

Klinik für Hämatologie und Medizinische Onkologie
(Prof. Dr. med. L. Trümper)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

CHALLENGE-Studie:

**Morphometrisches Tumoransprechen in
Korrelation mit bildgebenden Verfahren
(Spiral-CT und PET) bei
Patienten mit NSCLC IIIA/B unter
Induktionstherapie**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Stefan Hans Peter Wenleder

aus

Vilshofen an der Donau

Osterode am Harz 2020

Dekan:	Prof. Dr. med. W. Brück
Referent/in:	Prof. Dr. med. F. Griesinger
Ko-Referent/in:	Prof. Dr. med. S. Rieken
Drittreferent/in:	Prof. Dr. med. M. Schön

Datum der mündlichen Prüfung: 21.07.2021

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „CHALLENGE-Studie: Morphometrisches Tumorsprechen in Korrelation mit bildgebenden Verfahren (Spiral-CT und PET) bei Patienten mit NSCLC IIIA/B unter Induktionstherapie“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Osterode am Harz, den 20.05.2020

.....

(Unterschrift)

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Epidemiologie	1
1.2 Diagnostik	2
1.2.1 Anamnese und Untersuchung	2
1.2.2 Klinische Untersuchung	2
1.2.3 Labor	3
1.2.4 Bildgebung	3
1.2.5 Pathomorphologie	4
1.3 Staging und Therapie	5
1.3.1 Therapie des NSCLC	6
1.3.2 Operation des NSCLC	7
1.3.3 Therapiestandard bei lokal fortgeschrittenen NSCLC	8
1.3.4 Relevante Studien der letzten Jahre	8
1.4 Stand der Forschung	10
1.4.1 Neue Therapieansätze in der Behandlung des NSCLC	10
1.4.2 Der epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor	10
1.4.3 Zielgerichtete Therapien gegen EGFR: Monoklonale Antikörper und Tyrosinkinaseinhibitoren	13
1.4.4 Die Rolle von CT und PET	17
1.4.5 Stellenwert der Morphometrie	19
1.4.6 Überblick	20
1.5 Fragestellung und Ziel	20
2 Material und Methoden	21
2.1 Die Studie CHALLENGE	21
2.1.1 Ziele der Studie	21
2.1.2 Einschluss und Ausschlusskriterien	22
2.1.3 Ablauf der Studie	23
2.2 Methodische Anlage der Untersuchung	24
2.3 Durchführung der Untersuchung	24
2.4 Teilnahme	25
2.5 Beschreibung der Stichprobe	25
2.6 Klinisches Ansprechen	27
2.7 Metabolisches Ansprechen	27
2.8 Pathologie	28
2.8.1 Morphometrie	28

2.8.2	Mutationsanalyse	28
2.8.2.1	DNA-Extraktion aus FFPE-Gewebe	28
2.8.2.2	Mutationsnachweis	29
2.8.2.3	Immunhistochemie cMet	29
2.9	Überlebenswahrscheinlichkeiten	32
2.10	Datenschutz und Genehmigung durch die Ethikkommission	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Klinisches Ansprechen in der TKI-Induktionsphase (CT/PET) (Restaging 1)	33
3.2	Klinisches Ansprechen nach Chemotherapie +/- TKI (CT/PET)	34
3.3	PET und CT im Vergleich	35
3.4	Operation	38
3.5	Morphometrie	39
3.6	Korrelation zwischen Morphometrie und CT/PET	40
3.7	Mutationsanalyse	40
3.8	Strahlentherapie	42
3.9	Konsolidierungsphase	43
3.10	Überlebenszeit	43
4	Diskussion	47
4.1	Methode	47
4.2	Ergebnisse	49
4.2.1	Die Studie	49
4.2.1.1	Systemische neoadjuvante Studien EGFR-TKI	50
4.2.1.2	Erhaltung EGFR-TKI	51
4.2.1.3	Interkalierte Ansätze CTx/TKI im Wechsel	52
4.2.1.4	Ergebnisse bei der Behandlung von NSCLC ohne Mutation	52
4.2.2	Vergleich CT und PET	53
4.2.3	Bildgebung (PET/CT) im Vergleich zu pathologischem Ansprechen (Junker)	54
4.2.4	PET und Gesamtüberleben	55
4.2.5	Morphometrie und Gesamtüberleben	55
4.2.6	Molekularbiologie	55
4.2.7	Resistenz gegen EGFR-TKI	57
4.3	Schlussfolgerung/Bewertung der Arbeit	58
4.4	Ausblick	61
5	Zusammenfassung	62
6	Literaturverzeichnis	64

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	HER-Rezeptorfamilie	11
Abbildung 2:	Dimerisierung nach Ligandenbindung	12
Abbildung 3:	Inhibition nach TKI	14
Abbildung 4:	Erlotinib Hydrochlorid (Tarceva®)	15
Abbildung 5:	Flow Chart CHALLENGE	23
Abbildung 6:	Kaplan-Meier-Kurve Ereignisfreies Überleben	44
Abbildung 7:	Kaplan-Meier-Kurve Gesamtüberleben	45
Abbildung 8:	Kaplan-Meier-Kurve Gesamtüberleben Non-Responder und Responder	46

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Gesamtstichprobe CHALLENGE	26
Tabelle 2:	Regressionsgrad nach Junker et al.	28
Tabelle 3:	Primer und Sonden	30
Tabelle 4:	Ansatz Sequenzierungsreaktion (Sanger)	32
Tabelle 5:	PCR- und Sequenzierungs-Bedingungen	32
Tabelle 6:	Ansprechen der Patienten in der Induktionsphase	33
Tabelle 7:	Ansprechen auf Chemotherapie mit TKI (Restaging 2)	34
Tabelle 8:	Ansprechen auf Chemotherapie ohne TKI (Restaging 2)	35
Tabelle 9:	Ansprechen in PET und CT nach Erlotinib-Induktionstherapie im 1. Restaging	36
Tabelle 10:	Restaging 2 nach Chemotherapie	37
Tabelle 11:	Operierte Patienten	38
Tabelle 12:	Morphologisches Ansprechen	39
Tabelle 13:	Korrelation Bildgebung CT/PET in RS2 und Morphometrie	40
Tabelle 14:	Mutationen/Ansprechen/Gesamtüberleben	41
Tabelle 15:	Strahlentherapie	42

Abkürzungsverzeichnis

5JÜR	Fünf-Jahres-Überlebensrate
6FAM	6-Carboxyfluorescein
ALK	<i>anaplastic lymphoma kinase</i>
APUD-System	<i>amine precursor uptake decarboxylase system</i>
ATP	Adenosintriphosphat
BRAF	<i>B rat fibrosarcoma</i>
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CHALLENGE	<i>Chip affymetrix for profiling lung cancer and imaging with Erlotinib</i>
CR	<i>complete remission</i> , Komplettremission
CRF	<i>case report file</i>
CRP	C-reaktives Protein
cRR	<i>clinical response rate</i> , klinische Ansprechrates
CT	Computertomographie
CYFRA	Cytokeratin-Fragment
DFS	<i>disease free survival</i> , krankheitsfreies Überleben
EFS	<i>event-free survival</i> , ereignisfreies Überleben
EGFR	<i>epidermal growth factor receptor</i> , epidermaler Wachstumsfaktor Rezeptor
FDG	F-Fluordesoxyglucose
HER	<i>human epidermal growth factor receptor</i>
KRAS	<i>Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog</i>
MPR	<i>major pathologic response</i> , höhergradige pathologische Remission
mRR	<i>metabolic response rate</i> , metabolisches Ansprechen
NSCLC	<i>non-small-cell lung cancer</i> , nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
NSE	Neuronenspezifische Enolase
ORR	<i>objective response rate</i> , objektiviertes Ansprechen
OS	<i>overall survival</i> , Gesamtüberleben
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> , Polymerase-Kettenreaktion
PD	<i>progressive disease</i> , Progress
PET	Positronenemissionstomographie
PFS	<i>progression free survival</i> , progressionsfreies Überleben
PR	partielle Remission
PROFILE	<i>Profiling and imaging in lung cancer</i> , eine Studiengruppe
QoL	<i>Quality of life</i> , Lebensqualität

ROS1	<i>ROS-Proto-Oncogen 1</i>
RR	<i>response rate</i> , Ansprechrage
RS	<i>restaging</i>
RTK	Rezeptortyrosinkinase
SCLC	<i>small-cell lung cancer</i> , kleinzelliges Lungenkarzinom
SD	<i>stable disease</i> , stabile Erkrankung
SUV	<i>standardized uptake volume</i> , quantitativer Glukosestoffwechsel eines Tumors
TGF-alpha	transformierender Wachstumsfaktor
TNM	Tumor, nodus (Lymphknoten), Metastasen
TKI	Tyrosinkinaseinhibitor
TP53	Tumorsuppressorprotein p53
TTP	<i>time to progression</i> , Zeit bis zum Progress
TTTF	<i>time to treatment failure</i> , Zeit bis zum Therapieversagen
VIC	modifications of <i>Aequorea victoria</i> green fluorescent protein
WT	Wildtyp

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Lungenkarzinome gehören in Deutschland zu den häufigsten Krebserkrankungen. Die Inzidenz für eine Neuerkrankung an Lungenkrebs betrug laut der Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. ca. 34.500 Männer und 19.300 Frauen im Jahre 2014 (Robert Koch Institut 2017). Betrachtet man Krebsstatistiken des Statistischen Bundesamtes, starben im Jahr 2015 in Deutschland 15.870 Frauen und 29.354 Männer an bösartigen Neubildungen der Bronchien und der Lunge (Statistisches Bundesamt 2017).

Die relativen Fünf-Jahres-Jahresüberlebensraten (5JÜR) betragen bei Frauen zwischen 18 und 23 Prozent, bei Männern zwischen 14 und 18 Prozent (Robert Koch-Institut 2017).

Hauptrisikofaktor für Tumore der Bronchien ist in erster Linie inhalatives Tabakrauchen. Vor allem bei Männern ist dieses mit 90 Prozent Hauptverursacher. Bei Frauen kann immerhin in 60 Prozent der Erkrankungen Rauchen als Auslöser ermittelt werden (Robert Koch-Institut 2017). Weitere Ursachen sind das radioaktive Gas Radon, welches vor allem in Gegenden mit hoher natürlicher Radonbelastung in Gebäuden vorkommt (Darby et al. 2004). Etwa 9 bis 15 von 100 Lungenkrebsfällen sind auf kanzerogene Stoffe wie Asbest, polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe, Quarz- und Nickelstäube zurückzuführen (Robert Koch-Institut 2017).

Da sowohl beim kleinzelligen (*small-cell lung cancer*, SCLC) wie auch beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (*non-small-cell lung cancer*, NSCLC) die Erstdiagnose meist erst in fortgeschrittenen Stadien gestellt wird, sind neue Therapiestrategien von großem Interesse (Crino et al. 2007). Ziel soll sein, zum einen Lungenkrebs früher zu diagnostizieren, zum anderen kurative Optionen auch in späteren Stadien offen zu halten.

1.2 Diagnostik

1.2.1 Anamnese und Untersuchung

Bei Verdacht auf ein Lungenkarzinom erfolgt zunächst eine Anamnese mit Fokus auf Tabakkonsum und andere Risikofaktoren sowie auf aufgetretene Symptome bzw. Beschwerden. Bei vielen symptomatischen Patienten finden sich Husten, Hämoptysen, Dyspnoe, Abgeschlagenheit, B-Symptomatik mit Gewichtsverlust, Fieber und massivem Nachtschweiß. Auch kann es bei Ausdehnung des Primärtumors zu poststenotischen Pneumonien kommen. Dehnt sich der Tumor auf die Pleura parietalis aus, können Schulterschmerzen auftreten. Bei Armschmerzen oder Horner-Syndrom ist an eine Ausbreitung in der oberen Pleurahöhle oder eine Kompression des Plexus brachialis (Pancoast-Tumor) zu denken. Zwerchfellparesen treten bei Nervus phrenicus Schädigungen auf. Zu Heiserkeit kommt es bei Ausdehnung des Tumors auf den Nervus laryngeus recurrens. Paraneoplastische Syndrome wie das Marie-Bamberger-Syndrom treten bei Beteiligung des APUD-Systems (*amine precursor uptake decarboxylase system*) auf. Seltener sind Symptome des peripheren und zentralen Nervensystems, Dysphagien bei Ösophagusobstruktion und Perikardtampnaden (Hoffman et al. 2000; Kreuter et al. 2008).

Die Symptome sind vielgestaltig als auch unspezifisch und somit kann die Erkrankung lange unentdeckt bleiben. Neu aufgetretener Husten oder die Änderung des Charakters eines chronischen Hustens sollten nach drei bis vier Wochen Anlass zu Untersuchung und Bildgebung geben (Spiro et al. 2007).

1.2.2 Klinische Untersuchung

Die körperliche Untersuchung fokussiert sich neben der allgemeinen internistischen Untersuchung auf die Thoraxorgane und die supraclaviculären, zervikalen und axillären Lymphknoten. Klinische Auffälligkeiten wie obere Einflusstauung, respiratorische Insuffizienz, Rekurrensparese, Horner-Syndrom oder paraneoplastische Syndrome erhärten Verdachtsdiagnosen und sollten weiterführende Untersuchungen nach sich ziehen (Hoffman et al. 2000; Kreuter et al. 2008).

1.2.3 Labor

Bei Laboruntersuchungen finden sich wie bei vielen Tumorerkrankungen relativ unspezifische Parameter wie erhöhte Leukozytenwerte und Entzündungswerte wie BSG und CRP. Weiter bestimmt werden Elektrolyte (z. B. Kalziuserhöhung bei Paraneoplasien), Transaminasen und Retentionsparameter und übriges Blutbild. Tumormarker wie CYFRA 21-1 (für das NSCLC) und NSE (für das SCLC) sind nicht zur Diagnostik, wohl aber zu Verlaufskontrollen und Tumornachsorge im Hinblick auf Rezidive geeignet (Hoffman et al. 2000; Kreuter et al. 2008).

1.2.4 Bildgebung

Erhärten nun Anamnese, körperliche und laborchemische Untersuchungen den Verdacht auf ein Bronchialkarzinom, sollte eine Bildgebung erfolgen. Das häufigste initial angewendete radiologische Verfahren ist die Thoraxübersichtsaufnahme (Röntgen des Thorax). Hier zeigt sich das Lungenkarzinom direkt oder indirekt als Rundherd, Raumforderung, Atelektase, Mediastinalverbreiterung oder mit einem Pleuraerguss. Die S3-Leitlinie empfiehlt diese Bildgebung als initiales Verfahren zur Abklärung eines Lungenkarzinoms (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

Die Computertomographie (CT) soll bei der Diagnostik des Lungenkarzinoms grundsätzlich als kontrastmittelverstärkte Untersuchung von Thorax und Oberbauch inklusive der Leber und Nebennieren durchgeführt werden. Hier lassen offensichtliche Zeichen von Infiltrationen oder Metastasierungen auf einen malignen Prozess schließen. Da die CT genaue Information über Lage der Läsionen liefert, soll sie stets vor invasiven Maßnahmen wie Bronchoskopie oder Mediastinoskopie erfolgen (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

Bei der Magnetresonanztomographie (MRT) des Thorax steht erstmals ein gut strukturiertes und standardisierbares Protokoll zur Verfügung. Für die Detektion und das Staging eines Lungenkarzinoms sieht das Protokoll auch intravenöses Kontrastmittel vor, was ebenso für Untersuchungen im Rahmen des Fernmetastasentagings gilt. Die Ergebnisse der MRT des Thorax zum Staging eines Lungenkarzinoms sind in erfahrenen Händen grundsätzlich vergleichbar zur CT. (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

Die Positronenemissionstomographie (PET) mit Fluor-18-Fluorodesoxyglukose (FDG) ist ein nicht-invasives, nuklearmedizinisches Schnittbildverfahren zur Darstellung und quantitativen Messung physiologischer Funktionen mittels Radiopharmaka. In der Onkologie nutzt die PET den erhöhten Tumorstoffwechsel, zur Ganzkörperdiagnostik. Die Strahlenexposition ist hierbei gering und entspricht der einer konventionellen Röntgenuntersuchung. Den technisch besten Standard stellen derzeit PET-Vollringscanner dar. Eine Weiterentwicklung ist die integrierte PET/CT, die die hohe Sensitivität der PET mit der guten morphologischen Auflösung und anatomischen Detaildarstellung des CT kombiniert. Die PET/CT ist hier der Zusammenschau der Einzelverfahren in Beurteilung des Tumor-Stadiums, des mediastinalen Lymphknotenstatus und insbesondere dem Nachweis oder Ausschluss von Fernmetastasen überlegen (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

1.2.5 Pathomorphologie

Die pathomorphologische Diagnostik umfasst sowohl Zytologie wie auch Histologie. Sie ist in ihrer Aussagekraft qualitativ stark abhängig von der jeweiligen diagnostischen Maßnahme als auch von der Erfahrung des Untersuchers. Zur Anwendung kommen bei der zytologischen Diagnostik Untersuchungen von spontanem oder provoziertem Sputum oder per Bronchoskopie gewonnenes Sekret, Bürstenabstriche, Lavageflüssigkeit, sowie Abstriche transbronchialer Biopsien.

Die histologischen Proben werden zum einen mittels Bronchoskopie (endo- oder transbronchiale Biopsien) zum anderen durch Probenentnahme mittels Thorakoskopie, Thorakotomie oder Mediastinoskopie gewonnen. Die histologische Sicherung steht bei der Therapieplanung im Vordergrund und sollte bevorzugt angestrebt werden. Die Zytologie ist weniger aussagekräftig und sollte die Histologie nur ersetzen, wenn eine Gewinnung dieser nicht möglich ist (Thomas et al. 2000).

Histologisch wird das Lungenkarzinom unterteilt in nichtkleinzellige Bronchialkarzinome (NSCLC), die etwa 80 % bis 85 % aller Bronchialkarzinome ausmachen und kleinzellige Bronchialkarzinome (SCLC), die in ca. 15 % bis 20 % der Fälle auftreten (Ettinger 2004).

Die NSCLC werden in weitere Subtypen eingeteilt:

Das aus Epithelzellen entstehende Plattenepithelkarzinom war um das Jahr 2000 noch vorherrschend vor dem aus Drüsenzellen entstehenden Adenokarzinom. Es folgten großzellige Karzinome und andere Unterarten wie Karzinoide. Selten sind gutartige Tumore des Lungengewebes, die überwiegend aus Bindegewebszellen entstehen. Die Häufigkeitsangaben schwanken hierbei stark je nach Patientenkollektive. Relevant sind u.a. Alter, Geschlecht und Risikoexposition. Der Differenzierungsgrad umfasst von undifferenziert (G4) über niedrig- (G3) und mittelgradig differenziert (G2) bis hin zu gut differenziert (G1) (Thomas et al. 2000).

In den letzten Jahren ist das Adenokarzinom der häufigste histologische Subtyp des nicht-kleinzelligen Lungenkarzinoms geworden und hat das Plattenepithelkarzinom abgelöst. Im Vergleich zu den anderen histologischen Subtypen ist es weiter im Vormarsch. Die Ursache hierfür ist letztlich noch unklar, es scheint jedoch einen Zusammenhang zwischen dem Gebrauch von Filterzigaretten und der Ausbildung eines Adenokarzinomes der Lunge zu geben. Auch sind mehr Adenokarzinome bei Nierauchern, Asiaten und Frauen zu finden. Man unterteilt das Adenokarzinom der Lunge mittlerweile in präinvasives, minimalinvasives und invasives Adenokarzinom (Gaikwad et al. 2012; Johnson et al. 2014).

Zusammenfassend sieht die S3-Leitlinie als Basisdiagnostik eine Anamnese mit klinischer Untersuchung, Laboruntersuchungen, Röntgen Thorax (p.a. und seitlich), Spiral-CT Thorax (inkl. Oberbauchregion bis inkl. Nebennieren), Bronchoskopie, Sonographie Abdomen und PET-CT vor (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

1.3 Staging und Therapie

Die Therapiestrategien richten sich nach einer Stadieneinteilung, die nach der 8. TNM-Klassifikation maligner Tumore von 2017 vorgenommen wird (Detterbeck et al. 2017). Zusammengefasst werden diese beim NSCLC in klinische Stadien I bis IV. Zum Zeitpunkt der Studie CHALLENGE (*Chip affymetrix for profiling lung cancer and imaging with erlotinib*) galt noch die 6. Version von 2002. Beim SCLC wird neben der TNM-Einteilung die vereinfachte Unterteilung von very limited (VLD), limited (LD) und extensive disease 1 und 2 (ED1 und ED2) verwendet. Neben CT von Thorax und

Abdomen werden Skelettszintigraphie und MRT des Schädels zur Abklärung von Tumorausbreitung und Metastasenbildung durchgeführt. Eine Mediastinoskopie mit Biopsie der vergrößerten Lymphknoten kommt zur Anwendung, um einen möglichen mediastinalen Befall abzuklären. In Studien wird mittlerweile regelmäßig ein PET-CT zum Staging verwendet, da diese Methode der Bildgebung den Einzelverfahren in Zusammenschau überlegen ist (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

1.3.1 Therapie des NSCLC

Beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom ist ein kuratives Konzept entweder mit einer Radiochemotherapie oder einer sogenannten R0 Resektion durchführbar: In den Stadien I bis IIIA werden bei kurativ-chirurgischem Vorgehen die Entfernung des Primärtumors und eine radikale Lymphadenektomie vorgenommen. Der Stellenwert einer zusätzlichen systemischen Therapie mittels einer adjuvanten Chemotherapie ist für die Stadien II und IIIA gesichert. In den Stadien IIIA und IIIB, die nicht primär operabel sind, ist internationaler Standard die Durchführung einer kombinierten Radiochemotherapie. Es wurden Induktions-Chemotherapiekonzepte in Studien verfolgt, die nach einem Downsizing (präoperative Verkleinerung des Tumors) und Downstaging (präoperative therapeutische Verbesserung des Tumorstagings) eine Operation ermöglichen. Hier sind die Arbeiten von Eberhardt, Albain und Betticher zu erwähnen (Eberhardt et al. 2015; Albain et al. 2009; Betticher 2005). Bei Stadium IV liegen Fernmetastasen vor, so dass aufgrund der Ausbreitung der Erkrankung eine systemische palliative Therapie mit vier bis sechs Zyklen einer Kombinationschemotherapie empfohlen wird. Eine Kontrolle des Ansprechens auf die Chemotherapie erfolgt in der Regel alle zwei Zyklen (alle sechs Wochen). Gegebenenfalls kann bei lokalen Beschwerden zusätzlich eine Radiotherapie oder eine Operation durchgeführt werden (Thomas et al. 2002).

In den letzten Jahren ist die Systemtherapie einem raschen Wandel unterworfen mit der Etablierung von molekular stratifizierter Therapie (z.B. EGFR-, ALK-, ROS1-, BRAF-Tyrosinkinaseinhibitoren) sowie der Immun-Checkpoint-Inhibitor-Therapie (anti-PD-1 und PD-L1 Konzepte mit z. B. Nivolumab, Pembrolizumab, Atezolizumab und Durvalumab) (DGHO 2017).

Die Überlebenszeiten hängen ebenfalls von den Stadien ab.

Nach der alten, 6. TNM Klassifikation haben Patienten im klinischen (durch CT oder PET-CT) Stadium IIIA und IIIB ein 5-Jahresüberleben in 18 % bzw. 8 % und im pathologischen (nach Operation) Stadium IIIA in 25 % und bei Stadium IIIB in 19 % ein 5-Jahresüberleben.

Nach der mittlerweile ebenfalls überholten 7. Edition der TNM Klassifikation finden sich beim klinischen Stadium IIIA bei 19 % und bei Stadium IIIB 7 % ein 5-Jahresüberleben, im pathologischen Stadium IIIA in 24 %, in Stadium IIIB zu 9 % ein 5-Jahresüberleben (Goldstraw et al. 2007).

1.3.2 Operation des NSCLC

Die Operation des Primärtumors stellt die Hauptmodalität bei kurativem Anspruch dar. Als Standard ist die Lobektomie anzusehen. Hierbei erfolgt eine Entfernung des betroffenen Lungenlappens. In manchen Fällen muss aus technischen Gründen eine Lunge komplett entfernt werden, dies wird als Pneumonektomie bezeichnet.

Als Alternative zur offenen Lobektomie bei T1 und T2 Tumoren können minimal-invasive, videoassistierte thorakoskopische Operationen (VATS) zur Anwendung kommen. VATS werden neben der Abklärung von Rundherden auch für Resektionen von Lungenkarzinomen eingesetzt. Vorteil ist vor allem der geringere postoperative Schmerz im Vergleich zur Lobektomie. Auch bei VATS-Techniken sollte eine systematische Lymphadenektomie durchgeführt werden wie bei offenen Operationen. Aktuelle Überlebensanalysen basieren lediglich auf retrospektiven Studien, zeigen aber eine Überlebensrate vergleichbar mit der Überlebensrate offener Lungenresektionen. Weitere randomisierte prospektive Studien sind hier erforderlich (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

Bei zentraler Lage des Tumors kann eine Lobektomie mit Gefäßmanschettenresektion als Alternative zur Pneumonektomie zur Anwendung kommen. Der Vorteil ist, dass bei diesem Verfahren Parenchym gespart werden kann. Die Letalität der Manschettenresektion ist mit der Letalität nach einfacher Lobektomie vergleichbar.

Zur Verbesserung der Prognose werden im Rahmen der Operation Lymphknoten entfernt, um das exakte Tumorstadium (N-Status) zu bestimmen und um eine

postoperative Therapie stadienadaptiert durchführen zu können. Die systematische Lymphknotendissektion, bei der in vordefinierten Bereichen (interlobär, hilär und mediastinal) alle Lymphknotenstationen und die dort vorhandenen Lymphknoten komplett entfernt werden, wird als Standard empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie 2018).

1.3.3 Therapiestandard bei lokal fortgeschrittenen NSCLC

Für das in der CHALLENGE-Studie betrachtete Stadium III des NSCLC gilt derzeit als Standardtherapie die kombinierte Radiochemotherapie (Leitlinienprogramm Onkologie 2018). Es wird aber empfohlen, betroffene Patienten in Studien zu behandeln. Da ca. 30 % der Patienten in den Stadien IIIA und IIIB erstdiagnostiziert werden, kommt der Forschung in diesem Bereich besondere Bedeutung zu (Thomas et al. 2002).

1.3.4 Relevante Studien der letzten Jahre

Erwähnt seien hier die Studien TRIBUTE, TALENT, INTACT 1 und 2, die sich in den letzten Jahren mit Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC und deren Ansprechen auf Tyrosinkinaseinhibitoren (TKI) beschäftigten.

Bereits 2005 verglichen Bell et al. die Studien IDEAL (Phase II) und INTACT (Phase III), in deren Rahmen Chemotherapie +/- TKI Gefitinib bei NSCLC geprüft wurde. In dieser retrospektiven Analyse wurde der Einfluss molekularer Veränderungen des EGFR auf Ansprechen und das Überleben in Abhängigkeit des TKI überprüft (Bell et al. 2005; Giaccone et al. 2004; Herbst et al. 2004).

Bei der IDEAL-Studie zeigte sich, dass EGFR-Mutationen insbesondere bei den klinischen Subgruppen zu finden waren, die einen Vorteil durch die Kombination Chemotherapie und TKI hatten, d.h. Adenokarzinom, Nieraucherstatus, weibliches Geschlecht und asiatische Ethnie. Die Studie INTACT konnte allerdings keinen statistischen Unterschied im Ansprechen auf Chemotherapie gegenüber Chemotherapie und Gefitinib nachweisen. Als Schlussfolgerung konnte gezogen werden, dass in der Gesamtgruppe der Patienten mit NSCLC zwar die Kombination von Gefitinib mit Chemotherapie gegenüber der alleinigen Verabreichung von Chemotherapie keinen Überlebensvorteil brachte, jedoch EGFR-mutierte Tumore ein

erhöhtes Ansprechen auf Gefitinib + Chemotherapie vs. Chemotherapie allein zeigten (Bell et al. 2005).

In der Phase III Studie TRIBUTE wurde Patienten mit fortgeschrittenen NSCLC (Stadium IIIB und IV) Carboplatin und Paclitaxel mit Erlotinib oder Placebo verabreicht. Die Studie zeigte keinen Vorteil von TKI + Chemotherapie vs. Chemotherapie in der Gesamtgruppe. In Subgruppenanalysen war jedoch nachweisbar, dass Patienten mit EGFR-Mutationen sowohl bessere Ansprechraten zeigten als auch länger lebten als Patienten mit EGFR-Wildtyp. Somit konnte die Hypothese aufgestellt werden, dass Patienten mit EGFR-Mutationen von einer Kombination EGFR-TKI (Erlotinib) und Chemotherapie profitierten (Eberhard et al. 2005).

Die Studie TALENT war ebenfalls eine Phase III Studie, die den TKI Erlotinib bei chemotherapienaiven Patienten einsetzte. Bei TALENT erhielt ein Studienarm Erlotinib mit bis zu sechs 21tägigen Zyklen Chemotherapie (Gemcitabine und Cisplatin), der andere Arm Placebo mit der identischen Chemotherapie. In der Studie konnten keine Unterschiede im Gesamtüberleben, in der Zeit bis zum Fortschreiten der Erkrankung, Ansprechraten oder Lebensqualität festgestellt werden (Gatzemeier et al. 2007).

Die Studie CHALLENGE hingegen setzt in lokal fortgeschrittenen Stadien IIIA und IIIB an, um Patienten eine umfangreiche Therapiemöglichkeit einschließlich einer operativen Therapie zu ermöglichen. Untersucht werden sollte das Ansprechen von vorher unbehandelten NSCLC Patienten auf eine Behandlung mit dem TKI Erlotinib, gefolgt von Chemotherapie mit oder ohne Erlotinib, Operation und Strahlentherapie (CHALLENGE Protokoll 2004). Die Studie wurde konzipiert, bevor aktivierende EGFR Mutationen bekannt waren und sollte durch translationale Analysen Subgruppen identifizieren, die potentiell von der Kombinationstherapie profitierten.

Nichtoperable Patienten oder die, die nicht an Studien teilnehmen können oder wollen, werden in der Regel der Standardbehandlung, der kombinierten Radio-Chemotherapie unterzogen (van Meerbeeck et al. 2008).

1.4 Stand der Forschung

1.4.1 Neue Therapieansätze in der Behandlung des NSCLC

Neben althergebrachten Therapiemöglichkeiten wie der chirurgischen Intervention sind seit den 1960er Jahren Chemotherapien verfügbar, die zunächst bei akuten Leukämien des Kindesalters und Hodgkin Lymphomen eingesetzt wurden. Die heute Verwendung findenden Substanzen sind in ihrer Effektivität und ihrem Nebenwirkungsspektrum den Vorgängern deutlich überlegen. Seit Anfang der 1990er Jahre ging man zusätzlich neue Wege und versuchte, neue Medikamente und sogenannte *targeted drugs* (zielgerichtete Therapien) zu entwickeln, um Tumore zielgerichtet in Angriff zu nehmen (DeVita and Chu 2008).

Als ein mögliches Ziel stellte sich beim Lungenkarzinom der epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor (*epidermal growth factor receptor, EGFR*) heraus (Veale et al. 1987).

1.4.2 Der epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor

Der epidermale Wachstumsfaktor Rezeptor ist ein einfach zu erreichendes Oberflächenantigen mit einer extrazellulären, transmembranen und intrazellulären Domäne (Yarden 2001). Der EGFR findet sich in den Zellmembranen von Wirbeltieren und bekleidet eine wichtige Funktion in der Wachstumskontrolle. Er zählt zur ErbB-Familie, welcher vier Rezeptortyrosinkinasen (RTK) angehören. Zu diesen zählen EGFR1/HER1 (ErbB-1), HER2/neu (ErbB-2), HER3 (ErbB-3) und HER4 (ErbB-4) (Abbildung 1). Diese RTK regeln das Wachstum von normalen Zellen bei Säugetieren. Aktiviert werden sie durch juxta- und parakrine Mechanismen. Bei Tumorzellen sind sie Bestandteil eines autokrinen Wachstumsregulationskreislaufs (Yarden 2001; Baselga 2002). Der EGFR ist ein 170 Kilodalton (kDa) großes transmembranes Protein und besteht als Monomer aus 1186 Aminosäuren. Er setzt sich aus einer extrazellulären Domäne, die Liganden binden kann, und einer Proteintyrosinkinasedomäne im Zytoplasma zusammen (Ennis et al. 1991).

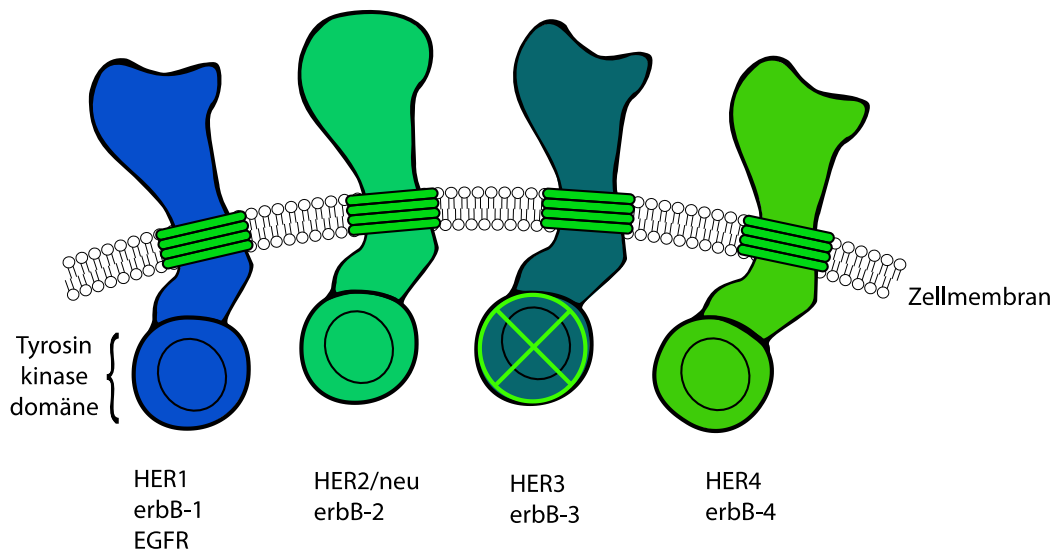


Abbildung 1: HER-Rezeptorfamilie. HER, *human epidermal growth factor receptor*. (modifiziert nach Hudis 2007). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung der Massachusetts Medical Society, Copyright 2007

Beim Menschen wird dieser Transmembranrezeptor mit intrinsischer Tyrosinkinaseaktivität in jeder Zelle exprimiert. Bekannte Liganden für den EGFR sind der epidermale Wachstumsfaktor (EGF), der transformierende Wachstumsfaktor (TGF-alpha) und Amphiregulin- bzw. Heparinbindendes EGF. Beim Menschen ist der TGF-alpha der am häufigsten exprimierte Ligand. Erfolgt nun eine Bindung eines Liganden an die extrazelluläre Domäne des EGFR, kommt es zur Dimerisierung (Abbildung 2).

Diese Dimerisierung aktiviert die intrinsische Proteinkinase über intermolekulare Autophosphorylierung in der zytoplasmatischen Domäne. Die nun phosphorylierten Tyrosinresiduen Tyr, Ser und Thr agieren als Bindungsstellen für zytoplasmatische Messengerproteine. Diese wiederum leiten eine Kaskade von Signalen vom Zytoplasma bis zum Zellkern ein und regulieren Mitogenese, Tumorzellwachstum

sowie Zellüberleben (Lammering 2003; Schmidt-Ullrich et al. 1999)

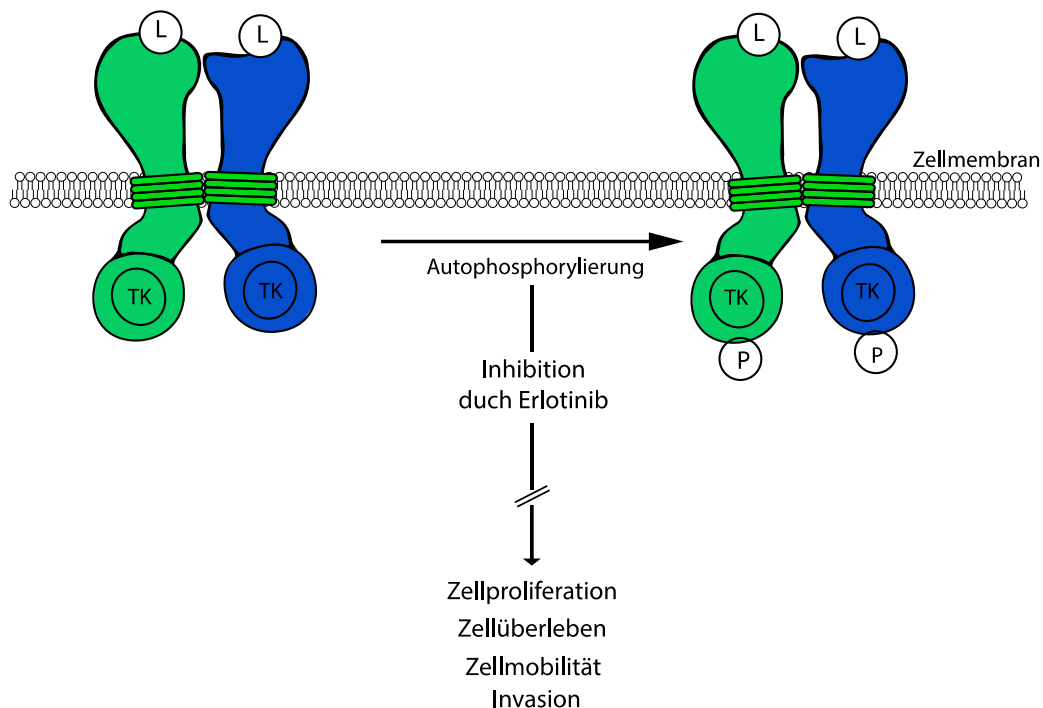


Abbildung 2: Dimerisierung nach Ligandenbindung. HER, *human epidermal growth factor receptor*; L, Ligand; P, Phosphor, TK Tyrosinkinase. (modifiziert nach Hudis 2007). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung der Massachusetts Medical Society, Copyright 2007

Zu den EGFR-abhängigen Signaltransduktionswegen bei Tumoren gehören Zellwachstum, Zelladhäsion, Migration, Neoangiogenese und Apoptosehemmung. Diese Mechanismen werden für die Tumorentstehung und –ausbreitung benötigt (Steins et al. 2010).

Da EGFR bei Tumorarten wie Brust-, Kolorektal-, Hirn- und Lungentumoren häufig überexprimiert wird, eignet sich dieses Oberflächenantigen zur zielgerichteten Antitumortherapie (Mamot und Rochlitz 2005; Mendelsohn 2002). Der aktivierende Mechanismus beim Lungenkarzinom sind jedoch EGFR-Mutationen, die bei zehn bis 15 % aller Patienten mit Adenokarzinom vorkommen und die zu einer konstitutiven Aktivierung des EGFR führen und damit zu einer unregulierten Proliferation sowie zu antiapoptotischen Signalen.

1.4.3 Zielgerichtete Therapien gegen EGFR: Monoklonale Antikörper und Tyrosinkinaseinhibitoren

Wie durchbricht man nun die Signalkaskade des Tumors?

Gegen den EGFR als Ziel gerichtete Substanzen finden momentan zwei Gruppen von Medikamenten klinische Anwendung:

Dies sind zum einen monoklonale Antikörper, zum anderen Tyrosinkinaseinhibitoren (i.e. Moleküle, die intrazelluläre Tyrosinkinasen inhibieren). Monoklonale Antikörper binden an die extrazelluläre Domäne des EGFR und verhindern kompetitiv die Bindung des natürlichen Liganden (Sato et al. 1983). Somit werden die Aktivierung des Rezeptors und die folgenden Signalkaskaden verhindert. Bekannte Vertreter sind Cetuximab (Erbix® bei Colonkarzinom) und Panitumumab (Vectibix®, ABX-EGF bei Colonkarzinom) (Gettinger 2008).

Tyrosinkinaseinhibitoren hingegen sind kleine Moleküle, die am intrazellulären Teil des EGFR angreifen. Durch Bindung eines Liganden an die extrazelluläre Domäne oder durch eine aktivierende Mutation wird der Rezeptor aktiviert und Tyrosinkinasen im Inneren der Zelle aktiviert. Reverse Tyrosinkinaseinhibitoren konkurrieren mit Adenosintriphosphat (ATP) an den intrazellulären ATP-Bindungsstellen der EGFR und unterbinden dadurch die Signalkaskaden (Mamot und Rochlitz 2005). Die Affinität von TKI ist gegenüber mutiertem EGFR höher als gegenüber WT EGFR. Abbildung 3 zeigt die Funktionsweise der TKI am Beispiel des reversiblen TKI Erlotinib.

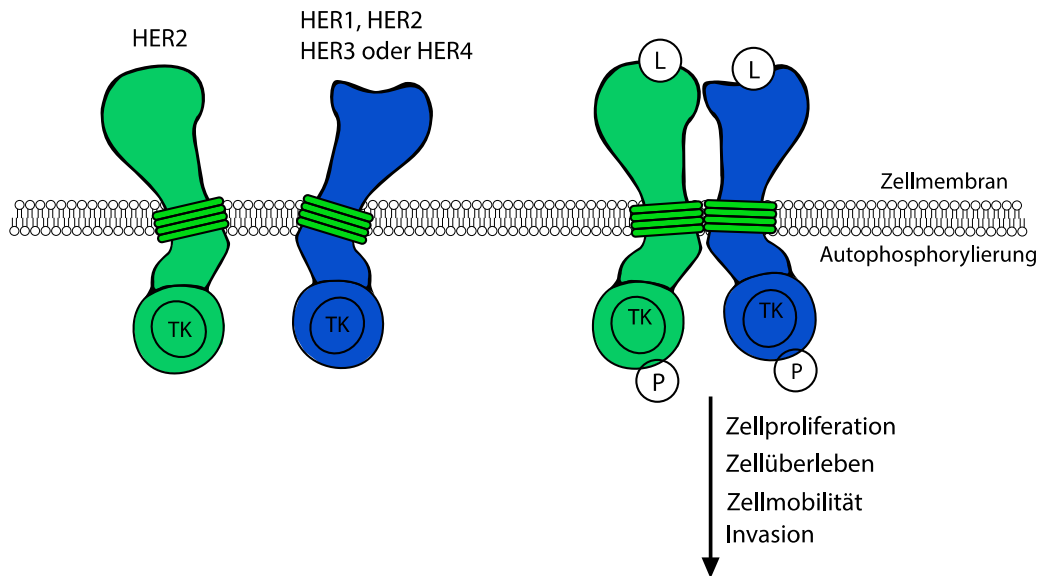


Abbildung 3: Inhibition durch TKI. HER, *human epidermal growth factor receptor*; L, Ligand; P, Phosphor; TK, Tyrosinkinase. (modifiziert nach Hudis 2007). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung der Massachusetts Medical Society, Copyright 2007

Es gibt verschiedene Arten von Tyrosinkinaseinhibitoren: reversible und irreversible EGFR-TKI. Die reversiblen TKI Gefitinib (Iressa®) und Erlotinib (Tarceva®, Abbildung 4) sind die Substanzen, die bei NSCLC in klinischen Studien am häufigsten verwendet und beschrieben wurden. Vertreter der Gruppe der irreversiblen TKI sind z.B. Neratinib und Afatinib. Ersterer wird in Studien bei fortgeschrittenem ErbB2-positivem Mammakarzinom untersucht (Burstein et al. 2010). Afatinib kam ebenfalls in Studien bei fortgeschrittenem NSCLC zum Einsatz und hemmt neben HER1 auch HER2 irreversibel. Zunächst wurde die Substanz bei Patienten untersucht, die zuvor Chemotherapie und Gefitinib oder Erlotinib erhalten hatten (Hirsh et al. 2013). Die Studien Lux Lung 3 und Lux Lung 6 untersuchten Afatinib in der Firstline-Behandlung gegen Chemotherapie bei Stadium IIIB und IV Patienten mit einer aktivierenden EGFR-Mutation. Der primäre Endpunkt PFS wurde in den Studien erreicht. Afatinib konnte das Gesamtüberleben zwar nicht in der ganzen Studienpopulation von LUX-

Lung 3 und LUX-Lung 6 verbessern, aber es fand sich ein verbessertes Gesamtüberleben bei Probanden mit del19 EGFR-Mutationen (Yang et al. 2015).

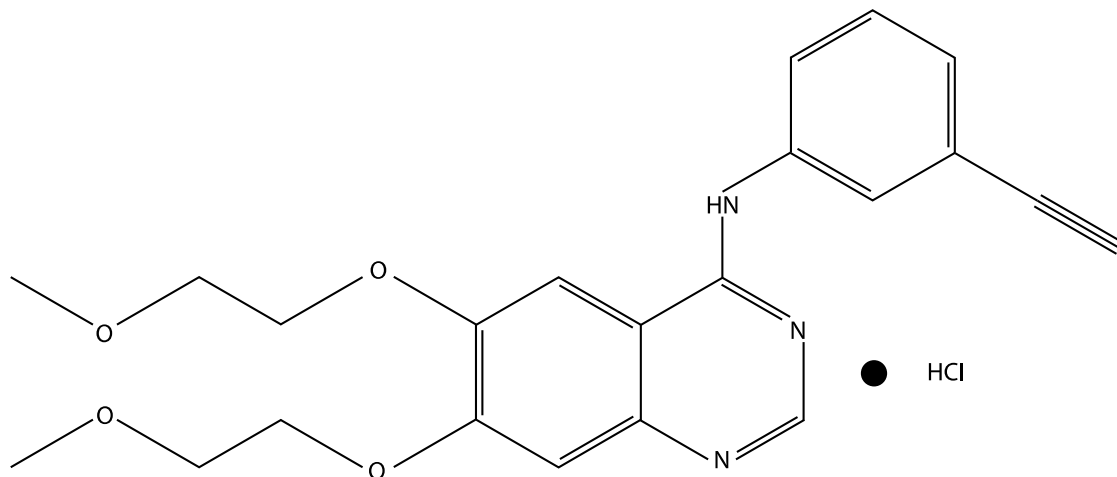


Abbildung 4: Erlotinib Hydrochlorid (Tarceva®) (Dowell et al. 2005). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung durch Springer Nature, Copyright 2005

Die im Jahr 2009 veröffentlichte IPASS-Studie (Iressa Pan-Asia Study) kam zu dem Ergebnis, dass bei der Erstbehandlung fortgeschrittener pulmonaler Adenokarzinome Gefitinib der Chemotherapie Carboplatin-Paclitaxel in Bezug auf ein progressionsfreies Überleben über zwölf Monate überlegen war bei Patienten mit einer aktivierenden EGFR-Mutation. Platinbasierte Chemotherapien wie Carboplatin-Paclitaxel stellten zu dem damaligen Zeitpunkt den Therapiestandard fortgeschrittener NSCLC dar. Die in diese Studie eingeschlossenen Patienten waren ostasiatischer Herkunft und Nichtraucher bzw. ehemalige leichte Raucher. Die Faktoren Ethnie, Raucherstatus und Tumorhistologie scheinen voneinander unabhängige Indikatoren für ein Vorliegen einer Mutation im EGFR-Gen zu sein. Solche Mutationen erwiesen sich in der Studie als starker prädiktiver Wert für ein Ansprechen auf Gefitinib. In der IPASS-Studie lag das Primärziel progressionsfreies Überleben in einem

Zwölfmonatszeitraum bei 24,9 % im Gefitinib-Arm und 6,7 % im Carboplatin-Paclitaxel-Arm. Es zeigte sich zudem, dass Patienten ohne EGFR-Mutation nicht von der zielgerichteten Therapie mit Gefitinib als Firstline-Therapie profitierten (Mok et al. 2009).

Gefitinib (Iressa®) ist in Deutschland neben Erlotinib (Tarceva®) und Afatinib (Giotrif®) für die Behandlung nichtkleinzelliger Lungenkarzinome zugelassen. Gefitinib ist indiziert bei erwachsenen Patienten, die an lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem NSCLC leiden und bei denen aktivierende Mutationen der EGFR-Tyrosinkinase vorliegen. Die Zulassung bzw. Verlängerung erfolgte Juni 2009 (Fachinformation Iressa® 2018; Fachinformation Giotrif® 2018).

Unter einer Behandlung von Erlotinib zeigten mehrere klinische Studien ein gutes Ansprechen in der Second-Line-Therapie. So konnten unter anderem Shepherd et al. (2005) in der placebo-kontrollierten Phase III Studie BR-21 postulieren, dass Patienten, die nach ein oder zwei vorausgegangenen Chemotherapien Erlotinib verabreicht bekamen, zu 8,9 % auf den TKI ansprachen und 43 % eine Erhöhung des medianen Überlebens von 4,7 auf 6,7 Monate aufwiesen.

Kaira et al. (2010) hingegen untersuchten den Effekt von Erlotinib bei Patienten, die zuvor erfolglos mit Gefitinib behandelt wurden. Hier kam man zu dem Ergebnis, dass womöglich diejenigen Patienten von Erlotinib profitieren, die zuvor unter Gefitinib lange Zeit eine stabile Erkrankung aufwiesen. EGFR-Mutationen indes konnten nicht als positiv prädiktiver Wert auf ein Ansprechen auf Erlotinib ermittelt werden.

In der SATURN-Studie wurden denjenigen chemotherapienaiven Patienten nach vier Zyklen platinhaltiger Kombinationschemotherapie (z.B. Cisplatin/Paclitaxel oder Cisplatin/Gemcitabine) Erlotinib verabreicht, die zuvor keinen Tumorprogress aufwiesen. Gegenüber Placebo zeigte sich hier eine signifikante Verbesserung um 41 % im progressionsfreien Überleben sowie eine ebenfalls signifikante Verbesserung des Gesamtüberlebens (Neal 2010).

Die in 22 chinesischen Zentren durchgeführte Phase 3 Studie OPTIMAL untersuchte bei Patienten mit histologisch gesicherten NSCLC Stadium IIIB und IV und aktivierenden EGFR-Mutationen (Exon 19 Deletion oder Exon 21 L858R Punktmutation) Erlotinib gegen Gemcitabine plus Carboplatin. Hier zeigte sich ein signifikanter Vorteil des Erlotinibarms gegen die Standardchemotherapie in Bezug auf progressionsfreies Überleben. Die Ergebnisse Zhous et al. (2015) legten die Gabe von Erlotinib als Firstline-Medikament bei EGFR-Mutations-positiven NSCLC Patienten nahe.

In Frankreich, Italien und Spanien wurden im Rahmen der Phase 3 Studie EURTAC NSCLC-Patienten der Stadien IIIB und IV mit EGFR-Mutationen (Exon 19 Deletion or L858R Mutation in Exon 21) untersucht. Ein Arm erhielt Erlotinib, der andere Standardchemotherapie mit Cisplatin plus Docetaxel oder Gemcitabine. Carboplatin mit Docetaxel oder Carboplatin mit Gemcitabine wurde Probanden verabreicht, die kein Cisplatin erhalten konnten. Die Ergebnisse dieser Studie legten eine routinemäßige Erhebung des EGFR-Mutationsstatus bei NSCLC-Patienten und eine Behandlung mit EGFR-Tyrosinkinaseinhibitoren bei denjenigen mit positivem Mutationsstatus nahe (Rosell et al. 2012).

In Deutschland sind Gefitinib, Erlotinib und Afatinib für die Erstlinienbehandlung des EGFR-mutierten NSCLC zugelassen, seit Ende 2018 auch der Drittgenerations-TKI Osimertinib. Erlotinib hat nach wie vor eine Zulassung in einer späteren Linie bei WT nicht-plattenepitheliales NSCLC (Fachinformation Tarceva® 2018), Afatinib eine Zulassung in der Drittlinientherapie des Plattenepithelkarzinoms. Zusammenfassend ist die überragende Wirkung von EGFR-TKI nur bei Patienten mit aktivierenden Mutationen zu sehen, so dass diese Medikamente hauptsächlich bei EGFR-Mutations-positiven Patienten aktuell eingesetzt werden.

1.4.4 Die Rolle von CT und PET

Eine wichtige Rolle kommt der Bildgebung zu. Diagnose, Staging und Verlaufskontrolle sind durch fortschreitende Technik mit Computertomographie und Positronenemissionstomographie genauer und zuverlässiger geworden.

Trotzdem ist oft ein invasives Staging mittels Mediastinoskopie vonnöten (Eberhardt et al. 1998).

Eine Metaanalyse aus dem Jahr 2005 über 17 Studien zeigte, dass die FDG PET in vielen Bezügen genauer im Erkennen von mediastinalen Lymphknotenmetastasen war als die CT. Die Sensitivität der PET beim Erkennen thorakaler Lymphknotenmetastasen lag zwischen 66 und 100 %. Die Spezifität lag zwischen 81 und 100%. Beim CT hingegen waren Sensitivität und Spezifität beim Erkennen der Lymphknotenmetastasen nur bei 20 bis 81 % und 44 bis 100 %. Zudem fand sich im PET ein hoher negativer prädiktiver Wert für das mediastinale Lymphknotenstaging. Ebenso ist die PET genauer im Auffinden von Metastasen und verbleibendem Tumormaterial nach Induktionstherapie. Nachteilig stellt sich jedoch die fehlende Präzision in Bezug auf die anatomische Lage des malignen Gewebes dar. Hier erscheint eine Korrelation von PET und CT sinnvoll (Birim et al. 2005).

Eine neue Möglichkeit ist das Nutzen von kombinierten Geräten, sogenannten PET-CTs. Diese vereinen die Vorzüge der beiden einzelnen Untersuchungen und gleichen die Nachteile aus. Zudem wird dem Patienten eine Untersuchung erspart und man erhält einen Zeitgewinn. Nach Cerfolio et al. (2004) ist eine integrierte PET-CT-Untersuchung in der Vorhersage des Stadiums I und II als auch des Tumor- und Lymphknotenstatus bei Patienten mit NSCLC der alleinigen PET-Untersuchung überlegen.

Kligerman und Digumarthy (2009) sehen in ihrem Review die PET/CT als die beste Möglichkeit zur Integration von anatomischen und physiologischen Daten. Daher ist die PET-CT auch integraler Bestandteil der Diagnostik von kurativ behandelbaren NSCLC zum Ausschluss von Fernmetastasen.

Yamamoto et al. (2006) postulieren, dass die FDG-PET das Potential hat, das Ansprechen auf Induktionsradiochemotherapie vorherzusagen. In einer Studie über 26 Patienten mit NSCLC wurde vor und nach Radiochemotherapie jeweils ein PET durchgeführt. Es fand sich eine gute Korrelation zwischen PET und histopathologischem Ansprechen. So konnten in 22 von 26 Fällen im PET nach Radiochemotherapie den Lymphknotenbefall präzise vorhersagen.

1.4.5 Stellenwert der Morphometrie

In der Behandlung des NSCLC kommt der Pathologie eine entscheidende Bedeutung zu. Im Jahre 2001 stellten Junker et al. eine Tumor-Regressions-Graduierung (tumor regression grading) vor. Diese Graduierung nach Junker bei neoadjuvanter Behandlung von Patienten mit NSCLC hat einen prädiktiven Wert hinsichtlich des Langzeitüberlebens. Untersucht wurden von April 1992 bis September 1995 in dieser Multicenter Phase II Studie 54 Patienten mit NSCLC der lokal fortgeschrittenen Stadien IIIA und IIIB. Nach Verabreichung einer Chemotherapie wurden geeignete Patienten operiert und anschließend einer Strahlentherapie unterzogen. Das pathologische Ansprechen auf die Therapie wurde in Regressionsgrade von I bis III eingeteilt.

Ein Regressionsgrad von I entsprach keinem Nachweis von Tumorregression durch die Behandlung, Regressionsgrad II wurde in IIa (> 10 % verbleibende Tumorzellen) und IIb (< 10 % verbleibende Tumorzellen) unterteilt. Regressionsgrad III entsprach einem kompletten Tumorrückgang ohne nachweisbares vitales Tumorgewebe in der Primärläsion und den mediastinalen Lymphknoten. (Junker et al. 2001).

Siehe hierzu auch die Tabelle Regressionsgrad nach Junker et al. unter Punkt 2.8.1.

Betticher et al. untersuchten ein 5-Jahres-Follow-Up einer Phase II Studie mit operierten NSCLC-Patienten mit Stadium IIIA pN2 auf prognostische Faktoren.

Es zeigte sich, dass die Wirksamkeit der Chemotherapie am Primärtumor, mediastinales Downstaging und komplette Tumorentfernung stark mit verbessertem Gesamtüberleben (OS) und ereignisfreiem Überleben (EFS) sowie vermindertem Risiko für Krankheitsrückfälle korrelierten.

Das Downstaging der Lymphknoten von N2 zu N1 und/oder N0 wurde als starker prognostischer Marker identifiziert (Betticher et al. 2006).

Auch bei den neuen innovativen Ansätzen einer Induktionstherapie mit einer reinen Immuntherapie oder einer Kombination von Immuntherapie und Chemotherapie wurde der Cut-off von 10 % vitalen Tumorzellen angewandt und hat sich als prognostisch sinnvoll erwiesen (Bott et al. 2018; Forde et al. 2018).

1.4.6 Überblick

Auch wenn die Forschung in den letzten Jahren bedeutende Fortschritte in der Behandlung nicht-kleinzelliger Lungenkarzinome gemacht hat und mehr Patienten Therapien mit kurativem Ansatz zur Verfügung stehen, ist die Gesamtprognose des NSCLC immer noch schlecht (Goldstraw et al. 2007).

Eine Verbesserung von Diagnostik zur Früherkennung als auch der kurativen Behandlung lokal fortgeschrittener Erkrankungen ist weiterhin vonnöten und Gegenstand der aktuellen klinischen als auch molekularen Forschung.

1.5 Fragestellung und Ziel

Ziel dieser Arbeit ist es, die Korrelation des morphometrischen Tumor-Ansprechens von nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen der Stadien IIIA und IIIB mit verschiedenen bildgebenden Verfahren (Spiral-CT und PET) unter Induktionstherapie mit dem Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib (Tarceva®) und nachfolgender Chemotherapie zu ermitteln.

Weiterhin soll untersucht werden, ob es einen Zusammenhang zwischen EGFR-Mutation und Ansprechen und Gesamtüberleben bei der Studienpopulation der CHALLENGE-Studie gibt.

In der CHALLENGE-Studie konnten in insgesamt 5 Zentren 16 Patienten eingeschlossen werden. Die Studienteilnehmer wurden einem Therapieregime mit Induktionstherapie durch Erlotinib unterzogen, es folgte Chemotherapie mit oder ohne Erlotinib, Operation und Strahlentherapie. Die Bildgebung erfolgte vor Beginn der Therapie, nach Induktionstherapie und nach Chemotherapie, um das Ansprechen klinisch zu beurteilen. Gewebeproben zur pathologischen Untersuchung wurden vor Beginn der Behandlung und im Rahmen der Operation entnommen.

Es wurde die Hypothese überprüft, dass Tumoransprechen in der Morphometrie und der Bildgebung übereinstimmen.

2 Material und Methoden

2.1 Die Studie CHALLENGE

Die Studie CHALLENGE, in deren Rahmen die Daten dieser Dissertation erhoben wurden, war eine multizentrische, prospektive Phase-II-Studie, die durch die Studiengruppe PROFILE (*Profiling and imaging in lung cancer*) durchgeführt wurde.

Die CHALLENGE-Studie wurde im Juli 2004 gestartet und befasste sich mit Patienten, die an einem pathologisch gesicherten nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom der Stadien IIIA (T1-3; N2) oder IIIB (T1-3; N3 oder T4, definiert als solitäre Metastase im selben Lungenlappen des Primärtumors, UICC 6; N2/3) litten.

Die Studie sah ein neoadjuvantes Konzept vor, d. h. eine vor der geplanten Operation durchzuführende Induktionstherapie bei einem Tumor, der primär nicht operiert werden konnte. Die Induktionstherapie bestand aus einer Chemotherapie und dem Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib (Handelsname Tarceva®). Ziel der Induktionstherapie war die Verkleinerung des Tumors – ein Downsizing – und potentiell die Reduktion des Operationsausmaßes des Tumors, sowie die effektive Behandlung von mediastinalen Lymphknoten – ein Downstaging. Die mediastinalen Lymphknoten sollten gewissermaßen sterilisiert werden, d. h. in ihnen sollten idealerweise nach Induktionstherapie keine vitalen Tumorzellen mehr vorzufinden sein. Zusätzlich erfolgte nach dem chirurgischen Eingriff eine lokale Bestrahlung, um Mikrometastasen zu vernichten (CHALLENGE Protokoll 2004).

2.1.1 Ziele der Studie

Das Primärziel der Studie war es, mittels Morphometrie die pathologische Ansprechrate (*pathologic response rate, pRR*) des Chemotherapie-Regimes Gemcitabin/Cisplatin mit oder ohne Erlotinibgabe zu ermitteln.

Sekundärziele war die Ansprechrate in der Bildgebung (*clinical response rate, cRR*), die anhand von CT und die metabolische Ansprechrate (*metabolic response rate, mRR*), die durch 18FDG-PET gemessen wurden. Die Untersuchungen erfolgten nach der Erlotinib-Induktionsphase sowie nach der Chemotherapie mit oder ohne Erlotinib.

Weitere Sekundärziele waren die Untersuchung des chirurgischen Eingriffs, die Zeit bis zum Therapieversagen (*time to treatment failure, TTF*), das progressionsfreie Überleben (*progression-free survival, PFS*), das Gesamtüberleben (*overall survival, OS*), die Lokalisierung der Tumorprogression, des Hämoglobinverlaufs während der Induktionsphase, der Toxizität des Regimes, Aussagekraft der Microarray-Analyse bei Diagnose und Operation, sowie die Korrelation der Ergebnisse der Microarray-Analyse mit dem klinischen und pathologischen Outcome (CHALLENGE Protokoll 2004).

2.1.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien waren ein Einverständnis des Patienten (Patienteninformation und Einwilligungserklärung: Informed Consent 1 und 2), ein pathologisch gesichertes NSCLC der Stadien IIIA (T1-3; N2) oder IIIB (T1-3; N3 oder T4, definiert als solitäre Metastase im selben Lungenlappen des Primärtumors; N2/3), alle Einteilungen erfolgten nach der UICC 6 Tumorklassifikation. Eingeschlossen wurden die Tumorhistologien Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom, großzelliges Karzinom und Mischtumore ohne Anteile eines kleinzelligen Karzinoms.

Ausschlusskriterien waren eine Schwangerschaft oder Stillzeit, ein Pancoast-Tumor oder ein T4 Tumor anders als in den Einschlusskriterien erwähnt, Mischtumore mit Anteilen eines SCLC, ein Befall supraklavikulärer Lymphknoten, die Diagnose anderer maligner Erkrankungen im Verlauf der letzten fünf Jahre, ausgenommen von CIS der Cervix und Hautkrebs, der nicht zum Typus Malignes Melanom gehört, eine erfolgte Radio- und Chemotherapie in den letzten fünf Jahren, eine Resektion von Primärtumoren, eine Behandlung mit Medikamenten in der Erprobung während der letzten 28 Tage und/oder eine Teilnahme in anderen klinischen Studien während der letzten zwölf Wochen, sowie eine vorherige Teilnahme an dieser Studie. Weiterhin waren Ausschlusskriterien bekannte psychische Erkrankungen in der Vorgeschichte sowie Umstände, die das Verstehen der Anforderungen der Studie beeinflussen und Erkrankungen, die laut Prüfarzt die Auswertung der Studie und die Sicherheit des Patienten gefährden (CHALLENGE Protokoll 2004).

2.1.3 Ablauf der Studie

Das Prozedere der Studie CHALLENGE ist wie in Abbildung 5 gegliedert:

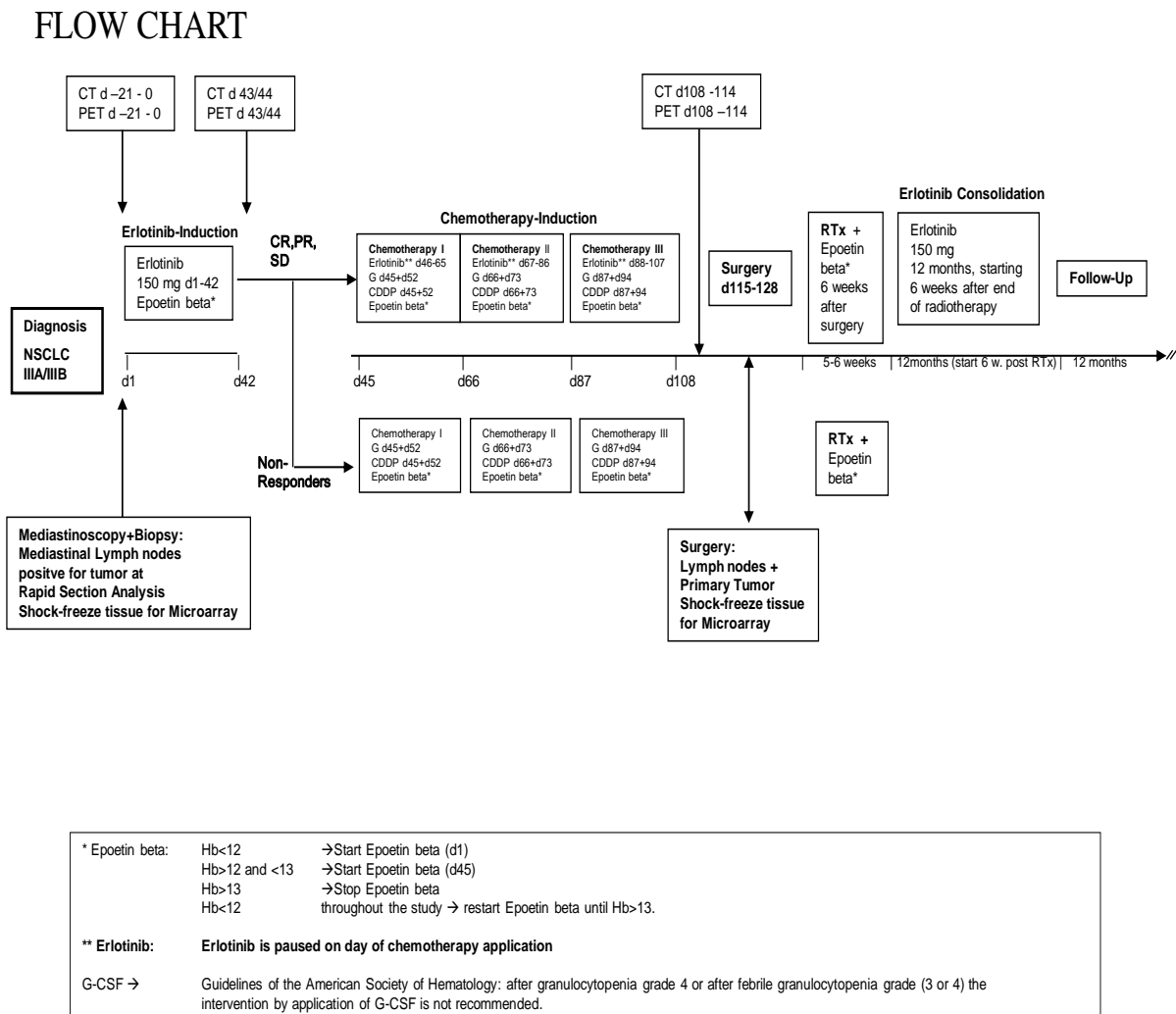


Abbildung 5: Flow Chart CHALLENGE (CHALLENGE Protokoll 2004). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung durch Prof. Dr. Griesinger

In der Induktionsphase wurde den Patienten über einen Zeitraum von 42 Tagen täglich 150 mg Erlotinib oral verabreicht. Anschließend erfolgte das 1. Restaging, bei dem der Erfolg der Induktionsphase nach 43 bzw. 44 Tagen mittels Computertomographie (CT) und 18-Fluor-Desoxy-Glucose-Positronenemissionstomographie (PET) ermittelt wurde. Es folgte eine Drei-Zyklen Kombinationschemotherapie mit 1250 mg/m² Gemcitabin und 50 mg/m² Cisplatin mit Verabreichung an d1 und d8 des Zyklus. Während dieses Zeitraums wurden den Patienten, die in der Induktionsphase auf Erlotinib angesprochen haben, weiterhin täglich 150 mg des Tyrosinkinaseinhibitors verabreicht. Pausiert wurde die Gabe nur an den Tagen der Verabreichung der

Chemotherapie. Im anschließenden 2. Restaging erfolgte an den Tagen 108-114 eine Bildgebung mit CT und 18FDG-PET. Danach wurden die Patienten einer Operation in Form einer Thorakotomie im Zeitraum zwischen Tag 115 und 128 unterzogen und der Tumor mittels Lobektomie oder Pneumonektomie entfernt. Es schloss sich eine Strahlentherapie an, bei der die Patienten fünf bis sechs Wochen mit 50 Gy adjuvant bestrahlt wurden. In der Konsolidierungsphase wurde den Patienten, die in der Induktionsphase auf Erlotinib angesprochen haben, sechs Wochen nach Ende der Strahlentherapie zwölf Monate täglich 150 mg Erlotinib verordnet. Während dieses Zeitraums wurde der weitere Krankheitsverlauf in dreimonatigen Kontrolluntersuchungen verfolgt. Es folgten Follow-Up-Untersuchungen in dreimonatigem Abstand über einen Zeitraum von zwölf Monaten.

2.2 Methodische Anlage der Untersuchung

Mit dem Ziel der Erfassung der pathologischen und klinischen Ansprechrate im Rahmen der CHALLENGE-Studie wurde das Augenmerk auf die Eingangsuntersuchung zum Tumorstaging mittels Spiral-CT und PET, auf die erste Restaging-Untersuchung mittels Spiral-CT und PET nach der Erlotinib-Induktionsphase, auf die zweite Restaging-Untersuchung mittels Spiral-CT und PET nach der Chemotherapiegabe +/- TKI, auf die morphometrische Analyse der operativ gewonnenen Tumor- und Lymphknotenproben, sowie auf die Mutationsanalyse des EGF-Rezeptors der Proben gelegt.

2.3 Durchführung der Untersuchung

Nach Abschluss der Studie wurden anhand der monitorierten Case-Report-Files (CRF) und der daraus hervorgegangenen Daten-CD die Daten erhoben. Verglichen wurden die Ansprechraten der Patienten in den jeweils zwei Verlaufs-CTs und -PETs mit dem mittels Morphometrie ermittelten pathologischen Ansprechen.

In der Mediastinoskopie wurden Lymphknotenproben entnommen. Nach Laser-Mikrodissektion erfolgte eine Mutationsanalyse der Proben. Die genaue Beschreibung hierzu erfolgt unter Punkt 2.8.2.

2.4 Teilnahme

Insgesamt wurden von den elf an der CHALLENGE-Studie teilnehmenden Zentren 54 Patienten gescreent. Es konnten zunächst insgesamt 27 Patienten von sechs Zentren eingeschlossen werden. Die Zentren, die Patienten einschlossen, waren die Abteilung Hämatologie und Onkologie der Universitätsmedizin Göttingen (Zentrum 01), die Klinik Löwenstein gGmbH (Zentrum 04), das Klinikum der Universität zu Köln (Zentrum 06), das Klinikum Ernst von Bergmann in Potsdam (Zentrum 09), das Evangelische Krankenhaus Bovenden-Lenglern (Zentrum 10) und das Malteser Krankenhaus St. Hildegardis in Köln (Zentrum 11). Die Patienten der Klinik Löwenstein konnten aufgrund von Protokollverletzungen mit fehlenden PET-Untersuchungen nicht herangezogen werden. Die 16 Patienten der übrigen fünf rekrutierenden Kliniken bilden die Gesamtstichprobe der Studie als auch dieser Dissertation.

2.5 Beschreibung der Stichprobe

Von den eingeschlossenen Patienten waren vier weiblichen und zwölf männlichen Geschlechts. Sämtliche eingeschlossenen Patienten waren von kaukasischer Ethnie. Der Altersdurchschnitt lag im Mittelwert zum Studieneintritt bei 62,9 Jahren, wobei die jüngste Patientin 46 Jahre und der älteste Patient 75 Jahre alt waren.

Die Tumorstadienaufteilung untergliedert sich in fünfmal Stadium IIIA und elfmal IIIB, worunter sich zwei Patienten mit einem T4 Tumor befanden.

Histologisch betrachtet überwogen acht Plattenepithelkarzinome gegenüber sieben Adenokarzinomen und einem gemischten Karzinom aus Adeno- und Plattenepithelkarzinom.

Die Verteilung der verschiedenen histologischen Typen auf die Stadien ergab zwei Adenokarzinome und drei Plattenepithelkarzinome bei Stadium IIIA.

Fünf Adenokarzinome, fünf Plattenepithelkarzinome und ein Mischtyp Adeno-/Plattenepithelkarzinom kamen bei Stadium IIIB vor (Tabelle 1).

Tabelle 1: Gesamtstichprobe CHALLENGE

Patienten Charakteristika	n	%
Patienten	16	100
Alter in Jahren		
Mittelwert	62,9	
Spannweite	46-75	
Unter 65 Jahre	8	50
Über 65 Jahre	8	50
Geschlecht		
Weiblich	4	25
Männlich	12	75
Histologischer Subtyp		
Adenokarzinom	7	43,75
Plattenepithelkarzinom	8	50
Mix Adeno/Platte	1	6,25
Grading		
I	1	6,25
II	10	62,5
III	2	12,5
Unknown	3	18,75
cT-Status		
T1	0	0
T2	12	75
T3	2	12,5
T4	2	12,5
cN-Status		
N0	0	0
N1	0	0
N2	6	37,5
N3	8	50
Nx	2	12,5

Fortsetzung Tabelle 1: Gesamtstichprobe CHALLENGE

Patienten Charakteristika	n	%
Pathologisches Stadium		
IIIA	5	31,25
IIIB	11	68,75
Raucherstatus		
Aktiver Raucher	9	56,25
Ehemaliger Raucher	4	25
Nieraucher	2	12,5
Unbekannt	1	6,25

Anmerkung: Mit der Erhebung des klinischen Stadiums (cTcN) erfolgte zusätzlich eine Sicherung des mediastinalen Befalls durch pathologische Untersuchung.

2.6 Klinisches Ansprechen

Die klinische Ansprechrates wurde mittels Hoch-Resolutions-Computertomographie des Thorax ermittelt. Als komplette Remission (CR) wurde ein vollständiges Verschwinden aller Zielläsionen gewertet. Partielle Remission (PR) bedeutete eine Reduktion von mindestens $\geq 30\%$ der Summe der größten Längendiameter der Zielläsionen. Eine stabile Erkrankung (*stable disease*, SD) wurde definiert als Tumorreduktion von $< 30\%$ bzw. Wachstum von $< 20\%$ nach RECIST. Eine Zunahme des Tumors $\geq 20\%$ der Summe der Längendiameter der Zielläsionen wurde als Progress (*progressive disease*, PD) bezeichnet.

2.7 Metabolisches Ansprechen

Die metabolische Ansprechrates wurde mit F-18-Fluor-Desoxy-Positronenemissionstomographie (FDG-18-PET) ermittelt. Die Auswertung erfolgte nach dem EORTC Protokoll.

Dabei wurde als Progress (*progressive metabolic disease*, PD = PMD) eine Zunahme des [18F]-FDG *tumor standardized uptake value* (SUV) um mehr als 25 % oder neu aufgetretene [18F]-FDG Anreicherung in Metastasen gewertet.

Als stabile Erkrankung (*stable metabolic disease, SD = SMD*) wurde eine Zunahme des [18F]-FDG Tumor SUV um weniger als 25 % oder eine Abnahme um weniger als 15 % diagnostiziert.

Als Partielles Ansprechen (*partial metabolic response, PR = PMR*) wurde eine Reduktion des [18F]-FDG Tumor SUV von mindestens 15 - 25 % gewertet.

Komplette Remission (*complete metabolic response, CR = CMR*) sollte ein komplettes Verschwinden einer [18F]-FDG Anreicherung sein (Young et al. 1999).

2.8 Pathologie

2.8.1 Morphometrie

Nach erfolgtem chirurgischem Eingriff wurden sowohl Primär- als auch Sekundärläsionen morphometrisch untersucht und nach Junker et al. ausgewertet (Junker et al. 2001, Tabelle 2).

Tabelle 2: Regressionsgrad nach Junker

Regressionsgrad Definition
I: Keine oder nur geringe (im Allgemeinen spontane) Tumorregression
II: Unvollständige Tumorregression
II a: Mehr als 10 % vitales Tumorgewebe bei Zeichen der Tumorapoptose bzw. -nekrose
II b: Weniger als 10 % vitales Tumorgewebe bei Zeichen der Tumorapoptose bzw. -nekrose
III: Vollständige Tumorregression ohne Nachweis vitalen Tumorgewebes

2.8.2 Mutationsanalyse

Nach Mikrodissektion unter einem Lasermikroskop wurde die DNA extrahiert und mittels PCR amplifiziert. Die Amplifikationsprodukte für die EGFR-Exons 18 bis 21 wurden mittels Sanger-Sequenzierung in beide Richtungen analysiert.

2.8.2.1 DNA-Extraktion aus FFPE-Gewebe

Aus Formalin-fixiertem Paraffin-eingebettetem (FFPE) Gewebe wurden Mikrotomschnitte (5 µM-Dicke) angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt.

Durch einen Pathologen erfolgte die Bestimmung des Tumorgehaltes. Die Tumorzellen wurden je nach Anzahl der Tumorzellen manuell oder mittels Laser-Capture-Mikroskopie (Leica LMD6500) mikrodisssektiert, entparaffiniert und die DNA wurde nach Angaben des Herstellers aus dem Gewebe extrahiert (NucleoSpin® Tissue Kit Fa. Macherey-Nagel).

2.8.2.2 Mutationsnachweis mittels direkter PCR (BRAF, EML4-ALK) bzw. PCR mit anschließender Sanger-Sequenzierung (EGFR, KRAS, TP53)

Das BRAF-Gen wurde auf die Mutationen in den Codons V600E (Exon 15) und G469A (Exon 11) mittels PCR („allelic discrimination“ durch MGB-Sonden) am StepOne LightCycler (Applied Biosystems) analysiert.

Der PCR-Test auf EML4-ALK Translokationen erfolgte durch eine Fragmentanalyse mit für die Fusionsvarianten V1-V7 spezifischen Primern.

Zur Mutationsanalyse der Gene EGFR (Exons 18-21), KRAS (Codons 12/13/6, entsprechend Exons 2,3) und TP53 (Exons 5-9) wurden die entsprechenden Genabschnitte zunächst durch eine PCR und die Amplifikate wurden mittels Fragmentanalyse am 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems, ABI) auf Erfolg kontrolliert.

Nach Aufreinigung der PCR-Produkte QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen) wurde eine Sequenzierungsreaktion angesetzt (Tabelle 3-5). Die Sequenzierungs-Reaktion wurde im Thermocycler 2720 (Applied Biosystems) durchgeführt und anschließend mittels DyEx2.0 SpinKit (Quiagen) geeinigt, die Sequenzanalyse wurde am 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems) durchgeführt.

2.8.2.3 Immunhistochemie cMet

Zur immunhistochemischen Bestimmung der cMet-Expression wurde aus Formalin-fixiertem Paraffin-eingebettetem (FFPE) Gewebe Mikrotomschnitte (0,5µM) angefertigt, auf Objektträger gebracht und automatisiert (Bond Max, Menarini) mit einem cMet Antikörper (Zytomed, Klon SP44, 1:50 Verdünnung) inkubiert und mittels

HRP-DAP visualisiert. Die Auswertung des Expressionsstatus (Skala 0, 1+, 2+, 3+, entsprechend schwach bis stark) erfolgte durch einen Pathologen.

Tabelle 3: Primer und Sonden

Primer/MGB-Sonden	Sequenz (5'-3')
<i>Primer EGFR (Exons 18-21)</i>	
Exon 18 FOR	AGGGCTGAGGTGACCCTTG
Exon 18 REV	CCTGTGCCAGGGACCTTAC
Exon 19 FOR	TGTCATAGGGACTCTGGATCC
Exon 19 REV	GGGCCTGAGGTTTCAGAGCC
Exon 20 FOR	CGAAGCCACACTGACGTGC
Exon 20 REV	CCCGTATCTCCCTTCCCTG
Exon 21 FOR	TTCTCTGTTTCAGGGCATGAAC
Exon 21 REV	GTGGGAAGGCAGCCTGGTC
Sequenzierprimer EGFR (nur wenn abweichend)	
Exon 20 FOR	CGAAGCCACACTGACG
Exon 20 REV	GATTACCTTTGCGATCTG
Exon 21 FOR	TTCTCTGTTTCAGGGCAT
Exon 21 REV	GTGGGAAGGCAGCCT
<i>Primer EML4-ALK</i>	
EML4-Exon2 FOR	CTGAAGATCATGTGGCCTCAG
EML4-Exon5 FOR	ATGATAGCCGTAATAAATTGTCG
EML4-Exon13 FOR	TGGAGTCATGCTTATATGGAGC
EML4-Exon14 FOR	TGTGTTCCACACTTTGTCAGATG
EML4-Exon17 FOR	ACTGTGCAGATTTTCATCCAAG
EML4-Exon20 FOR	ATCACACACCTTGACTGGTCC
ALK1 REV	CTTGCTCAGCTTGTACTCAG
<i>Primer KRAS (Codon12/13)</i>	
FOR	TATAAGGCCTGCTGAAAATGAC
REV	TTGTTGGATCATATTCGTCCAC
<i>Primer KRAS (Codon61)</i>	
FOR	CTCCCTTCTCAGGATTCCTAC
REV	TGGCAAATACACAAAGAAAGCC

Fortsetzung Tabelle 3: Primer und Sonden

Primer/MGB-Sonden	Sequenz (5'-3')
<i>Primer BRAF V600E</i>	
FOR	TCTTCATGAAGACCTCACAGTA
REV	GCCTCAATTCTTACCATCCAC
<i>Sonden BRAF V600E</i>	
WT	VIC-CTACAGTGAAATCT
Mut	6FAM-CTACAGAGAAATCT
<i>Primer BRAF G469A</i>	
FOR	ACTTGGTAGACGGGACTCG
REV	TTACCATGCCACTTTCCCTTG
<i>Sonden BRAF G469A</i>	
WT	6FAM-CTGGATCATTGGAACAGT
Mut	VIC-CTGGATCATTGCAACAGT
<i>Primer TP53 (Exons 5-9)</i>	
Exon 5 FOR	GTGCCCTGACTTTCAACTCTG
Exon 5 REV	CAACCAGCCCTGTCGTCTC
Exon 6 FOR	CTCAGATAGCGATGGTGAGC
Exon 6 REV	ACCCAGTTGCAAACCAGAC
Exon 7 FOR	CCCTGCTTGCCACAGGTCTC
Exon 7 REV	ACAGCAGGCCAGTGTGCAG
Exon 8 FOR	ACCTGATTTCTTACTGCCTC
Exon 8 REV	GTGAATCTGAGGCATAACTGC
Exon 9 FOR	GCAGTTATGCCTCAGATTCAC
Exon 9 REV	AAGAGGTCCCAAGACTTAGTAC
Sequenzierprimer TP53 (wenn abweichend)	
Exon 5 FOR	GCCCTGACTTTCAACTCTG
Exon 6 FOR	CAGATAGCGATGGTGAGC
Exon 6 REV	CCCAGTTGCAAACCAGAC
Exon 7 FOR	CTGCTTGCCACAGGTCTC
Exon 7 REV	AGCAGGCCAGTGTGCAG
Exon 8 FOR	CTGATTTCTTACTGCCTC
Exon 8 REV	GAATCTGAGGCATAACTGC
Exon 9 FOR	CAGTTATGCCTCAGATTCAC
Exon 9 REV	GAGGTCCCAAGACTTAGTAC

6FAM, 6-Carboxyfluorescein; VIC, modifications of *Aequorea victoria* green fluorescent protein

Tabelle 4: Ansatz Sequenzierungsreaktion (Sanger)

Reagenzien	µl/Reaktionsansatz
ddH ₂ O	3
gereinigtes PCR-Produkt	2
2,5x Sequenzierpuffer	2
Primer (1,5µM)	2
Big-Dye Mix	2
Gesamtvolumen	10µl

Reagenzien aus BigDye® Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (AppliedBiosystems)

Tabelle 5: PCR- und Sequenzierungs-Bedingungen

PCR	Cycler	Primer-Annealing	Extension	# Zyklen
EGFR	Thermocycler 2720, ABI	61°C, 0:30min	72°C, 0:30min	40
EML4-ALK	Thermocycler 2720, ABI	60°C, 0:30min	72°C, 0:30min	45
KRAS	Thermocycler 2720, ABI	60°C, 0:30min	72°C, 0:30min	40
BRAF	StepOne, ABI	60°C, 0:60min		50
TP53	Thermocycler 2720, ABI	62°C, 0:30min	72°C, 1:30min	42
Sequenzierung	Thermocycler 2720, ABI	55°C, 0:30min	60°C, 4:00min	27

2.9 Überlebenswahrscheinlichkeiten

Die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeiten erfolgte mit Hilfe des Kaplan-Meier-Schätzers mittels der Software IBM SPSS in der Version 25.

2.10 Datenschutz und Genehmigung durch die Ethik-Kommission

Die Studie CHALLENGE wurde von der Ethik-Kommission der Universitätsmedizin Göttingen unter der Antragsnummer 30/3/04 genehmigt.

Die Patientendaten wurden durch Verwendung der Initialen und einer Patientennummer geschützt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinisches Ansprechen in der TKI-Induktionsphase (CT/PET) (Restaging 1)

Nach 42 Tagen Induktionstherapie mit dem TKI Erlotinib wurde an den Tagen 43 bzw. 44 das erste Restaging mittels CT und PET durchgeführt. In der Induktionsphase mit TKI erhielten alle 16 Patienten Erlotinib. Bei keinem dieser 16 Patienten war ein kompletter Rückgang der Tumormasse zu beobachten. Somit gab es keine Komplettremission (CR). Zwei Patienten zeigten eine Reduktion der Tumormasse um mehr als 30 %, was einer partiellen Remission (PR) entspricht. Bei acht Patienten hatte der Tumor keinen Größenzuwachs bzw. eine Größenabnahme von weniger als 20 % und dies wurde daher als Stable Disease (SD) gewertet. Bei sechs Patienten kam es zu einem Größenzuwachs der Tumormasse. Dies galt als Progressive Disease (PD) (Tabelle 6).

Tabelle 6: Ansprechen der Patienten in der Induktionsphase

Ansprechen	Anzahl der Patienten
Gesamt Induktionsphase	16
Komplette Remission (CR)	0
Partielle Remission (PR)	2
Stable Disease (SD)	8
Progress (PD)	6

Daraus geht hervor, dass die Mehrheit der Patienten in der Induktionsphase keinen Tumorprogress bzw. eine partielle Tumorremission hatte. Diese zehn Patienten erhielten nun weiterführend Erlotinib ergänzend zur anschließenden Chemotherapie. Allerdings sprachen direkt nur zwei Patienten auf den TKI an und zeigten eine partielle Remission unter Erlotinib.

3.2 Klinisches Ansprechen nach Chemotherapie +/- TKI (CT/PET)

16 Patienten erhielten nach Erlotinib-Induktion die nachfolgende Chemotherapie mit (n=10) oder ohne (n=6) Erlotinib. Das Ansprechen der Chemotherapie +/- Erlotinib war bei 15 von 16 Patienten auswertbar, ein Patient (Nr. 09-046) verstarb unter der Chemotherapie an einem Herzinfarkt und konnte deshalb für das Ansprechen nicht ausgewertet werden. Die Systemtherapie führte bei 9 von 15 Patienten zu partieller Remission (PR), bei 4 von 15 Patienten zu Stable Disease (SD) und bei 2 von 15 Patienten zu einem Progress der Erkrankung (PD). Kein Patient erreichte eine Komplettremission (CR).

Erhebt man das Ansprechen der Patienten, die während der Chemotherapie Erlotinib erhielten, lässt sich feststellen, dass von den neun für das Ansprechen auswertbaren Probanden, die in der Induktion auf Erlotinib keinen Progress hatten, nun fünf von neun Probanden partielles Ansprechen aufwiesen (PR bei Patienten 01-003, 01-005, 06-014, 01-034 und 09-048). Weiterhin wurde bei drei von neun Patienten ein Stable Disease (SD) erreicht (Patienten 01-007, 01-008 und 06-049). Bei einem von neun Patienten (Patient 01-026) wurde eine Tumorprogression (PD) dokumentiert (Tabelle 7).

Tabelle 7: Ansprechen auf Chemotherapie mit TKI (Restaging 2)

Ansprechen	Anzahl der Patienten
Gesamt Chemotherapie + TKI	10
Komplette Remission (CR)	0
Partielle Remission (PR)	5
Stable Disease (SD)	3
Progress (PD)	1
Tod während CTx	1

Von den sechs Erlotinib-Progressern waren alle für das Ansprechen auswertbar: 4 von 6 Patienten erzielten eine partielle Remission auf die Chemotherapie an (PR bei Patienten 01-001, 01-009, 01-011 und 10-042). Ein Patient wies Stable Disease auf (11-018). Patient 01-031 hatte einen Tumorprogress unter Chemotherapie (Tabelle 8).

Tabelle 8: Ansprechen auf Chemotherapie ohne TKI (Restaging 2)

Ansprechen	Anzahl der Patienten
Gesamt Chemotherapie ohne TKI	6
Komplette Remission (CR)	0
Partielle Remission (PR)	4
Stable Disease (NC/SD)	1
Progress (PD)	1

Die Ansprechraten im RS2 der Patienten mit und ohne TKI sind bei kleiner Patientenzahl etwa vergleichbar.

3.3 PET und CT im Vergleich

Beim ersten Restaging wurde neben dem CT auch ein PET durchgeführt. Bei zwei Patienten, die im Restaging 1 im CT bzw. im Röntgen-Thorax progredient waren, wurde auf die Durchführung eines PET verzichtet. Aussagen über die Konkordanz von CT und PET ließen sich daher bei 14 Patienten machen. Das Ansprechen im PET wurde – wie unter 2.7 beschrieben – mittels der Veränderungen des SUV nach den Kriterien der EORTC bestimmt (Young et al. 1999). Im ersten Restaging nach Erlotinib-Induktion stimmten 10 von 14 PET- und CT-Untersuchungen überein. Bei Patienten 01-007 und 06-049 erbrachte das CT Stable Disease (SD), das PET eine partielle Remission (PR). Patient 10-042 wies im CT ein PD, im PET eine Stable Disease auf. Patient 09-048 zeigte im CT ein SD, im PET einen Progress (PD). Bei Patient 01-011 erfolgte kein PET zum ersten Restaging, nachdem im CT ein offensichtlicher Progress mit neuen, rechts zentral gelegenen retrosternalen Lymphknoten-Metastasen festgestellt wurde. Ein Vergleich ist hier somit mit dieser Fragestellung nicht möglich. Bei Patient 11-018 wurde in einer Röntgen-Thorax-Aufnahme ein Progress festgestellt.

Es unterblieben in dem externen Zentrum daraufhin sowohl CT- als auch PET-Untersuchungen (Tabelle 9).

Tabelle 9: Ansprechen in PET und CT nach Erlotinib-Induktionstherapie im 1. Restaging und die aufgetretenen Diskrepanzen

PET						
CT		Komplette Remission	Partielle Remission	Stable Disease	Progress	n. d.
	Komplette Remission	0	0	0	0	0
	Partielle Remission	0	2	0	0	0
	Stable Disease	0	2	5	1	0
	Progress	0	0	1	3	1
	n. d.	0	0	0	0	1

n. d., *not done*, nicht erfolgt

Im Restaging nach Chemotherapie (RS2) stimmten alle Untersuchungen in CT und PET bis auf eine Ausnahme überein: Bei Patientin 01-007 war im CT eine stabile Erkrankung (SD) und im PET ein partiales Ansprechen (PR) zu beobachten.

Patient 09-046 verstarb während der Chemotherapie an einem Myokardinfarkt und es konnte somit kein Restaging erfolgen.

Patient 01-011 erhielt wie oben bereits erwähnt beim ersten Restaging keine PET-Untersuchung (Tabelle 10).

Tabelle 10: Restaging 2 nach Chemotherapie

PET					
CT		Komplette Remission	Partielle Remission	Stable Disease	Progress
	Komplette Remission	0	0	0	0
	Partielle Remission	0	8	0	0
	Stable Disease	0	1	2	0
	Progress	0	0	0	2

3.4 Operation

Insgesamt konnten 12 von 16 Patienten operiert werden. Nicht operiert wurden die Probanden 01-026 (Fernmetastasen in Nebenniere in RS2), 01-031 (Fernmetastasen in Leber in RS2), 09-046 (verstarb während der Chemotherapie) und 06-049 (verweigerte die Operation, Therapieabbruch nach Chemotherapie).

Von den zwölf Patienten erhielten zwei eine Pneumonektomie links (01-007 und 01-008), fünf eine Pneumonektomie rechts (01-001, 01-005, 01-009, 01-011 und 11-018), vier eine Lobektomie links (01-003, 01-034, 10-042 und 09-048) und ein Patient eine Lobektomie links (06-014) (Tabelle 11).

Tabelle 11: Operierte Patienten

OP-Art	Häufigkeit	rel. Häufigkeit in %
Pneumonektomie links	2	16,7
Pneumonektomie rechts	5	41,7
Lobektomie links	4	33,3
Lobektomie rechts	1	8,3
Gesamt	12	100

Die überlebenden nicht-operierten Patienten erhielten unterschiedliche Weiterbehandlungen:

Patient 01-026 hatte einen Progress in RS2 mit einer Fernmetastase in der Nebenniere sowie Hirnmetastasen. Er wurde nicht operiert und erhielt keine Strahlentherapie nach Induktion. Er erhielt eine cerebrale Bestrahlung und eine Second Line Therapie mit Permetrexed (Alimta®).

Patient 01-031 hatte einen unklaren Befall von supraklavikulären Lymphknoten rechts und Lymphknoten im Leberhilus, welche unter der Chemotherapie an Größe abnahmen. Der Patient wurde im Verlauf dann als T4 gewertet und erhielt anstelle der drei Zyklen Gemcitabine und Carboplatin vier Zyklen und er wurde nicht operiert.

Der Patient wurde in einer onkologischen Praxis weiterbehandelt, der weitere Verlauf ist uns nicht bekannt.

Patient 06-049 brach die Therapie ab. Ob und wie der Patient eine Weiterbehandlung erhielt, ist uns nicht bekannt.

3.5 Morphometrie

Nach der Induktionstherapie erfolgte die Ermittlung der Regressionsgrade nach Junker et al. Diese konnte bei zwölf Patienten durchgeführt werden.

Bei vier Patienten (01-026, 01-031, 09-046 und 06-049) konnte wie bereits oben erwähnt keine morphometrische Erfassung durchgeführt werden, da sie nicht operiert wurden und somit keine Präparate zur Verfügung standen.

Die morphometrische Analyse der zwölf Präparate ergab siebenmal Regressionsgrad II B und viermal Regressionsgrad II A, sowie einmal Regressionsgrad I (Tabelle 12).

Laut Junker et. al. sind somit die erstgenannten sieben Patienten aus morphometrischer Sicht Responder und haben auf die Therapie angesprochen. Die übrigen fünf Patienten gelten als Non-Responder.

Tabelle 12: Morphologisches Ansprechen nach Junker

Regressionsgrad	Anzahl der Patienten
I	1
II a	4
II b	7
III	0

Patienten mit Regressionsgrad I und II a werden als „Non-Responder“, solche mit II b und III als „Responder“ zusammengefasst. IIb entspricht MPR, III pCR

3.6 Korrelation zwischen Morphometrie und CT/PET

Vergleicht man die Ergebnisse der Bildgebung des zweiten Restagings (RS2) mit den zwölf vorliegenden Tumorpräparaten (Tabelle 13), sieht man, dass unter den pathologischen Non-Respondern vier Patienten eine partielle Remission nach der Chemotherapie und ein Patient eine Stable Disease aufwies (11-018 bei Junker Grad I).

Die sieben Patho-Responder erbrachten fünfmal partielle Remission und zweimal Stable Disease. Die Daten sind hier für CT und PET nicht getrennt dargestellt, da im 2. Restaging eine hundertprozentige Konkordanz zwischen PET und CT zu beobachten war (Tabelle 13).

Tabelle 13: Korrelation Bildgebung CT/PET in RS2 und Morphometrie nach Junker

Ansprechen CT/PET	Responder (Junker IIB)	Non-Responder (Junker I/IIA)
CR	0	0
PR	5	4
SD	2	1
PD	0	0

CR, complete remission; PR, partial remission; SD, stable disease; PD, progressive disease

3.7 Mutationsanalyse

Im Rahmen der CHALLENGE-Studie wurden mehr Patienten mit Wildtyp des EGF-Rezeptors (keine aktivierende Mutation) mit TKI behandelt.

Eine nachgewiesene Mutation hatten Patient 06-014 mit einer EGFR-Mutation in Exon 19 (p.E746_R748del) und Patient 01-034 in Exon 18 (p.P694L). Patient 06-014 sprach in der Induktionsphase auf Erlotinib mit PR, Patient 01-034 mit SD an.

Patient 01-005 hatte wie Patient 06-014 eine PR nach Erlotinib Induktion, somit lag bei diesem Patienten mit hoher Wahrscheinlichkeit eine EGFR-Mutation vor, wenn auch diese nicht nachweisbar war (Sensitivität der Methode, degradierte DNA).

Der Patient starb am 15.04.2005 an einer Aspergilluspneumonie.

Bei Proband 01-026 wurden keine Mediastinoskopie und keine Operation durchgeführt. Bei der Probeentnahme mittels Bronchoskopie wurden keine Proben eingefroren. Bei Patient 06-049 gibt es keine Proben (Tabelle 14).

Tabelle 14: Mutationen/Ansprechen/Gesamtüberleben

Patienten-ID	EGFR	Andere Mut.	Response Induktion	Response CTx	OS (01.10.2017)
01-001	WT	KRAS, TP53	PD	PR	159 m, 7 d
01-003	WT	TP53	SD	PR	15 m, 25 d
01-005	Qualität nicht ausreichend	Qualität nicht ausreichend	PR	PR	7 m, 28 d
01-007	WT	KRAS	SD	SD	154 m, 11 d
01-008	WT	TP53	SD	SD	57 m, 22 d
01-009	WT	TP53	PD	PR	11 m, 27 d
01-011	WT	TP53	PD	PR	9 m, 10 d
06-014	Mut. in Exon 19	-----	PR	PR	72 m, 23 d
11-018	WT	TP53	PD	SD	14 m, 12 d
01-031	WT	TP53	PD	PD	11 m, 4 d
01-034	Mut. in Exon 18	-----	SD	PR	49 m, 20 d
10-042	WT	TP53	PD	PR	7 m, 28 d
09-048	WT	TP53	SD	PR	13 m, 4 d

CTx, Chemotherapie; EGFR, *epidermal growth factor receptor*; KRAS, *Kirsten rat sarcoma viral oncogene*; Mut., Mutation; OS, *overall survival*, Gesamtüberleben; PD, *progressive disease*; PR, *partial remission*; SD, *stable disease*; TP53, Tumorprotein P53; WT, Wildtyp; m, Monat; d, Tag

3.8 Strahlentherapie

Die Patienten wurden sechs Wochen nach der Operation adjuvant bestrahlt. Von den 16 eingeschlossenen Patienten konnten zwölf eine Strahlentherapie erhalten.

Dabei erhielten folgende sieben Patienten planmäßig eine Bestrahlung des Mediastinums mit 2 Gy Tagesdosis mit einer Gesamtdosis von 50 Gy: 01-001, 01-005, 01-003, 01-008, 01-009, 01-034, 09-048.

Die Patienten 01-001 und 01-034 erhielten zusätzlich eine Bestrahlung des Schädels mit einer Tagesdosis von 2 Gy und einer Gesamtdosis von 30 Gy.

Die Patienten 01-007 und 01-011 erhielten eine Bestrahlung des Mediastinums von 2 Gy Tagesdosis und eine Gesamtdosis von 60 Gy.

Das Mediastinum des Patienten 10-042 erhielt 2 Gy Tagesdosis mit einer Gesamtdosis von 52 Gy.

Mediastinal 1,8 Gy Tagesdosis mit insgesamt 54 Gy Gesamtdosis erhielten die Patienten 06-014 und 11-018 (Tabelle 15).

Tabelle 15: Strahlentherapie

Strahlentherapie			Anzahl der Patienten (insg. 12)
Mediastinum		Cerebrum	
Tagesdosis	Gesamtdosis	Dosis	
2 Gy	50 Gy	2 Pat. 30 Gy	7
2 Gy	52 Gy		1
1,8 Gy	54 Gy		2
2 Gy	60 Gy		2

3.9 Konsolidierungsphase

Den Patienten, die in der Induktionsphase auf Erlotinib angesprochen haben, sollte sechs Wochen nach Ende der Strahlentherapie zwölf Monate täglich 150 mg Erlotinib verordnet werden. Während dieses Zeitraums wurde der weitere Krankheitsverlauf in dreimonatigen Kontrolluntersuchungen verfolgt.

Von den zehn Patienten, die zumindest PR oder SD im 1. Restaging nach Induktion aufwiesen, schlossen nur sieben Patienten Chemotherapie, Operation und postoperative Strahlentherapie ab. Nur vier dieser Patienten erhielten eine Erhaltungsbehandlung mit Erlotinib: 01-003, 01-007, 06-014, 01-034.

Beide Patienten mit EGFR-Mutation erhielten Erlotinib (Patient 06-014 150 mg täglich über 347 Tage und Patient 01-034 150 mg täglich über 31 Tage und 100 mg täglich über 333 Tage).

Ein Patient erhielt 150 mg Erlotinib über 192 Tage bis die Gabe bei Progress beendet wurde.

Der vierte Patient erhielt 150 mg Erlotinib Tagesdosis über 89 Tage und 100 mg täglich über 70 Tage, Unterbrechung und Dosisreduktion erfolgten nach Diarrhoe und Rash.

3.10 Überlebenszeit

Die mit der Kaplan-Meier Methode bestimmte Gesamtüberlebensrate betrug für das eingeschlossene Patientenkollektiv 12,5 %.

Für alle 16 in die Studie eingeschlossenen Patienten erhoben wir die Überlebenszeit. Zum Zeitpunkt des Cut-Offs im Juli 2018 waren von 16 Patienten 14 verstorben. Es überlebten zwei Patientinnen.

Auffällig ist, dass zwei der für die Auswertung herangezogenen vier Frauen (01-001 und 01-007) überlebt haben. Es gab allerdings unterschiedliches Ansprechen auf die Induktionstherapie: 01-001 hatte im RS1 PR, 01-007 SD. Interessanterweise waren bei den Langzeitüberlebenden keine Patienten mit einer EGFR-Mutation, beide Langzeitüberlebende hatten eine KRAS Mutation, eine von beiden zusätzlich eine p53 Mutation.

Einzig länger überlebender männlicher Patient war 06-014 mit einer Exon 19 Deletion des EGFR, welcher in beiden Restagings PR hatte und auch morphologisch als Responder galt. Er verstarb 72 Monate nach Einschluss in die Studie im August 2011 an einem Progress.

Bis Juli 2018 wiesen 13 von 16 Probanden ein Ereignis auf. Dabei hatten 2 von 16 eine Progression während der Chemotherapie, 1 von 16 verstarb vor dem 2. Restaging, bei 7 von 16 trat ein Rezidiv des Lungenkarzinoms auf und 3 von 16 verstarben ohne Rezidiv an anderen Ursachen. Ein Patient brach die Studienteilnahme nach der kombinierten Chemotherapie und Behandlung mit TKI noch vor der Operation ab. Im 2. Restaging wies er zuvor SD auf. Zwei Patientinnen der Studie sind am Leben und frei von Rezidiven. Der Median des EFS beträgt war 10,7 Monate (Spannweite 1,8 bis 168 Monate) (Abbildung 6).

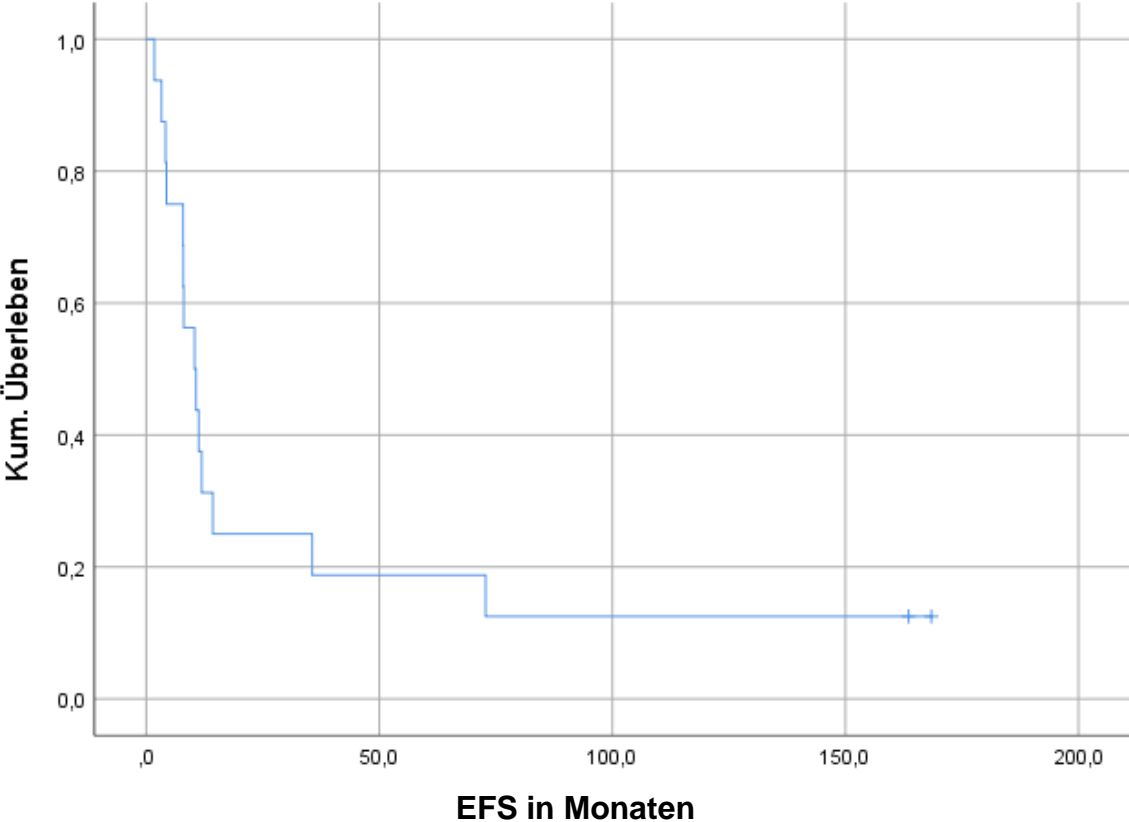


Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve Ereignisfreies Überleben (EFS) in Monaten

Bis Juli 2018 waren 14 von 16 Probanden verstorben (87,5%). Das mediane Überleben betrug 14,2 Monate bei einer Spannweite von 3,3 bis 168,4 Monaten (Abbildung 7). Die 5-Jahresüberlebensrate betrug 18,8 %, die 10-Jahresüberlebensrate 12,5 %. Zwei Patientinnen gelten dabei als Langzeitüberleberinnen.

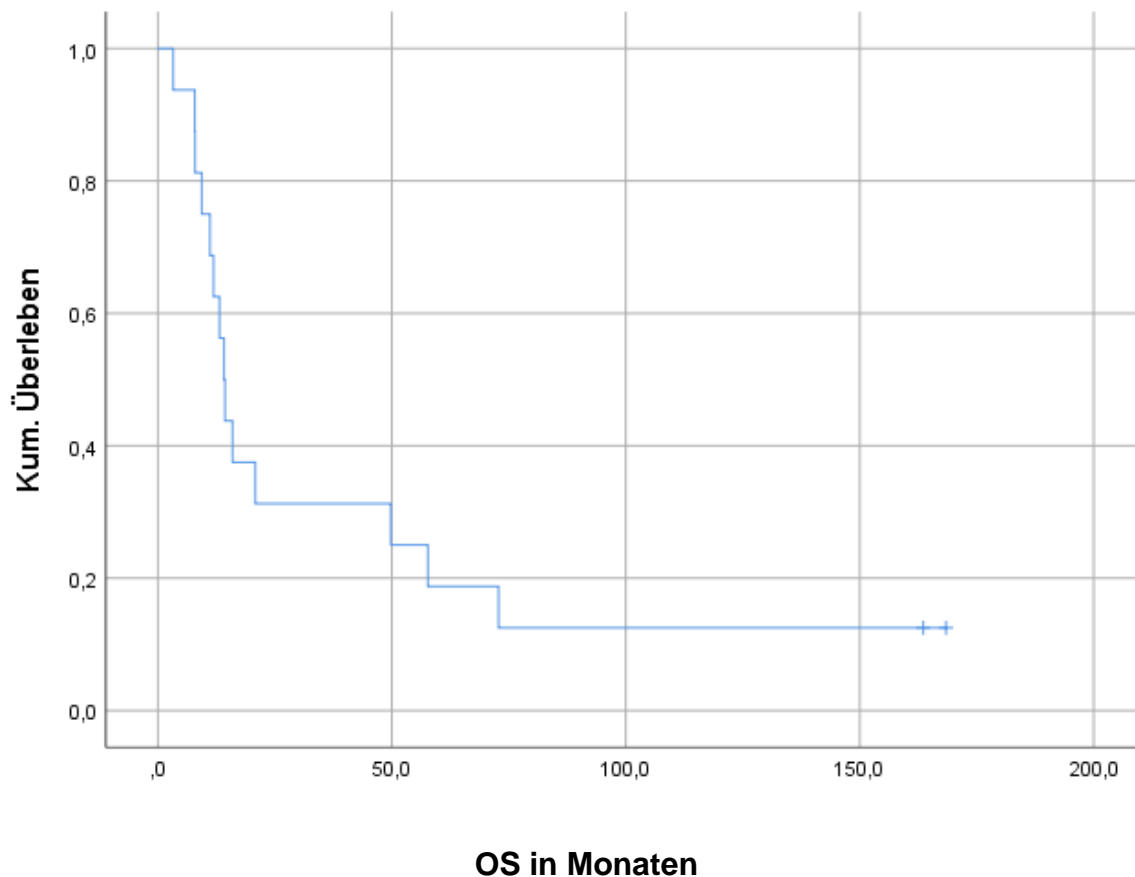
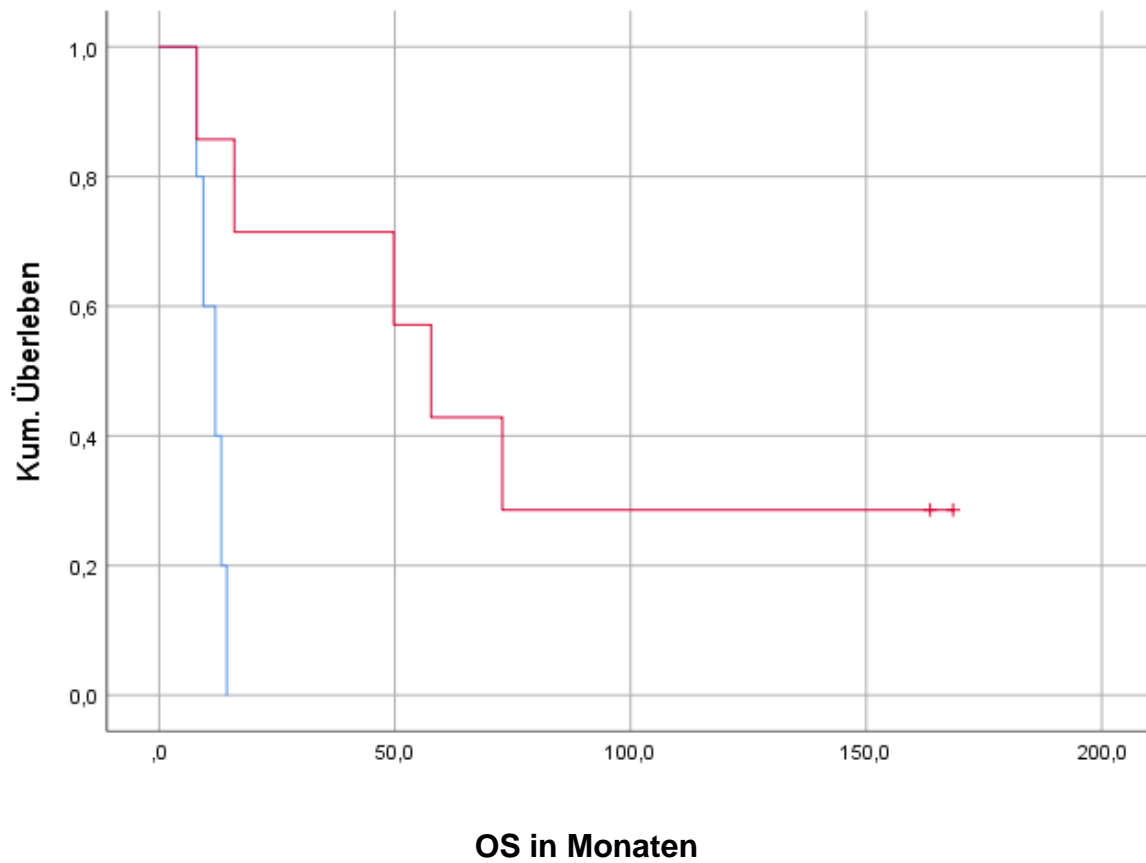


Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurve Gesamtüberleben (OS) in Monaten

Im Juli 2018 waren 10 von 12 Patienten (83,3 %), die operiert worden waren, verstorben. Das mediane Gesamtüberleben (OS) betrug bei den fünf Nicht-Ansprechern nach Junker (Junker Regressionsgrad I und IIa) 11,9 Monate (Konfidenzintervall 6,4 bis 17,4) und bei den sieben Ansprechern nach Junker (Junker Regressionsgrad IIb und III) 57,7 Monate (Konfidenzintervall 37,4 bis 78). $p=0.006$ (log Rank) (Abbildung 8). Das Signifikanzniveau ist lediglich deskriptiv.



— Non-Responder nach Junker

— Responder nach Junker

+ Responder nach Junker zensiert

Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve Overall Survival (OS) bei Probanden Stadium Junker I und IIa (Non-Responder) und IIb (Responder).

4 Diskussion

Das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom ist trotz intensiver Forschung weiterhin eine herausfordernde Erkrankung mit speziell in fortgeschrittenem Stadium hoher Mortalität und kurzer Überlebenszeit.

Die Umsetzung im klinischen Alltag zeigte in den letzten Jahren, dass zielgerichteten Therapien und der vorgeschalteten Diagnostik erhebliche Bedeutung zukommt. Zum Zeitpunkt der Konzeption der CHALLENGE-Studie waren allerdings EGFR-Mutationen noch nicht bekannt, so dass diese Studie in der Induktionstherapie durch ein ausgefeiltes translationales Programm Subgruppen identifizieren sollte, die besonders von einer TKI Therapie profitieren sollten. Leider rekrutierte die Studie so schlecht, dass sie vorzeitig abgebrochen wurde, so dass die Fragestellung nicht in Gänze beantwortet werden konnte. Da die wenigen Patienten jedoch in der Studie behandelt wurden, sahen wir es als Verpflichtung an, zumindest diese Patienten so exakt wie möglich zu beschreiben und auch zumindest einen Teil des eigentlich geplanten translationalen Programms durchzuführen.

In der Studie wurde bei 16 Patienten mit lokal fortgeschrittenem nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (Stadium IIIA/IIIB) das morphometrische Tumoransprechen in Korrelation mit den bildgebenden Verfahren Spiral-CT und 18F-FDG-PET nach einer Induktionstherapie mit dem TKI Erlotinib sowie einer folgenden Chemotherapie mit Cisplatin und Gemcitabine +/- Erlotinib untersucht. Das Primärziel der Studie war es, mittels Morphometrie die pathologische Ansprechrate nach einer Chemotherapie mit Gemcitabine/Cisplatin mit oder ohne Erlotinibgabe zu ermitteln. Diese Dissertation sollte im Rahmen der CHALLENGE-Studie das morphometrische Tumoransprechen in Korrelation mit bildgebenden Verfahren (Spiral-CT und PET) untersuchen.

4.1 Methode

CHALLENGE war als eine einarmige Phase II-Studie ohne Kontroll-Arm (*proof of principle*) angelegt worden. Im Rahmen der Studie sollten anhand des Ansprechens auf den TKI Erlotinib Subgruppen identifiziert werden, die auf die Induktionstherapie mit TKI ansprechen. Die Studie wurde konzipiert, bevor Mutationen im Genom für den epidermalen Wachstumsfaktor Rezeptor (EGFR) als positiver Prädiktor für ein

besseres Ansprechen auf EGFR-TKI identifiziert worden waren. Noch im selben Jahr publizierten Lynch et al. (2004) einen Zusammenhang von aktivierenden Mutationen im EGFR und dem Ansprechen auf einen EGFR-TKI.

CHALLENGE war die erste Studie, die eine Kombinationstherapie in einem nicht-fernmetastasierten Stadium durchführte und zudem TKI in der kurativen Situation einsetzte, ein Konzept das nach zehn Jahren in der mittlerweile geschlossenen Phase II Studie NeoIntercal (AIO-TRK-0214) wiederbelebt wurde. In der Studie NeoIntercal wurden Patienten mit NSCLC in den Stadien II bis IIIB mit einer nachgewiesenen EGFR-Mutation mit einer Induktionstherapie mit Gefitinib gefolgt von Chemotherapie mit Docetaxel und Cisplatin und intercaliert Gefitinib behandelt. Es sollten die kompletten Remissionsraten von EGFR-mutationspositiven Probanden auf dieses Therapieregime untersucht werden. 2017 wurde die Studie leider ebenfalls aufgrund mangelnder Rekrutierung geschlossen (Griesinger et al. 2017). Insgesamt ist ein neoadjuvantes Konzept, das nicht sofort umgesetzt werden kann, weil die Biomarkeranalyse abgewartet werden muss, auch in 2017 in Deutschland nicht umsetzbar gewesen (persönliche Mitteilung Herr Prof. Dr. Griesinger).

Die Methodik in der CHALLENGE-Studie war deutlich herausfordernder als in der Neo-Intercal, insbesondere wegen der Tatsache, dass frisches Tumor- und Lymphknotenmaterial für die pathologischen Untersuchungen notwendig war. Dies stieß auf erhebliche logistische Probleme, insbesondere in den externen Zentren, so dass die Rekrutierung erheblich langsamer war als geplant.

Eine Untersuchung zum heutigen Zeitpunkt – also zwölf Jahre später – wäre einfacher, da mittlerweile genetische bzw. molekularpathologische Untersuchungen an archiviertem, in Paraffin eingebettetem Material möglich sind (s. o.).

Auch warf der multimodale Therapieansatz mit interdisziplinärer Beteiligung Probleme auf. Es war oft schwierig, protokollgemäß Termine zu Untersuchungen einzuhalten (körperliche Untersuchungen, Laboruntersuchungen, Bildgebung). Die lange Dauer der Studie und die dadurch auftretenden unvorhersehbaren Ereignisse waren ebenfalls herausfordernd.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Die Studie

Eine neoadjuvante Systemtherapie, wie sie in der CHALLENGE-Studie durchgeführt wurde, ist eine Option in der Therapie primär nicht operabler Patienten, die durch Studien belegt ist (Xu et al. 2016; Koshy et al. 2013; Aggarwal et al. 2014; Darling et al. 2015; van Meerbeeck et al. 2007; Albain et al. 2009).

Diese Therapie ermöglicht eine Tumorverkleinerung und Herabstufung des Tumorstadiums durch Reduktion der Tumormasse im Mediastinum (Betticher et al. 2003).

Zuvor nicht operablen Patienten soll durch eine vorherige Chemotherapie eine zusätzliche Operation ermöglicht werden. Dabei konkurriert die trimodale neoadjuvante Systemtherapie gefolgt von Operation und Strahlentherapie mit der bimodalen konkomitanten Radio-Chemotherapie.

In der Studie ESPATUE konnten Eberhardt et al. die Gleichwertigkeit im Hinblick auf Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben eines operativen Vorgehens gegenüber Chemoradiotherapie-Boost nach einer initialen Chemoradiotherapie bei NSCLC ebenfalls in den Stadien IIIA und IIIB feststellen (Eberhardt et al. 2015).

Die Möglichkeit eines operativen Vorgehens nach vorheriger Chemotherapie untersuchten aber auch schon früher neoadjuvante Studien. Zum Zeitpunkt des Starts der Studie CHALLENGE im Jahre 2004 waren das u. a. die o. g. Arbeiten von Betticher et al. (2003) und Thomas et al. (1999).

Eine molekulare Prädiktion vorab gab es bei Start der CHALLENGE-Studie nicht. Ein Ansprechen auf die Therapie konnte in den Restaginguntersuchungen RS1 und RS2 mittels PET und CT erfasst werden.

Bei der CHALLENGE-Studie führten wir eine Systemtherapie vor der Operation durch. Es fand keine Induktions-Strahlentherapie statt. Somit trat das Risiko eines falsch positiven PET-Befundes aufgrund erhöhter Glucoseaufnahme in den Tumor nach der Strahlentherapie nicht auf, vgl. hierzu Griffeth (2005).

Die Studien zu Beginn der aktuell vorliegenden Studie im Jahr 2004 verglichen ein neoadjuvantes gegen ein adjuvantes Konzept. Die adjuvante Therapie war zum

Zeitpunkt der Konzeption der Studie noch nicht in dem Maße wie heute etabliert. Aktuell ist die adjuvante Therapie als Standard anzusehen, die Induktionstherapie aber als gleichwertig zu betrachten. Vorteil der Induktionstherapie ist, dass die Therapieadhärenz für die Induktionstherapie höher ist als für die adjuvante Therapie, wie Felip et al. in der NATCH-Studie beschrieben. So absolvierten im Studienarm mit neoadjuvanem Ansatz 90,4 % der Studienteilnehmer alle drei Chemotherapiezyklen, während hingegen im Studienarm mit adjuvanem Ansatz bereits 33,8 % die Chemotherapie nicht antraten. Gründe waren hier u.a. Nichtdurchführbarkeit, Ablehnung durch die Patienten, postoperatives Versterben. Somit konnten in diesem Arm nur 66,2 % die Chemotherapie antreten (Felip et al. 2010).

4.2.1.1 Systemische neoadjuvante Studien EGFR-TKI

Bei der CHALLENGE-Studie versuchten wir, eine Kombinationstherapie mit Induktion eines Tyrosinkinaseinhibitors und einer Chemotherapie mit oder ohne TKI als First-Line-Therapie durchzuführen.

Der Ansatz war, Patienten, die bei Gabe des Tyrosinkinaseinhibitors Erlotinib eine mindestens stabile Erkrankung hatten, weiter während der folgenden Chemotherapie und in einer postoperativen Erhaltungstherapie das Medikament Erlotinib zu verabreichen.

Wir verfolgten das Konzept einer klinischen Selektion und verabreichten den TKI nach der initialen sechswöchigen TKI-Monotherapie nach klinischem Ansprechen (mindestens stabile Erkrankung oder besser) weiter in Kombination mit neoadjuvanter Chemotherapie, um Cluster bilden zu können und einen möglichen Marker für positives Ansprechen zu erhalten.

Wie bereits zuvor beschrieben, war der positiv prädiktive Wert der EGFR-Mutation für ein Ansprechen auf TKI bei Konzeption der Studie nicht bekannt.

In weiteren Studien stellten sich aktivierende Mutationen in Exon 19 und 21 als positiv prädiktive Marker für ein Ansprechen auf einen gegen den EGFR gerichteten TKI heraus. Vgl. hierzu Riely et al. (2006) und Jackman et al. (2006), die Patienten mit NSCLC im Stadium IV untersuchten.

Cheng et al. fanden 2015 Hinweise, dass EGFR Exon 18 Mutationen positive Indikatoren für ein Ansprechen auf EGFR-TKI sein können, wenn auch im Vergleich EGFR-Mutationen in Exon 19 und 21 eine bessere Prognose haben. In den Untersuchungen Chengs sprachen vier von fünf Probanden mit EGFR-Mutationen in Exon 18 auf Therapie mit TKI an. Deshalb empfehlen sie, Patienten mit EGFR 18 Mutationen und fortgeschrittenen Stadien mit TKI zu behandeln (Cheng et al. 2015).

In der von Rosell et al. (2005) veröffentlichten Studie fanden sich bei einer Gesamtstichprobe von 34 Patienten aus Spanien und Japan, welche mit Gefitinib nach Zweit- oder Drittlinienchemotherapie behandelt worden waren, in drei Tumoren Mutationen in Exon 18, auf Codon 718 und 719.

Ebenfalls 2005 untersuchten Taron et al. (2005) EGFR-Mutationen in Exon 18, 19, und 21 bei 68 Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC, die zuvor mit Gefitinib behandelt und nicht auf Chemotherapie angesprochen hatten. Sie entdeckten bei zwei Tumoren Exon 18 Mutationen, einmal eine L718P Mutation und einmal eine Deletion in Codon 719. Beide Probanden sprachen auf Gefitinib an (PR).

4.2.1.2 Erhaltung EGFR-TKI

In der Phase III-Studie SATURN behandelte Neal nichtoperable, chemotherapie- und EGFR-TKI-naive Patienten zunächst mit einer platinbasierten Standardchemotherapie und im Anschluss mit einer Erhaltungstherapie mit Erlotinib vs. Placebo. Bei Erlotinibgabe nach der Chemotherapie konnte ein besseres Überleben festgestellt werden. Gerade Patienten mit EGFR aktivierenden Mutationen in Exon 19 oder L858R Punktmutationen sprachen sehr gut auf den EGFR-TKI an.

Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie wurde 2010 Erlotinib von EMA und FDA zunächst als Medikament für die Erhaltungstherapie für Patienten mit NSCLC und stabiler Erkrankung nach vier Zyklen Standardchemotherapie in Europa und den USA zugelassen (Neal 2010).

In den Studien TRIBUTE (Herbst et al. 2005) und TALENT (Gatzemeier et al. 2007) stellte sich heraus, dass Nieraucher und Patienten mit EGFR-Mutationen einen gewissen Vorteil von der Therapie mit EGFR-TKI und Chemotherapie gegenüber Chemotherapie alleine hatten.

Bell et al. (2005) verglichen die Studien IDEAL und INTACT hinsichtlich EGFR-Mutationen und Ansprechen auf Tyrosinkinaseinhibitor, in diesem Falle Gefitinib.

Bei IDEAL wurde Gefitinib als Monotherapie, bei INTACT Gefitinib mit Chemotherapie untersucht.

Es zeigten sich bei IDEAL in 46 % und bei INTACT in 29 % jeweils ein Ansprechen auf Gefitinib bei Patienten mit aktivierenden EGFR-Mutationen.

Aufgrund der kleinen Fallzahl in der CHALLENGE-Studie sind keine validen Aussagen zu sekundären Endpunkten der Studie (PFS und OS) zu treffen.

4.2.1.3 Interkalierte Ansätze Ctx/TKI im Wechsel

In der Studie FASTACT2 wurde eine interkalierte Chemotherapie mit Erlotinib als gute Firstline-Therapieoption bei Patienten mit NSCLC und Mutation im EGF-Rezeptor oder mit unbekanntem Mutationsstatus beschrieben. In dieser Phase 3 Studie erhielten Patienten mit zuvor unbehandeltem NSCLC der Stadien IIIB und IV sechs Zyklen Gemcitabine (intravenös 1250 mg/m² an Tag 1 und 8) plus Platin (intravenös Carboplatin AUC (area under the curve) von 5 oder Cisplatin 75 mg/m² an Tag 1) und interkaliert Erlotinib (oral 150 mg/Tag an Tag 15-28; Chemotherapie plus Erlotinib) oder oral Placebo (Chemotherapie plus Placebo) alle vier Wochen. Erlotinib oder Placebo wurden bis Progress oder unakzeptablen Nebenwirkungen oder Tod verabreicht. Den Probanden des Placeboarms wurde Erlotinib als Second-Line-Therapie angeboten. Primärer Endpunkt war progressfreies Überleben. Wu et al. (2013) konnten hier ein signifikant längeres progressionsfreies Überleben bei den Probanden, die Chemotherapie und Erlotinib erhalten hatten, feststellen.

4.2.1.4 Ergebnisse bei der Behandlung von NSCLC ohne Mutation (Wildtyp)

Patientin 01-007 zeigte sowohl im 1. als auch 2. Restaging eine stabile Erkrankung. Dies entspricht einem möglichen Ansprechen (trotz nicht nachgewiesener EGFR-Mutation) oder aber einem ebenfalls möglichen langsamen Tumorwachstum (ohne Beeinflussung durch den TKI). Bei Patient 01-005 hatte sich in beiden Restagings eine partielle Remission gezeigt. Hier konnte allerdings aus methodischen Gründen bei

mangelnder Probenqualität keine ausreichende Mutationstestung erfolgen. Somit konnte in diesem Fall nicht geklärt werden, ob das Tumoransprechen auf den EGFR-TKI im Wildtyp oder nicht nachgewiesener aber bestehender EGFR-Mutation aufgetreten war.

In der doppelblinden, placebokontrollierten IUNO-Studie wurde der Benefit von Firstline-Erhaltungstherapie mit Erlotinib gegenüber Erlotinibgabe ab dem Fortschreiten der Erkrankung bei Probanden mit NSCLC ohne aktivierende EGFR-Mutation, die unter vier Zyklen platinhaltiger Chemotherapie keinen Tumorprogress hatten, gegenübergestellt. Es wurde ein negatives Nutzen-Risiko-Verhältnis bei Patienten ohne aktivierende EGFR-Mutation unter Erlotinib beobachtet (Cicenas et al. 2016). Eine Behandlung von Patienten ohne aktivierende EGFR-Mutation mit Erlotinib ist heute deshalb nur noch indiziert, wenn andere Therapieoptionen als ungeeignet erachtet werden (Fachinformation Tarceva 2018).

4.2.2 Vergleich CT und PET

In der CHALLENGE-Studie war zu beobachten, dass die Ergebnisse der beiden bildgebenden Verfahren PET und CT eine hohe Korrelation aufwiesen.

Im ersten Restaging nach Induktionstherapie mit Erlotinib stimmten 10 von 14 PET- und CT-Befunden überein, im zweiten Restaging nach Chemotherapie 12 von 13 Befunden. Bei den diskrepanten Staginguntersuchungen werteten wir das Ergebnis des CTs gemäß Studienprotokoll.

Heute steht ein integriertes Verfahren mittels PET/CT zur Verfügung, auf welches wir zum Zeitpunkt der Studie nicht zugreifen konnten. Dieses ist gegenüber dem alleinigen PET hinsichtlich der Erkennung sowohl der Stadien I und II als auch des T und N Status von Patienten mit NSCLC überlegen (Cerfolio et al. 2004).

Lee et al. (2010) publizierten, dass die Auswertung des Tumoransprechens in der Bildgebung hinsichtlich der Zeit bis zum Tumorrezidiv (*time to recurrence*, TRR) und für das pathologische Ansprechen mittels kombinierten PET/CT effektiver war, als die Einzelauswertungen des Ansprechens mittels CT oder PET.

Jedoch reicht auch die Genauigkeit der kombinierten PET/CT nicht für eine alleinige Therapieplanung. Biopsien oder eine direkte Operation bei negativen oder kleinen Lymphknoten sollten folgen (Schmidt-Hansen et al. 2014; NICE Guidance 2011).

Das metabolische Ansprechen mittels PET auf eine platinbasierte Chemotherapie kann den Response Evaluation Criteria (RECIST) im CT überlegen sein, um progressfreies Überleben (PFS) zuvor unbehandelter Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC vorherzusagen. Sowohl die Ergebnisse im PET als auch eine Beurteilung im CT mit RECIST können prädiktiv für objektiviertes Ansprechen (ORR) sein, jedoch ist ein Gesamtüberleben nicht zuverlässig voraussagbar (Yang et al. 2011).

4.2.3 Bildgebung (PET/CT) im Vergleich zu pathologischem Ansprechen (Junker)

Die Daten weisen darauf hin, dass histologisches und bildgebendes Ansprechen nicht immer zu gleichen Ergebnissen führen, d.h. es kann sein, dass ein Pat. im CT eine SD hat, aber dennoch nach Junker IIB oder III ein Ansprechen aufweist.

Hierzu passend untersuchten Pöttgen et al. (2006) die Bedeutung von kombinierter PET/CT bei Induktionschemotherapie mit nachfolgender Radiochemotherapie bei Patienten mit NSCLC im Hinblick auf die Voraussagekraft für das histopathologische Ansprechen. In der Studie konnten die maximalen, korrigierten SUV-Werte zweier Serien-PET/CTs vor und nach drei Chemotherapiezyklen das histopathologische Ansprechen des Primärtumors und der mediastinalen Lymphknoten voraussagen.

Weiterhin untersuchten Pöttgen et al. (2007) auch die Korrelation von PET/CT und der Histopathologie nach neoadjuvanter Therapie bei NSCLC. Hier zeigte sich, dass hohe SUV-Level nach der Induktionstherapie vorsichtig zu interpretieren sind. Diese können durch Makrophagen bedingt und nicht unbedingt durch verbliebenes Tumorgewebe verursacht sein. Die PET-Untersuchungen erwiesen sich als nützlich zur Reevaluation bei neoadjuvanter Behandlungsansatz.

Im Vergleich hierzu kann eine 2004 auf dem ESMO in Wien vorgestellte Studie hinzugezogen werden, in der Overbeck et al. (2004) das morphometrische Tumoransprechen nach Induktionstherapie mit Docetaxel und Carboplatin bei NSCLC-Patienten in den Stadien IIIA und IIIB untersuchten. Sie fanden heraus, dass das

morphometrische Tumoransprechen deutlich mit einer metabolischen Remission im FDG-PET korreliert (Zeitpunkt PET vor OP). Weiterhin wurde festgestellt, dass FDG-PET Ansprechen ein signifikanter Prädiktor für Gesamtüberleben und progressionsfreies Überleben bei Chemotherapieansprechern ist.

4.2.4 PET und Gesamtüberleben

Betrachtet man das erste Restaging im PET, waren sowohl Progress, stabile Erkrankung als auch partielle Remission bei den Probanden zu beobachten. Komplettremissionen gab es nicht.

Insgesamt lassen sich aus diesen Ergebnissen keine validen Schlussfolgerungen ziehen, da keine relevanten Zusammenhänge erkennbar sind.

4.2.5 Morphometrie und Gesamtüberleben

Vergleicht man nun die histopathologischen Befunde mit dem Gesamtüberleben, sieht man, dass die drei Patienten, die am längsten überlebt haben (01-001, 01-007 und 06-014) nach Morphometrie Responder (Junker IIB) waren.

Es verstarben jedoch auch Patienten, die nach Morphometrie als Responder galten früh, wie z.B. Patient 01-003 (Therapiestart 19.07.2004, OP am 24.11.2004) bei welchem die Studie aufgrund eines Progresses am 27.09.2005 beendet wurde und welcher am 16.11.2005 an Tumorprogress verstarb. Insgesamt war ein positiver Trend für das OS der Patienten mit einem morphometrisch gutem Ansprechen zu sehen, allerdings war dieser nicht signifikant wegen zu kleiner Patientenzahl.

4.2.6 Molekularbiologie

Wir führten nicht, wie ursprünglich geplant, eine Analyse mit Chip Affimetrix durch, sondern Einzelsequenzierungen und FISH-Analysen wegen geringer Fallzahl und der Entdeckung molekularer Veränderungen mit Prädiktion für ein Ansprechen wie Mutationen in EGFR, p53 und KRAS.

Dabei konnten in der CHALLENGE-Studie resistenzvermittelnde Alterationen wie z.B. Mutation in EXON 20 des EGFR (T790M) oder eine MET-Amplifikation nicht nachgewiesen werden.

In der CHALLENGE-Studie konnten wir bei Proband 06-014 eine aktivierende EGFR-Mutation (Exon 19, p.E746_R748del) nachweisen (Gatzemeier et al. 2007).

Wir konnten feststellen, dass dieser Patient nach Junker II B und in beiden Restaginguntersuchungen in CT und PET mit partieller Remission ansprach und nach Eintreten in die Studie im Jahre 2005 erst 2011 an einem ausgedehnten Tumorrezidiv mit Pleuraerguss rechts, kontralateralen und abdominellen Lymphknotenmetastasen verstarb. Die Mutation ist hier als prognostisch günstig zu werten und ist außerdem anzunehmen als Prädiktor für Ansprechen auf die Therapie mit dem TKI.

Patient 01-034 wies eine Exon 18 (p.P694L) Mutation auf. In den Restaging Untersuchungen in PET und CT sprach er bei Restaging 1 mit stabiler Erkrankung (SD) an, in Restaging 2 mit partieller Remission. Nach Junker war er histopathologisch ebenfalls Responder (II B).

In der klinischen Phase III Studie TRIBUTE untersuchten Eberhard et al. 274 Patienten mit zuvor unbehandeltem, fortgeschrittenem NSCLC der Stadien IIIB und IV in Bezug auf EGFR-Mutation und KRAS-Mutation hinsichtlich Überleben, Ansprechen und Zeit bis zum Progress. Es wurden ein Therapiearm mit Chemotherapie (Carboplatin und Paclitaxel) in Kombination mit einem TKI (Erlotinib) gegen einen Arm mit Chemotherapie (Carboplatin und Paclitaxel) und Placebo verglichen. In dieser Studie hatten 13 % der Patienten eine EGFR-Mutation und 21 % eine KRAS-Mutation. Prognostisch zeigte sich bei Ersteren ein längeres Überleben unabhängig von der Therapieform. Patienten mit KRAS-Mutationen hingegen profitierten nicht von der Kombinationstherapie aus Chemotherapie (Carboplatin und Paclitaxel) und Erlotinib und wiesen eine kürzere Zeit bis zum Progress sowie schlechtere Überlebensraten unter Erlotinibtherapie im Vergleich zur Behandlung mit alleiniger Chemotherapie (Carboplatin und Paclitaxel) auf.

Die TRIBUTE-Studie zeigte, dass EGFR-Mutationen einen positiven prognostischen Faktor für das Überleben sowie einen positiv prädiktiven Wert für ein Ansprechen darstellen.

KRAS-Mutationen standen hingegen für ein schlechteres klinisches Outcome bei kombinierter Chemotherapie mit Erlotinib (Eberhard et al. 2005).

Da wie bereits beschrieben bei Beginn der CHALLENGE-Studie diese Daten noch nicht zur Verfügung standen, konnte hierauf nicht zurückgegriffen werden. Der Mutationsstatus wurde retrospektiv erhoben.

Die 2007 publizierte Studie TALENT (Gatzemeier et al. 2007) verglich bei 1172 Probanden mit fortgeschrittenem NSCLC der Stadien IIIB und IV, die vorher noch nicht mit Chemotherapie behandelt worden waren, eine Kombination aus Chemotherapie mit Erlotinib gegen Chemotherapie mit Placebo. Primärziel war Gesamtüberleben. Sekundäre Ziele waren Dauer bis zum Progress und Ansprechrate, sowie Dauer des Ansprechens und Lebensqualität. Bei TALENT gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen dem Studienarm mit Chemotherapie und Erlotinib gegenüber dem Arm mit Chemotherapie ohne Erlotinib hinsichtlich OS, TTP, RR und QoL. In die TALENT-Studie wurden Patienten mit Stadium IIIB und IV eingeschlossen, während bei der CHALLENGE-Studie die Patienten die Stadien IIIA und IIIB aufwiesen.

In der CHALLENGE-Studie wurde im Gegensatz zur TALENT-Studie biologisch randomisiert – bei mindestens SD wurde weiter Erlotinib zur Chemotherapie verabreicht, der andere Arm erhielt nur Chemotherapie. Eine kleine Gruppe von Nicht- bzw. Nie-Rauchern hatten in der TALENT-Studie ein besseres OS und ein längeres PFS im Erlotinib-Arm. Nicht- und Nie-Raucher haben eine höhere Wahrscheinlichkeit für eine aktivierende EGFR-Mutation.

4.2.7 Resistenz gegen EGFR-TKI

Um etwaige Resistenz vermittelnde Mutationen im EGF-Rezeptor zu untersuchen, wurde bei den Probanden der CHALLENGE-Studie das Exon 20 des EGFR untersucht. Es fanden sich jedoch keine Exon 20 Mutationen (T790M). Allerdings ist zu berücksichtigen, dass teilweise die Qualität der Proben z. T. zu schlecht für eine Untersuchung war. Zwei Patienten sprachen mit einer partiellen Remission in der CHALLENGE-Studie auf die Induktionstherapie mit Erlotinib an (PR bei 01-005 und 06-014). Bei beiden konnte eine Remission in der Bildgebung nach der Induktionstherapie mit dem TKI festgestellt werden. Patient 06-014 hatte eine EGFR-

Mutation in Exon 19, bei Proband 01-005 war die Qualität der Tumorproben nicht ausreichend um eine Mutationsanalyse durchzuführen. Bei Patient 01-034 – welcher eine stabile Erkrankung im Restaging 1 aufwies – lag, wie bereits erwähnt, eine Punktmutation in Exon 18 (p.P694L) vor.

4.3 Schlussfolgerung/Bewertung der Arbeit

Das ambitionierte Konzept der CHALLENGE-Studie sah vor, prädiktive Muster für ein Ansprechen auf EGFR-TKI in einem neoadjuvanten Therapieregime zu identifizieren.

Insgesamt stellte sich jedoch die zu kleine Studienpopulation als nachteilig heraus.

Diese resultierte aus dem komplexen Studiendesign und den aufwändigen Prozessen der Studie. Hürden waren bereits vor Einschluss in die Studie die Gewinnung mediastinaler Tumorproben sowie die Kryo-Asservierung der Proben bei sowohl der Mediastinoskopie vor Einschluss als auch bei der Operation.

Durch das komplexe Studiendesign kam es vermehrt zu Protokollverletzungen, wie nicht durchgeführten Untersuchungen (speziell PET).

Auch die vielen Ausschlusskriterien wirkten sich negativ auf die Rekrutierung der Probanden aus.

Wegen der langsamen und geringen Rekrutierung wurde die Studie vorzeitig beendet.

Die im Rahmen der Studie angewendete neoadjuvante Chemotherapie ist eine alternative Option zu adjuvanter Systemtherapie. Sie eröffnet die Möglichkeit zur Operation bei ansonsten lokal fortgeschrittener primär nicht operabler Tumorerkrankung. In der CHALLENGE-Studie konnten 75 % der Patienten mit lokal fortgeschrittener Erkrankung nach Induktionstherapie operiert werden (zwölf von 16 Patienten). Diese Ergebnisse sind etwas schlechter als in anderen neoadjuvanten Studien. So wurden bei Betticher et al. (2006) 75 von 90 Patienten – also 83,3 % – mit NSCLC Stadium IIIA pN2 operiert und in der NATCH-Studie wurden im neoadjuvanten Arm mit 181 Probanden 91 % operiert. Allerdings setzte sich die Stichprobe hier aus den Stadien I, II und T3N1 zusammen (Felip et al. 2010), wohingegen in der CHALLENGE-Studie die meisten Patienten ein Stadium IIIB aufwiesen.

Bei der Chemotherapie sprachen sowohl Patienten mit begleitender Erlotinibgabe als auch die Patienten, die Chemotherapie alleine erhielten, bis auf drei Patienten (01-026, 01-031, 09-046 verstarb während der Chemotherapie) an. Das sind fast 80 % und ein gutes Ergebnis.

In der CHALLENGE-Studie wies kein Proband eine pCR auf, jedoch konnte MPR bei 58 % (kombiniert Primärtumor und Lymphknoten, sieben von zwölf Patienten) erreicht werden

Aufgrund der geringen Gesamtstichprobe der Studie sind keine validen Aussagen zur Korrelation von CT und PET und morphometrischem Ansprechen möglich.

Betrachtet man nun die Überlebensraten, lässt sich feststellen, dass die 5-Jahres-Überlebensrate in der Studie ESPATÜ bei beiden Studienarmen (Arm A Chemoradiotherapie nach Induktionstherapie vs. Chirurgie nach Induktionstherapie) über 40 % lag, während in der CHALLENGE-Studie die Ergebnisse deutlich schlechter ausfielen (ca. 20 %) (Eberhardt et al. 2015).

Das Langzeitüberleben von Patienten mit lokal fortgeschrittenem NSCLC ist nach wie vor unbefriedigend, jedoch haben bis heute zwei Patientinnen der CHALLENGE-Studie seit 2004 (Patientin 01-001 seit 05.07.2004, Patientin 01-007 seit 03.12.2004, Startdatum der Beobachtung 2nd Informed Consent, Ende 20.11.2013) bei guter Lebensqualität und ohne Rezidiv überlebt. Beide Patientinnen wiesen KRAS Mutationen auf, was in einer Meta-Analyse von Zhang et al. (2018) als negativer prognostischer Faktor für DFS und Gesamtüberleben identifiziert wurde.

Leider konnten aufgrund der geringen Fallzahl keine definitiven Schlussfolgerungen hieraus gezogen werden. Aber es zeigt sich dadurch, dass vermeintlich prognostisch ungünstige Subgruppen nicht von innovativen Therapieansätzen ausgeschlossen werden sollten.

Wie verliefen die Behandlungen unserer Probanden mit EGFR-Mutationen? Der einzige Proband mit einer Exon 19 Mutation (Deletion) sprach sowohl auf Induktion als auch auf Chemotherapie kombiniert mit TKI mit PR an. Danach erhielt er eine Erhaltungsbehandlung mit Erlotinib in Höhe von 150 mg täglich. Er erlitt ein Rezidiv nach 50,6 Monaten und erhielt weitere zehn Monate Erlotinib, auf das er klinisch gut ansprach bis er 72,8 Monate nach Studieneinschluss verstarb.

Der Patient, der eine Exon 18 Mutation (P694L) aufwies, sprach mit SD auf die Induktion an und hatte PR unter Chemotherapie und TKI. Erhaltungstherapie mit Erlotinib erhielt er für 31 Tage in Höhe von 150 mg täglich und in Höhe von 100 mg für 333 Tage. 24,9 Monate nach Studieneinschluss kam es zu einem Rezidiv und er erhielt weitere 13 Monate Erlotinib, worauf er klinisch gut ansprach. Er starb 49,7 Monate nach Studieneintritt. Exon 18 Mutationen (P694L) sind sehr selten und bisher wurden keine Daten für ein Ansprechen auf EGFR-TKI veröffentlicht.

Die Idee einer Kombination von Chemotherapie und TKI wurde 2018 erneut aufgegriffen mit der NEJ 009 Studie, die in der palliativen Situation bei EGFR-mutierten Patienten einen Überlebensvorteil von etwa zwölf Monaten zeigen konnte zugunsten einer Kombinationschemotherapie + Gefitinib vs. Gefitinib Monotherapie.

Insofern war die CHALLENGE-Studie ihrer Zeit voraus, wir konnten retrospektiv die relevanten Mutationen für ein Ansprechen auf EGFR-TKI identifizieren und trafen sie auch in der zur (kaukasischen) Population passenden Häufigkeit an. Wäre die Gesamtstichprobe der Studie größer gewesen, wäre dies wohl schon früher aufgefallen.

Was konnten wir mit unserer frühzeitig beendeten Studie CHALLENGE in Erfahrung bringen? Das interkalierte Konzept mit TKI und Chemotherapie war durchführbar. Die Kombination aus TKI und Chemotherapie wurde gut vertragen und es wurden keine neuen Toxizitäten beobachtet. Die Operationen nach Induktionstherapie waren durchführbar. Es gab keine erhöhte Lungentoxizität bei den Patienten, die eine mediastinale Bestrahlung nach der Operation erhielten.

Zu berücksichtigen ist bei der Bewertung der CHALLENGE-Studie, dass im Vergleich zum Studienbeginn 2004 die 6. Version der TNM Staging in Anwendung befand und mittlerweile aber die 8. Version Gültigkeit hat (Detterbeck et al. 2017). Dies hätte heute letztlich zur Folge, dass jetzt T4 solitär wie in Studie als Ausnahme erfolgt, eingeschlossen wären.

Aus der kleinen Stichprobe der CHALLENGE-Studie lassen sich keine allgemein gültigen Schlüsse ziehen.

Die Studie CHALLENGE war in einer Zeit, als molekulare Mechanismen des NSCLC noch nicht soweit bekannt waren, ein Versuch, spezifische Subgruppen auf Basis molekularer Veränderungen zu identifizieren. Dabei wurde CHALLENGE überholt durch die späteren Erkenntnisse in der Molekularpathologie und die vorab spezifizierten Patienten-Subgruppen in späteren Studien.

4.4 Ausblick

Neoadjuvante Studien werden bei Patienten mit lokal fortgeschrittenen Lungenkarzinomen weiter betrieben und werden mit dem Standardverfahren, der konkomitanten Radio-Chemotherapie, verglichen.

Es bestehen nach Abschluss der Studie noch viele weitere Fragen. Leider kann man aus der CHALLENGE-Studie keine eindeutigen Schlüsse ziehen.

Im Rahmen der mittlerweile geschlossenen Phase II Studie NeoIntercal (AIO-TRK-0214) wurden Patienten mit NSCLC in den Stadien II bis IIIB NSCLC mit aktivierender EGFR-Mutation mit einer Induktionstherapie mit Gefitinib gefolgt von Chemotherapie mit Docetaxel und Cisplatin und intercaliert Gefitinib behandelt. Es sollten die kompletten Remissionsraten von EGFR-mutationspositiven Probanden auf dieses Therapieregime untersucht werden. Die Studie wurde 2017 mangelnder Rekrutierung geschlossen.

Derzeit ist die Induktionstherapie mit Chemotherapie in Kombination mit der Immuntherapie im Fokus, primärer Endpunkt bei einer Reihe von diesen Studien ist der Regressionsgrad als Surrogatparameter für PFS und OS.

5 Zusammenfassung

Die Entwicklung einer Induktionstherapie zur Verbesserung der Behandlungsmöglichkeiten für Patienten mit nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom der Stadien IIIA und IIIB steht immer noch zur Debatte. Im Jahre 2004 wurde mit der Phase II Studie CHALLENGE der Versuch unternommen, eine Induktionstherapie mit der Kombination aus dem Tyrosinkinaseinhibitor Erlotinib und einer platinhaltigen Chemotherapie bei einem unselektierten Patientenkollektiv durchzuführen. Zudem sollten molekulare Untergruppen identifiziert werden, die von einer zielgerichteten Therapie profitieren können.

Diese Dissertation wurde im Rahmen der Studie CHALLENGE angefertigt. CHALLENGE war eine prospektive, multizentrische, Open-label-Studie, die das pathologische Ansprechen mittels Morphometrie untersuchen sollte. Ziel dieser Dissertation war es, die Korrelation des morphometrischen Tumor-Ansprechens von nicht-kleinzelligen Lungenkarzinomen mit den bildgebenden Verfahren Spiral-CT und PET unter Induktionstherapie mit Erlotinib und nachfolgender Chemotherapie zu ermitteln. Weiterhin sollte untersucht werden, ob es einen Zusammenhang zwischen EGFR-Mutation und Ansprechen sowie Gesamtüberleben der Patienten gab. Den Probanden wurde in der Induktionsphase Erlotinib gefolgt von drei Chemotherapiezyklen mit Gemcitabine und Cisplatin verabreicht. Die Patienten mit einer stabilen Erkrankung oder einem besseren Ansprechen in der Induktionsphase erhielten während der Chemotherapiezyklen weiterhin täglich Erlotinib. Danach folgte eine operative Entfernung des Primärtumors sowie der Lymphknoten mit anschließender Strahlentherapie der Primärherde und des Mediastinums.

Nach Screening von 54 Patienten wurden 16 Patienten in die Studie eingeschlossen. Die Daten von elf zunächst eingeschlossenen Probanden eines externen Zentrums konnten nicht in die Endauswertung einbezogen werden. Wegen langsamer Rekrutierung wurde die Studie vorzeitig beendet. Die Kombination aus Tyrosinkinaseinhibitor und Chemotherapie wurde gut vertragen. Nach der Induktionstherapie konnten die operativen Eingriffe durchgeführt werden. Dabei war eine Operation von 12 von 16 Patienten möglich, 7 dieser 12 Patienten – einschließlich der zwei Patienten mit EGFR-Mutationen – zeigten ein morphometrisches Ansprechen. Bei der Untersuchung der Korrelation von Morphometrie und den bildgebenden Verfahren sahen wir bei den insgesamt zwölf untersuchbaren Patienten

unter den pathologischen Non-Respondern nach dem zweiten Restaging in der Morphometrie viermal eine stabile Erkrankung und eine partielle Remission. Die sieben morphometrischen Ansprecher zeigten fünfmal eine partielle Remission und zweimal eine stabile Erkrankung. Das mediane Gesamtüberleben der Patienten betrug 14,2 Monate bei einer Spannweite von 3,3 bis 168,4 Monaten. Die 5-Jahresüberlebensrate betrug 18,8 %. Die zwei Patienten mit EGFR-Mutationen wiesen ein Gesamtüberleben von 72,8 bzw. 49,7 Monaten auf.

Die Studie CHALLENGE wurde konzipiert, bevor aktivierende EGFR-Mutationen bekannt waren. Ziel war es, Subgruppen zu identifizieren, die von einer Induktion mit Erlotinib profitieren. In der Studie zeigte sich, dass die neoadjuvante Chemotherapie eine Alternative zur adjuvanten Systemtherapie darstellen kann. Die Umsetzung eines interkalierten Konzeptes mit Chemotherapie und Tyrosinkinaseinhibitor war möglich. Die Daten der Studie wiesen darauf hin, dass histologisches und bildgebendes Ansprechen nicht immer zu gleichen Ergebnissen führen. Aufgrund der kleinen Gesamtstichprobe von 16 eingeschlossenen Probanden lassen sich keine allgemein gültigen Schlüsse aus der CHALLENGE-Studie ziehen. Neoadjuvante Konzepte wie in der CHALLENGE-Studie sowie adjuvante Konzepte werden derzeit bei EGFR-Mutations-positiven nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom mit dem Wissen über die hohe Effektivität von EGFR-Tyrosinkinaseinhibitoren in großen Phase III Studien geprüft.

6 Literaturverzeichnis

Aggarwal C, Li L, Borghaei H, Mehra R, Somaiah N, Turaka A, Langer CJ, Simon GR (2014): Multidisciplinary therapy of stage IIIA non-small-cell lung cancer: Long-term outcome of chemoradiation with or without surgery. *Cancer Control* 21, 57-62

Albain KS, Swann RS, Rusch VW, Turrisi AT 3rd, Shepherd FA, Smith C, Chen Y, Livingston RB, Feins RH, Gandara DR et al. (2009): Radiotherapy plus chemotherapy with or without surgical resection for stage III non-small-cell lung cancer: A phase III randomised controlled trial. *Lancet* 374, 379-386

Baselga J (2002): Why the epidermal growth factor? *Oncologist* 7, 2-8

Bell DW, Lynch TJ, Haserlat SM, Harris PL, Okimoto RA, Brannigan BW, Sgroi DC, Muir B, Riemenschneider MJ, Iacona RB et al. (2005): Epidermal growth factor receptor mutations and gene amplification in non-small-cell lung cancer: Molecular analysis of the IDEAL/INTACT Gefitinib trials. *J Clin Oncol* 23, 8081-8092

Betticher DC, Hsu Schmitz SF, Tötsch M, Hansen E, Joss C, von Briel C, Schmid RA, Pless M, Habicht J, Roth AD et al. (2003): Mediastinal lymph node clearance after Docetaxel-Cisplatin neoadjuvant chemotherapy is prognostic of survival in patients with stage IIIA pN2 non-small-cell lung cancer: A multicenter phase II trial. *J Clin Oncol* 21, 1752-1759

Betticher DC (2005): Adjuvant and neoadjuvant chemotherapy in NSCLC: A paradigm shift. *Lung Cancer* 50, 9-16

Betticher DC, Hsu Schmitz SF, Tötsch M, Hansen E, Joss C, von Briel C, Schmid RA, Pless M, Habicht J, Roth AD et al. (2006): Prognostic factors affecting long-term outcomes in patients with resected stage IIIA pN2 non-small-cell lung cancer: 5-year follow-up of a phase II study. *Br J Cancer* 94, 1099-1106

Birim O, Kappetein AP, Stijnen T, Bogers AJ (2005): Meta-Analysis of positron emission tomographic and computed tomographic imaging in detecting mediastinal lymph node metastases in non-small-cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 79, 375–382

Bott MJ, Yang SC, Park BJ, Adusumilli PS, Rusch VW, Isbell JM, Downey RJ, Brahmer JR, Battafarano R, Bush E et al. (2018): Initial results of pulmonary resection after neoadjuvant nivolumab in patients with resectable non-small-cell lung cancer. *J Thorac Cardiovasc Surg* 158, 269-276

Burstein HJ, Sun Y, Dirix LY, Jiang Z, Paridaens R, Tan AR, Awada A, Ranade A, Jiao S, Schwartz G et al. (2010): Neratinib, an irreversible ErbB receptor tyrosinkinase inhibitor, in patients with advanced ErbB2-positive breastcancer, *J Clin Oncol* 28, 1301-1307

Cerfolio RJ, Ojha B, Bryant AS, Raghuvver V, Mountz JM, Bartolucci AA (2004): The accuracy of integrated PET-CT compared with dedicated PET alone for the staging of patients with non-small-cell lung cancer. *Ann Thorac Surg* 78, 1017-1023

CHALLENGE Protokoll (2004): Protocol MO17896: CHALLENGE: Chip affymetrix for profiling lung cancer and imaging with Erlotinib. Version 1.1, 07.05

Cheng C, Wang R, Li Y, Pan Y, Zhang Y, Li H, Zheng D, Zheng S, Shen X, Sun Y et al. (2015): EGFR exon 18 mutations in East Asian patients with lung adenocarcinomas: A comprehensive investigation of prevalence, clinicopathologic characteristics and prognosis. *Scientific Reports* 5, 1-8

Cicenas S, Geater SL, Petrov P, Hotko Y, Hooper G, Xia F, Mudie N, Wu YL (2016): Maintenance erlotinib versus erlotinib at disease progression in patients with advanced non-small-cell lung cancer who have not progressed following platinum-based chemotherapy (IUNO study). *Lung Cancer* 102, 30-37

Crino L, Foglietta J, Hamzaj A (2007): Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2, 24-26

Darby S, Hill D, Auvinen A, Barros-Dios JM, Baysson H, Bochicchio F, Deo H, Falk R, Forsastiere F, Hakama M et al. (2004): Radon in homes and risk of lung cancer: Collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ* 330, 1-6

Darling GE, Li F, Patsios D, Massey C, Wallis AG, Coate L, Keshavjee S, Pierre A, de Perrot M, Yasufuku K et al. (2015): Neoadjuvant chemoradiation and surgery improves survival outcomes compared with definite chemoradiation in the treatment of stage IIIA N2 non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 48, 684-690

Detterbeck FC, Boffa DJ, Kim AW, Tanoue LT (2017): The eighth edition lung cancer stage classification. *Chest* 151, 193-203

DeVita VT Jr, Chu E (2008): A history of cancer chemotherapy. *Cancer Res* 68, 8643-8653

DGHO (2017): Lungenkarzinom, nicht kleinzellig. Onkopedia Leitlinie der DGHO, Internetversion, Stand 04/2017 <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellig-nsclc/@@view/html/index.html>; abgerufen am 07.10.2018

Dowell J, Minna JD, Kirkpatrick P (2005): Erlotinib hydrochloride. *Nat Rev Drug Discov* 4, 13-14

Eberhard DA, Johnson BE, Amler LC, Goddard AD, Heldens SL, Herbst RS, Ince WL, Jänne PA, Januario T, Johnson DH et al. (2005): Mutations in the epidermal growth factor receptor and in KRAS are predictive and prognostic indicators in patients with non-small-cell lung cancer treated with chemotherapy alone and in combination with erlotinib. *J Clin Oncol* 23, 5900-5909

Eberhardt WE, Wilke H, Stamatidis G, Stuschke M, Harstrick A, Menker H, Krause B, Mueller MR, Stahl M, Flasshove M et al. (1998): Preoperative chemotherapy followed by concurrent chemoradiation therapy based on hyperfractionated accelerated radiotherapy and definitive surgery in locally advanced non-small-cell lung cancer: Mature results of a phase II trial. *J Clin Oncol* 16, 622-634

Eberhardt WE, Pöttgen C, Gauler TC, Friedel G, Veit S, Heinrich V, Welter S, Budach W, Spengler W, Kimmich M et al. (2015): Phase III study of surgery versus definitive concurrent chemoradiotherapy boost in patients with resectable stage IIIA(N2) and selected IIIB non-small-cell lung cancer after induction chemotherapy and concurrent chemoradiotherapy (ESPA-TUE). J Clin Oncol 33, 4194-4201

Ennis BC, Lippman M, Dickson RB (1991): The EGF receptor system as a target for antitumor therapy. Cancer Invest 9, 553-562

Ettinger DS (2004): Overview and state of the art in the management of lung cancer. Oncology (Williston Park) 18, 3-9

Fachinformation Giotrif® (2018): Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt, Stand April 2018

Fachinformation Iressa® (2018): Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt, Stand April 2018

Fachinformation Tarceva® (2018): Rote Liste Service GmbH, Fachinfo-Service, Mainzer Landstraße 55, 60329 Frankfurt, Stand April 2018

Felip E, Rosell R, Maestre J A, Rodríguez-Paniagua J M, Morán T, Astudillo J, Alonso G, Borro J M, González-Larriba J L, Torres A et al. (2010): Spanish Lung Cancer Group: Preoperative chemotherapy plus surgery versus surgery plus adjuvant chemotherapy versus surgery alone in early-stage non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 28, 3138-3145

Forde PM, Chaft JE, Smith KN, Anagnostou V, Cottrell TR, Hellmann MD, Zahurek M, Yang SC, Jones DR, Broderick S et al. (2018): Neoadjuvant PD-1 blockade in resectable lung cancer. N Engl J Med 378, 1976-1986

Gaikwad A, Gupta A, Hare S, Gomes M, Sekhon H, Souza C, Inacio J, Lad S, Seely J (2012): Primary adenocarcinoma of lung: A pictorial review of recent updates. Eur J Radiol 81, 4146-4155

Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna A, Kaukel E, Roubec J, De Rosa F, Milanowski J, Karnicka-Mlodkowski H, Pesek M, Serwatowski P et al. (2007): Phase III study of Erlotinib in combination with Cisplatin and Gemcitabine in advanced non-small-cell lung cancer: The Tarceva Lung Cancer Investigation Trial. *J Clin Oncol* 25, 1545-1552

Gettinger S (2008): Targeted therapy in advanced non-small-cell lung cancer. *Semin Respir Crit Care Med* 29, 291-301

Giaccone G, Herbst RS, Manegold C, Scagliotti G, Rosell R, Miller V, Natale RB, Schiller JH, Von Pawel J, Pluzanska A et al. (2004): Gefitinib in combination with Gemcitabine and Cisplatin in advanced non-small-cell lung cancer: A phase III trial - INTACT 1. *J Clin Oncol* 22, 777-784

Goldstraw P, Crowley J, Chansky K, Giroux DJ, Groome PA, Rami-Porta R, Postmus PE, Rusch V, Sobin L (2007): International Association for the Study of Lung Cancer International Staging Committee: The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for the revision of the TNM stage groupings in the forthcoming (seventh) edition of the TNM classification of malignant tumours. *J Thorac Oncol* 2, 706–714

Griesinger F, Tiemann M, Passlick B, Reinmuth N, Waller C, Graeven U, Reck M, Grohé C, Serke M, Greiner S et al. (2017): NeoIntercal Studienkonzept. *Forum* 32, 52-54

Griffeth LK (2005): Use of PET/CT scanning in cancer patients: Technical and practical considerations. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 18, 321-330

Herbst RS, Giaccone G, Schiller JH, Natale RB, Miller V, Manegold C, Scagliotti G, Rosell R, Oliff I, Reeves JA et al. (2004): Gefitinib in combination with Paclitaxel and Carboplatin in advanced non-small-cell lung cancer: A phase III trial - INTACT 2. *J Clin Oncol* 22, 785-794

Herbst RS, Prager D, Hermann R, Fehrenbacher L, Johnson BE, Sandler A, Kris MG, Tran HT, Klein P, Li X et al. (2005): TRIBUTE: A phase III trial of Erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with Carboplatin and Paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23, 5892-5899

Hirsh V, Cadranel J, Cong XJ, Fairclough D, Finnen HW, Lorence RM, Miller VA, Palmer M, Yang JC (2013): Symptom and quality of life benefit of Afatinib in advanced non-small-cell lung cancer patients previously treated with erlotinib or gefitinib: Results of a randomized phase IIb/III trial (LUX-Lung 1). *J Thorac Oncol* 8, 229-237

Hoffman PC, Mauer AM, Vokes EE (2000): Lung Cancer. *Lancet* 355, 479-485

Hudis CA (2007): Trastuzumab – mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med* 357, 39-51

Jackman DM, Yeap BY, Sequist LV, Lindeman N, Holmes AJ, Joshi VA, Bell DW, Huberman MS, Halmos B, Rabin MS et al. (2006): Exon 19 deletion mutations of epidermal growth factor receptor are associated with prolonged survival in non-small cell lung cancer patients treated with Gefitinib or Erlotinib. *Clin Cancer Res* 12, 3908-3914

Johnson DH, Schiller JH, Bunn PA Jr. (2014): Recent clinical advances in lung cancer management. *J Clin Oncol* 32, 973-982

Junker K, Langner K, Klinker F, Bosse U, Thomas M (2001): Grading of tumor regression in non-small cell lung cancer: Morphology and prognosis. *Chest* 120, 1584-1591

Kaira K, Naito K, Takahashi T, Ayabe E, Shimoyama R, Kaira R, Ono A, Igawa S, Shukuya T, Murakami H et al. (2010): Pooled analysis of the reports of Erlotinib after failure of Gefitinib for non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 68, 99-104

Kligerman S, Digumarthy S (2009): Staging of non-small-cell lung cancer using integrated PET/CT. *AJR Am J Roentgenol* 193, 1203-1211

Koshy M, Fedewa SA, Malik R, Ferguson MK, Vigneswaran WT, Feldman L, Howard A, Abdelhady K, Weichselbaum RR, Virgo KS (2013): Improved survival associated with neoadjuvant chemoradiation in patients with clinical stage IIIA(N2) non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 8, 915-922

Kreuter M, Herth FJ, Eberhardt R (2008): Diagnostik des Bronchialkarzinoms. *Pneumologie* 5, 187-198

Lammering G (2003): Der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) als Ziel genetischer Modulation zur Erhöhung der Strahlensensibilität humaner Karzinome und maligner Gliome. Med. Habil.-Schr. Düsseldorf

Lee HY, Lee HJ, Kim YT, Kang CH, Jang BG, Chung DH, Goo JM, Park CM, Lee CH, Kang KW (2010): Value of combined interpretation of computed tomography response and positron emission tomography response for prediction of prognosis after neoadjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 5, 497-503

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 1.0, 2018, AWMF-Registernummer: 020/007OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Lungenkarzinom.98.0.html>; abgerufen am: 07.10.2018

Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, Harris PL, Haserlat SM, Supko JG, Haluska FG et al. (2004): Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to Gefitinib. *N Engl J Med* 350, 2129-2139

Mamot C, Rochlitz CF (2005): Iressa™, Tarceva™ und Erbitux™ – Medikamente einer neuen Generation. *Schweiz med forum* 5, 475-479

Mendelsohn J (2002): Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. *J Clin Oncol* 20, 1-13

Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, Yang CH, Chu DT, Saijo N, Sunpaweravong P, Han B, Margono B, Ichinose Y et al. (2009): Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med* 361, 947-957

Neal JW (2010): The SATURN trial: the value of maintenance Erlotinib in patients with non-small-cell lung cancer. *Future Oncol* 6, 1827-1832

NICE Guidance (2011): Clinical guideline [CG121], Lung cancer: Diagnosis and management. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg121>; abgerufen am 07.10.2018

Overbeck T, Griesinger F, Crieé CP, Schöndube F, Schmidberger H, Andreas S, Schirren J, Hemmerlein B, Keppler U, Meller J (2004): FDG-PET response predicts overall and disease free survival after induction chemotherapy with Docetaxel (D) plus Carboplatin (C) and Erythropoietin (Epo) in locally advanced (Stage III) non-small-cell lung cancer (NSCLC), Poster 634. Posterpräsentation im Rahmen des 29. ESMO Kongress, Wien, 02. November 2004

Poettgen C, Levegrün S, Theegarten D, Marnitz S, Grehl S, Pink R, Eberhardt W, Stamatis G, Gauler T, Antoch G et al. (2006): Value of 18F-fluoro-2-deoxy-D-glucose-positron emission tomography/computed tomography in non-small-cell lung cancer for prediction of pathologic response and times to relapse after neoadjuvant chemoradiotherapy. *Clin Cancer Res* 12, 97-106

Poettgen C, Theegarten D, Eberhardt W, Levegruen S, Gauler T, Krbek T, Stamatis G, Teschler H, Kuehl H, Bockisch A et al. (2007): Correlation of PET/CT findings and histopathology after neoadjuvant therapy in non-small-cell lung cancer. *Oncology* 73, 316–323

Riely GJ, Pao W, Pham D, Li AR, Rizvi N, Venkatraman ES, Zakowski MF, Kris MG, Ladanyi M, Miller VA (2006): Clinical course of patients with non-small-cell lung cancer and epidermal growth factor receptor exon 19 and exon 21 mutations treated with Gefitinib or Erlotinib. *Clin Cancer Res* 12, 839-844

Robert Koch-Institut (2017): Krebs in Deutschland für 2013/2014: 3.10 Lunge, 11. Ausgabe, Berlin; https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2017/krebs_in_deutschland_2017.pdf?__blob=publicationFile; abgerufen am 07.10.2018

Rosell R, Ichinose Y, Taron M, Sarries C, Queralt C, Mendez P, Sanchez JM, Nishiyama KI, Moran T, Cirauqui B et al. (2005): Mutations in the tyrosine kinase domain of the EGFR gene associated with Gefitinib response in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 50, 25–33

Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, Palmero R, Garcia-Gomez R, Pallares C, Sanchez JM et al. (2012): 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* 13, 239-246

Sato JD, Kawamoto T, Le AD, Mendelsohn J, Polikoff J, Sato GH (1983): Biological effects in vitro of monoclonal antibodies to human epidermal growth factor receptors. *Mol Biol Med* 1, 511-529

Schmidt-Hansen M, Baldwin DR, Hasler E, Zamora J, Abaira V, Roqué I Figuls M (2014): PET-CT for assessing mediastinal lymph node involvement in patients with suspected resectable non-small-cell lung cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 11, CD009519

Schmidt-Ullrich RK, Contessa JN, Dent P, Mikkelsen RB, Valerie K, Reardon DB, Bowers G, Lin PS (1999): Molecular mechanisms of radiation-induced accelerated repopulation. *Radiat Oncol Investig* 7, 321-330

Shepherd FA, Pereira JR, Ciuleanu T, Tan EH, Hirsh V, Thongprasert S, Campos D, Maoleekoonpiroj S, Smylie M, Martins R et al. (2005): Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 353, 123-132

Spiro SG, Gould MK, Colice GL; American College of Chest Physicians (2007): Initial evaluation of the patient with lung cancer: Symptoms, signs, laboratory tests, and paraneoplastic syndromes: ACCP evidenced-based clinical practice guidelines (2nd edition). *Chest* 132, 149-160

Statistisches Bundesamt (2017): Gesundheit – Todesursachen in Deutschland 2015. Fachserie 12, Reihe 4, Januar, korrigiert März 2017; <https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Publikationen/Downloads-Todesursachen/todesursachen-2120400157005.html>

Steins M, B, Reinmuth N, Bischoff H, Kindermann M, Thomas M (2010): Targeting the epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung cancer. *Onkologie* 33, 704-709

Taron M, Ichinose Y, Rosell R, Mok T, Massuti B, Zamora L, Mate JL, Manegold C, Ono M, Queralt C et al. (2005): Activating mutations in the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor are associated with improved survival in Gefitinib-treated chemorefractory lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 11, 5878-5885

Thomas M, Rube C, Semik M, von Eiff M, Freitag L, Macha HN, Wagner W, Klink F, Scheld HH, Willich N et al. (1999): Impact of preoperative bimodality induction including twice-daily radiation on tumor regression and survival in stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 17, 1185

Thomas M, Gatzemeier U, Goerg R, Matthiessen W, Morr H, Schönfeld N, Ukena D, Stamatis G (2000): Empfehlungen zur Diagnostik des Bronchialkarzinoms. *Pneumologie* 54, 361-371

Thomas M, Baumann M, Deppermann M, Freitag L, Gatzemeier U, Huber R, Passlick B, Serke M, Ukena D (2002): Empfehlungen zur Therapie des Bronchialkarzinoms. *Pneumologie* 56, 113-131

Van Meerbeeck JP, Kramer GW, van Schil PE, Legrand C, Smit EF, Schramel F, Tjan-Heijnen VC, Biesma B, Debruyne C, van Zandwijk N et al. European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Lung Cancer Group (2007): Randomized controlled trial of resection versus radiotherapy after induction chemotherapy in stage IIIA-N2 non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 99, 442-450

Van Meerbeeck JP, Meersschout S, de Pauw R, Madani I, de Neve W (2008): Modern radiotherapy as part of combined modality treatment in locally advanced non-small cell lung cancer: Present status and future prospects. *Oncologist* 13, 700-708

Veale D, Ashcroft T, Marsh C, Gibson GJ, Harris AL (1987): Epidermal growth factor receptors in non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 55, 513–516

Wu YL, Lee JS, Thongprasert S, Yu CJ, Zhang L, Ladrera G, Srimuninnimit V, Sriuranpong V, Sandoval-Tan J, Zhu Y et al. (2013): Intercalated combination of chemotherapy and Erlotinib for patients with advanced stage non-small-cell lung cancer (FASTACT-2): A randomised, double-blind trial. *Lancet Oncol* 14, 777-786

Xu XL, Dan L, Chen W, Zhu SM, Mao WM (2016): Neoadjuvant chemoradiotherapy or chemotherapy followed by surgery is superior to that followed by definitive chemoradiation or radiotherapy in stage IIIA (N2) non-small-cell lung cancer: A meta-analysis and system review. *Onco Targets Ther* 9, 845-853

Yamamoto Y, Nishiyama Y, Monden T, Sasakawa Y, Ohkawa M, Gotoh M, Kameyama K, Haba R (2006): Correlation of FDG-PET findings with histopathology in the assessment of response to induction chemoradiotherapy in non-small cell lung cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 33, 140-147

Yang JJ, Wang SX, Zhong WZ, Xu CR, Yan HH, Wu YL (2011): Is ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-based metabolic response superior to response evaluation criteria in solid tumors-based response after two cycles of platinum-based chemotherapy in predicting clinical outcome of untreated patients with advanced non-small-cell lung cancer? *Nucl Med Commun* 32, 1113-1120

Yang JC, Wu YL, Schuler M, Sebastian M, Popat S, Yamamoto N, Zhou C, Hu CP, O'Byrne K, Feng J et al. (2015): Afatinib versus Cisplatin-based chemotherapy for EGFR mutation-positive lung adenocarcinoma (LUX-Lung 3 and LUX-Lung 6): Analysis of overall survival data from two randomised, phase 3 trials. *Lancet Oncol* 16, 141-151

Yarden Y (2001): The EGFR family and its ligands in human cancer. Signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 37, 3-8

Young H, Baum R, Cremerius U, Herholz K, Hoekstra O, Lammertsma AA, Pruim J, Price P (1999): Measurement of clinical and subclinical tumour response using [18F]-fluorodeoxyglucose and positron emission tomography: Review and 1999 EORTC recommendations. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) PET Study Group. *Eur J Cancer* 35, 1773-1782

Zhang SM, Zhu QG, Ding XX, Lin S, Zhao J, Guan L, Li T, He B, Zhang HQ (2018): Prognostic value of EGFR and KRAS in resected non-small-cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer management and research* 10, 3393–3404

Zhou C, Wu YL, Chen G, Feng J, Liu XQ, Wang C, Zhang S, Wang J, Zhou S, Ren S et al. (2015): Final overall survival results from a randomised, phase III study of Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment of EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG-0802). *Ann Oncol* 26, 1877-1883

Danksagung

Bedanken möchte ich mich sehr herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Frank Griesinger für die Vergabe der Arbeit und die Einbindung in die Studie. Tief dankbar bin ich für seine verlässliche Unterstützung und den wissenschaftlichen Austausch.

Für die hervorragende Betreuung sowie die stets wertschätzende, kollegiale und zuversichtliche Zusammenarbeit gilt mein besonderer Dank Dr. Tobias Overbeck.

Meinen Eltern danke ich sehr herzlich für die Ermöglichung meiner akademischen Ausbildung und dass sie immer an mich geglaubt haben.

Meiner Frau Svenja und meinem Sohn Leo danke ich für die Geduld und die emotionale Unterstützung beim Erstellen dieser Arbeit.