

Literatur des Monats Oktober 2013

Entwicklung und Validierung eines klinischen Krebsgenomtests, basierend auf next generation DNA sequencing

Autor: G. M. Frampton, Nature Biotechnology, published online 20.10.2013

Hintergrund: Durch die fortschreitenden Erfolge der Genforschung werden immer mehr relevante Krebsgene identifiziert. Viele dieser Gene stellen potentielle Ziele für genspezifische (zielgerichtete Therapie) Medikamente dar. Eine standardisierte Methode zur Identifizierung solcher potentiell therapierelevanter genetischer Veränderungen, gerade bei routinemäßig in Paraffin eingebettetem Gewebe, fehlt bisher.

Studiendesign und Durchführung: Mit Hilfe von next generation DNA sequencing wurden genetische Veränderungen von 287 krebspezifischen Genen an routinemäßig in Formalin eingebettetem Krebsgewebe verschiedenster Tumorentitäten analysiert. Die Ergebnisse wurden mit einem unabhängigen Set von 2.221 ebenfalls in Paraffin eingebetteten Tumoren aus der Routinediagnostik validiert.

Ergebnisse: Die Sensitivität der Diagnose von spezifischen Genveränderungen mittels Sequenzierung lag zwischen 95 und 99 Prozent für die verschiedenen genetischen Mechanismen, wie Mutation oder strukturelle Variationen. Die Ergebnisse wurden weiterhin mit unabhängigen Testmethoden validiert. Die Methode hatte eine sehr hohe Spezifität mit positiv prädiktiven Vorhersagewahrscheinlichkeiten von über 99 Prozent.

Die Anwendung des Tests an 2.221 aus der Routine heraus gesammelten Tumoren zeigte potentiell therapierbare Genveränderungen in 76 Prozent aller untersuchten Tumoren.

Schlussfolgerung: Die Anwendung von next generation DNA sequencing, bei in Paraffin eingebettetem Routinegewebe, zeigt eine deutlich höhere Detektionsrate von klinisch und therapeutisch relevanten genetischen Veränderungen im Vergleich zu herkömmlichen Methoden. Dies ist insbesondere wichtig bei Biopsiegewebe, wie zum Beispiel Biopsien des Prostatakarzinoms, welche in der Regel nur sehr wenig Tumorgewebe zur Untersuchung enthalten. Weiterhin ist die Methode in der Lage, auch seltene genetische Veränderungen zu detektieren, welche mit herkömmlichen Tests nicht darstellbar sind. Die dargestellten Daten lassen hoffen, dass mit einer breiteren Anwendung dieser Methode mehr Patienten in zielgerichteten Therapie-Studien eingeschlossen werden können und das therapeutische Spektrum gerade von fortgeschrittenen Krebserkrankungen mit der Identifizierung therapeutisch relevanter Genläsionen deutlich erweitert werden kann. Wir haben diese Publikation ausgewählt, weil sie aus unserer Sicht sehr schön die zurzeit möglichen Perspektiven einer individuellen genspezifischen Therapie zusammenfasst.

Die systemische Therapie von Krebserkrankungen unterliegt zurzeit einem fundamentalen Wandel, weg von dem Paradigma, dass Krebserkrankungen lediglich nach dem histopathologischen Bild mit einer Standardtherapie (Gießkannenprinzip) therapiert werden, hin zu dem individuellen Einsatz von molekularen und zielgerichteten Medikamenten.

Diese spezifischen Medikamente können nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip individuelle Veränderungen in der Zelle korrigieren, die durch einen bestimmten genetischen Schaden verursacht wurden. Ein gutes Beispiel hierfür ist der Einsatz des Medikaments Herceptin bei Brustkrebspatientinnen, die eine sogenannte HER2-Gen-Amplifikation aufweisen. Hierbei ist das Gen für die Produktion des an der Zelloberfläche sitzenden Wachstumsfaktorrezeptors HER2, nicht – wie in der gesunden Zelle – nur zweimal vorhanden, sondern kann in bis zu mehreren tausend Kopien in der DNA vorliegen. Bei einem normalen Ablesen der DNA wird dieses Protein nicht zweimal produziert, wie in der gesunden Zelle, sondern bis zu mehrere tausend Mal und es kommt so zu einem vermehrten Einbau dieses Rezeptors in die Zellmembran. Dieses wiederum führt zu einer erhöhten Aktivität dieses Wachstumsrezeptor-pathways. Bei Patientinnen, die eine nachgewiesene Vermehrung dieses Rezeptorgens aufweisen, kann mittels eines HER2-Rezeptorblockers (Herceptin) diese Überaktivität des HER2-pathways gebremst und hiermit große therapeutische Effekte erzielt werden. Aufgrund der spezifischen Wirkung des Medikaments, speziell auf dem HER2-Rezeptor, ist die Wirksamkeit jedoch nur auf Patienten mit dieser bestimmten genetischen Veränderung limitiert. Ein weiteres aktuelles Beispiel ist der Einsatz von Vemurafenib in BRAF mutierten Melanomen, welche hier eine dramatische Reduktion von Metastasen gezeigt haben. Da es sich um genspezifische Medikamente und nicht um Tumorentität spezifischer Medikamente handelt, ist anzunehmen, dass diese Medikamente in verschiedenen Tumorarten wirksam sind, welche die spezifische Genveränderung aufweisen.

Mittlerweile stehen ungefähr 200 dieser genspezifischen Medikamente in klinischen Studien oder auch schon als zugelassene Medikamente zur Verfügung. Diese affektieren ungefähr 100 verschiedene genomische Veränderungen in multiplen Krebspathways.

Ein spezifisches Merkmal dieser Medikamente ist, dass sie nur bei Patienten wirksam sind, welche auch die spezifischen Genveränderungen aufweisen. Eine Testung aller in Frage kommenden genetischen Veränderungen mittels Standardtestverfahren, wie Immunhistochemie oder Gensonden, ist aufgrund der limitierten Gewebemenge und auch der fehlenden Reproduzierbarkeit vieler dieser Methoden und nicht zuletzt auch aufgrund der hohen Kosten nicht möglich. Hinzu kommt, dass ein Krebspathway, der einer Therapie zugänglich ist, an multiplen Stellen verändert sein kann. Die herkömmlichen Testverfahren zur Identifizierung von therapierbaren genetischen Veränderungen untersuchen meist jedoch nur ein oder zwei der häufig veränderten Gene dieses pathways, welcher jedoch bis zu mehrere hundert Gene enthalten kann.

Der Vorteil der Gesamtgenomsequenzierung ist, dass jede einzelne Base eines Genoms analysiert wird und hiermit natürlich auch jedes Gen an jeder Stelle auf spezifische Veränderungen untersucht werden kann. Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass durch diesen Einsatz die Detektionsrate von potentiell therapierbaren genetischen Veränderungen im Vergleich zu den herkömmlichen Methoden verdreifacht werden konnte. Eine sehr zuversichtliche Zahl zeigt, dass bei 76 Prozent aller untersuchten Tumoren zumindest eine genetische Veränderung gefunden wurde, welche einer potentiellen Therapie zugänglich wäre. Die hohe Sensitivität und Spezifität des Sequenzierens auch an Paraffingewebe lässt sehr hoffen, dass diese diagnostische Methode auch bald Einzug in die Routinediagnostik von Krebserkrankungen findet.

Ein Grund, warum wir diese Publikation als Publikation des Monats ausgewählt haben ist, dass eine solche Diagnostik natürlich beim Prostatakarzinom noch klinisch relevanter sein wird, als bei anderen soliden Tumoren, da wir gerade beim Prostatakarzinom vor Beginn einer Therapie relevante Informationen über den Tumor gewinnen wollen, um die Notwendigkeit einer invasiven Therapie, wie Operation oder Bestrahlung, abzuschätzen oder den Patienten in eine Aktive Überwa-

chung zu integrieren. Das Prostatakarzinom ist mit wenigen Ausnahmen der einzige Tumor, der routinemäßig vor jeglicher Therapie biopsiert wird, sodass von jedem Prostatakarzinom vor Therapiebeginn mindestens kleine Gewebemengen für eine genetische Untersuchung zur Verfügung stehen.

Die weiteren Schritte werden nun sein, genetische Veränderungen zu identifizieren, die für die Langzeitprognose eines Prostatakarzinoms ausschlaggebend sind, um noch mehr Patienten vor einer Therapieentscheidung in klinisch indolente und klinisch relevante Tumoren charakterisieren zu können. Wir haben Hoffnung, dass die zurzeit noch bestehende Übertherapie des Prostatakarzinoms deutlich reduziert werden kann.

Wir setzen große Hoffnung darin, auch beim Prostatakarzinom von den dramatischen Änderungen in der Onkologie hin zur individuellen Therapie profitieren zu können. Noch immer ist das Prostatakarzinom einer der wenigen Tumore, der im metastasierten Stadium nach dem Gießkannenprinzip mit Hormonmanipulation oder Standard Chemotherapie therapiert wird. Andere Tumorarten, wie zum Beispiel das Bronchialkarzinom, werden bei mittlerweile mehr als 50 Prozent der Patienten anhand von genetischen Veränderungen therapiert. Beim Mammakarzinom ist zum Beispiel der HER2-Rezeptorstatus ein Standard Diagnostikum vor jeglicher Therapie.

Die Martini-Klinik ist maßgeblich an diesen Entwicklungen beteiligt, indem wir in den beiden größten internationalen Krebsgenomstudien, dem International Cancer Genome Consortium (ICGC) und dem amerikanischen The Cancer Genome Atlas (TCGA), teilnehmen. Hier werden bis Ende 2016 insgesamt über 40.000 individuelle Tumore auf gesamtgenomischer Ebene untersucht. Metaanalysen aller analysierten Prostatakarzinome werden zum besseren Verständnis der Biologie dieses Tumors und zur Identifizierung von prognostischen, diagnostischen und therapeutischen genomischen Veränderungen beim Prostatakarzinom führen.

Erste Ergebnisse dieser Arbeiten haben bereits zur Entschlüsselung von genetischen Ursachen zur Frühentstehung des Prostatakarzinoms beigetragen (Weichenfeld et al., Cancer Cell 2013).