

## Nachweis der KRAS-Mutationen beim kolorektalen Karzinom

J.-P. Rey, P. Hutter, C. Girardet, Zentralinstitut der Walliser Spitäler, S. Anchisi, Departement Onkologie CHCVs, Sitten

Mit durchschnittlich 146 neu diagnostizierten Fällen pro Jahr im Wallis ist das kolorektale Karzinom einer der häufigsten Krebsarten. In den letzten zehn Jahren hat sich die Zahl der Überlebenden mit metastasierendem kolorektalen Karzinom praktisch verdoppelt [1]. Diese signifikante Verbesserung liegt hauptsächlich an der Entwicklung neuer Kombinationen von Standardchemotherapien, 5-Fluorouracil, Irinotecan und Oxaliplatin und auch an der Verwendung von neuen therapeutischen Wirkstoffen wie die monoklonalen EGFR-Antikörpern (EGFR = epidermal growth factor receptor) und VEGF-Antikörpern (VEGF = vascular endothelial growth factor). Die EGF-Rezeptor-Tyrosinkinase ist einer der vielversprechendsten Angriffspunkte gegen das kolorektale Karzinom. Die monoklonalen EGFR-Antikörper wie Cetuximab (Erbix<sup>®</sup>, MERCKSERONO<sup>™</sup>) und Panitumumab (Vectibix<sup>®</sup>, AMGEN<sup>™</sup>) sind derzeit die wichtigsten auf dem Markt befindlichen Moleküle für die EGFR-Inhibition [2,3]. Diese neuen, gezielten Therapien stellen einen riesigen Fortschritt in der Behandlung des kolorektalen Karzinoms dar, jedoch ist es aufgrund ihrer hohen Kosten und der Heterogenität des Ansprechens auf die Behandlung wichtig herauszufinden, welche Patienten voraussichtlich von der Behandlung profitieren werden.

### Die Rolle des KRAS-Gens

Das KRAS-Gen liegt auf dem kurzen Arm des Chromosoms 12 (12p11.22) und ist ein orthologes (ähnliches) Onkogen zum transformierenden Gen, das aus dem *Kirsten Rat Sarcoma virus* isoliert wurde. Es kodiert für ein 21KD-Protein, das sich auf der Innenseite der Plasmamembran befindet und eine GTPase-Aktivität besitzt. Dieses Protein ist ein wichtiger Bestandteil der Signaltransduktionskaskade und ist dem EGFR-Membranrezeptor nachgeschaltet (Abbildung 1).

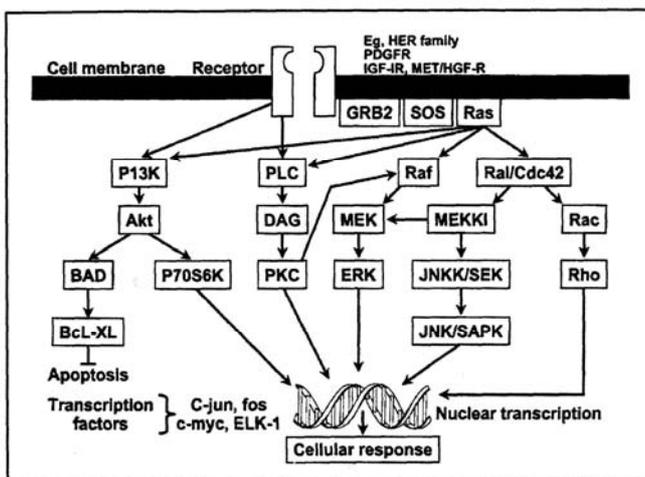


Abb. 1: Schematische Darstellung der von EGFR und KRAS kontrollierten Aktivierungswege

KRAS ist eines der ersten Onkogene, die entdeckt wurden. Mutationen dieses Gens wurden in einer Vielzahl von humanen Krebsarten entdeckt, insbesondere der Lunge, des Kolons, Pankreas und der Schilddrüse [4]. KRAS erlangt in ca. 30% der kolorektalen Karzinome aktivierende Mutationen. Diese somatischen Mutationen ziehen eine konstitutive Aktivierung des EGFR-Wegs (unabhängig von der Fixierung des Liganden an seinen Rezeptor) unterhalb des Rezeptors nach sich und lassen sich daher nicht durch Anti-EGFR-Wirkstoffe modifizieren. Die häufigsten Mutationen werden in den Codonen 12 (~ 82% der KRAS-Mutationen) und 13 (~17%) des Exons 2 des KRAS-Gens

entdeckt. Es wurden auch Mutationen in den Codonen 61 und 146 berichtet, diese stellen jedoch nur einen geringen Anteil (1-4%) der KRAS-Mutationen dar und ihre klinische Relevanz für das Kolonkarzinom ist weiterhin unklar [3].

### Gezielte Behandlungsstrategie und KRAS-Gen

In zahlreichen neueren Studien wurde gezeigt, dass das Vorliegen einer Mutation des KRAS-Gens mit einem ausbleibenden klinischen Nutzen der EGFR-Antikörpertherapie assoziiert ist [2]. Das Vorliegen oder Nichtvorliegen einer Mutation des KRAS-Gens ist also ein wichtiges Kriterium für die Auswahl einer adäquaten Therapie geworden und es ist derzeit erwiesen, dass nur Patienten, die einen Tumor mit einem KRAS-Gen vom nicht mutierten Typ haben, von einer EGFR-Antikörpertherapie profitieren können. In diesem Fall erreichen die Raten eines objektiven Ansprechens 60% in der Erstlinientherapie, wenn die EGFR-Antikörper mit 5FU Irinotecan oder 5FU Oxaliplatin kombiniert werden, und das progressionsfreie Überleben ist signifikant besser.

### Nachweis von KRAS-Mutationen

KRAS-Mutationen treten früh in der kolorektalen Karzinogenese auf und bleiben im Verlauf der Tumorentwicklung unverändert [4]: daher lassen sie sich sowohl im Primärtumor als auch in den Metastasen auffinden.

Die Fixierung der Gewebe in Formalin, das üblicherweise in der Pathologie verwendet wird, erlaubt eine gute Konservierung der DNA. Zunächst wählt der Pathologe das Tumorgewebe, das für die Molekularanalyse am geeignetsten ist. Ein Gewebe, das über 70% Tumorzellen enthält, wird als optimal für den Nachweis von KRAS-Mutationen angesehen [5]. Nach der Extraktion von DNA aus dem Tumor wird die Zielregion des Exons 2 des KRAS-Gens mittels PCR amplifiziert und anschliessend sequenziert. Nur die Mutationen im Bereich der Codone 12 und 13 werden für die Bestimmung des Status (mutiert oder nicht mutiert) des KRAS-Gens berücksichtigt. Die Nachweisgrenze eines mutierten Allels durch Sequenzierung liegt bei 25%-30%, daher ist es wichtig, Tumorregionen zu wählen, die möglichst viele neoplastische Zellen enthalten.

### Zukünftige Entwicklungen

Nur ein Teil der Patienten ohne KRAS-Mutation spricht auf EGFR-Antikörpertherapien an. Weitere Faktoren einer Therapieresistenz werden wahrscheinlich in naher Zukunft entdeckt. Klinisch relevante Mutationen wurden bereits in den EGFR-Signalwegen (z. B. BRAF und MEK1) nachgewiesen und verschiedene genetische Veränderungen im Rahmen der kolorektalen Karzinogenese sind Gegenstand von umfangreichen Untersuchungen. Damit lassen sich die Therapieentscheidungen in Zukunft besser modulieren, wodurch die Patienten von noch gezielteren Therapien profitieren können.

### Material und Tarif

Tarif Tarmed 37.0570 (Sequenzierung) - 571 Taxpunkte.

### Literatur

- [1] Garcia J. & al. KRAS mutational testing in the selection of patients for EGFR-targeted therapies. *Sem.Diagn.Pathol.* (2008) 25: 288-294
- [2] Karapetis C.S. & al. KRAS mutations and benefit from cetuximab in advanced colorectal cancer. *New England J. Med.* (2008) 359, 17: 1757-1765.
- [3] Amado, R.G. & al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* (2008) 26,10: 1626-1634.
- [4] Riely G. et Ladanyi M. KRAS mutations: An old oncogene becomes a new predictive biomarker. *J.Mol. Diagn.* (2008) 10,6: 493-495
- [5] van Krieken J.H.J.M. & al. KRAS mutation testing for predicting response to anti-EGFR therapy for colorectal carcinoma: proposal for an European quality assurance program. *Virchows Arch.* (2008) 453(5):417-431

### Ansprechpartner

Jean-Philippe Rey

jphilippe.rey@ichv.ch