

Neue Therapiekonzepte beim Bronchuskarzinom

Onkogene Mechanismen und molekulare Marker

Sacha Rothschild^{a, b}, Alfred Zippelius^a, Daniel C. Betticher^c, Lukas Bubendorf^d, Mathias Gugger^e, Spasenija Savic^d, Alex Soltermann^f, Igor Letovanec^g, Joachim Diebold^h, Marie-Thérèse Henziⁱ, Martin Brutsche^j, Miklos Pless^k, Oliver Gautschi^{b, i}


Quintessenz

- Ein besseres Verständnis der molekularen Grundlagen führte sowohl zur Entwicklung von neuen Medikamenten als auch zum gezielteren Einsatz von bestehenden Medikamenten bei Patienten mit fortgeschrittenem Bronchuskarzinom («individualisierte Therapie»).
- Aktivierende Mutationen im epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) (Häufigkeit ca. 10%) sind bedeutende Onkogene beim Adenokarzinom und prädiktiv für ein sehr gutes Ansprechen und eine anhaltende Remission unter Therapie mit EGFR-Tyrosinkinase-Inhibitoren.
- Eine Aktivierung der ALK-Tyrosinkinase durch Translokation (Häufigkeit ca. 5%) ist ein weiterer onkogener Mechanismus in der Entstehung von Adenokarzinomen. Inhibitoren der ALK-Tyrosinkinase führen zu hohen Ansprechraten bei diesen Patienten.
- Für weitere onkogene Mutationen oder Überexpression von Onkogenen (KRAS, HER2, BRAF, PI3K, FGFR u.a.) sind entsprechende Inhibitoren in Entwicklung und in klinischer Prüfung.
- Empfehlungen für die molekulare Diagnostik und die optimale Therapie bei Patienten mit Bronchuskarzinom sind im Wandel und müssen laufend an neue Erkenntnisse adaptiert werden.

Einführung

Trotz intensiver Forschung und Einführung neuer Medikamente bleibt das Bronchuskarzinom weltweit die am häufigsten zum Tode führende maligne Erkrankung. Historisch wurde «Lungenkrebs» als eine Krankheitsentität ausgehend vom Lungengewebe gesehen. In den 1970er Jahren wurden verschiedene histologische Subtypen unterschieden, die eine unterschiedliche Sensitivität gegenüber Chemotherapie zeigten [1]. Während die Inzidenz der kleinzelligen Bronchuskarzinome (*small cell lung cancer*, SCLC) über die Jahre deutlich rückläufig war und heute noch knapp 20% aller Bronchuskarzinome beträgt, nimmt die Inzidenz der nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinome (*non-small cell lung cancer*, NSCLC) nur langsam ab, so dass sich das Verhältnis zugunsten der NSCLC verschiebt (ca. 1:5).

Wie wir kürzlich dargelegt haben, spielt heute insbesondere bei inoperablen NSCLC die weitere histologische Unterteilung in die Untergruppen Adenokarzinom (ca. 60%), Plattenepithelkarzinom (ca. 30%) und grosszelliges Karzinom (ca. 10%) für die Therapie eine bedeutende Rolle [2]. Zudem können die Bronchuskarzinome basierend auf molekularen Veränderungen in

weitere therapierelevante Untergruppen eingeteilt werden (Abb. 1 ). Die Entdeckung von Mutationen in Genen, welche für Signalmoleküle kodieren, die für die Proliferation und das Überleben von Tumorzellen wichtig sind (sog. *oncogenic driver mutations*), hat das Verständnis der Erkrankung neu definiert. Die gezielte Hemmung dieser mutierten Proteine kann zum Proliferationsstopp bzw. Absterben der Tumorzellen führen und so therapeutisch nützlich sein. Das Wachstum vieler Tumoren ist von solchen Mutationen und Signalaktivierungen abhängig (*oncogene addiction*).

Unbehandelt beträgt die mittlere Überlebenszeit von Patienten mit metastasiertem NSCLC 4–6 Monate. Eine palliative Cisplatin-basierte Chemotherapie verlängert das mittlere Überleben auf 8–12 Monate. Die Einführung von zielgerichteten Therapien sowie die Patientenselektion basierend auf molekularen Eigenschaften der Tumoren hat die Durchschnittsprognose bei ausgewählten Patientenkollektiven auf über zwei Jahre angehoben. Die Patientenselektion im Hinblick auf eine bestimmte Therapie kann aufgrund klinischer, histologischer oder molekularer Faktoren erfolgen. Im Folgen-

^a Medizinische Onkologie, Universitätsspital Basel

^b Departement Klinische Forschung, Universität Bern

^c Medizinische Onkologie, Hôpital Cantonal, HFR Fribourg, Freiburg

^d Institut für Pathologie, Universitätsspital Basel

^e Institut für Pathologie, Inselspital Bern

^f Institut für Klinische Pathologie, UniversitätsSpital Zürich

^g Institut universitaire de pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne

^h Pathologisches Institut, Luzerner Kantonsspital, Luzern

ⁱ Medizinische Onkologie, Luzerner Kantonsspital, Luzern

^j Klinik für Pneumologie, Kantonsspital St. Gallen

^k Medizinische Onkologie und Tumorzentrum, Kantonsspital Winterthur

Potentielle Interessenkonflikte

SIR: keine

AZ: Beraterfunktion für Amgen, Boehringer-Ingelheim, Eli Lilly, Pfizer und Roche

DCB: Teilnahme an Advisory Boards von AstraZeneca und Roche

LB: Beraterfunktion für AstraZeneca, Boehringer-Ingelheim, Eli Lilly, Pfizer und Roche

MG: Teilnahme an Advisory Boards von Eli Lilly und AstraZeneca

SS: keine

AS: Teilnahme an Advisory Boards von Eli Lilly

IL: Teilnahme an Advisory Boards von Eli Lilly

JD: Beraterfunktion für AstraZeneca, Pfizer und Roche

MTH: keine

MB: keine

MP: Teilnahme an Advisory Boards von Roche, Eli Lilly, AstraZeneca und Sanofi Aventis

OG: Beraterfunktion für AstraZeneca, Eli Lilly, Pfizer und Roche



Sacha Rothschild

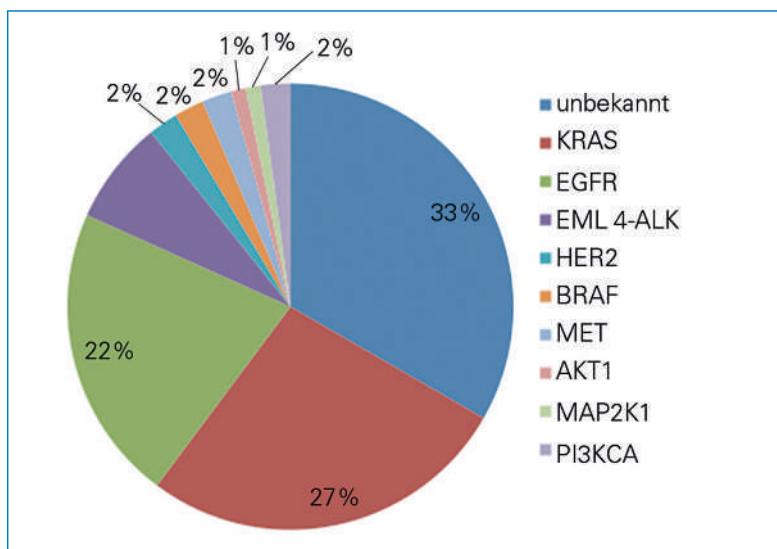


Abbildung 1
Onkogene Mutationen, aufgeführt nach ihrer Häufigkeit beim Adenokarzinom.
Adaptiert nach [54].

den möchten wir die wichtigsten onkogenen Mechanismen von nicht-kleinzelligen Bronchuskarzinomen diskutieren, mit Fokus auf diejenigen Onkogene, für welche gezielte therapeutische Optionen in Form von Antikörpern oder Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) zur Verfügung stehen.


Material für die molekularen Untersuchungen

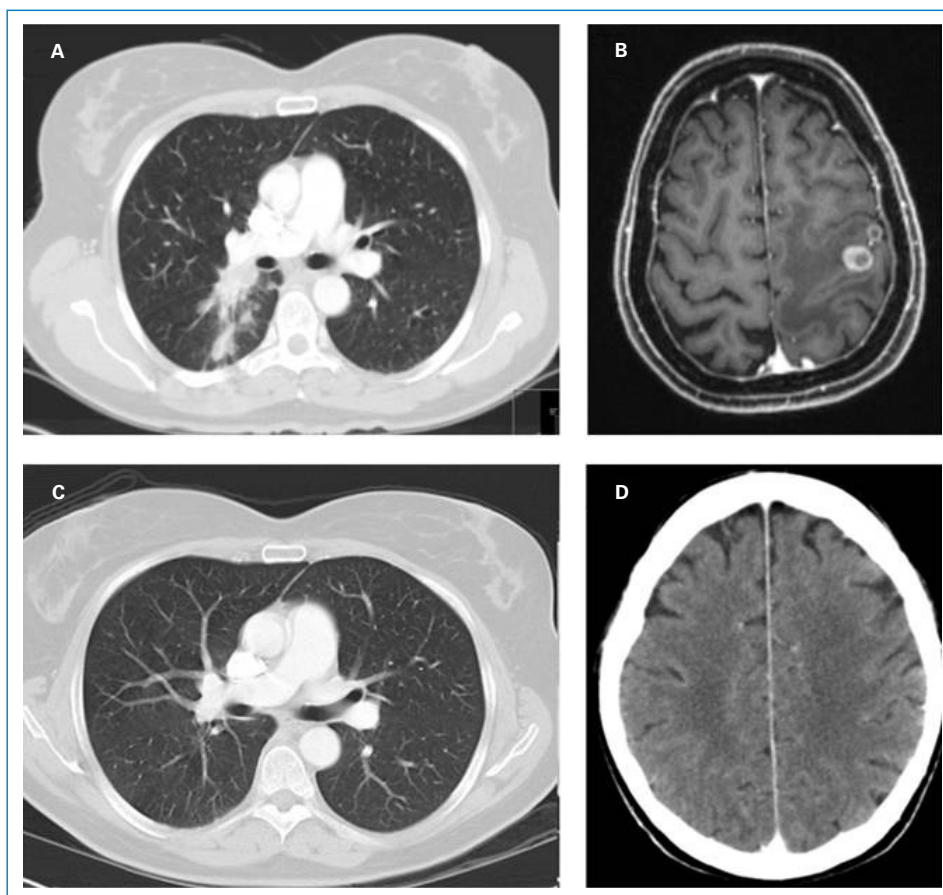
Die Notwendigkeit einer genaueren Typisierung beim NSCLC durch zusätzliche immunhistochemische und molekulargenetische Untersuchungen erhöht den Bedarf an zytologischem, aber vor allem histologischem Material. Bisher reichte häufig eine zytologische Untersuchung, selbst eine Sputumuntersuchung, um die Diagnose zu stellen und mit der Therapie zu beginnen. Derweil geht der Trend in der klinischen Pneumologie hin zu wenig belastenden, wenig invasiven diagnostischen Methoden. Das Mediastinum kann beispielsweise heute nicht-invasiv mittels endobronchialer Ultraschall-gezielter Feinnadelaspiration zytologisch und in Form des Zellblocks histologisch untersucht werden. Dieser Trend kontrastiert den vermehrten Bedarf an diagnostischem Material für die molekulare Typisierung beim NSCLC. Bei Bedarf muss Gewebe in Zukunft eventuell vermehrt in genügender Menge in einer Re-Bronchoskopie, Mediastinoskopie, transthorakalen CT-gesteuerten Biopsie oder einer thoraxchirurgischen Intervention gewonnen werden. Endoskopische Methoden zur Steigerung der Gewebemenge, wie die Kryo-Biopsie, müssen weiterentwickelt und untersucht werden. Die Pathologen sind gefordert, das vorhandene Tumormaterial möglichst effizient zu nutzen, so dass genug für nachfolgende molekulare Untersuchungen zur Verfügung steht. Dazu sollten zytologische und histologische Proben desselben Patienten simultan beurteilt werden, was die Präzision der Tumorklassifikation oft verbessert und unnötige immunhistochemische Untersuchungen verhindert. Extensive immunhistoche-

mische Untersuchungen für die genauere histologische Klassifikation (Adenokarzinom vs. Plattenepithelkarzinom) sind wegen des möglichen Materialverlusts zu vermeiden. Für eine verlässliche Aussage reichen zwei bis maximal vier immunhistochemische Marker aus, z.B. TTF1 und CK7 (positiv bei Adenokarzinomen) bzw. p63 und CK5/6 (positiv bei Plattenepithelkarzinomen).

Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor

Der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (*epidermal growth factor receptor*, EGFR) ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase. Mutationen des EGFR führen zu einer konstitutiven Aktivierung der Tyrosinkinase und zu einer unkontrollierten Aktivierung von dem Rezeptor nachgeschalteten Signalkaskaden. EGFR-mutierte Bronchuskarzinome wurden erstmals 2004 beschrieben und gehören heute zu der am besten studierten Untergruppe von NSCLC. Aktivierende EGFR-Mutationen finden sich in westeuropäischen Patientenpopulationen in ca. 8–15% aller NSCLC [3]. Die meisten EGFR-Mutationen treten in der Region der Tyrosinkinase auf. Mutationen im Exon 19 und 21 machen rund 80% aller EGFR-Mutationen aus. Nur wenige Mutationen sind ausserhalb von Exon 18–21 zu finden. Diese Region kodiert die bei Mutationen aktivierte Domäne der Tyrosinkinase. EGFR-Mutationen kommen gehäuft bei Adenokarzinomen und bei Nichtrauchern vor [4]. Es wird angenommen, dass sie bei Nichtrauchern eine wichtige Rolle bei der Karzinogenese spielen. Die auslösenden Faktoren sind aber noch nicht bekannt. Bei Adenokarzinomen im Stadium M1a oder M1b (TNM Version 7) sollte eine Mutationsanalyse des EGFR durchgeführt werden [5]. Die direkte Sequenzierung der Exone 18–21 ist die am häufigsten genutzte Technik. Diese Tumoren weisen eine bessere Prognose auf als solche mit einem unmutierten EGFR [6].

Die durchschnittliche Überlebenszeit von Patienten mit EGFR-mutierten Tumoren unter einer Therapie mit EGFR-TKI (Erlotinib, Gefitinib) beträgt mehr als zwei Jahre [3]. Bereits in frühen Studien mit EGFR-TKI wurden klinische Prädiktoren gefunden. In der BR.21-Studie zeigten Frauen, Nichtraucher, Patienten aus dem ostasiatischen Raum und Patienten mit Adenokarzinom höhere Ansprechraten im Vergleich zum Gesamtkollektiv [7]. Im Jahr 2006 berichtete die Spanische Lungenkrebsgruppe (*Grupo Español de Cáncer de Pulmón*, GECP), dass das Ansprechen von Erlotinib bei Patienten mit fortgeschrittenem und metastasiertem NSCLC und EGFR-Mutationen über 80% betrug [8]. Dies ist deutlich höher als die Ansprechrate, die in einer unselektionierten Patientengruppe mit einer Kombinationschemotherapie erreicht werden kann. In der Schweiz ist Gefitinib bei Patienten mit Adenokarzinom der Lunge und aktivierender EGFR-Mutation zugelassen, wenn eine platinhaltige Chemotherapie versagt hat oder nicht möglich ist. Erlotinib ist in der Zweitlinientherapie unabhängig vom Mutationsstatus zugelassen. Abbildung 2  zeigt ein Fallbeispiel einer Patientin mit EGFR-mutiertem grosszelligem Bronchuskarzinom unter Therapie mit Erlotinib.

**Abbildung 2**

Fallbeispiel: 55-jährige Nie-Raucherin mit metastasiertem grosszelligem Karzinom, fehlendem Ansprechen auf Chemotherapie und aktivierender EGFR-Mutation. Thorax und Hirn vor Therapiebeginn mit Erlotinib und Hirnbestrahlung (**A + B**) sowie nach 12 Monaten Therapie mit Erlotinib mit anhaltender kompletter Remission (**C + D**). Abbildungen: Inselspital Bern und Luzerner Kantonsspital.

Zusätzlich zu Mutationen, welche die Tyrosinkinase aktivieren, wurden solche beschrieben, die zu einer Resistenz gegenüber EGFR-TKI führen. In etwa 50% der Fälle tritt hierbei die EGFR-T790M-Mutation auf. Daneben wurden auch Amplifikationen des MET-Gens und andere Faktoren beschrieben [9]. Zurzeit werden neue TKI untersucht, welche diese Resistenzen überwinden können. Afatinib (BIBW 2992) blockiert sowohl die EGFR/HER1- als auch die HER2-Tyrosinkinase irreversibel und ist auch beim Vorliegen sekundärer Mutationen aktiv [10]. In der Phase-IIb/III-LUX-Lung-1-Studie wurden Patienten mit rezidivierendem Adenokarzinom nach Chemotherapie und Therapie mit Erlotinib oder Gefitinib mit Afatinib oder Placebo behandelt. Afatinib führte zu einem dreifach längeren progressionsfreien Überleben [11]. Der primäre Endpunkt der Studie war das Gesamtüberleben; diese Daten sind noch nicht verfügbar und die Studie ist noch nicht publiziert. Afatinib ist in der Schweiz im Rahmen eines *Compassionate-use*-Programms nach vorgängiger TKI-Behandlung erhältlich. Das heisst, Patienten können noch vor offizieller Zulassung ausserhalb von Studien von dieser Therapie profitieren.

Neben EGFR-Mutationen könnte auch der Nachweis einer erhöhten Anzahl von Kopien des EGFR-Gens (Genamplifikation) mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) mit einem besseren Überleben nach dem Einsatz von TKI assoziiert sein. Die Bedeutung der EGFR-Genkopiezahl wird aber sehr kontrovers beurteilt, so dass eine routinemässige EGFR-FISH-Untersuchung als prädiktiver Marker für das Ansprechen auf

EGFR-TKI deshalb gegenwärtig nicht empfohlen wird [12, 13]. Die Anzahl Genkopien ist möglicherweise prädiktiv für den Behandlungserfolg mit dem monoklonalen EGFR-Antikörper Cetuximab in Kombination mit Chemotherapie, was in einer US-amerikanischen Studie geprüft wird [14]. In der Phase-III-FLEX-Studie zeigte sich ein Vorteil für die Kombination einer konventionellen Chemotherapie mit Cetuximab gegenüber der alleinigen Chemotherapie [15]. Ob die EGFR-Immunhistochemie (IHC) bei der Auswahl von Patienten für eine Therapie mit Cetuximab nützlich ist, muss weiter untersucht werden. Momentan sind EGFR-IHC und -FISH aber nicht empfohlen, da Cetuximab für die Behandlung des NSCLC nicht zugelassen ist.

KRAS-Mutationen

KRAS-Mutationen finden sich beim Adenokarzinom in 20–40%, beim Plattenepithelkarzinom dagegen in weniger als 5% aller Fälle. KRAS-Mutationen sind mit dem Raucherstatus assoziiert. Bei Adenokarzinomen von Rauchern sind KRAS-Mutationen fünfmal häufiger als bei Nichtrauchern. Beim Bronchuskarzinom wurden drei hauptsächliche Typen von KRAS-Mutationen beschrieben (Codon 12, 13, 61). Mehr als 85% aller Mutationen betreffen das Codon 12, wobei Transversionen von Guanin zu Thymin (sog. G-T-Transversionen) am häufigsten vorkommen und mit dem Rauchen assoziiert sind. Bei Nichtrauchern kommt es im Vergleich dazu häufiger zu einer Transition von Guanin zu Adenin (G-A-Transi-

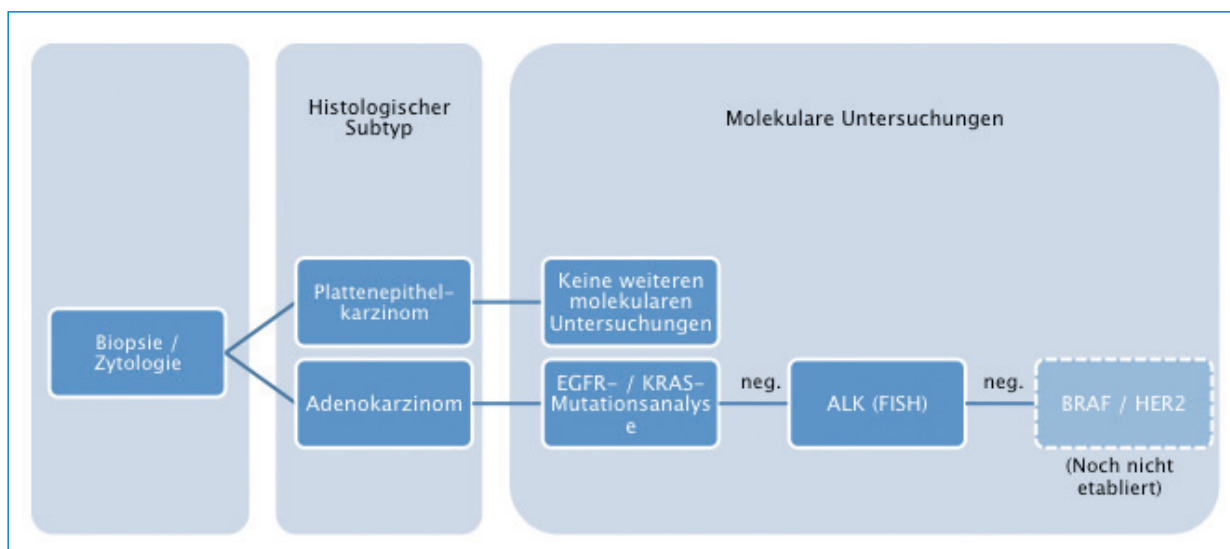




Abbildung 3

Algorithmus zur Analyse von onkogenen Mutationen und prädiktiven Markern, basierend auf dem histologischen Subtyp von NSCLC. Adaptiert nach einer Empfehlung der *Swiss Lung Pathology Working Group* (SLPG).

tion). Dies führt zur Hypothese, dass Bronchuskarzinome bei Rauchern und Nichtrauchern durch Veränderungen in unterschiedlichen molekularen Signalkaskaden entstehen [16]. Diese Ansicht wird dadurch unterstützt, dass bei Nichtrauchern EGFR-Mutationen viel häufiger (bis 60% der Fälle) vorkommen als KRAS-Mutationen. Zudem treten KRAS-Mutationen und EGFR-Mutationen praktisch nie gleichzeitig in ein und demselben Tumor auf. Das KRAS- und das EGFR-Mutationsspektrum bei Bronchuskarzinomen unterscheidet sich von demjenigen bei kolorektalen Karzinomen, bei welchen KRAS-G-A-Transitionen häufiger und EGFR-Mutationen praktisch nie vorkommen. Die klinische Relevanz dieser Unterschiede muss noch geklärt werden [17]. Nachdem zahlreiche Studien zur prognostischen Bedeutung von KRAS-Mutationen divergente Resultate zeigten, ergab eine grosse Metaanalyse, dass Patienten mit KRAS-Mutation eine signifikant schlechtere Prognose haben (Hazard Ratio HR 1,35; 95% CI 1,16–1,56) [18]. Die Assoziation von KRAS-Mutationen mit dem Rauchen – und damit mit dem kardiovaskulären Risiko – macht eine abschliessende Interpretation aber schwierig.

Tumoren mit KRAS-Mutationen zeigen ein vermindertes Ansprechen auf EGFR-TKI [19, 20]. Es ist aber umstritten, ob KRAS-Mutationen direkt zu einer Therapieresistenz führen oder ob dies der Fall ist, weil sich KRAS- und EGFR-Mutationen praktisch ausschliessen. Ein negativer KRAS-Status zusammen mit einer Wildtyp-Konformation des EGFR grenzt jedoch eine Patientenpopulation ein, bei der sich eine Testung auf eine EML4-ALK-Translokation lohnt (Abb. 3 ). Dieses Vorgehen ist umstritten und die Untersuchung von KRAS gehört vielerorts in der Schweiz nicht zur Routine. Die KRAS-Analyse erfolgt durch Sequenzierung von Exon 2. Daten aus der US-amerikanischen BATTLE-Studie deuten darauf hin, dass Bronchuskarzinome mit KRAS-Mutation auf eine Therapie mit Sorafenib ansprechen [21]. Diese Therapie ist in der Schweiz nicht zugelassen und bedarf weiterer prospektiver Studien.

ALK-Genfusion

ALK ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die bei der Entwicklung des Nervensystems eine Rolle spielt. ALK wird in normalem Lungengewebe nicht exprimiert [22]. Diese Kinase wurde ursprünglich in anaplastisch-grosszelligen Lymphomen beschrieben, wo eine Fusion mit dem Nucleophosmin-(NPM-)Gen vorliegt. Die Fusion von ALK mit EML4 (*echinoderm microtubule-associated protein-like 4*) in NSCLC wurde 2007 erstmalig nachgewiesen [23]. Die Fusion von EML4 und ALK basiert auf verschiedenen kleinen Inversionen oder interstitiellen Deletionen im Bereich des kurzen Arms von Chromosom 2 [23–26]. Bisher wurden mindestens neun unterschiedliche Translokationen beschrieben. Neben EML4 sind selten auch andere Fusionspartner beteiligt (u.a. KIF5B) [27]. Die Fusion von EML4 oder anderen Partnern mit ALK führt zur konstitutiven Aktivierung der ALK-Kinase [23–25]. In einem Tierexperiment entwickelten Mäuse, deren Lungenepithelien EML4-ALK exprimierten, multiple Adenokarzinome der Lunge [28]. Die Häufigkeit von EML4-ALK-Translokationen liegt bei 3–7% aller NSCLC [23–26]. Ähnlich wie bei EGFR-Mutationen ist die Frequenz von ALK-Translokationen bei Patienten mit Adenokarzinomen, Nicht- bzw. leichten Rauchern erhöht [25, 26]. Die Aberration findet sich normalerweise in Tumoren mit Wildtyp-Status für EGFR und KRAS [26]. In hochselektionierten Patientenkollektiven (Nichtraucher, EGFR- und KRAS-negative Adenokarzinome) betrug die Häufigkeit von ALK-Translokationen deshalb bis 45%. Der Nachweis der Translokation erfolgt mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung indirekt durch den Nachweis des DNA-Bruchs am ALK-Genlokus (Abb. 4 ) , alternativ auch mittels reverser Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR). Die Proteinexpression ist bei ALK-positiven Tumoren deutlich geringer als bei anaplastisch-grosszelligen Lymphomen. Die Immunhistochemie besitzt deswegen eine niedrige Sensitivität

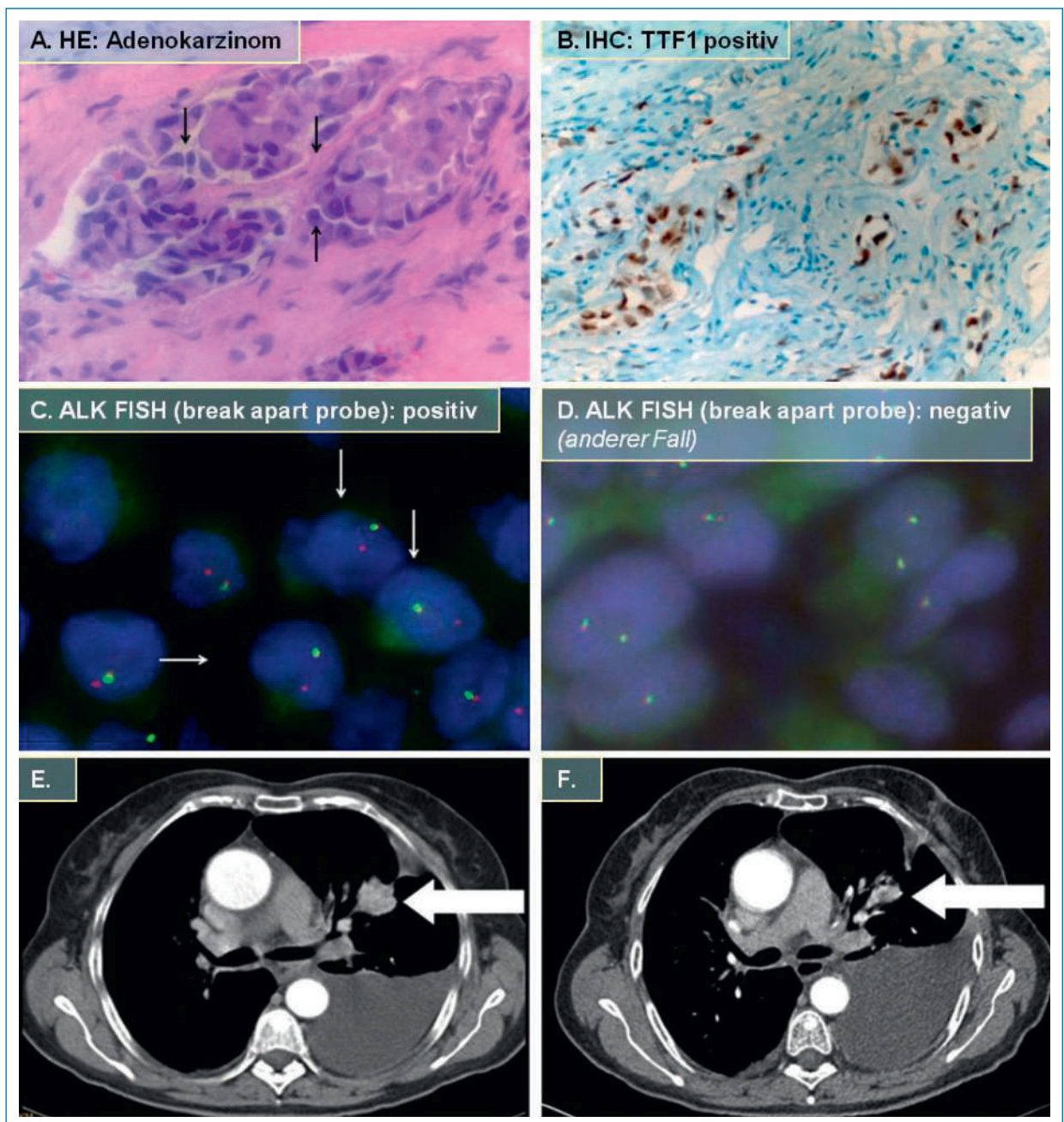


Abbildung 4

Fallbeispiel: 65-jährige Ex-Raucherin mit metastasiertem Adenokarzinom, fehlendem Ansprechen auf Chemotherapie und Nachweis einer ALK-Translokation durch Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (C) und zum Vergleich negative FISH-Untersuchung eines anderen Patienten (D).

- A:** Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) zeigt typische Adenokarzinomzellen, zum Teil im Sinne von Siegelringzellen (Pfeile).
B: Die Immunhistochemie (IHC) für den thyroidalen Transkriptionsfaktor 1 (TTF1) ist positiv. Dies ist ein wichtiges Merkmal, um das Adenokarzinom als Primärtumor der Lunge zu charakterisieren und es differentialdiagnostisch von Metastasen eines extrapulmonalen Tumors abzugrenzen.
C: Die FISH-Untersuchung zeigt drei Zellkerne (weisse Pfeile) mit weit auseinanderliegendem Signal der grünen und roten Sonde. Dies belegt den Bruch der DNA und die Translokation von ALK («break apart FISH»).
D: Die FISH-Untersuchung eines anderen Patienten mit pulmonalem Adenokarzinom zeigt ein normales Verteilungsmuster der beiden FISH-Sonden mit jeweils eng benachbartem Signal.
E + F: Primärtumor (Pfeil) vor Therapiebeginn mit Crizotinib (**E**) und nach vier Wochen mit partieller Remission (**F**).
 Abbildungen: Luzerner Kantonsspital.

und wird momentan nicht als Routinediagnostik empfohlen, könnte aber in Zukunft an Bedeutung als Screening-Test gewinnen [29, 30]. Die therapeutische Bedeutung liegt darin, dass Patienten mit nachgewiesener ALK-Translokation auf die Behandlung mit ALK-Tyrosinkinase-Inhibitoren ansprechen. In einer Phase-I/II-

Studie wurden 82 Patienten mit metastasiertem und ALK-transloziertem NSCLC (96% Adenokarzinome) mit dem ALK-Inhibitor Crizotinib 2×250 mg behandelt. Die meisten Patienten hatten zuvor schon mindestens eine Chemotherapie erhalten. Die Ansprechrate lag bei 57%, weitere 33% erreichten eine Krankheitsstabi-

lisierung [31]. Zurzeit laufen verschiedene Phase-III-Studien, in denen der Stellenwert von Crizotinib untersucht wird. Das Medikament ist in einem *Compassionate-use*-Programm verfügbar. Mittlerweile wurden bereits sekundäre Mutationen beschrieben, die zu einer Resistenz gegenüber Crizotinib führen [32]. Neuere, spezifischere ALK-Inhibitoren sind zurzeit in Entwicklung [33–35]. Patienten mit aktivierter ALK-Tyrosinkinase sind resistent gegenüber den EGFR-TKI Erlotinib und Gefitinib [26]. Eine retrospektive Arbeit zeigte jedoch eine erhöhte Sensitivität auf Pemetrexed [36].

MET-Amplifikation und -Mutationen

Der Hepatozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor (*hepatocyte growth factor receptor*, HGFR) ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase, die durch MET kodiert wird. Im Tierexperiment konnte gezeigt werden, dass eine vermehrte Expression von MET (Amplifikation) mit erhöhten Konzentrationen des phosphorylierten HGFR assoziiert ist und dieser aktivierte Rezeptor zur Tumorentstehung führt [37]. Umgekehrt führte eine Hemmung der Expression von HGFR in Zellen mit MET-Amplifikation zu Wachstumsstopp und Apoptose [38]. Diese Daten zeigen, dass eine MET-Amplifikation für die Proliferation von Tumorzellen ausreicht. Eine MET-Amplifikation ist mit einer sekundären Resistenz gegenüber EGFR-TKI assoziiert [39, 40]. Eine Amplifikation findet sich in rund 20% aller Tumoren mit einer erworbenen Resistenz. MET-Amplifikationen kommen sowohl in Plattenepithel als auch in Adenokarzinomen vor und sind in Letzteren unabhängig vom Auftreten von KRAS-Mutationen oder EGFR-Amplifikation [41–43]. Insgesamt gehen Amplifikationen von MET bei chirurgisch resezierten NSCLC mit einer schlechteren Prognose einher [43].

Im Gegensatz zu Nierenzell- und Magenkarzinomen sind MET-Mutationen beim NSCLC selten. Die biologische Relevanz dieser MET-Mutationen ist unklar. Zurzeit sind zahlreiche kleinmolekulare HGFR-Inhibitoren sowie therapeutische monoklonale Antikörper in klinischer Erprobung [44].

Weitere onkogene Mutationen

Wie EGFR gehört HER2 als Rezeptor-Tyrosinkinase zur HER-Familie. HER2 ist in rund 20% aller NSCLC überexprimiert, aber nur in rund 2% findet sich eine Genamplifikation [45, 46]. Weitere 2% zeigen eine HER2-Mutation. Diese kommt wiederum häufiger bei Nichtrauchern, Frauen und Menschen asiatischer Abstammung vor. HER2-Mutationen und EGFR- und KRAS-Mutationen schliessen sich gegenseitig aus. Die HER2-mutierten Tumoren sprechen auf eine kombinierte Hemmung von EGFR und HER2 an. Ein entsprechender TKI (Afatinib) wird zurzeit in klinischen Studien untersucht.

Die Phosphatidylinositol-3-Kinasen (PI3K) sind Lipidkinasen, welche Phosphatidylinositol-3-Phosphat regenerieren. PI3K ist ein wichtiger Mediator zwischen Wachstumsfaktorrezeptoren und intrazellulären Signal-

kaskaden. Eine Mutation in der Untereinheit p110 alpha kommt bei rund 2% aller Plattenepithel- und Adenokarzinome vor. Zahlreiche PI3K-Inhibitoren sind in klinischer Prüfung.

BRAF ist eine Serin-Threonin-Kinase, welche für die Zellproliferation von Bedeutung ist. BRAF-Mutationen wurden ursprünglich beim malignen Melanom beschrieben. Beim NSCLC treten BRAF-Mutationen in 1–3% aller Fälle auf, meistens sind sie auf Adenokarzinome beschränkt [47–49]. BRAF-Mutationen sowie Mutation des EGFR und von KRAS schliessen sich gegenseitig aus. In einem Tiermodell konnte gezeigt werden, dass das Vorliegen einer BRAF-Mutation für die Aufrechterhaltung von Lungentumoren ausreichend war [50]. Zahlreiche BRAF-Inhibitoren befinden sich zurzeit in klinischen Studien. 40–60% aller malignen Melanome weisen eine BRAF-Mutation auf, wobei in über 90% der Fälle eine V600E-Mutation vorliegt. PLX4032 ist ein Kinase-Inhibitor, der spezifisch beim Vorliegen dieser Mutation wirkt und in einer Phase-I/II-Studie erstaunlich hohe Ansprechraten gezeigt hat [51]. Beim NSCLC kommen allerdings andere Mutationen vor.

Auch bei den Plattenepithelkarzinomen zeichnet sich eine Entwicklung in Richtung zielgerichteter Therapien ab. Kürzlich wurde gezeigt, dass 20% der Plattenepithelkarzinome eine Amplifikation des Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptor-Gens (*fibroblast growth factor receptor*, FGFR) aufweisen [52]. Vor kurzem wurden ausserdem Mutationen des DDR2-Kinase-Gens in 3% der Plattenepithelkarzinome entdeckt [53]. Beide Veränderungen sind mögliche Angriffspunkte für Tyrosinkinasehemmer. Dies eröffnet neue Therapiemöglichkeiten, welche nun in klinischen Studien untersucht werden.

Zusammenfassung und Perspektiven

Die Entdeckung von unterschiedlichen klinisch relevanten Mutationen beim NSCLC hat das Verständnis der Pathogenese der Krankheit erweitert. Entsprechend werden grosse Hoffnungen und Anstrengungen in die Entwicklung von neuen Medikamenten gesetzt, welche die Mutationsprodukte direkt inhibieren und somit das wichtigste Signal für die Tumorprogression ausschalten können.

Zum heutigen Zeitpunkt ist die Histologie nach wie vor das wichtigste Entscheidungskriterium zur Einleitung einer Therapie beim metastasierten Bronchialkarzinom. Insbesondere der Unterscheidung zwischen Plattenepithel- und Adenokarzinom kommt eine wichtige Bedeutung zu. Die Diagnose «Adenokarzinom» sollte molekulare Testverfahren nach sich ziehen, um onkogene Mutationen zu suchen und dem Patienten gegebenenfalls eine spezifische Therapie anbieten zu können. Neben der Suche nach EGFR-Mutationen und ALK-Translokationen empfehlen wir bei Adenokarzinomen auch die Sequenzierung zum Nachweis einer KRAS-Mutation. Auch wenn der prädiktive Stellenwert dieser Untersuchung umstritten ist, kann das Wissen um einen Wildtyp-KRAS-Status bei gleichzeitigem EGFR-Wildtyp-Status hilfreich sein, um in einem nächsten

Schritt nach einer ALK-Translokation zu suchen. Die übrigen diskutierten onkogenen Mutationen oder Amplifikationen sind nach dem jetzigen Wissensstand noch zu wenig etabliert, um sie in der klinischen Routine anzuwenden. Diese Untersuchungen können im Einzelfall durchaus Sinn machen, wenn für ausgewählte Patienten neue Therapiemöglichkeiten innerhalb oder ausserhalb von klinischen Studien bestehen. Aufgrund der rasanten Entwicklung auf diesem Gebiet müssen die Empfehlungen laufend aktualisiert werden. Diesem Umstand trägt die Schweizerische Arbeitsgemeinschaft für Klinische Krebsforschung (SAKK, www.sakk.ch) Rechnung. Sie untersucht in der Studie SAKK 19/09 neue Kombinationstherapien basierend auf einer molekularen Diagnostik und garantiert damit den Zugang zu adäquater Diagnostik und Therapie für Schweizer Patienten. Wir erhoffen uns von dieser Studie weitere Fortschritte bei der Entwicklung, Validierung und Umsetzung der molekularen Diagnostik und der individualisierten Therapie bei Patienten mit metastasiertem Bronchuskarzinom.

Danksagung

Die Autoren danken Dr. med. I. Turkalj, Leitender Arzt Innere Medizin, Gesundheitszentrum Fricktal, Spital Laufenburg, für die kritische Durchsicht des Manuskripts aus dem Blickwinkel eines Internisten.

Korrespondenz:

Dr. med. et Dr. phil. nat. Sacha Rothschild
 Universitätsspital Basel
 Medizinische Onkologie
 Petersgraben 4
 CH-4031 Basel
[rothschilds\[at\]juhbs.ch](mailto:rothschilds[at]juhbs.ch)

Empfohlene Literatur

- Popper H, Wrba F, Gruber-Mösenbacher U, Hulla W, Pirker R, Hilbe W, et al. Histologie-basierter Algorithmus der molekularen Diagnostik des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptorgens (epidermal growth factor receptor, egfr) beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (non-small cell lung cancer, nsccl). *Wien Klin Wochenschr.* 2011;123:1–6.
- Marks JL, Broderick S, Zhou Q, Chitale D, Li AR, Zakowski MF, et al. Prognostic and therapeutic implications of egfr and kras mutations in resected lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 2008;3:111–6.
- Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming eml4-alk fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature.* 2007;448:561–6.
- Pao W, Girard N. New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol.* 2011;12:175–80.

Die vollständige nummerierte Literaturliste finden Sie unter www.medicalforum.ch.

CME www.smf-cme.ch

1. Die EGFR-Mutation im Exon 19 oder 21 ...

- A Ist die bei Bronchuskarzinomen am häufigsten auftretende onkogene Mutation.
- B Ist charakteristisch für Plattenepithelkarzinome der Lunge.
- C Ist ein prädiktiver Marker für die Behandlung mit EGFR-Tyrosinkinase-Inhibitoren (Erlotinib, Gefitinib).
- D Wird im Gegensatz zur Bestimmung der Genamplifikation mittels FISH nicht routinemässig gesucht.
- E Führt zu einer vermehrten Resistenz gegen verschiedene Chemotherapeutika.

2. Die ALK-Genfusion ...

- A Soll bei Patienten mit Adenkarzinomen und Wildtyp-Status von KRAS und EGFR gesucht werden.
- B Geht oft mit Mutationen des EGFR einher.
- C Ist nicht von Bedeutung, da keine spezifische Behandlung für diese Patientensubgruppe verfügbar ist.
- D Wird in der Regel immunhistochemisch diagnostiziert.
- E Kommt in über der Hälfte aller Adenkarzinome der Lunge vor.

Neue Therapiekonzepte beim Bronchuskarzinom /

Nouveaux concepts thérapeutiques dans le cancer bronchique

Literatur (Online-Version) / Références (online version)

- 1 Hansen HH, Selawry OS, Simon R, Carr DT, van Wyk CE, Tucker RD, Sealy R: Combination chemotherapy of advanced lung cancer: A randomized trial. *Cancer* 1976;38:2201-2207.
- 2 Rothschild SI, Betticher DC, Ochsenbein A, Stahel R, Bubendorf L, Gugger M, Brutsche M, Pless M, Gautschi O: Bedeutung der histologie für die therapie des fortgeschrittenen, nicht-kleinzelligen bronchuskarzinoms. *Schweiz Med Forum* 2010;10:384-388.
- 3 Rosell R, Moran T, Queralt C, Porta R, Cardenal F, Camps C, Majem M, Lopez-Vivanco G, Isla D, Provencio M, Insa A, Massuti B, Gonzalez-Larriba JL, Paz-Ares L, Bover I, Garcia-Campelo R, Moreno MA, Catot S, Rolfo C, Reguart N, Palmero R, Sánchez JM, Bastus R, Mayo C, Bertran-Alamillo J, Molina MA, Sanchez JJ, Taron M: Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361:958-967.
- 4 Zhang X, Chang A: Somatic mutations of the epidermal growth factor receptor and non-small-cell lung cancer. *J Med Genet* 2007;44:166-172.
- 5 Popper H, Wrba F, Gruber-Mösenbacher U, Hulla W, Pirker R, Hilbe W, Studnicka M, Mohn-Staudner A, Ploner F, ÖGP-IAP udAPd: Histologie-basierter algorithmus der molekularen diagnostik des epidermalen wachstumsfaktor-rezeptorgens (epidermal growth factor receptor, egfr) beim nicht-kleinzelligen lungenkarzinom (non-small cell lung cancer, nsclc). *Wien Klin Wochenschr* 2011;123:1-6.
- 6 Marks JL, Broderick S, Zhou Q, Chitale D, Li AR, Zakowski MF, Kris MG, Rusch VW, Azzoli CG, Seshan VE, Ladanyi M, Pao W: Prognostic and therapeutic implications of egfr and kras mutations in resected lung adenocarcinoma. *J Thorac Oncol* 2008;3:111-116.
- 7 Shepherd FA, Rodrigues Pereira J, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, Campos D, Maoleekoonpiroj S, Smylie M, Martins R, van Kooten M, Dediu M, Findlay B, Tu D, Johnston D, Bezjak A, Clark G, Santabarbara P, Seymour L: Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2005;353:123-132.
- 8 Paz-Ares LG, Sanchez JM, Garcia-Velasco A, Massuti B, López-Vivanco G, Provencio M, Montes A, Isla D, Amador ML, Rosell R: A prospective phase ii trial of erlotinib in advanced non-small cell lung cancer (nsclc) patients (p) with mutations in the tyrosine kinase (tk) domain of the epidermal growth factor receptor (egfr). *J Clin Oncol* 2006;24:7020.
- 9 Pao W, Miller VA, Politi KA, Riely GJ, Somwar R, Zakowski MF, Kris MG, Varmus H: Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the egfr kinase domain. *PLoS Med* 2005;2:e73.
- 10 Li D, Ambrogio L, Shimamura T, Kubo S, Takahashi M, Chirieac LR, Padera RF, Shapiro GI, Baum A, Himmelsbach F, Rettig WJ, Meyerson M, Solca F, Greulich H, Wong KK: Bibw2992, an irreversible egfr/her2 inhibitor highly effective in preclinical lung cancer models. *Oncogene* 2008;27:4702-4711.
- 11 Miller VA, Hirsh V, Cadranel J, Chen Y-M, Park K, Kim S-W, Calcun Z, Oberdick M, Shahidi M, Yang C-H: Phase iib/iii double-blind randomized trial of bibw 2992, an irreversible inhibitor of egfr/her1 and her2 + best supportive care (bsc) versus placebo + bsc in patients with nsclc failing 1-2 lines of chemotherapy and erlotinib or gefitinib (lux-lung 1). 35th European Society of Medical Oncology (ESMO) annual meeting, Milano 2010;abstract LBA1
- 12 Hirsch FR, Varella-Garcia M, Cappuzzo F, McCoy J, Bemis L, Xavier AC, Dziadziuszko R, Gumerlock P, Chansky K, West H, Gazdar AF, Crino L, Gandara DR, Franklin WA, Bunn PA, Jr.:

- Combination of egfr gene copy number and protein expression predicts outcome for advanced non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *Ann Oncol* 2007;18:752-760.
- 13 D'Addario G, Rauch D, Stupp R, Pless M, Stahel R, Mach N, Jost L, Widmer L, Tapia C, Bihl M, Mayer M, Ribi K, Lerch S, Bubendorf L, Betticher DC: Multicenter phase ii trial of gefitinib first-line therapy followed by chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer (nslc): Sakk protocol 19/03. *Ann Oncol* 2008;19:739-745.
- 14 Hirsch FR, Herbst RS, Olsen C, Chansky K, Crowley J, Kelly K, Franklin WA, Bunn PA, Jr., Varella-Garcia M, Gandara DR: Increased egfr gene copy number detected by fluorescent in situ hybridization predicts outcome in non-small-cell lung cancer patients treated with cetuximab and chemotherapy. *J Clin Oncol* 2008;26:3351-3357.
- 15 Pirker R, Pereira JR, Szczesna A, von Pawel J, Krzakowski M, Ramlau R, Vynnychenko I, Park K, Yu CT, Ganul V, Roh JK, Bajetta E, O'Byrne K, de Marinis F, Eberhardt W, Goddemeier T, Emig M, Gatzemeier U: Cetuximab plus chemotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer (flex): An open-label randomised phase iii trial. *Lancet* 2009;373:1525-1531.
- 16 Sun S, Schiller JH, Gazdar AF: Lung cancer in never smokers--a different disease. *Nat Rev Cancer* 2007;7:778-790.
- 17 Mack PC, Gandara DR, Omori A, Grimminger P, Lenz H-J, Joshi MB, Harpole DH, Danenberg K: Kras mutation analysis in non-small cell lung cancer versus colorectal cancer. Implications for egfr-directed therapies. *Journal of Thoracic Oncology* 2009;4:S350(abstract B359.353).
- 18 Mascaux C, Iannino N, Martin B, Paesmans M, Berghmans T, Dusart M, Haller A, Lothaire P, Meert AP, Noel S, Lafitte JJ, Sculier JP: The role of ras oncogene in survival of patients with lung cancer: A systematic review of the literature with meta-analysis. *Br J Cancer* 2005;92:131-139.
- 19 Pao W, Wang TY, Riely GJ, Miller VA, Pan Q, Ladanyi M, Zakowski MF, Heelan RT, Kris MG, Varmus HE: Kras mutations and primary resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib. *PLoS Med* 2005;2:e17.
- 20 van Zandwijk N, Mathy A, Boerrigter L, Ruijter H, Tielen I, de Jong D, Baas P, Burgers S, Nederlof P: Egfr and kras mutations as criteria for treatment with tyrosine kinase inhibitors: Retro- and prospective observations in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2007;18:99-103.
- 21 Kim ES, Herbst RS, Wistuba II, Lee JJ, Blumenschein Jr. GR, Tsao A, Stewart DJ, Hicks ME, Erasmus Jr. J, Gupta S, Alden CM, Liu S, Tang X, Khuri FR, Tran HT, Johnson BE, Heymach JV, Mao L, Fossella F, Kies MS, Papadimitrakopoulou V, Davis SE, Lippman SM, Hong WK: The battle trial: Personalizing therapy for lung cancer. *Cancer Discovery* 2011;1
- 22 Morris SW, Naeve C, Mathew P, James PL, Kirstein MN, Cui X, Witte DP: Alk, the chromosome 2 gene locus altered by the t(2;5) in non-hodgkin's lymphoma, encodes a novel neural receptor tyrosine kinase that is highly related to leukocyte tyrosine kinase (ltk). *Oncogene* 1997;14:2175-2188.
- 23 Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara S, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H: Identification of the transforming eml4-alk fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-566.
- 24 Choi YL, Takeuchi K, Soda M, Inamura K, Togashi Y, Hatano S, Enomoto M, Hamada T, Haruta H, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Ueno T, Takada S, Yamashita Y, Sugiyama Y, Ishikawa Y, Mano H: Identification of novel isoforms of the eml4-alk transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2008;68:4971-4976.
- 25 Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, Choi HG, Kim J, Chiang D, Thomas R, Lee J, Richards WG, Sugarbaker DJ, Ducko C, Lindeman N, Marcoux JP, Engelman JA, Gray NS, Lee C, Meyerson M, Janne PA: Eml4-alk fusion gene and efficacy of an alk kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4275-4283.
- 26 Horn L, Pao W: Eml4-alk: Honing in on a new target in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:4232-4235.
- 27 Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, Takada S, Ueno T, Yamashita Y, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Ishikawa Y, Mano H: Kif5b-alk, a novel fusion oncokinase

- identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for alk-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:3143-3149.
- 28 Soda M, Takada S, Takeuchi K, Choi YL, Enomoto M, Ueno T, Haruta H, Hamada T, Yamashita Y, Ishikawa Y, Sugiyama Y, Mano H: A mouse model for eml4-alk-positive lung cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:19893-19897.
- 29 Yi ES, Boland JM, Maleszewski JJ, Roden AC, Oliveira AM, Aubry MC, Erickson-Johnson Mr, Caron BL, Li Y, Tang H, Stoddard S, Wampfler J, Kulig K, Yang P: Correlation of ihc and fish for alk gene rearrangement in non-small cell lung carcinoma: Ihc score algorithm for fish. *J Thorac Oncol* 2011;6:459-465.
- 30 Jokoji R, Yamasaki T, Minami S, Komuta K, Sakamaki Y, Takeuchi K, Tsujimoto M: Combination of morphological feature analysis and immunohistochemistry is useful for screening of eml4-alk-positive lung adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2010;63:1066-1070.
- 31 Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, Ou SH, Dezube BJ, Janne PA, Costa DB, Varella-Garcia M, Kim WH, Lynch TJ, Fidias P, Stubbs H, Engelman JA, Sequist LV, Tan W, Gandhi L, Mino-Kenudson M, Wei GC, Shreeve SM, Ratain MJ, Settleman J, Christensen JG, Haber DA, Wilner K, Salgia R, Shapiro GI, Clark JW, Iafrate AJ: Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1693-1703.
- 32 Choi YL, Soda M, Yamashita Y, Ueno T, Takashima J, Nakajima T, Yatabe Y, Takeuchi K, Hamada T, Haruta H, Ishikawa Y, Kimura H, Mitsudomi T, Tanio Y, Mano H: Eml4-alk mutations in lung cancer that confer resistance to alk inhibitors. *N Engl J Med* 2010;363:1734-1739.
- 33 Sakamoto H, Tsukaguchi T, Hiroshmia S, Kodama T, Kobayashi T, Fukami TA, Oikawa N, Tsukuda T, Ishii N, Aoki Y: A new selective alk inhibitor ch5424802 shows potent efficacy against alk-positive cancers including the gatekeeper mutant-driven tumors. In: *Proceedings of the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2011 Apr 2-6;Orlando, FL:abstract nr 3559.*
- 34 Kuromitsu S, Mori M, Shimada I, Kondoh Y, Shindoh N, Soga T, Furutani T, Konagai S, Sakagami H, Nakata M, Ueno Y, Saito R, Sasamata M, Mano H, Kudou M: Anti-tumor activity of asp3026, a novel and selective alk inhibitor. In: *Proceedings of the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2011;Orlando, FL:abstract nr 2821.*
- 35 Cheng M, Quail MR, Gingrich DE, Ott GR, Lu L, Wan W, Albom MS, Angeles TS, Aimone LD, Cristofani F, Machiorlatti R, Abele C, Ator MA, Dorsey BD, Inghirami G, Ruggeri BA: Identification and preclinical characterization of cep-28122, a highly potent and selective orally active inhibitor of anaplastic lymphoma kinase, in lymphoma and non-small cell lung cancer models. In: *Proceedings of the 102nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research 2011;Orlando, FL:abstract nr 3574.*
- 36 Camidge DR, Kono SA, Lu X, Okuyama S, Baron AE, Oton AB, Davies AM, Varella-Garcia M, Franklin W, Doebele RC: Anaplastic lymphoma kinase gene rearrangements in non-small cell lung cancer are associated with prolonged progression-free survival on pemetrexed. *J Thorac Oncol* 2011
- 37 Otsuka T, Takayama H, Sharp R, Celli G, LaRochelle WJ, Bottaro DP, Ellmore N, Vieira W, Owens JW, Anver M, Merlino G: C-met autocrine activation induces development of malignant melanoma and acquisition of the metastatic phenotype. *Cancer Res* 1998;58:5157-5167.
- 38 Lutterbach B, Zeng Q, Davis LJ, Hatch H, Hang G, Kohl NE, Gibbs JB, Pan BS: Lung cancer cell lines harboring met gene amplification are dependent on met for growth and survival. *Cancer Res* 2007;67:2081-2088.
- 39 Bean J, Brennan C, Shih JY, Riely G, Viale A, Wang L, Chitale D, Motoi N, Szoke J, Broderick S, Balak M, Chang WC, Yu CJ, Gazdar A, Pass H, Rusch V, Gerald W, Huang SF, Yang PC, Miller V, Ladanyi M, Yang CH, Pao W: Met amplification occurs with or without t790m mutations in egfr mutant lung tumors with acquired resistance to gefitinib or erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:20932-20937.
- 40 Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, Song Y, Hyland C, Park JO, Lindeman N, Gale CM, Zhao X, Christensen J, Kosaka T, Holmes AJ, Rogers AM, Cappuzzo F, Mok T, Lee C, Johnson BE,

- Cantley LC, Janne PA: Met amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating erbb3 signaling. *Science* 2007;316:1039-1043.
- 41 Onozato R, Kosaka T, Kuwano H, Sekido Y, Yatabe Y, Mitsudomi T: Activation of met by gene amplification or by splice mutations deleting the juxtamembrane domain in primary resected lung cancers. *J Thorac Oncol* 2009;4:5-11.
- 42 Beau-Faller M, Ruppert AM, Voegeli AC, Neuville A, Meyer N, Guerin E, Legrain M, Mennequier B, Wihlm JM, Massard G, Quoix E, Oudet P, Gaub MP: Met gene copy number in non-small cell lung cancer: Molecular analysis in a targeted tyrosine kinase inhibitor naive cohort. *J Thorac Oncol* 2008;3:331-339.
- 43 Cappuzzo F, Marchetti A, Skokan M, Rossi E, Gajapathy S, Felicioni L, Del Grammastro M, Sciarrotta MG, Buttitta F, Incarbone M, Toschi L, Finocchiaro G, Destro A, Terracciano L, Roncalli M, Alloisio M, Santoro A, Varella-Garcia M: Increased met gene copy number negatively affects survival of surgically resected non-small-cell lung cancer patients. *J Clin Oncol* 2009;27:1667-1674.
- 44 Eder JP, Vande Woude GF, Boerner SA, LoRusso PM: Novel therapeutic inhibitors of the c-met signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:2207-2214.
- 45 Heinmoller P, Gross C, Beyser K, Schmidtgen C, Maass G, Pedrocchi M, Ruschoff J: Her2 status in non-small cell lung cancer: Results from patient screening for enrollment to a phase ii study of herceptin. *Clin Cancer Res* 2003;9:5238-5243.
- 46 Stephens P, Hunter C, Bignell G, Edkins S, Davies H, Teague J, Stevens C, O'Meara S, Smith R, Parker A, Barthorpe A, Blow M, Brackenbury L, Butler A, Clarke O, Cole J, Dicks E, Dike A, Drozd A, Edwards K, Forbes S, Foster R, Gray K, Greenman C, Halliday K, Hills K, Kosmidou V, Lugg R, Menzies A, Perry J, Petty R, Raine K, Ratford L, Shepherd R, Small A, Stephens Y, Tofts C, Varian J, West S, Widaa S, Yates A, Brasseur F, Cooper CS, Flanagan AM, Knowles M, Leung SY, Louis DN, Looijenga LH, Malkowicz B, Pierotti MA, Teh B, Chenevix-Trench G, Weber BL, Yuen ST, Harris G, Goldstraw P, Nicholson AG, Futreal PA, Wooster R, Stratton MR: Lung cancer: Intragenic erbb2 kinase mutations in tumours. *Nature* 2004;431:525-526.
- 47 Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, Teague J, Woffendin H, Garnett MJ, Bottomley W, Davis N, Dicks E, Ewing R, Floyd Y, Gray K, Hall S, Hawes R, Hughes J, Kosmidou V, Menzies A, Mould C, Parker A, Stevens C, Watt S, Hooper S, Wilson R, Jayatilake H, Gusterson BA, Cooper C, Shipley J, Hargrave D, Pritchard-Jones K, Maitland N, Chenevix-Trench G, Riggins GJ, Bigner DD, Palmieri G, Cossu A, Flanagan A, Nicholson A, Ho JW, Leung SY, Yuen ST, Weber BL, Seigler HF, Darrow TL, Paterson H, Marais R, Marshall CJ, Wooster R, Stratton MR, Futreal PA: Mutations of the braf gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-954.
- 48 Sasaki H, Kawano O, Endo K, Suzuki E, Haneda H, Yukiue H, Kobayashi Y, Yano M, Fujii Y: Uncommon v599e braf mutations in japanese patients with lung cancer. *J Surg Res* 2006;133:203-206.
- 49 Naoki K, Chen TH, Richards WG, Sugarbaker DJ, Meyerson M: Missense mutations of the braf gene in human lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 2002;62:7001-7003.
- 50 Ji H, Wang Z, Perera SA, Li D, Liang MC, Zaghlul S, McNamara K, Chen L, Albert M, Sun Y, Al-Hashem R, Chirieac LR, Padera R, Bronson RT, Thomas RK, Garraway LA, Janne PA, Johnson BE, Chin L, Wong KK: Mutations in braf and kras converge on activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in lung cancer mouse models. *Cancer Res* 2007;67:4933-4939.
- 51 Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, O'Dwyer PJ, Lee RJ, Grippo JF, Nolop K, Chapman PB: Inhibition of mutated, activated braf in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:809-819.
- 52 Weiss J, Sos ML, Seidel D, Pfeifer M, Zander T, Heuckmann JM, Ullrich RT, Menon R, Maier S, Soltermann A, Moch H, Wagener P, Fischer F, Heynck S, Koker M, Schöttle J, Leenders F, Gabler F, Dabow I, Querings S, Heukamp LC, Balke-Want H, Ansén S, Rauh D, Baessmann I, Altmüller J, Wainer Z, Conron M, Wright G, Russell P, Solomon B, Brambilla E, Brambilla C, Lorimier P, Sollberg S, Brustugun OT, Engel-Riedel W, Ludwig C, Petersen I, Sängler J, Clement J, Groen H, Timens W, Sietsma H, Thunnissen E, Smit E, Heideman D, Cappuzzo F, Ligorio C, Damiani S, Hallek M, Beroukhim R, Pao W, Klebl B, Baumann M, Buettner R, Ernestus K, Stoelben E, Wolf J,

Nürnberg P, Perner S, Thomas RK: Frequent and focal fgfr1 amplification associates with therapeutically tractable fgfr1 dependency in squamous cell lung cancer. *Sci Transl Med* 2010;2:62ra93.

- 53 Hammerman PS, Sos ML, Ramos AH, Xu C, Dutt A, Zhou W, Brace LE, Woods BA, Lin W, Zhang J, Deng X, Lim SM, Heynck S, Pfeifer M, Simard Jr, Lawrence MS, Onofrio RC, Salvesen HB, Seidel D, Zander T, Heuckmann JM, Soltermann A, Moch H, Koker M, Leenders F, Gabler F, Querings S, Ansén S, Brambilla E, Brambilla C, Lorimier P, Brustugun OT, Helland A, Petersen I, Clement JH, Groen H, Timens W, Sietsma H, Stoelben E, Wolf J, Beer DG, Tsao MS, Hanna M, Hatton C, Eck MJ, Janne PA, Johnson BE, Winckler W, Greulich H, Bass AJ, Cho J, Rauh D, Gray NS, Wong KK, Haura EB, Thomas RK, Meyerson M: Mutations in the ddr2 kinase gene identify a novel therapeutic target in squamous cell lung cancer. *Cancer Discovery* 2011;1
- 54 Pao W, Girard N: New driver mutations in non-small-cell lung cancer. *Lancet Oncol* 2011;12:175-180.