb des amplifizierten Abschnitts detektiert werden. Die Untersuchung zahlreicher molekularer Treiber macht die Methode jedoch arbeitsaufwändig und teuer, sodass sie für ein Screening nicht gut geeignet ist.

Das fortschrittlichste Verfahren in der molekularen Diagnostik stellt das **Next-Generation Sequencing** (NGS) dar. Im Gegensatz zur Sanger-Sequenzierung wird die zu untersuchende DNA fragmentiert und die resultierenden Templates an definierten Positionen auf einem Glaträger fixiert. Zudem sind alle Nukleotide mit Fluoreszenzfarbstoff markiert. Nach dem Einbau des Nukleotids während der Synthese wird direkt die Fluoreszenz detektiert. Anschließend erfolgt eine Umwandlung der modifizierten Base in eine reguläre Base, die eine weitere Strangverlängerung ermöglicht.

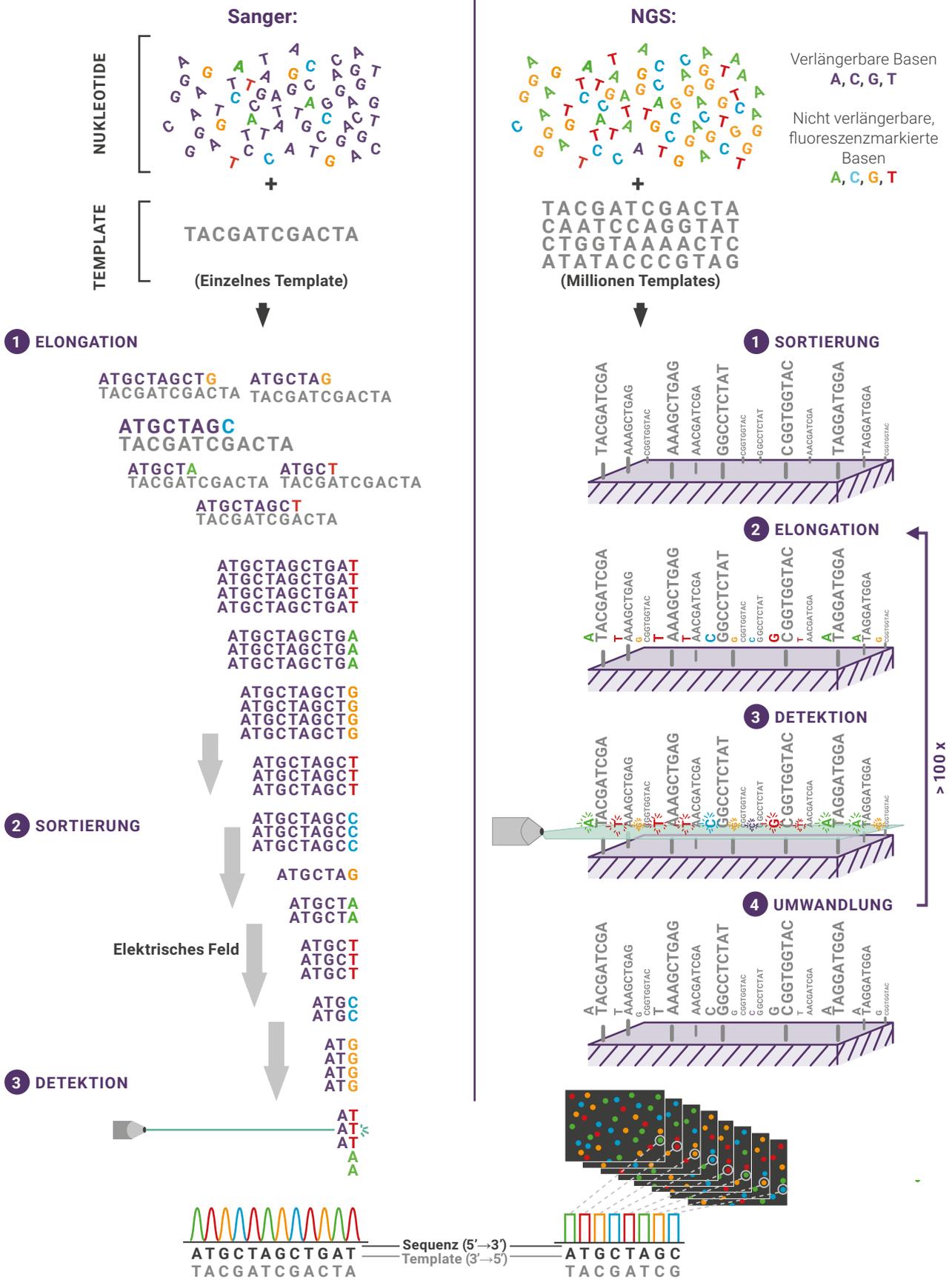


Abbildung 4: Übersicht über die Verfahren zur Sanger-Sequenzierung (links) und zum Next Generation Sequencing (NGS) (rechts); modifiziert nach [Muzzev et al. 2015].

Dieser Zyklus wird mehr als hundertmal wiederholt (Abbildung 4). Anschließend werden die Ergebnisse der einzelnen Templates bioinformatisch zusammengefügt und ausgewertet. Entscheidend ist, dass während einer Sequenzierung nicht nur ein Template untersucht wird, sondern Millionen Templates auf dem Glaträger aufgebracht sind, die anhand ihrer Position voneinander unterschieden werden können. Diese Parallelsequenzierung ermöglicht einen hohen Durchsatz an unterschiedlichen Tumorproben bei gleichzeitiger Analyse vieler Zielgene (*High-Throughput*). Im Gegensatz zur PCR werden beim NGS zudem keine Kenntnisse der Sequenz/Mutation vorausgesetzt, vielmehr können auch neue Varianten detektiert werden [Muzzey et al. 2015]. Als Ausgangsmaterial für das NGS kann ebenso wie bei der qPCR auch mRNA genutzt werden, sodass Veränderungen auf mRNA-Ebene detektiert werden können.

Mit zunehmender Anzahl therapierelevanter molekularer Treiber im NSCLC gewinnt auch die molekulare Diagnostik immer weiter an Bedeutung. Dabei stellt sich die Frage, welche molekularbiologischen Nachweisverfahren am besten geeignet sind, denn bleibt eine Mutation unentdeckt, so entgeht dem/der Patient*in womöglich eine wirksame zielgerichtete Therapie. Eine Simulationsstudie untersuchte die Auswirkungen von Einzelgentestungen (*Single Gene Testing*, SGT) von *EGFR* und *ALK* im Vergleich zu NGS (Untersuchung von *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*, *RET*, *MET*, *NTRK*) auf die gewonnenen Lebensjahre von Patient*innen mit nichtplatteneitheliale NSCLC in den USA. Bei einer derzeitigen Testrate von 80 % ergab das hypothetische Modell einen Gewinn von > 21.000 Lebensjahren, wenn SGT vollständig durch NGS ersetzt würde. Eine Steigerung der Testrate auf 100 % der infrage kommenden Patient*innen würde einen Gewinn weiterer 10.000 Lebensjahre zur Folge haben [Pennell et al. 2020]. Eine andere Studie verglich, inwiefern die sehr heterogene *EGFR*-Exon-20-Insertion (Exon20ins), die etwa 10 % aller *EGFR*-Mutationen beim NSCLC ausmacht, mittels qPCR bzw. NGS nachgewiesen werden kann. In zwei amerikanischen NGS-Datenbanken wurden 175 bzw. 627 Patient*innen mit Exon20ins identifiziert. Dabei wurden 40 bzw. 102 unterschiedliche Mutationsvarianten nachgewiesen. Von den neun bzw. 17 häufigsten Varianten (mehr als fünf Patient*innen) wären jeweils lediglich vier mit kommerziell verfügbaren PCR-Tests

nachweisbar gewesen. Insgesamt hätten PCR-Tests lediglich die Hälfte der Patient*innen mit Exon20ins identifiziert [Bauml 2021]. Diese Ergebnisse machen deutlich, wie wichtig eine breite und sensitive molekulare Diagnostik ist, die sowohl sämtliche molekulare Treiber als auch mögliche Varianten umfasst.

Unabhängig von dem beschriebenen Verfahren ist die Grundlage der molekularen Testung immer eine ausreichende Gewebeprobe des Tumors, die mittels Biopsie oder Feinnadelaspiration gewonnen werden muss. Da zum einen nicht bei allen Patient*innen Tumorgewebe entnommen werden kann und zum anderen eine regelmäßige Überprüfung des Mutationsstatus im Therapieverlauf an Bedeutung gewinnt, ist in den letzten Jahren die sogenannte *Liquid Biopsy* in den Fokus des Interesses gerückt. Dabei werden aus einer Blutprobe Tumorzellen oder frei zirkulierende TumordNA (ctDNA) isoliert. Derzeit wird die *Liquid Biopsy* gemäß den Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin (DGP) nur bei erworbener *EGFR*-TKI-Resistenz und negativem Ergebnis bezüglich einer T790M-Resistenzmutation in der Gewebe-Rebiopsie oder bei nicht verfügbarer Gewebe-Rebiopsie empfohlen [Leitlinienprogramm Onkologie 2018]. Die kürzlich aktualisierte Onkopedia-Leitlinie benennt die *Liquid Biopsy* hingegen generell als mögliches Verfahren für die Resistenztestung, jedoch sollte bei einem negativen Ergebnis zusätzlich eine Gewebe-Rebiopsie erfolgen [Onkopedia 2021]. Eine Kohortenstudie von Aggarwal und Kolleg*innen zeigte hingegen, dass eine Ergänzung des Standardmanagements um NGS mit *Liquid-Biopsy*-Proben zur deutlichen Steigerung der detektierten therapeutisch relevanten molekularen Treiber bei NSCLC-Betroffenen mit Stadium IV führt. In die prospektive Studie wurden 229 Patient*innen eingeschlossen, bei 128 Betroffenen wurde eine NGS-Analyse von Gewebe und *Liquid Biopsy* durchgeführt, bei 101 war eine Gewebeanalyse nicht möglich, sodass nur die *Liquid Biopsy* untersucht wurde. Während die Analyse der Gewebeproben bei 47 Patient*innen (20,5 %) eine therapierelevante Mutation identifizierte, erhöhte eine Sequenzierung der ctDNA aus Blutplasma die Anzahl der Betroffenen auf 82 (35,8 %) [Aggarwal et al. 2019].

Obwohl NSCLC-Patient*innen im Stadium IV nachweislich von der molekularen Diagnostik profitieren,

ist ihre Anwendung heute noch unzureichend. So ergab eine deutschlandweite Erhebung zwar einen anhaltenden Anstieg der Testraten im Jahr 2019 auf 89 % der Patient*innen mit metastasiertem NSCLC vor Erstlinientherapie. Allerdings werden nicht immer alle relevanten Mutationen angefordert und es gibt noch Unterschiede hinsichtlich der Testraten zwischen den verschiedenen Versorgungseinrichtungen. Letzteres ist u. a. auf eine unzureichende Kosten-erstattung zurückzuführen. Während im ambulanten Bereich die molekulare Diagnostik Bestandteil des einheitlichen Bewertungsmaßstabs (EBM) ist, fehlt eine zufriedenstellende Abrechnung für den stationären Bereich. Die Erhebung ergab weiterhin, dass die Dauer bis zum Erhalt des Testergebnisses zum Teil zu lang ist, sodass bei 18 % der Patient*innen bereits vor Vorliegen des Ergebnisses eine Therapie initiiert wurde [Ostermann und Ukena 2020]. Dies sollte jedoch vermieden werden, da zielgerichtete Therapien insbesondere in der Erstlinie gut wirksam sind [Rosell et al. 2012, Solomon et al. 2014, Wolf et al. 2020]. Eine Datenbank-basierte Untersuchung in den USA ergab, dass von 2.971 Patient*innen mit

fortgeschrittenem nichtplatteneithelalem NSCLC bei 23,2 % keine molekulare Testung vor der Erstlinientherapie durchgeführt wurde. Von den 2.281 getesteten Patient*innen hatten 59,4 % einen NGS-Test erhalten, der bei 13,4 % als unzureichend (d. h. kein erfolgreicher Test bei einem der vier Gene *ALK*, *BRAF*, *EGFR* oder *ROS1*) eingestuft wurde. Deutlich höher (52,5 %) war der Anteil unzureichender Tests bei Patient*innen, die mit einem anderen Testverfahren untersucht wurden. Während in der NGS-Gruppe ca. einem/einer von zehn Betroffenen möglicherweise eine gezielte Therapie entging, betraf dies in der Gruppe anderer Testverfahren vier von zehn Patient*innen [Gondos et al. 2020].

Es lässt sich zusammenfassen, dass eine breite und frühzeitige molekulare Testung von Patient*innen mit NSCLC dringend erforderlich ist. Gründe hierfür sind die schlechten Prognosen, die mit einigen molekularen Treibern verbunden sind, die Wirksamkeit von zielgerichteten Therapien sowie die suboptimale Wirksamkeit anderer Therapieoptionen wie z. B. Immuncheckpoint-Inhibitoren [Mazieres et al. 2019].

4 LEITLINIENEMPFEHLUNGEN ZUR MOLEKULAREN TESTUNG

Aufgrund ihrer Bedeutung für die Therapieentscheidung und die Prognose der Patient*innen hat die molekulare Diagnostik Eingang in sämtliche Leitlinien zum NSCLC gefunden. Im folgenden Kapitel werden die Empfehlungen der *American Society for Clinical Oncology* (ASCO), der *European Society for Medical Oncology* (ESMO), der DGP (S3-Leitlinie, Stand 2018) sowie von Onkopedia (Stand Juli 2021) miteinander verglichen. Eine Übersicht der Aussagen aus der Onkopedia-Leitlinie ist im folgenden Kasten zusammengestellt.

WELCHE PATIENT*INNEN SOLLEN GETESTET WERDEN?

Laut der amerikanischen ASCO-Leitlinie empfiehlt sich eine molekulare Testung für alle Patient*innen mit NSCLC im Stadium IV, die einen Adenokarzinom-Anteil haben, keine platteneitheliale Histologie aufweisen oder falls klinische Merkmale, wie ein junges Alter (< 50 Jahre) oder keine bzw. leichte Tabakrauchexposition, auf eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für onkogene

Empfehlungen der Onkopedia-Leitlinie zur molekularen Testung beim NSCLC [Onkopedia 2021]

Welche Patient*innen?

- Alle Patient*innen im Stadium IV vor Beginn der Erstlinientherapie

Welche Mutationen?

- Alle therapierelevanten molekularen Treiber: *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*^{V600E}, *NTRK*, *RET* (Stand 07/2021)

Welche Testverfahren?

- Zielgerichtete, integrierte und qualitätsgesicherte Diagnostik

Treiber hindeuten [Kalemkerian et al. 2018]. Die europäische ESMO- und die deutsche Onkopedia-Leitlinie empfehlen hingegen, alle Patient*innen mit NSCLC im Stadium IV einer molekularen Diagnostik zu unterziehen [Onkopedia 2021, Planchard et al. 2020b]. Gemäß der S3-Leitlinie der DGP sollen Testungen bei allen nicht kurativ behandelbaren nichtplatteneithelialen NSCLC sowie Plattenepithelkarzinomen von Nicht- und Leichtrauchern im Stadium IV durchgeführt werden [Leitlinienprogramm Onkologie 2018]. Aufgrund der im Juli 2021 erfolgten Zulassungserweiterung für den EGFR-TKI Osimertinib auf die adjuvante Therapie nach vollständiger Tumorsektion bei Betroffenen im Stadium IB bis IIIA ist eine Testung dieser Patient*innen auf *EGFR*-Mutationen wichtig und daher davon auszugehen, dass auch die Leitlinien-Empfehlungen entsprechend erweitert werden.

WELCHE MOLEKULAREN TREIBER SOLLEN UNTERSUCHT WERDEN?

Die ASCO-Leitlinie empfiehlt die standardmäßige Untersuchung der Gene *EGFR*, *ALK*, *ROS1* und *BRAF*. Ein routinemäßiger Einzeltest der Gene *RET*, *ERBB2*, *KRAS* und *MET* gilt hingegen als nicht indiziert, als Teil größerer Mehrfachtests können diese Zielgene jedoch miteinbezogen werden [Kalemkerian et al. 2018]. Die ESMO-Leitlinien empfehlen die Testung von *EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *BRAF*^{V600E} und *NTRK* [Planchard et al. 2020b], die zuletzt im Juli 2021 aktualisierte Onkopedia-Leitlinie schließt darüber hinaus auch *RET* ein [Onkopedia 2021]. Die Autoren wiesen zudem bereits damals auf *MET*ex14-Skipping und *KRAS*^{G12C} als zukünftig therapie-

relevante Treiber hin. Die Aussage in der S3-Leitlinie ist offen gehalten, es soll auf alle therapeutisch relevanten Mutationen getestet werden. Ist der Mutationsstatus in dieser Hinsicht negativ, sollte auch auf potenziell therapierbare Mutationen getestet werden, um eine zielgerichtete Therapie beispielsweise im Rahmen einer klinischen Studie zu ermöglichen [Leitlinienprogramm Onkologie 2018].

WELCHES TESTVERFAHREN WIRD EMPFOHLEN?

Wenn vorhanden, sind Multiplex-Plattformen, wie das NGS, sowohl gemäß der ASCO- als auch der ESMO-Leitlinie anderen Nachweisverfahren vorzuziehen [Kalemkerian et al. 2018, Planchard et al. 2020b]. Die Experten der ASCO weisen zudem darauf hin, dass die verwendete Testmethode für den Nachweis genetischer Aberrationen in Proben mit einem Tumorzellanteil von lediglich 20 % geeignet sein soll [Kalemkerian et al. 2018]. Die Onkopedia-Leitlinie macht hingegen keinerlei spezifische Angaben zu dieser Fragestellung und weist lediglich auf eine zielgerichtete, integrierte und qualitätsgesicherte Diagnostik hin [Onkopedia 2021]. Laut der S3-Leitlinie ist zum Zeitpunkt der Erstellung keine Empfehlung hinsichtlich eines bestimmten Testverfahrens möglich gewesen. Sie empfiehlt jedoch Verfahren, die das Ergebnis innerhalb von zehn Arbeitstagen liefern und eine ausreichende Sensitivität für die Detektion von Mutationen in Proben mit nur 10 % Tumoranteil besitzen. Diesbezüglich zeigten Studien eine Überlegenheit von Parallelsequenzierungen oder PCR-basierten Methoden gegenüber der Sanger-Sequenzierung [Leitlinienprogramm Onkologie 2018].

5 ZIELGERICHTETE THERAPIEN

Die Identifikation onkogener Treiber eröffnet der Forschung und Entwicklung regelmäßig neue Angriffspunkte für antitumorale Therapien, die ihre Wirksamkeit bereits vielfach bewiesen haben. Der wirkmechanistische Ansatz von zielgerichteten Therapien ist die spezifische Inhibition der von einer Mutation betroffenen

Signalkaskade, beispielsweise durch die Inhibition von Tyrosinkinase. Die onkogene Signalübertragung wird dadurch gezielt gehemmt. Der erste TKI zur Behandlung des NSCLC wurde 2005 in Europa zugelassen (EGFR-TKI Erlotinib), seitdem sind zahlreiche weitere Wirkstoffe hinzugekommen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht zielgerichteter Therapien beim NSCLC im Stadium IV mit onkogener Treibermutation; modifiziert nach [Rote Liste 2022].

Mutation	Wirkstoff	Anwendungsgebiete
EGFR (aktivierende Tyrosinkinase-Mutation)	Afatinib	EGFR-TKI-naive Patient*innen Zweitlinie bei plattenepithelalem NSCLC ohne EGFR-Mutation nach Chemotherapie
	Dacomitinib	Erstlinie
	Erlotinib	Erstlinie Zweitlinie für Patient*innen mit und ohne EGFR-Mutation
	Gefitinib	Behandlung unabhängig von Therapielinie
	Osimertinib	Erstlinie Behandlung bei EGFR ^{T790M} -Mutation
ALK-Translokation	Alectinib	Erstlinie Zweitlinie nach Crizotinib
	Brigatinib	ALK-TKI-naive Patient*innen Zweitlinie nach Crizotinib
	Ceritinib	Erstlinie Zweitlinie nach Crizotinib
	Crizotinib	Erstlinie Behandlung vorbehandelter Patient*innen
	Lorlatinib	ALK-TKI-naive Patient*innen Zweitlinie nach Alectinib oder Ceritinib Drittlinie nach Crizotinib und mind. einem anderen ALK-TKI
ROS1-Translokation	Crizotinib	Behandlung unabhängig von Therapielinie
	Entrectinib	ROS1-TKI-naive Patient*innen
BRAF ^{V600}	Dabrafenib + Trametinib	Behandlung unabhängig von Therapielinie
NTRK-Translokation	Entrectinib	NTRK-TKI-naive Patient*innen ohne zufriedenstellende Therapieoptionen
	Larotrectinib	Behandlung unabhängig von Therapielinie
RET-Translokation	Pralsetinib	RET-TKI-naive Patient*innen
	Selpercatinib	Positive Empfehlung für Zulassungserweiterung: RET-TKI-naive Patient*innen Zweitlinie nach Platin-basierter Chemotherapie und/oder Immuntherapie
METex14-Skipping	Capmatinib	Zweitlinie nach Platin-basierter Chemotherapie und/oder Immuntherapie
	Tepotinib	Zweitlinie nach Platin-basierter Chemotherapie und/oder Immuntherapie
KRAS ^{G12C}	Sotorasib	Zweitlinie nach mind. einer systemischen Therapie

EMA: European Medicines Agency; METex14: MET-Exon-14; NSCLC: Non-Small Cell Lung Cancer; TKI: Tyrosinkinase-Inhibitor

Bei Patient*innen mit NSCLC im Stadium IV, denen heute noch keine kurative Therapie zur Verfügung steht, können zielgerichtete Therapien das progressionsfreie Überleben (*Progression-Free Survival*, PFS) und das OS verlängern. So hatten NSCLC-Patient*innen mit aktivierender EGFR-Mutation in insgesamt sechs Phase-III-Studien zu EGFR-TKI der ersten Generation (Gefitinib, Erlotinib) ein längeres medianes PFS unter der zielgerichteten Therapie (9,2 – 13,1 Monate) als unter Chemotherapie (4,6 – 6,3 Monate). Zudem verbesserte sich die Gesamtansprechrate (ORR) von 31 – 47 % unter Chemotherapie auf 62,1 – 83 % unter EGFR-TKI [Hsu et al. 2018]. Afatinib und Dacomitinib gehören zu den

EGFR-TKI der zweiten Generation. Afatinib zeigte in zwei Phase-III-Studien mit Patient*innen mit EGFR-Mutation ebenfalls ein längeres medianes PFS (11 Monate) gegenüber Chemotherapie (5,6 – 6,9 Monate) und darüber hinaus bei Patient*innen mit EGFRdel19 ein verlängertes OS. Die ORR verbesserte sich von 23 % auf 56 – 67 % [Hsu et al. 2018]. Dacomitinib wurde beispielsweise in der randomisierten, offenen Phase-III-Studie ARCHER 1050 mit einer Gefitinib-Therapie verglichen und demonstrierte ein längeres medianes PFS (14,7 vs. 9,2 Monate) sowie ein längeres medianes OS (34,1 vs. 26,8 Monate), wohingegen die ORR bei beiden EGFR-TKI vergleichbar war (75 vs. 72 %) [Mok et al. 2018, Wu et al. 2017].

Osimertinib wird zur dritten Generation der EGFR-TKI gezählt und zeichnet sich durch seine Wirksamkeit bei vorliegender *EGFR*^{T790M}-Resistenzmutation aus. So betrug in einer randomisierten, offenen Phase-III-Studie, die *EGFR*^{T790M}-positive NSCLC-Patient*innen mit EGFR-TKI-Erstlinientherapie einschloss, das mediane PFS im Osimertinib-Arm 10,1 Monate im Vergleich zu 4,4 Monaten im Chemotherapie-Arm und die ORR verbesserte sich auf 71 % gegenüber 31 % [Mok et al. 2017]. Die FLAURA-Studie zeigte zudem die Wirksamkeit von Osimertinib zur Erstlinientherapie von Patient*innen mit *EGFR*-Mutation. Im Vergleich zu einer Therapie mit Gefitinib oder Erlotinib war Osimertinib mit einem längeren medianen PFS (18,9 vs. 10,2 Monate) und einem längeren OS (38,6 vs. 31,8 Monate) verbunden, wohingegen die ORR in beiden Studiengruppen vergleichbar war (80 vs. 76 %) [Ramalingam et al. 2019, Soria et al. 2017].

Eine Meta-Analyse zu den ALK-Inhibitoren der ersten (Crizotinib) und zweiten (Alectinib, Brigatinib, Ceritinib) Generation ergab, dass alle Wirkstoffe das PFS gegenüber Chemotherapie verbesserten (HR Crizotinib: 0,46; HR Alectinib: 0,23; HR Brigatinib: 0,23; HR Ceritinib: 0,52). Darüber hinaus wurde eine Verlängerung des OS unter Alectinib-Therapie im Vergleich zur Chemotherapie gezeigt (HR: 0,57) [Elliott et al. 2020]. Der TKI Crizotinib ist aufgrund der Sequenzhomologie von ROS1 und ALK im Bereich der Bindestelle ebenfalls zur Erstlinientherapie des NSCLC mit *ROS1*-Translokation zugelassen. In der Phase-I-Studie PROFILE 1001, die 53 *ROS1*-positive NSCLC-Patient*innen einschloss, war Crizotinib mit einem medianen PFS von 19,3 Monaten, einem medianen OS von 51,4 Monaten und einer ORR von 72 % verbunden [Shaw et al. 2019].

Die zielgerichtete Therapie *BRAF*^{V600E}-positiver NSCLC setzt sich aus einem BRAF-Inhibitor (Dabrafenib) und einem Inhibitor der Kinase MEK (Trametinib) zusammen. In einer Phase-II-Studie mit 36 therapienaiven bzw. 57 vorbehandelten Patient*innen wurde unter der TKI-Behandlung ein medianes PFS von jeweils ca. 10 Monaten, ein medianes OS von 17,3 bzw. 18,2 Monaten und eine ORR von 64 bzw. 68 % erreicht [Planchard et al. 2020a]. In einer retrospektiven *Real-World*-Studie betrug das mediane PFS und OS sogar 17,5 bzw. 25,5 Monate (40 therapienaive oder vorbehandelte Patient*innen) [Auliac et al. 2020].

Der seit Februar 2021 für die Zweit-/Drittlinientherapie zugelassene RET-TKI Selpercatinib war in der zulassungsrelevanten Phase-I/II-Studie mit einem medianen PFS von 16,6 Monaten verbunden und die ORR betrug 64 %. Ein Jahr nach Therapiebeginn waren 66 % der 105 Patient*innen, die mit platinhaltiger Chemotherapie vorbehandelt waren, progressionsfrei [Drlon et al. 2020].

Auch bei Patient*innen mit *MET*_{ex14}-Skipping ist eine zielgerichtete Therapie mit einem längeren OS verbunden. So führte die Behandlung mit Capmatinib in der Phase-II-Studie GEOMETRY-mono-1 in der Kohorte 4, die Capmatinib als Zweit- oder Drittlinientherapie untersuchte, zu einem medianen OS von 13,6 Monaten und einem medianen PFS von 5,4 Monaten. In der Extensionskohorte 6 betrug das mediane PFS 6,9 Monate, wohingegen die OS-Daten noch nicht ausgereift sind. Die ORR betrug 41 % in Kohorte 4 und 52 % in Kohorte 6 [Wolf et al. 2021]. Tepotinib war in einer offenen Phase-II-Studie bei vorbehandelten Patient*innen mit einem medianen OS von 19,9 Monaten und einem medianen PFS von 11 Monaten verbunden. Die ORR betrug in dieser Subgruppe 44 % [Griesinger et al. 2022].

Sotorasib, der erste zugelassene *KRAS*^{G12C}-Inhibitor, zeigte in einer Phase-I/II-Studie bei vorbehandelten Patient*innen mit *KRAS*^{G12C}-Mutation ein medianes OS von 12,5 Monaten, ein medianes PFS von 6,8 Monaten und eine ORR von 37 % [Skoulidis et al. 2021].

Auf Grundlage der nachgewiesenen Wirksamkeit von zielgerichteten Therapien bei NSCLC-Patient*innen mit entsprechender onkogener Treibermutation sollen laut Leitlinie der DGP je nach Mutationsstatus passende TKI zur Erstlinientherapie angeboten werden. Sofern verfügbar, sollen bei Versagen des Erstlinien-TKI auch in weiteren Therapielinien alternative TKI eingesetzt werden. Sind keine weiteren TKI zugelassen, sollten die Patient*innen nach Möglichkeit in klinische Studien zu gezielten Therapien eingeschlossen werden. Erst falls auch dies nicht möglich ist, wird eine Behandlung mit Chemotherapie wie für Patient*innen ohne onkogene Treibermutation empfohlen [Leitlinienprogramm Onkologie 2018]. Ein entsprechender Therapiealgorithmus, der von Onkopedia veröffentlicht wurde, ist in Abbildung 5 dargestellt.

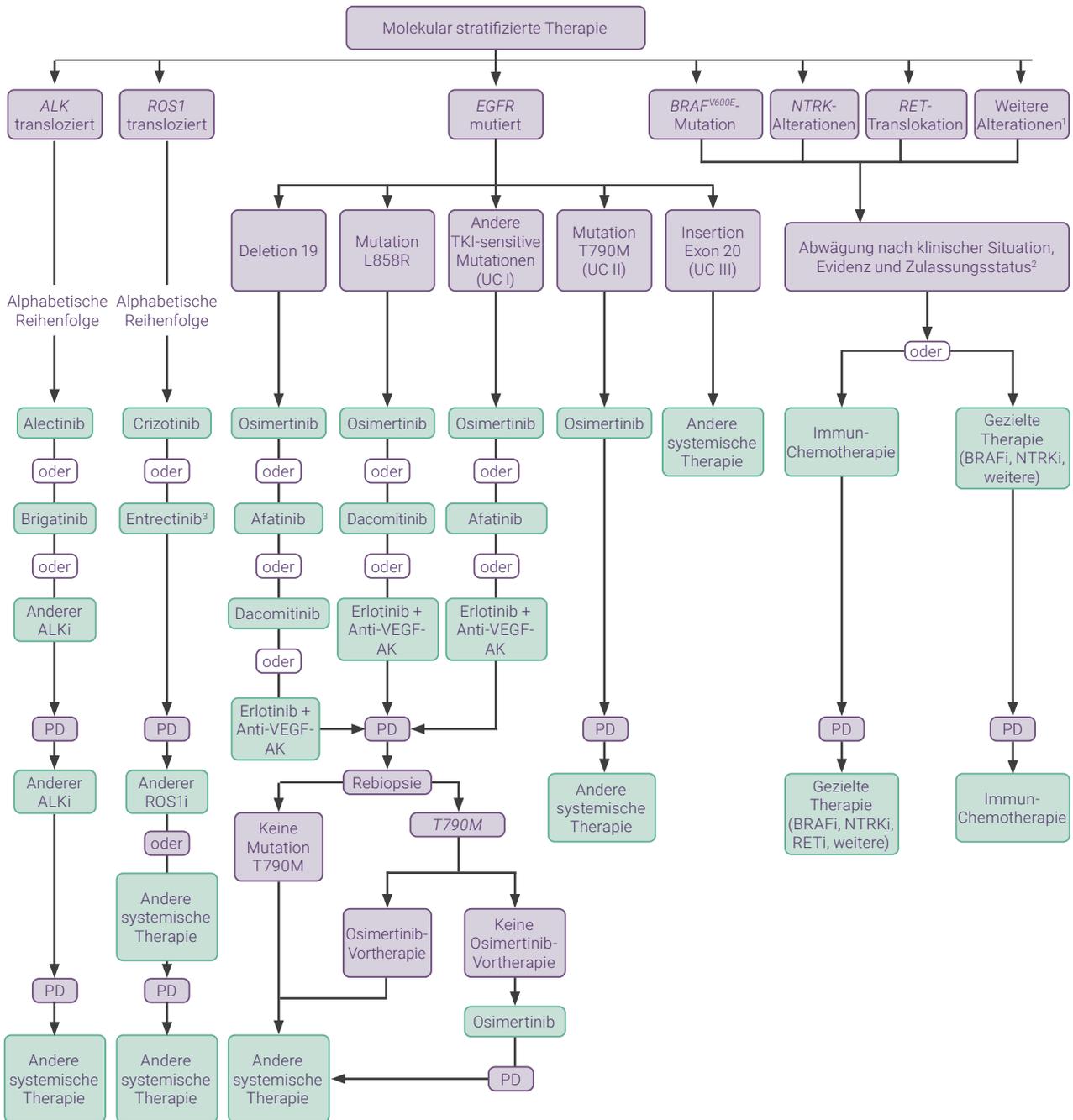


Abbildung 5: Therapiealgorithmus für Patient*innen mit NSCLC im Stadium IV und umfassender molekularer Diagnostik bei gutem oder mäßig reduziertem Allgemeinzustand und keiner ausgeprägten Komorbidität; modifiziert nach [Onkopedia 2021].

AK: Antikörper, i: Inhibitor, PD: progrediente Erkrankung (*Progressive Disease*), TKI: Tyrosinkinaseinhibitor, UC: seltene Mutationen (*Uncommon Mutations*), UC I: Punktmutationen oder Duplikationen in den Exonen 18 – 21, UC II: Mutation T790M im Exon 20 allein oder in Kombination mit anderen Mutationen, UC III: Exon-20-Insertionen.

¹ Weitere Alterationen: z. B. *ERBB2/HER2*-Amplifikationen und -Mutationen, *KRAS*^{G12C}-Mutationen, *MET*Ex14-Skipping-Mutationen oder *MET*-Amplifikationen

² Für *BRAF*^{V600E}-Mutationen, *NTRK*-Alterationen und *RET*-Translokationen sind gezielte Therapien für die Erstlinienbehandlung zugelassen, für *MET*Ex14-Skipping- und *KRAS*^{G12C}-Mutationen sind gezielte Therapien für die Zweitlinienbehandlung zugelassen (s. Tabelle 1)

³ Vor allem bei ZNS-Metastasen

Nahezu alle Patient*innen unter zielgerichteter Therapie sind irgendwann von Resistenzen betroffen [Asao et al. 2019]. Dabei gibt es zahlreiche unterschiedliche Mechanismen, die zum Wirksamkeitsverlust von TKI beitragen können. So können sekundäre Punktmutationen zu Konformationsänderungen der Tyrosinkinase führen, die eine Bindung des Inhibitors unmöglich macht. Ein wichtiges Beispiel hierfür ist die *EGFR*^{T790M}-Mutation, die für 40 – 50 % der Resistenzen gegenüber EGFR-TKI der ersten Generation verantwortlich ist [Asao et al. 2019]. Ein weiterer Resistenzmechanismus ist die Aktivierung alternativer Signalwege. So verursacht eine erhöhte MET-Aktivität durch Amplifikation des

MET-Gens 5 – 22 % der Resistenzen gegen EGFR-TKI der ersten und zweiten Generation [Zhang et al. 2019c] sowie 15 – 19 % der Resistenzen gegen EGFR-TKI der dritten Generation [Papadimitrakopoulou et al. 2018, Ramalingam et al. 2018]. Darüber hinaus ist auch eine Aktivierung des Signalwegs unterhalb vom Angriffspunkt des Inhibitors möglich. Aufgrund der besonderen Bedeutung von Resistenzmutationen empfehlen die DGP- und Onkopedia-Leitlinien beim Auftreten einer akquirierten EGFR- oder ALK-TKI-Resistenz eine Rebiopsie (oder *Liquid Biopsy*) und molekulare Diagnostik zur Bestimmung des Resistenzmechanismus [Leitlinienprogramm Onkologie 2018, Onkopedia 2021].

6 FAZIT

Lungenkrebs ist weltweit mit einer hohen Inzidenz und Mortalität verbunden und stellt damit eine große medizinische Herausforderung unserer Zeit dar. Das NSCLC macht mit ca. 80 % den größten Anteil der Lungenkrebsfälle aus [Kraywinkel und Schönfeld 2018] und wird häufig erst im Stadium IV diagnostiziert. Inzwischen wurden zahlreiche onkogene Treiber beim NSCLC identifiziert und eine Reihe zielgerichteter Therapien entwickelt. Die derzeit therapielevanten molekularen Treiber sind *EGFR*-Mutationen, *ALK*-Translokationen, *ROS1*-Translokationen, *BRAF*^{V600E}-Mutationen, *NTRK*-Translokationen und *RET*-Translokationen sowie seit kurzem auch *KRAS*^{G12C}-Mutationen und *MET*ex14-Skiping. Die zugelassenen TKI können das PFS und OS von Patient*innen mit NSCLC im Stadium IV verlängern und die DGP empfiehlt, bei Patient*innen mit onkogenen Treibern das verfügbare Repertoire passender TKI auszuschöpfen. Dies setzt eine frühzeitige und breite

molekulare Testung voraus. Während hierzu aktuell in den meisten Fällen eine Gewebebiopsie analysiert wird, ist davon auszugehen, dass zukünftig auch die *Liquid Biopsy* an Bedeutung gewinnt. FISH, PCR und NGS sind molekularbiologische Verfahren, die zum Mutationsnachweis zur Verfügung stehen. Studien zeigten, dass mithilfe des NGS mehr Mutationen entdeckt werden und somit mehr Patient*innen von zielgerichteten Therapien profitieren. Dies hat zum Teil auch Eingang in die aktuellen Leitlinien der internationalen Fachgesellschaften gefunden. Dennoch haben Untersuchungen gezeigt, dass molekulare Testungen beim NSCLC heute noch unzureichend sind. Testungen zu verstehen, diese rechtzeitig und korrekt anzufordern und die Therapieentscheidung konsequent erst auf Basis der Mutationsanalyse zu treffen, ist Voraussetzung dafür, den Patient*innen die bestmögliche Versorgung bieten zu können.

7 LITERATUR

- Aggarwal C**, Thompson JC, Black TA, et al. Clinical implications of plasma-based genotyping with the delivery of personalized therapy in metastatic non-small cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2019;5(2):173 – 80
- Asao T**, Takahashi F, Takahashi K. Resistance to molecularly targeted therapy in non-small-cell lung cancer. *Respir Investig* 2019;57(1):20 – 6
- Auliac JB**, Bayle S, Do P, et al. Efficacy of dabrafenib plus trametinib combination in patients with BRAF V600E-mutant NSCLC in real-world setting: GFPC 01-2019. *Cancers (Basel)* 2020;12(12):3608
- Bauer J**, Wiesner T. Molekulare Diagnostik und Techniken. 2021. https://www.springermedizin.de/emedpedia/histopathologie-der-haut/molekulare-diagnostik-und-techniken?epediaDoi=10.1007%2F978-3-662-44367-5_4, abgerufen am: 03.06.2021
- Baumli JM**. Underdiagnosis of EGFR exon 20 insertion mutation variants: estimates from NGS-based real-world datasets WCLC 2020, Singapur, 28-31 Januar 2021
- Bergethon K**, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. *J Clin Oncol* 2012;30(8):863 – 70
- Burns TF**, Borghaei H, Ramalingam SS, et al. Targeting KRAS-mutant non-small-cell lung cancer: one mutation at a time, with a focus on KRAS G12C mutations. *J Clin Oncol* 2020;38(35):4208 – 18
- Chen D**, Zhang LQ, Huang JF, et al. BRAF mutations in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(6):e101354
- Cheng L**, Alexander RE, Maclennan GT, et al. Molecular pathology of lung cancer: key to personalized medicine. *Mod Pathol* 2012;25(3):347 – 69
- Drilon A**, Oxnard GR, Tan DSW, et al. Efficacy of selpercatinib in RET fusion-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2020;383(9):813 – 24
- Elliott J**, Bai Z, Hsieh SC, et al. ALK inhibitors for non-small cell lung cancer: a systematic review and network meta-analysis. *PLoS One* 2020;15(2):e0229179
- Farago AF**, Azzoli CG. Beyond ALK and ROS1: RET, NTRK, EGFR and BRAF gene rearrangements in non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res* 2017;6(5):550 – 9
- Frampton GM**, Ali SM, Rosenzweig M, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer Discov* 2015;5(8):850 – 9
- Griesinger F**, Felip E, Smit EF, et al. Tepotinib in patients with MET exon 14 skipping NSCLC: efficacy and safety by line of therapy (Poster 24P). European Lung Cancer Virtual Congress, 30.03.-02.04.2022, 2022
- Gondos A**, Paz-Ares LG, Saldana D, et al. Genomic testing among patients (pts) with newly diagnosed advanced non-small cell lung cancer (aNSCLC) in the United States: a contemporary clinical practice patterns study. *J Clin Oncol* 2020;38(15_suppl):9592
- Hsu WH**, Yang JC, Mok TS, et al. Overview of current systemic management of EGFR-mutant NSCLC. *Ann Oncol* 2018;29(suppl_1):i3 – i9
- Kalemkerian GP**, Narula N, Kennedy EB, et al. Molecular testing guideline for the selection of patients with lung cancer for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2018;36(9):911 – 9
- Kraywinkel K**, Schönfeld I. Epidemiologie des nichtkleinzelligen Lungenkarzinoms in Deutschland. *Der Onkologe* 2018;24(12):946 – 51
- Leitlinienprogramm Onkologie**. S3-Leitlinie Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 1.0, AWMF-Registernummer: 020/0070L. 2018. <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Lungenkarzinom.98.0.html>, abgerufen am: 17.12.2021
- Liang H**, Wang M. MET oncogene in non-small cell lung cancer: mechanism of MET dysregulation and agents targeting the HGF/c-Met axis. *Oncotargets Ther* 2020;13:2491 – 510
- Lin JJ**, Ritterhouse LL, Ali SM, et al. ROS1 fusions rarely overlap with other oncogenic drivers in non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2017;12(5):872 – 7
- Marchetti A**, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol* 2011;29(26):3574 – 9
- Mazieres J**, Drilon A, Lusque A, et al. Immune checkpoint inhibitors for patients with advanced lung cancer and oncogenic driver alterations: results from the IMMUNOTARGET registry. *Ann Oncol* 2019;30(8):1321 – 8
- Mok TS**, Cheng Y, Zhou X, et al. Improvement in overall survival in a randomized study that compared dacomitinib with gefitinib in patients with advanced non-small-cell lung cancer and EGFR-activating mutations. *J Clin Oncol* 2018;36(22):2244-50
- Mok TS**, Wu YL, Ahn MJ, et al. Osimertinib or platinum-pemetrexed in EGFR T790M-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2017;376(7):629 – 40
- Muzey D**, Evans EA, Lieber C. Understanding the basics of NGS: from mechanism to variant calling. *Curr Genet Med Rep* 2015;3(4):158 – 65
- Nowossadeck E**, Haberland J, Kraywinkel K. Die künftige Entwicklung der Erkrankungszahlen von Darmkrebs und Lungenkrebs. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 2014;57(1):103 – 10
- Onkopedia**. Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom. 2021. <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellig-nsclc/@@guideline/html/index.html>, abgerufen am: 03.09.2021
- Ostermann H**, Ukena D. Aktuelle Ergebnisse und Entwicklung des Testverhaltens beim NSCLC seit 2012. *Journal Onkologie* 07/08 2020
- Papadimitrakopoulou VA**, Wu YL, Han JY, et al. Analysis of resistance mechanisms to osimertinib in patients with EGFR T790M advanced NSCLC from the AURA3 study. *Ann Oncol* 2018;29:viii741
- Pennell NA**, Zhou J, Hobbs B. A model comparing the value of broad next-generation sequencing (NGS)-based testing to single gene testing (SGT) in patients with nonsquamous non-small cell lung cancer (NSCLC) in the United States. *J Clin Oncol* 2020;38(15_suppl):9529
- Planchard D**, Besse B, Groen H, et al. Updated overall survival (OS) and genomic analysis from a single-arm phase II study of dabrafenib (D) + trametinib (T) in patients (pts) with BRAF V600E mutant (Mut) metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2020a;38(15_suppl):9593
- Planchard D**, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. 2020b. <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer>, abgerufen am: 05.05.2021
- Ramalingam SS**, Cheng Y, Zhou C, et al. Mechanisms of acquired resistance to first-line osimertinib: preliminary data from the phase III FLAURA study. *Ann Oncol* 2018;29:viii740
- Ramalingam SS**, Vansteenkiste J, Planchard D, et al. Overall survival with osimertinib in untreated, EGFR-mutated advanced NSCLC. *N Engl J Med* 2019;382(1):41 – 50
- Rosell R**, Carcereny E, Gervais R, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(3):239 – 46
- Rossi G**, Jocolle G, Conti A, et al. Detection of ROS1 rearrangement in non-small cell lung cancer: current and future perspectives. *Lung Cancer (Auckl)* 2017;8:45 – 55

- Rote Liste.** 2022. www.rote-liste.de, abgerufen am: 18.05.2022
- Sacher** AG, Dahlberg SE, Heng J, et al. Association between younger age and targetable genomic alterations and prognosis in non-small-cell lung cancer. *JAMA Oncol* 2016;2(3):313 – 20
- Salgia** R, Sattler M, Scheele J, et al. The promise of selective MET inhibitors in non-small cell lung cancer with MET exon 14 skipping. *Cancer Treat Rev* 2020;87:102022
- Schrock** AB, Frampton GM, Suh J, et al. Characterization of 298 patients with lung cancer harboring MET exon 14 skipping alterations. *J Thorac Oncol* 2016;11(9):1493 – 502
- Schuette** W, Schirmacher P, Eberhardt WE, et al. EGFR mutation status and first-line treatment in patients with stage III/IV non-small cell lung cancer in Germany: an observational study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24(8):1254 – 61
- Shaw** AT, Riely GJ, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): updated results, including overall survival, from PROFILE 1001. *Ann Oncol* 2019;30(7):1121 – 6
- Shaw** AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2011;17(8):2081 – 6
- Skoulidis** F, Li BT, Dy GK, et al. Sotorasib for lung cancers with KRAS p.G12C mutation. *N Engl J Med* 2021;384(25):2371 – 81
- Solomon** BJ, Mok T, Kim DW, et al. First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371(23):2167 – 77
- Soria** J-C, Ohe Y, Vansteenkiste J, et al. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2017;378(2):113 – 25
- Stenzinger** A, van Tilburg CM, Tabatabai G, et al. Diagnostik und Therapie von Tumoren mit NTRK-Genfusionen. *Der Pathologe* 2021;42(1):103 – 15
- Takahashi** T, Sonobe M, Kobayashi M, et al. Clinicopathologic features of non-small-cell lung cancer with EML4-ALK fusion gene. *Ann Surg Oncol* 2010;17(3):889 – 97
- Thai** AA, Solomon BJ, Sequist LV, et al. Lung cancer. *Lancet* 2021; 398(10299):535 – 54
- Vaishnavi** A, Capelletti M, Le AT, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med* 2013;19(11):1469 – 72
- Vuong** HG, Ho ATN, Altibi AMA, et al. Clinicopathological implications of MET exon 14 mutations in non-small cell lung cancer - a systematic review and meta-analysis. *Lung Cancer* 2018;123:76 – 82
- Wang** R, Hu H, Pan Y, et al. RET fusions define a unique molecular and clinicopathologic subtype of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012;30(35):4352 – 9
- WHO.** Cancer today - fact sheets lung. 2020. <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/15-Lung-fact-sheet.pdf>, abgerufen am: 21.01.2021
- Wolf** J, Garon EB, Groen HJM, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated, advanced NSCLC: updated results from the GEOMETRY mono-1 study. *J Clin Oncol* 2021;39(15_suppl):9020
- Wolf** J, Seto T, Han J-Y, et al. Capmatinib in MET exon 14-mutated or MET-amplified non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2020;383(10):944 – 57
- Wu** YL, Cheng Y, Zhou X, et al. Dacomitinib versus gefitinib as first-line treatment for patients with EGFR-mutation-positive non-small-cell lung cancer (ARCHER 1050): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(11):1454 – 66
- Zentrum für Krebsregisterdaten.** 2017. https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Krebsarten/Lungenkrebs/lungenkrebs_node.html, abgerufen am: 12.01.2021
- Zhang** K, Chen H, Wang Y, et al. Clinical characteristics and molecular patterns of RET-rearranged lung cancer in chinese patients. *Oncol Res* 2019a;27(5):575 – 82
- Zhang** T, Wan B, Zhao Y, et al. Treatment of uncommon EGFR mutations in non-small cell lung cancer: new evidence and treatment. *Transl Lung Cancer Res* 2019b;8(3):302 – 16
- Zhang** Z, Yang S, Wang Q. Impact of MET alterations on targeted therapy with EGFR-tyrosine kinase inhibitors for EGFR-mutant lung cancer. *Biomarker Research* 2019c;7(1):27
- Zhao** J, Xia Y. Targeting HER2 alterations in non-small-cell lung cancer: a comprehensive review. *JCO Precision Oncology* 2020; 10.1200/P0.19.00333(4):411 – 25



Die Lernkontrollfragen lassen sich online unter <https://cmemedipoint.de/onkologie/nsclc-molekulare-testung/>

LERNKONTROLLFRAGEN

Bitte kreuzen Sie jeweils nur **eine** Antwort an.

1. Welche Aussage zum Lungenkrebs ist **richtig**?

- A) Die Inzidenzraten sinken bei Frauen und steigen bei Männern.
- B) Rauchen ist der Hauptrisikofaktor.
- C) Das Plattenepithelkarzinom ist bei Männern und Frauen der häufigste histologische Subtyp des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms (NSCLC).
- D) Die Diagnose des NSCLC erfolgt meist in frühen Stadien.
- E) Die Strahlentherapie ist beim NSCLC in den letzten Jahren verstärkt in den Fokus von Klinik und Forschung gerückt.

2. Welche molekularen Treiber treten beim metastasierten NSCLC vom Typ Adenokarzinom **am häufigsten** auf?

- A) *EGFR*- und *KRAS*-Mutation
- B) *BRAF*- und *NRAS*-Mutation
- C) *MET*ex14-Skipping und *MET*-Amplifikation
- D) *ALK*- und *ROS1*-Translokation
- E) *RET*- und *NTRK*-Translokation

3. Welche Aussage zu einigen therapierelevanten molekularen Treibern ist **falsch**?

- A) *EGFR*-Mutationen, die eine Sensitivität gegenüber Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) aufweisen, sind überwiegend in Exon 19 und 21 lokalisiert.
- B) Die Translokation des *ALK*-Gens resultiert meist in einem EML4-*ALK*-Fusionsprotein.
- C) Aufgrund der Sequenzhomologie zu *ALK* resultiert auch die *ROS1*-Translokation in einem EML4-*ROS1*-Fusionsprotein.
- D) Etwa 60 % der *BRAF*-Mutationen sind *BRAF*^{V600E}-Mutationen.
- E) Bei der *MET*ex14-Skipping-Mutation wird das resultierende Protein nicht abgebaut.

4. Welches Merkmal ist **nicht** eng mit dem Vorhandensein molekularer Treiber verbunden?

- A) Nichtraucher
- B) Adenokarzinom
- C) Weibliches Geschlecht
- D) Männliches Geschlecht
- E) Jüngerer Alter

5. Welche Aussage zu Methoden der molekularen Testung ist **falsch**?

- A) Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) eignet sich besonders zum Nachweis von Translokationen und Amplifikationen.
- B) Bei der FISH wird die genetische Aberration direkt einer Zelle zugeordnet, sodass die Heterogenität des Tumors ersichtlich wird.
- C) Die Polymerasekettenreaktion (PCR) mit anschließender Gel- oder Kapillarelektrophorese eignet sich für den Nachweis von Punktmutationen.
- D) *MET*ex14-Skipping kann mithilfe der RT-qPCR (reversen Transkription und quantitativen PCR) nachgewiesen werden.
- E) Mithilfe der Sanger-Sequenzierung kann eine Vielzahl an genetischen Veränderungen im amplifizierten Abschnitt detektiert werden.

6. Welche Aussage zum Next-Generation Sequencing (NGS) ist richtig?

- A)** Aufgrund der Parallelsequenzierung können viele Zielgene in einer Probe gleichzeitig analysiert werden, zudem lassen sich mehrere Tumorproben gleichzeitig untersuchen (*High-Throughput*).
- B)** mRNA eignet sich nicht als Ausgangsmaterial für das NGS.
- C)** Der vollständige Ersatz von Einzelgentestungen durch NGS würde laut einem Modell nicht zu einem Gewinn von Lebensjahren führen.
- D)** PCR-Tests hätten laut einer Studie mehr Mutationsvarianten der *EGFR*-Exon-20-Insertion (Exon20ins) identifiziert als NGS.
- E)** PCR-Tests hätten laut der Studie mehr Patient*innen mit Exon20ins identifiziert als NGS.

7. Welche Aussage zum aktuellen Stand der molekularen Testung ist falsch?

- A)** Die *Liquid Biopsy* wird laut aktuellen Leitlinien nur bei bestimmten Fällen einer erworbenen *EGFR*-TKI-Resistenz empfohlen.
- B)** In Deutschland liegt die molekulare Testrate beim NSCLC bei 100 %.
- C)** Bei der molekularen Diagnostik werden derzeit nicht immer alle relevanten Mutationen angefordert.
- D)** Die Teststraten unterscheiden sich zwischen den Versorgungseinrichtungen.
- E)** Bei einem Teil der Patient*innen wird mit dem Beginn der Erstlinientherapie nicht bis zum Erhalt des Testergebnisses gewartet.

8. Was zählt nicht zu den Empfehlungen der aktuellen Onkopedia-Leitlinie?

- A)** Alle Patient*innen mit NSCLC-Stadium IV sollen getestet werden.
- B)** Alle Patient*innen mit NSCLC-Stadium III sollen getestet werden.
- C)** Es soll u. a. auf die molekularen Treiber *EGFR*, *ALK* und *ROS1* getestet werden.
- D)** Es soll u. a. auf die molekularen Treiber *BRAF*^{V600E}, *NTRK* und *RET* getestet werden.
- E)** Es sollte sich um qualitätsgesicherte Diagnostik handeln.

9. Welche Aussage zu zielgerichteten Therapien ist richtig?

- A)** Osimertinib ist nur als Zweitlinientherapie bei Vorliegen einer *EGFR*^{T790M}-Resistenzmutation wirksam.
- B)** Nur *ALK*-Inhibitoren der zweiten Generation sind mit einem längeren progressionsfreien Überleben gegenüber Chemotherapie verbunden.
- C)** Der *ALK*-Inhibitor Alectinib ist aufgrund der Sequenzhomologie von *ROS1* und *ALK* zur Erstlinientherapie des NSCLC mit *ROS1*-Translokation zugelassen.
- D)** *BRAF*^{V600E}-positive NSCLC werden wahlweise mit Dabrafenib oder Trametinib behandelt.
- E)** Es sind zwei zielgerichtete Therapien zur Zweitlinienbehandlung des NSCLC im Stadium IV mit *MET*ex14-Skipping zugelassen.

10. Welche Aussage zu Resistenzen gegen zielgerichtete Therapien ist falsch?

- A)** Fast alle Patient*innen, die eine zielgerichtete Therapie erhalten, sind irgendwann von Resistenzen betroffen.
- B)** Sekundäre Punktmutationen können die Bindung des Inhibitors verhindern.
- C)** Resistenzen können durch die Aktivierung alternativer Signalwege verursacht werden.
- D)** Eine *NTRK*-Translokation ist für 15 – 19 % der Resistenzen gegen *EGFR*-TKI der dritten Generation verantwortlich.
- E)** Resistenzen können durch die Aktivierung des Signalwegs unterhalb vom Angriffspunkt des Inhibitors entstehen.

IMPRESSUM

AUTOR

Prof. Dr. med. Martin Reck

LungenClinic
Großhansdorf

INTERESSENKONFLIKTE DES AUTORS

Honorare für Vorträge und Beratung von: Amgen, AstraZeneca, BeiGene, Boehringer-Ingelheim, BMS, Lilly, Merck, Mirati, MSD, Novartis, Pfizer, Roche, Sanofi

REDAKTION & LAYOUT

Dr. Martina Reitz & Cristina Garrido
KW MEDIPOINT, Bonn

Die Zertifizierung dieser Fortbildung durch die Bayerische Landesärztekammer wurde von CME MEDIPOINT, Neusäß organisiert.

Diese Fortbildung wurde von Novartis Pharma GmbH mit insgesamt 13.186,- € finanziert.
Die Ausarbeitung der Inhalte der Fortbildung wird dadurch nicht beeinflusst.

BEGUTACHTUNG

Diese Fortbildung wurde von zwei unabhängigen Gutachtern auf wissenschaftliche Aktualität, inhaltliche Richtigkeit und Produktneutralität geprüft. Jeder Gutachter unterzeichnet eine Konformitätserklärung.

Diese Fortbildung ist auf www.cmemedipoint.de online verfügbar.