

Aus dem  
Charité Centrum 10 für  
Magen-, Darm-, Nieren- und Stoffwechselmedizin  
Klinik für Urologie, Campus Virchow  
Direktor: Professor Dr. med. Kurt Miller

## **Habilitationsschrift**

**Prognosefaktoren und Sequenztherapiestrategien der  
zielgerichteten Therapie beim metastasierten Nierenzellkarzinom**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach experimentelle Urologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

**Dr. Jonas Busch**  
**geboren am 06.07.1980 in Berlin**

Eingereicht: September 2013  
Dekanin: Professor Dr. med. A. Grütters-Kieslich  
1. Gutachter: Professor Dr. med. L. Bergmann  
2. Gutachter: Professor Dr. med. M. A. Kuczyk

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	2
Abkürzungsverzeichnis.....	4
1. Einleitung.....	5
1.1. Charakteristika des Nierenzellkarzinoms.....	5
1.2. Charakteristika und Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms.....	6
1.3. Derzeitige Leitlinien-Empfehlungen zur Sequenztherapie.....	8
2. Zielstellung .....	9
2.1. Metastasiertes Nierenzellkarzinom.....	9
3. Methodik .....	10
3.1. Vergleich von Gruppencharakteristika und nicht-zeitabhängigen Variablen.....	10
3.2. Zeitabhängige Variablen für prognostische Fragestellungen .....	10
4. Eigene Arbeiten und Diskussion .....	11
4.1. Intrinsische Resistenz beim mRCC .....	11
Busch J et al: Intrinsic resistance to tyrosine kinase inhibitors is associated with poor clinical outcome in metastatic renal cell carcinoma. BMC Cancer. 2011 Jul 14;11:295. ....	13
4.2. Erstlinien Progressions-freies Überleben als Prognosefaktor beim mRCC.....	18
Seidel C*, Busch J* et al: Progression free survival of first line vascular endothelial growth factor-targeted therapy is an important prognostic parameter in patients with metastatic renal cell carcinoma. Eur J Cancer. 2012 May;48(7):1023-30. ....	20
4.3. Sequenzielle Therapie mit Temezirolimus beim mRCC .....	28
Weikert S et al. Sequential use of temsirolimus in patients with metastatic renal cell carcinoma following failure of VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors. World J Urol. 2013 Aug;31(4):805-9. ....	30
4.4. Sequenztherapiestrategien der Zweitlinientherapie.....	35
Busch J et al: Sequence therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of common targeted treatment options following failure of receptor tyrosine kinase inhibitors. Eur Urol. 2011 Dec;60(6):1163-70. ....	37
4.5. Vergleich von Triple-Sequenztherapiestrategien.....	45
Busch J et al: Retrospective Comparison of Triple-sequence Therapies in	

Metastatic Renal Cell Carcinoma. Eur Urol. 2013 Jul;64(1):62-70.....	47
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	56
6. Literaturverzeichnis.....	61
7. Danksagung.....	66
8. Eidesstattliche Erklärung gemäß § 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité.....	67

## Abkürzungsverzeichnis

ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
Ev	Everolimus
MHH	Medizinische Hochschule Hannover
miRNA	micro RNA
mRCC	metastasiertes Nierenzellkarzinom
MSKCC	Memorial Sloan Kettering Cancer Center
mTOR	mammalian target of rapamycin
mTORi	mTOR Inhibitor
OS	Gesamtüberleben
PFS	Progression-freies Überleben
rTKI	receptor tyrosine kinase Inhibitor
VEGFi	vascular endothelial growth factor inhibitor

# 1. Einleitung

## 1.1. Charakteristika des Nierenzellkarzinoms

Das Nierenzellkarzinom macht einen Anteil von über 90 % aller malignen renalen Raumforderungen aus (Motzer, Agarwal et al. 2009). Für das Jahr 2006 wurde in der EU eine Inzidenz von 63300 Fällen mit einer jährlichen Mortalität von 26400 Fällen beschrieben (Ferlay, Autier et al. 2007).

Wird bei einem Patienten sonographisch oder computertomographisch der Verdacht auf eine maligne Raumforderung der Nieren gestellt, so ergeben sich je nach Ausdehnung, Histologie, Metastasierung und Gesamtzustand des Patienten unterschiedliche diagnostische und therapeutische Algorithmen. Eine Nephrektomie oder Teilnephrektomie erfolgt in Abhängigkeit von der Größe und Lage des Tumors. In den aktuellen Leitlinien der europäischen Fachgesellschaft für Urologie wird für T1 Tumoren <7cm ein organerhaltendes Vorgehen empfohlen (Ljungberg, Cowan et al. 2010).

Postoperativ wird das Gewebe gemäß der aktuellen TNM-Klassifikation aufgearbeitet. Histologisch werden dabei nach der WHO-Klassifikation verschiedene Subtypen des Nierenzellkarzinoms unterschieden (Lopez-Beltran, Scarpelli et al. 2006). Das klarzellige Nierenzellkarzinom macht ca. 70-75 % aus, gefolgt vom papillären Typ mit ca. 15 % und dem chromophoben mit ca. 5 % (Cheng, Zhang et al. 2009). Zusätzlich werden seltenere histologische Subtypen (z.B. das Ductus-Bellini-Karzinom) sowie familiäre Nierenzellkarzinom-Typen unterschieden (Lopez-Beltran, Scarpelli et al. 2006; Cheng, Zhang et al. 2009). Anhand der sogenannten Fuhrman-Graduierung wird der klarzellige Subtyp weiter differenziert in Grad 1-4 (Gudbjartsson, Jonasdottir et al. 2002).

Im postoperativen Verlauf erleiden ca. 20-30 % der in kurativer Absicht operierten Patienten ein Tumorrezidiv oder entwickeln Metastasen. Daraus ergibt sich die Frage, ob es möglich ist, Patienten mit einem hohen Rezidivrisiko zu identifizieren, um den Nutzen einer adjuvanten systemischen Therapie effizienter untersuchen zu können. Kattan et al. (Kattan, Reuter et al. 2001) entwickelten 2001 eines der ersten Modelle zur Vorhersage eines Rezidivs nach Nephrektomie mit korrekten Vorhersagewerten von 61-

81 %. Dieses Modell basiert sowohl auf Symptomen bei der Diagnosestellung als auch auf dem histologischen Subtyp, der Tumorgroße und dem TNM-Stadium.

Im Weiteren wurden zahlreiche andere Modelle entwickelt (Sorbellini, Kattan et al. 2005; Karakiewicz, Lewinshtein et al. 2006; Karakiewicz, Briganti et al. 2007). Als eines der bedeutendsten Vorhersagemodelle gilt derzeit das Modell der University of California Los Angeles (UCLA) mit einem integrierten Staging System (UISS) (Zisman, Pantuck et al. 2001; Zisman, Pantuck et al. 2002). Bei diesem Modell werden TNM-Stadium, Fuhrman-Grad und ein klinischer Symptome Score (ECOG) verwendet. Dieses Modell wurde vielfach getestet und mit einem anderen bedeutenden Modell, dem sogenannten Leibovich Score, verglichen (Tan, Kanesvaran et al. 2010).

Alle diese Modelle beruhen auf konventionellen klinischen und pathohistologischen Kenngrößen. Molekulare Marker als Indikatoren der subzellulären Charakteristik eines Tumors werden bisher jedoch nicht mit in diese Modelle einbezogen, obwohl mRNA-Daten dazu bereits vorliegen. Es wird angenommen, dass molekulare Marker entweder allein in Form von Signaturen/Profilen oder in Kombination mit den bisherigen Kenngrößen eine verbesserte Prognoseaussage und damit Risikostratifizierung ermöglichen könnten (Ficarra, Galfano et al. 2008; Volpe and Patard 2010).

Eine direkte Nutzung der zuvor genannten Nomogramme z.B. zur adjuvanten Gabe von Pharmaka, um eine Metastasierung zu verhindern, sehen die aktuellen Leitlinien und zuständigen Aufsichtsbehörden (Food & Drug Administration, USA; European Medicines Agency, EU) bislang nicht vor. Mehrere Phase-III-Studien zur adjuvanten Gabe einer systemischen Targettherapie beim nicht-metastasierten Nierenzellkarzinom der Hochrisikogruppe nach UISS-Kriterien werden derzeit durchgeführt (STRAC, PROTECT).

## **1.2. Charakteristika und Therapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms**

Die Prognose von Patienten mit einem metastasierten Nierenzellkarzinom (mRCC) konnte in den vergangenen Jahren durch die Einführung von zielgerichteten Therapeutika deutlich verbessert werden (Escudier, Pluzanska et al. 2007; Hudes, Carducci et al. 2007; Motzer, Hutson et al. 2007; Sternberg, Davis et al. 2010). Die

Entscheidung, welches Medikament welchem Patienten verabreicht wird, wird anhand von Risiko-Einschätzungen getroffen. Dafür werden vor allem der MSKCC (Memorial Sloan Kattering Cancer Center) Score, aber auch die Heng-Kriterien herangezogen (Heng, Xie et al. 2009).

Die Mehrzahl der Erstlinientherapiesubstanzen inhibieren den VEGF-Signalweg (VEGFi) bzw. die nachgeschaltete Tyrosinkinase. Die meisten Patienten mit einem günstigen oder intermediären MSKCC-Risikoprofil werden mit dem Rezeptor-Tyrosinkinase-Inhibitor (rTKI) Sunitinib therapiert (Mills, Rachlis et al. 2009; Thompson Coon, Liu et al. 2009).

Im Verlauf entwickelt jedoch die Mehrzahl der Patienten unter dieser Therapie nach anfänglicher Stabilisierung oder messbarem Ansprechen einen Tumorprogress. Diese Situation wird als erworbene oder sekundäre Resistenz bezeichnet. Diese Patienten müssen mit einer weiteren sequentiellen Therapie behandelt werden. Dafür kommt dann insbesondere der mTOR (mammalian target of rapamycin)-Inhibitor Everolimus (Ev) infrage (Motzer, Escudier et al. 2008). Aber auch eine erneute Therapie mit anderen rTKIs scheint wirksam (Garcia, Hutson et al. 2010; Porta, Procopio et al. 2011; Rini, Escudier et al. 2011; Buchler, Klapka et al. 2012).

Manche Patienten erleiden jedoch unter der systemischen Erstlinientherapie frühzeitig einen Tumorprogress, ohne überhaupt von einer Therapiestabilisierung zu profitieren. Dies wird als primäre oder intrinsische Resistenz bezeichnet (Bergers and Hanahan 2008). Die primäre Resistenz manifestiert sich in der regulären Verlaufskontrolle durch Größenzunahme der Metastasen im Computertomogramm entsprechend den Leitlinien zur Evaluierung des Therapieansprechens bei soliden Tumoren (RECIST Leitlinien in (Therasse, Arbuck et al. 2000)) oder auch durch klinische Zeichen mit funktioneller Beeinträchtigung (z.B. durch neu aufgetretene Hirnmetastasen).

Der Anteil dieser intrinsisch resistenten Patienten beträgt zwischen 15 - 25 %. Eine solche primäre Resistenz gegenüber rTKIs bedeutet für den Patienten ein deutlich schlechteres Ansprechen für alle weiteren Therapieoptionen und ein deutlich schlechteres Gesamtüberleben. In einer großen Multicenter-Studie mit 1056 Patienten

konnten Heng et al. (Heng, Mackenzie et al. 2012) kürzlich zeigen, dass von 272 Patienten (26 %) mit primärer Resistenz nur 40 % überhaupt eine weitere Sequenztherapie erhielten. Das mittlere progressions-freie Überleben (PFS) und das Gesamtüberleben (OS) waren bei diesen Patienten mit 2,4 Monaten gegenüber 11 Monaten bzw. 6,8 im Vergleich zu 29 Monaten deutlich kürzer. In der Zweitlinientherapie war die erneute Gabe eines rTKIs oder mTOR-Inhibitors (mTORi) gleichermaßen nur begrenzt wirksam.

Weitere wichtige klinische Prognosekriterien sind das Ausmaß des Ansprechens einer Therapie gemessen an der Ab- oder Zunahme der Metastasendurchmesser sowie die Dauer des PFS in der ersten Therapielinie (Heng, Xie et al. 2011; Seidel, Busch et al. 2012). Zudem haben Patienten mit einem nicht-klarzelligen Nierenkarzinom eine schlechtere Prognose.

### **1.3. Derzeitige Leitlinien-Empfehlungen zur Sequenztherapie**

Laut den aktuellen Leitlinien der European Association of Urology (EAU) wird zur Erstlinienbehandlung bei Patienten mit mRCC der rTKI Sunitinib, der monoklonale VEGFi Antikörper Bevacicumab in Kombination mit Interferon sowie der VEGFi Pazopanib bei günstigem Risikoprofil nach Motzer empfohlen. Der mTORi Temsirolimus hingegen wird derzeit nur als Erstlinientherapie bei „poor prognosis“ Patienten nach Motzer empfohlen. Der Einsatz von Sorafenib kommt nach vorheriger Immuntherapie oder rTKI als Zweitliniensubstanz in Frage. Der weitere mTORi Ev und der VEGFi Axitinib werden gleichermaßen in der Zweitlinienanwendung nach Versagen einer vorherigen rTKI Therapie gesehen. Als Drittlinientherapie nach rTKIs wird lediglich Ev genannt (Ljungberg, Cowan et al. 2010).

## **2. Zielstellung**

### **2.1. Metastasiertes Nierenzellkarzinom**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, unterschiedliche Prognosefaktoren und Behandlungsstrategien an einem Kollektiv von Patienten mit mRCC zu untersuchen, die an der Charité Universitätsmedizin Berlin und der Medizinischen Hochschule Hannover, Klinik für Hämatologie und Onkologie mit modernen zielgerichteten Therapien versorgt wurden. Folgende Themen wurden im Einzelnen behandelt:

- Die Bedeutung von intrinsischer Resistenz gegenüber einer rTKI Erstlinienbehandlung
- Prognostische Bedeutung des PFS einer Erstlinienbehandlung mit rTKI
- Sequentieller Einsatz von Temsirolimus nach Versagen von mindestens einer rTKI Therapie
- Sequenztherapiestrategien der Zweitlinie nach Versagen einer rTKI Erstlinientherapie
- Vergleich zweiter Triple-Sequenztherapiestrategien

### **3. Methodik**

#### **3.1. Vergleich von Gruppencharakteristika und nicht-zeitabhängigen Variablen**

Um sich ein genaues Bild der in der jeweiligen Untersuchung verwendeten Methoden zu machen, sei auf den entsprechenden Methodenteil der einzelnen Publikationen verwiesen. Im Allgemeinen sind jedoch ähnliche Methoden in allen Untersuchungen verwendet worden. Für die überwiegende Mehrheit der Studien wurden die Patientendaten prospektiv erhoben und retrospektiv analysiert.

Insbesondere zum Vergleich von Charakteristika zwischen zwei Gruppen wurden bei kategorialen Variablen der Fisher's Exakt Test, eine Form des Chi-Quadrat Tests, und für kontinuierliche Variablen der Man-Whitney U Test durchgeführt. Bei kleinen Gruppengrößen wurde primär nicht von einer Normalverteilung der Werte ausgegangen und der Student's t Test nicht angewendet. Bei der Beschreibung von Variablen wurden je nach Untersuchung Mediane, Mittelwerte, Interquartilenbereiche, die Spannweite und das 95% Konfidenzintervall angegeben.

Für einige nicht zeitabhängige binär kodierte Endpunkte wurden uni- und multivariate Modelle erstellt, um mit Hilfe der logistischen Regression entsprechende Prädiktoren dieser Variablen zu ermitteln.

Bei der Angabe von p-Werten zum statistischen Signifikanzniveau handelte es sich um zweiseitige p-Werte. Ab  $p < 0,05$  wurde ein Unterschied als signifikant erachtet.

#### **3.2. Zeitabhängige Variablen für prognostische Fragestellungen**

Prognostische Fragestellungen mit zeitabhängigen Variablen sind bei onkologischen Untersuchungen häufig von zentraler Bedeutung. In den vorliegenden Untersuchungen wurden das PFS oder das OS mit Hilfe der Kaplan-Meier-Analyse ermittelt. Zum Vergleich zweier Gruppen innerhalb dieser Analysen wurde der log-rank Test herangezogen. Zusätzlich wurden so genannte uni- und multivariable Cox-Regression-Modelle konstruiert, um Prädiktoren des entsprechenden zeitabhängigen Endpunktes zu ermitteln. Alle Untersuchungen wurden mit dem Softwareprogramm SPSS in unterschiedlichen Versionen durchgeführt.

## 4. Eigene Arbeiten und Diskussion

### 4.1. Intrinsische Resistenz beim mRCC

Busch J, Seidel C, Weikert C, Kempkensteffen C, Wolff I, Weinkauff L, Hinz S, Magheli A, Miller K, Grünwald V. Intrinsic resistance to tyrosine kinase inhibitors is associated with poor clinical outcome in metastatic renal cell carcinoma. BMC Cancer. 2011 Jul 14;11:295.

Ziel der Untersuchung war die Charakterisierung von Patienten mit mRCC und einer primären bzw. intrinsischen Resistenz gegenüber einer rTKI Behandlung in der ersten Therapielinie. Hierzu wurden die klinischen Behandlungsdaten von insgesamt 189 Patienten mit mRCC sowie einer Erstlinientherapie mit Sunitinib oder Sorafenib retrospektiv analysiert. Eingeschlossen wurden Patienten aus der Klinik für Urologie der Charité sowie der Klinik für Onkologie der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH). Insgesamt wurden 35 Patienten mit einer intrinsischen Resistenz gegenüber einer Erstlinientherapie mit rTKI identifiziert (28 Patienten unter Sunitinib und 7 Patienten unter Sorafenib; 18 Männer und 11 Frauen). Die mediane Behandlungsdauer der Erstlinientherapie betrug lediglich 2,4 Monate (Spannweite 1-4,6). Bei 22 Patienten war die Diagnose „Progressive disease“ durch das Auftreten von neuen Metastasen bedingt. Für 16 dieser Patienten erfolgte eine weitere Zweitlinientherapie. Lediglich vier dieser Patienten erreichten eine Krankheitsstabilisierung („stable disease“), 12 Patienten blieben refraktär. Bei 13 der primär resistenten Patienten kam es zu einem kontinuierlichen Wachstum bestehender Metastasen und daher zur Diagnose „progressive disease“. Neun dieser Patienten erhielten eine Folgetherapie, sechs davon erreichten eine Krankheitsstabilisierung.

Insgesamt wurden also 25 Patienten mit einer Sequenztherapie (mindestens Zweitlinie) therapiert. Fünfzehn mit rTKIs und zehn Patienten mit mTOR-Inhibitoren. Das Zweitlinien-PFS betrug im Median 3,2 Monate (Spannweite 1-16,6). Fünfzehn Patienten sprachen auf keine der Therapielinien an. Das Erreichen einer Krankheitskontrolle war nicht mit der Art der Folgetherapien assoziiert. Das mediane OS ab Beginn der Erstlinientherapie betrug lediglich 14,9 Monate (95% CI: 5,5-24,4).

Zum Zeitpunkt der Publikation dieser Arbeit gab es kaum verfügbare Anwendungsdaten

zu intrinsischer Resistenz. Allgemein akzeptiert war zu diesem Zeitpunkt das Konzept eines Wechsels des Wirkmechanismus auf mTOR nach Versagen einer rTKI Erstlinientherapie auf Grundlage der Daten aus der RECORD-1 Studie (Motzer, Escudier et al. 2008). Aber auch kleinere retrospektive Analysen belegten schon die Wirksamkeit von nacheinander applizierten Medikamenten der gleichen Substanzklasse (rTKI gefolgt von rTKI) (Garcia, Hutson et al. 2010; Vickers, Choueiri et al. 2010). Keine dieser Studien beschäftigte sich jedoch ausschließlich mit intrinsischer Resistenz. Die Daten unserer kleinen Patientenkohorte ließen jedoch den Schluss zu, dass das Vorliegen einer intrinsischen Resistenz für den Patienten ein deutlich verkürztes OS durch ein schlechteres Ansprechen aller weiteren Therapielinien bedeutet, unabhängig von der gewählten weiteren Substanz (erneut rTKI oder mTORi).

Unsere Beobachtung wurde später in einer großen retrospektiven Kohorte von Heng et al bestätigt (Heng, Mackenzie et al. 2012). An einem multizentrischen Kollektiv von etwas mehr als 1000 Patienten konnten insgesamt 272 Patienten mit einer intrinsischen Resistenz identifiziert werden. Das mediane Erstlinien-PFS betrug nur 2,4 Monate, das OS lediglich 11 Monate. Nur 40% dieser Patienten erhielten eine weitere Sequenztherapie, wobei es keinen Unterschied zwischen erneuter Behandlung mit einem rTKI bzw. VEGFI oder einem mTORi gab (Heng, Mackenzie et al. 2012).

Zusammenfassend kann also geschlussfolgert werden, dass eine primäre Resistenz gegenüber einer rTKI Erstlinienbehandlung mit einer geringeren Wahrscheinlichkeit für ein Ansprechen folgender Therapielinien sowie insgesamt mit einer schlechteren Prognose für mRCC Patienten verbunden ist.

Busch J et al: Intrinsic resistance to tyrosine kinase inhibitors is associated with poor clinical outcome in metastatic renal cell carcinoma.

BMC Cancer. 2011 Jul 14;11:295. doi: 10.1186/1471-2407-11-295.

#### **4.2. Erstlinien Progressions-freies Überleben als Prognosefaktor beim mRCC**

Seidel C<sup>1</sup>, Busch J<sup>1</sup>, Weikert S, Steffens S, Fenner M, Ganser A, Grünwald V. Progression free survival of first line vascular endothelial growth factor-targeted therapy is an important prognostic parameter in patients with metastatic renal cell carcinoma. Eur J Cancer. 2012 May;48(7):1023-30. Epub 2012 Mar 20

Die vorherige Studie zur Charakterisierung von Patienten mit intrinsischer Resistenz suggeriert, dass das Ansprechen auf eine Erstlinientherapie als wertvoller prognostischer Faktor gelten könnte (Busch, Seidel et al. 2011). Ziel der nun vorliegenden Studie war eine genauere Untersuchung des Einflusses der Dauer des Erstlinien-PFS unter rTKI und anderer Faktoren auf das OS bei Patienten mit mRCC.

Eingeschlossen wurden 119 Patienten mit mRCC, die wiederum an der Charité Klinik für Urologie oder MHH Klinik für Onkologie therapiert wurden.

Das mediane Erstlinien-PFS betrug 8,4 Monate (95% CI: 5,8-11) und war mit einem medianen OS von 28,2 Monaten (95% CI: 20,9-35,4) assoziiert. Eine Zweitlinientherapie mit einem weiteren rTKI oder mTORi wurde bei 81 Patienten (68%) durchgeführt. Das Zweitlinien-PFS betrug 5,1 bzw. 3,7 Monate für Responder und Non-Responder (p=0,3) der Erstlinientherapie.

Ein univariates Cox-Regressions-Modell identifizierte Knochenmetastasen, eine vorherige Zytokintherapie, den MSKCC Score, die objektive Ansprechrate, den ECOG Performance Status, ein Erstlinien-PFS  $\geq 6$  Monate und das Erreichen einer Zweitlinientherapie als relevante prognostische Einflussgrößen für das OS. In der nachfolgenden multivariaten Analyse zeigten sich ein Erstlinien-PFS  $\geq 6$  Monate (95% CI: 0.154–0.641; HR 0.314), das Erreichen einer Zweitlinientherapie (95% CI: 0.162–0.657; HR 0.326), der MSKCC Score (95% CI: 1.07–3.392; HR 1.905) und die objektive Ansprechrate (95% CI: 0.358–0.989; HR 0.595) als unabhängige prognostische Einflussgrößen für das OS.

Das relative kurze Erstlinien-PFS von nur 8,4 Monaten und auch das insgesamt eingeschränkte OS von 28,2 Monaten waren verglichen mit den bekannten Daten aus einigen Phase-III-Zulassungsstudien etwas überraschend, entsprachen aber den Ergebnissen aus anderen großen retrospektiven Serien bzw. Zulassungsstudien

---

<sup>1</sup> Geteilte Erst-Autorenschaft

(Motzer, Hutson et al. 2007; Sternberg, Davis et al. 2010; Porta, Procopio et al. 2011). Neben dem retrospektiven Charakter unserer Untersuchung, der begrenzten Patientenzahl und weiteren möglichen Störgrößen kommt sicherlich auch der relative hohe Anteil an Patienten mit intrinsischer Resistenz von etwa 29% als mögliche Ursache für eingeschränkte Überlebensdaten der Gesamtkohorte in Betracht.

Die Bedeutung eines Erstlinien-PFS  $\geq 6$  Monate als unabhängiger Prognosefaktor für ein längeres OS deckt sich mit zuvor genannten Studien zu intrinsischer Resistenz. Interessanterweise scheint das Ansprechen der Erstlinientherapie nicht mit dem Ansprechen der Zweitlinientherapie zu korrelieren, was ebenfalls durch die zuvor genannten Untersuchungen bestätigt werden konnte (Busch, Seidel et al. 2011; Heng, Mackenzie et al. 2012).

Zusammenfassend kann angenommen werden, dass das Erstlinien-PFS eine unabhängige prognostische Variable für das OS darstellt aber nicht prädiktiv für Folgetherapien zu sein scheint.

Seidel C\*, Busch J\* et al: Progression free survival of first line vascular endothelial growth factor-targeted therapy is an important prognostic parameter in patients with metastatic renal cell carcinoma.

Eur J Cancer. 2012 May;48(7):1023-30. doi: 10.1016/j.ejca.2012.02.048.

### 4.3. Sequenzielle Therapie mit Temsirolimus beim mRCC

Weikert S, Kempkensteffen C, Johannsen M, Grünwald V, Zimmermann K, Flörcken A, Westermann J, Busch J, Weinkauff L, Miller K, Keilholz U. Sequential use of temsirolimus in patients with metastatic renal cell carcinoma following failure of VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors. *World J Urol.* 2013 Aug;31(4):805-9. doi: 10.1007/s00345-011-0676-1. Epub 2011 Apr 22.

Auf der Basis der oben erwähnten Untersuchung zum wirkungsvollen Einsatz des mTORi Ev nach VEGFi (Motzer, Escudier et al. 2008) sollte in einer Studie am eigenen Patientenkollektiv die Effektivität und Toxizität eines sequentiellen Einsatzes des mTORi Temsirolimus nach Versagen einer VEGFi Therapie untersucht werden, nicht zuletzt weil es zum Zeitpunkt der Untersuchung hierfür keine publizierten prospektiven Daten gab.

Für diese Studie wurden die Behandlungsdaten von insgesamt 29 Patienten, die mit Temsirolimus (25mg/Woche) nach einer Tumorprogression unter rTKI-Therapie an insgesamt vier Einrichtungen behandelt wurden, retrospektiv ausgewertet. Die beteiligten Einrichtungen waren die Charité Klinik für Urologie CCM/CBF, die Charité Kliniken für Onkologie CBF und CVK sowie die Klinik für Onkologie der MHH. Alle Patienten hatten zumindest eine vorherige rTKI-Therapie (Sunitinib, n=6; Sorafenib, n=1, beides, n=22). Über 80% der Patienten hatten zwei oder mehr vorherige Therapien. Es wurden die Behandlungsdaten hinsichtlich der Effektivität (Ansprechen, PFS, OS) und ihres Nebenwirkungsprofils nach CTC-AE-Kriterien analysiert.

Unerwünschte Ereignisse traten bei 90% der Patienten auf, wovon die meisten als Grad 1 (n=4, 14%) oder Grad 2 (n=12, 41%) eingestuft wurden. Die meisten Grad 3 Toxizitäten (n=10, 14%) konnten gut behandelt bzw. eingestellt werden. Im Einzelnen waren das Anämie (n=4, 14%), Leukopenie/Neutropenie (n=2, 7%), Hyperglykämie (n=1, 3%), Azidose/Alkalose (n=2, 7%) sowie Infektion (n=1, 3%). Bei einem Patienten musste die Behandlung mit Temsirolimus auf Grund einer Grad 3 Pneumonitis abgebrochen werden.

Das mediane (Spannweite) PFS und OS betrug jeweils 5,1 Monate (1–10,4) und 18,0 Monate (12,6–23,3). Bei der Beurteilung des besten Ansprechens wurde eine partielle

Remission sowie „stable disease“ (n=15) mit einer Krankheitskontrollrate („disease control rate“) von 55% sowie eine Krankheitsprogression bei 45% (n=13) der Patienten festgestellt.

Kritisch zu betrachten bei dieser Untersuchung sind das retrospektive Studiendesign sowie die kleine Anzahl an Patienten sowie weitere mögliche Konfounder.

Die Applikation von Temsirolimus ist nach Leitlinien und Zulassungsstudien bisher nur als Erstlinientherapie für „poor prognosis“ Patienten vorgesehen (Hudes, Carducci et al. 2007; Ljungberg, Cowan et al. 2010). Zum Zeitpunkt der nun vorgelegten Untersuchung gab es nur wenige Anwendungsdaten zu einem sequentiellen Einsatz von Temsirolimus, die sich im Prinzip mit den genannten Ergebnissen deckten (Gerullis, Bergmann et al. 2010; Mackenzie, Rini et al. 2011).

Abschließend kann geschlussfolgert werden, dass eine Behandlung mit Temsirolimus nach rTKI Versagen vielversprechende Daten hinsichtlich Nebenwirkungsprofil und Wirksamkeit aufweist, die mit anderen Behandlungsoptionen für stark vorbehandelte Patienten mit mRCC vergleichbar erscheinen.

Weikert S et al. Sequential use of temsirolimus in patients with metastatic renal cell carcinoma following failure of VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors.  
World J Urol. 2013 Aug;31(4):805-9. doi: 10.1007/s00345-011-0676-1.

#### 4.4. Sequenztherapiestrategien der Zweitlinientherapie

Busch J, Seidel C, Kempkensteffen C, Johannsen M, Wolff I, Hinz S, Magheli A, Miller K, Grünwald V, Weikert S. Sequence therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of common targeted treatment options following failure of receptor tyrosine kinase inhibitors. *Eur Urol.* 2011 Dec;60(6):1163-70. Epub 2011 Jul 21.

Im Rahmen dieser Untersuchung sollten zwei mögliche Zweitlinien-Sequenztherapie-Strategien (Ev vs. rTKI) nach Versagen einer Erstlinienbehandlung mit einem rTKI verglichen werden. Hierfür wurden insgesamt 108 mRCC Patienten, die sich einer Behandlung an der Charité Urologie oder MHH Onkologie unterzogen, eingeschlossen. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Behandlungsgruppen (rTKI-rTKI vs rTKI-EV) hinsichtlich der Patienten-Charakteristika. Die Ansprechrate nach Versagen einer Erstlinienbehandlung mit rTKI unterschied sich nicht signifikant je nach Art der Sequenztherapie; die Krankheitskontrollrate betrug 51,6% für Ev und 43,3% für rTKI. Das korrespondierende Zweitlinien-PFS betrug 3,6 Monate (95% CI: 1,8-5,4) für Ev und 4,0 Monate (95% CI: 3,2-4,9) für eine Zweitlinienbehandlung mit rTKI.

Das OS war insgesamt länger für die rTKI-Ev Behandlungsgruppe (43 Monate; 95% CI: 33,9-52,1) gegenüber der rTKI-rTKI-Gruppe (29 Monate; 95% CI: 18,6-39,5;  $p=0,03$ ), jedoch verlor dieser Unterschied seine statistische Signifikanz in der multivariabel-adjustierten Analyse. Das Auftreten einer intrinsischen Resistenz gegenüber der rTKI Erstlinientherapie war unabhängig mit einem kürzeren nachfolgenden PFS (Hazard ratio [HR]: 1,79; 95% CI: 1,15–3,62;  $p = 0,015$ ) sowie OS (HR: 6.54; 95% CI: 3.01–14.20;  $p < 0.001$ ) assoziiert.

Das längere OS der rTKI-Ev Gruppe kann durch den höheren Anteil an Patienten mit intrinsischer Resistenz teilweise erklärt werden. Eine Subgruppenanalyse von allen Patienten mit einer Erstlinientherapie mit Sunitinib bestätigte jedoch die längeren Überlebensdaten.

Zum Zeitpunkt der Publikation dieser Studie gab es nur wenige retrospektive Untersuchungen zu Zweitlinientherapien an begrenzten Patientenkollektiven und keine prospektiven Daten außer der bereits erwähnten RECORD-1 Studie. Die meisten dieser kleinen retrospektiven Serien behandelten Patientengruppen mit sequenzieller Applikation von zwei rTKIs, die wenigsten verfügten über Anwendungsdaten zum

mTORi (Ev) (Di Lorenzo, Buonerba et al. 2010; Garcia, Hutson et al. 2010; Vickers, Choueiri et al. 2010). Eine größere italienische Multi-Center-Studie untersuchte Unterschiede in PFS und OS bei der sequentiellen Anwendung von Sunitinib gefolgt von Sorafenib und vice versa bei insgesamt 189 Patienten (Porta, Procopio et al. 2011). In dieser Untersuchung konnte eine im Median längere Therapiedauer für die Sorafenib-Sunitinib Sequenz festgestellt werden. Unterschiede bei wichtigen Charakteristika der Sunitinib-Sorafenib-Gruppe könnten für das kürzere Therapieintervall ursächlich sein (unterschiedlich hoher Anteil an vorheriger Zytokintherapie, höherer Anteil an „poor risk“ Patienten) (Porta, Procopio et al. 2011). Eine weitere Registerstudie konnte hingegen keine Unterschiede bei PFS und OS zwischen einzelnen rTKI Sequenzen feststellen (Buchler, Klapka et al. 2012). Wichtige mögliche Störgrößen bzw. Fehlerquellen unserer Untersuchung liegen in der retrospektiven Natur der Analyse, der limitierten Patientenzahl und möglichen weiteren Konfoundern.

Als Schlussfolgerung kann festgehalten werden, dass die beiden Sequenztherapien rTKI-Ev und rTKI-rTKI hinsichtlich PFS und Ansprechrate gleich effektiv zu sein scheinen. Ein tendenziell längeres OS wurde für die rTKI-Ev Sequenz beobachtet.

Busch J et al: Sequence therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of common targeted treatment options following failure of receptor tyrosine kinase inhibitors.

Eur Urol. 2011 Dec;60(6):1163-70. doi: 10.1016/j.eururo.2011.07.037.

#### 4.5. Vergleich von Triple-Sequenztherapiestrategien

Busch J, Seidel C, Erber B, Issever AS, Hinz S, Kempkensteffen C, Magheli A, Miller K, Grünwald V, Weikert S. Retrospective Comparison of Triple-sequence Therapies in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol.* 2013 Jul;64(1):62-70. doi: 10.1016/j.eururo.2012.09.004. Epub 2012 Sep 11.

Hintergrund dieser Studie waren fehlende prospektive Daten zur optimalen Sequenztherapie bis in die dritte Therapielinie. Ziel der Untersuchung war es, Effektivität und Toxizität der beiden häufigsten Sequenztherapien nach Versagen einer VEGFi Therapie, d.h. rTKI und mTORi in unterschiedlicher Reihenfolge zu beschreiben. Hierfür wurde erneut eine retrospektive Analyse von 103 Patienten, die sich einer VEGFi rTKI mTORi (n=62) oder VEGFi-mTORi-rTKI (n=41) Therapie an den bereits genannten Universitätszentren (Charité und MHH) unterzogen, durchgeführt.

Die Patientencharakteristika sowie die Ansprechrate nach Versagen der ersten VEGFi Therapie unterschieden sich nicht zwischen beiden Sequenztherapiegruppen. Das mediane Zweitlinien-PFS betrug insgesamt 4,6 Monate (95% CI: 3,8-5,4), für eine Zweitlinienbehandlung mit rTKI 4,1 Monate (95% CI: 3,4-4,9) sowie 5,4 Monate (95% CI: 2,7–8,1) für mTORi (p=0,400). Hinsichtlich des PFS wurden keine Unterschiede zwischen den Drittlinienbehandlungsgruppen festgestellt (3,6 Monate für mTORi; 3,7 Monate für rTKI). Die Behandlungsdauer nach Versagen der ersten Erstlinien-VEGFi Therapie, d.h. das kombinierte Zweit- und Drittlinien-PFS, betrug 10,0 Monate für VEGFi-rTKI-mTORi und 12,2 Monate für VEGFi-mTORi-rTKI (p=0,103).

Für das OS konnten zwischen den Sequenztherapiegruppen keine Unterschiede festgestellt werden (33,7 Monate [95% CI: 30,4–37,1] für VEGFi-rTKI-mTORi; 38,7 Monate [95% CI: 24,4–52,9] für VEGFi-mTORi-rTKI). Das Auftreten einer primären Resistenz gegenüber der Erstlinientherapie war ein unabhängiger Prädiktor für ein kürzeres OS. Die Art der Sequenztherapie war dies jedoch nicht.

Mögliche Konfounder unserer Studie lagen wiederum im retrospektiven Studiendesign sowie der begrenzten Patientenzahl.

Angesichts der vielen mRCC Patienten, die mehr als zwei Therapielinien erhalten, wird die Frage nach der optimalen Sequenz und die damit verbundene Frage nach dem optimalen Zeitpunkt für einen Wechsel des Wirkmechanismus nach Versagen einer

Erstlinientherapie mit VEGFi intensiv diskutiert. Bislang gibt es jedoch nur wenig verfügbare prospektive Daten. Die RECORD-1 Studie belegt die Effektivität eines Substanzklassenwechsels auf mTORi und wird oft als Argument für einen Einsatz von mTORi in der Zweitliniensituation herangezogen (Motzer, Escudier et al. 2008). Bei genauer Betrachtung der Daten fällt jedoch auch auf, dass ein nicht unerheblicher Anteil der Studienpopulation Ev als Drittlinientherapie erhalten hat. Zudem belegen Daten aus der zuletzt publizierten AXIS-Studie eine effektive Wirkung von VEGFi (Axitinib vs. Sorafenib) in der Zweitliniensituation (Rini, Escudier et al. 2011). Weitere Daten aus retrospektiven Serien sprechen für den sequentiellen Einsatz von VEGFi in der Zweitlinie nach Versagen einer Erstlinien-VEGFi Therapie (Garcia, Hutson et al. 2010; Herrmann, Marschner et al. 2011; Porta, Procopio et al. 2011; Buchler, Klapka et al. 2012; Porta, Paglino et al. 2012) sowie für den Drittlinien-Einsatz von VEGFi nach Versagen einer Zweitlinientherapie mit mTORi (Di Lorenzo, Buonerba et al. 2010; Grunwald, Seidel et al. 2011; Grunwald, Weikert et al. 2011). Eine Erklärung für die kontinuierliche Effektivität von sequentieller VEGFi Therapie nach Versagen einer Erstlinien-VEGFi Behandlung könnte in unterschiedlichen Angriffspunkten der Tyrosinkinase sowie unterschiedlichen Interaktionen liegen (Karaman, Herrgard et al. 2008).

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, dass die beiden Sequenztherapiestrategien VEGFi-mTORi-rTKI und VEGFi-rTKI-mTORi mit den derzeit verfügbaren Substanzen gleichsam effektiv hinsichtlich PFS, OS und Ansprechrate erscheinen. Ein deutlich vorteilhafter Effekt durch den frühen Einsatz von mTORi kann nicht konstatiert werden.

Busch J et al: Retrospective Comparison of Triple-sequence Therapies in Metastatic Renal Cell Carcinoma.

Eur Urol. 2013 Jul;64(1):62-70. doi: 10.1016/j.eururo.2012.09.004.

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Im nun folgenden letzten Teil meiner Arbeit möchte ich die vorherigen Abschnitte kurz zusammenfassen und einen Ausblick auf geplante bzw. bereits initiierte Folgeprojekte geben. Die zuvor genannten Untersuchungen beruhen auf Erst-Autorenschaften der letzten Jahre in internationalen Fachzeitschriften mit einem Peer-Review-Verfahren.

Zusammen mit den Kollegen der Klinik für Onkologie der MHH konnte durch die Kombination der klinischen Datenbanken von Patienten mit mRCC an beiden Institutionen und deren kontinuierliche Aktualisierung und Erweiterung eine Vielzahl an Publikationen neben denen in dieser Arbeit genannten realisiert werden (Grunwald, Seidel et al. 2011; Grunwald, Weikert et al. 2011; Weikert, Kempkensteffen et al. 2011). Zunächst wurde in einem kleinen Projekt die Bedeutung von intrinsischer Resistenz an Patienten unter Erstlinientherapie mit einem VEGFi untersucht (Busch, Seidel et al. 2011). Diese deskriptive Analyse erfolgte an einem noch relativ kleinen Patientenkollektiv. Es zeigte sich, dass eine primäre Resistenz für den einzelnen Patienten mit einer deutlich schlechteren Prognose verbunden war und auch die Wahl der nächstfolgenden Sequenztherapie wenig Einfluss darauf zu haben schien. Dieses Ergebnis wurde später von anderen Gruppen als auch durch unsere eigenen Folgeuntersuchungen bestätigt (Busch, Seidel et al. 2011; Heng, Mackenzie et al. 2012).

In der folgenden Studie sollte der Einfluss der Dauer des Erstlinien-PFS unter rTKI und anderer Faktoren auf das OS bei mRCC genauer untersucht werden (Seidel, Busch et al. 2012). Das mediane Erstlinien-PFS betrug 8,4 Monate und war mit einem medianen OS von 28,2 Monaten assoziiert. Eine Zweitlinientherapie mit einem weiteren rTKI oder mTORi wurde bei 68% der Patienten durchgeführt. Das Zweitlinien-PFS betrug 5,1 bzw. 3,7 Monate für Responder und Non-Responder ( $p=0,3$ ) der Erstlinientherapie. In der multivariaten Analyse zeigten sich ein Erstlinien-PFS  $\geq 6$  Monate, das Erreichen einer Zweitlinientherapie, der MSKCC Score und die objektive Ansprechrate als unabhängige prognostische Einflussgrößen für das OS.

Somit stellt das Erstlinien-PFS eine unabhängige prognostische Variable für das OS bei mRCC dar, die aber nicht prädiktiv für Folgetherapien zu sein scheint (Heng, Xie et al. 2011).

Bei der dritten Studie sollte am eigenen Patientenkollektiv die Effektivität und Toxizität eines sequentiellen Einsatzes des mTORi Temsirolimus nach Versagen einer VEGFi Therapie untersucht werden (Weikert, Kempkensteffen et al. 2011), nicht zuletzt weil es bis dato lediglich eine prospektiv-evaluierte Empfehlung zum Einsatz als Erstlinientherapie bei „poor prognosis“ Patienten gab (Hudes, Carducci et al. 2007).

Hierfür wurden Behandlungsdaten von insgesamt 29 Patienten, die mit Temsirolimus (25mg/Woche) nach einer Tumorprogression unter rTKI-Therapie behandelt wurden, retrospektiv ausgewertet. Alle Patienten hatten zumindest eine vorherige rTKI-Therapie (Sunitinib, n=6; Sorafenib, n=1, beides, n=22). Über 80% der Patienten hatten zwei oder mehr vorherige Therapien. Die Effektivität (Ansprechen, PFS, OS) und das Nebenwirkungsprofil nach CTC-AE-Kriterien wurden analysiert.

Unerwünschte Ereignisse traten bei 90% der Patienten auf, wovon die meisten als Grad 1 (n=4, 14%) oder Grad 2 (n=12, 41%) eingestuft wurden. Die meisten Grad 3 Toxizitäten (n=10, 14%) konnten gut behandelt bzw. eingestellt werden. Im Einzelnen waren das Anämie (n=4, 14%), Leukopenie/Neutropenie (n=2, 7%), Hyperglykämie (n=1, 3%), Azidose/Alkalose (n=2, 7%) sowie Infektion (n=1, 3%). Bei einem Patienten musste die Behandlung mit Temsirolimus auf Grund einer Grad 3 Pneumonitis abgebrochen werden.

Das mediane (Spannweite) PFS und OS betrug jeweils 5,1 Monate (1–10,4) und 18,0 Monate (12,6–23,3). Bei der Beurteilung des besten Ansprechens wurde eine partielle Remission sowie „stable disease“ (n=15) mit einer Krankheitskontrollrate („disease control rate“) von 55% sowie eine Krankheitsprogression bei 45% (n=13) der Patienten festgestellt.

Es kann also geschlussfolgert werden, dass eine Behandlung mit Temsirolimus nach rTKI Versagen vielversprechende Daten hinsichtlich Nebenwirkungsprofil und Wirksamkeit aufweist, die mit anderen Behandlungsoptionen für stark vorbehandelte mRCC Patienten vergleichbar erscheinen.

Bei der nächstfolgenden Studie sollten zwei mögliche echte Zweitlinien-Sequenztherapie-Strategien (Ev vs. rTKI) nach Versagen einer Erstlinienbehandlung mit einem rTKI verglichen werden (Busch, Seidel et al. 2011). Die Ansprechrate nach Versagen einer Erstlinienbehandlung mit rTKI unterschieden sich nicht signifikant je nach Art der Sequenztherapie; die Krankheitskontrollrate betrug 51,6% für Ev und

43,3% für rTKI. Das korrespondierende Zweitlinien-PFS betrug 3,6 Monate für Ev und 4,0 Monate für eine Zweitlinienbehandlung mit rTKI.

Das OS war insgesamt länger für die rTKI-Ev Behandlungsgruppe (43 Monate) gegenüber der rTKI-rTKI-Gruppe (29 Monate;  $p=0,03$ ), jedoch verlor dieser Unterschied seine statistische Signifikanz in der multivariabel-adjustierten Analyse. Das Auftreten einer intrinsischen Resistenz gegenüber rTKI Erstlinientherapie war unabhängig mit einem kürzeren nachfolgenden PFS ( $p = 0,015$ ) sowie OS ( $p < 0.001$ ) assoziiert.

Schlussfolgernd konnte festgestellt werden, dass die beiden Sequenztherapien rTKI-Ev und rTKI-rTKI hinsichtlich ihres PFS und der Ansprechrate gleich effektiv zu sein scheinen. Ein tendenziell längeres OS wurde für die rTKI-Ev Sequenz beobachtet.

Ziel der fünften Studie zum mRCC war es, Effektivität und Toxizität der beiden häufigsten Sequenztherapien nach Versagen einer VEGFi Therapie, d.h. rTKI und mTORi in unterschiedlicher Reihenfolge, zu beschreiben (Busch, Seidel et al. 2013).

Die Patientencharakteristika sowie die Ansprechrate nach Versagen der ersten VEGFi Therapie unterschieden sich nicht zwischen beiden Sequenztherapiegruppen. Das mediane Zweitlinien-PFS betrug für eine Zweitlinienbehandlung mit rTKI 4,1 Monate sowie 5,4 Monate für mTORi ( $p=0,400$ ). Hinsichtlich des PFS wurden keine Unterschiede zwischen den Drittlinienbehandlungsgruppen festgestellt (3,6 Monate für mTORi; 3,7 Monate für rTKI). Die Behandlungsdauer nach Versagen der ersten Erstlinien-VEGFi Therapie, d.h. das kombinierte Zweit- und Drittlinien-PFS, betrug 10,0 Monate für VEGFi-rTKI-mTORi und 12,2 Monate für VEGFi-mTORi-rTKI ( $p=0,103$ ). Für das OS konnten zwischen den Sequenztherapiegruppen keine Unterschiede festgestellt werden (33,7 Monate für VEGFi-rTKI-mTORi; 38,7 Monate für VEGFi-mTORi-rTKI). Das Auftreten einer primären Resistenz gegenüber der Erstlinientherapie war ein unabhängiger Prädiktor für ein kürzeres OS. Die Art der Sequenztherapie war dies jedoch nicht.

Als Schlussfolgerung dieser Untersuchung waren die beiden Sequenztherapiestrategien VEGFi-mTORi-rTKI und VEGFi-rTKI-mTORi mit den derzeit verfügbaren Substanzen gleichsam effektiv hinsichtlich PFS, OS und Ansprechrate. Ein deutlich vorteilhafter Effekt durch den frühen Einsatz von mTORi konnte nicht festgestellt werden.

In Kooperation mit dem urologischen Forschungslabor der Charité sind verschiedene Projekte hinsichtlich der Metastasierung von Nierenzellkarzinompatienten und deren

Therapiesteuerung auf den Weg gebracht worden:

## **1. Vorhersage einer Metastasierung bei Patienten nach Tumornephrektomie**

Zur Vorhersage eines Rezidivs bei Patienten nach Tumornephrektomie werden v.a. die Computertomographie-basierte Bildgebung und pathomorphologische Kriterien herangezogen. Die prädiktive Aussagekraft dieser Parameter ist jedoch nicht zuverlässig. Es ist deshalb eine dringende Aufgabe, molekulare Marker zu finden, die separat oder zusammen mit den konventionellen Kenngrößen eine präzisere Risikostratifizierung ermöglichen. MikroRNAs, die lebenswichtige Prozesse durch post-transkriptionelle Genregulation steuern, kommen potenziell dafür infrage. Ausgehend von Vorarbeiten im urologischen Forschungslabor und von Literaturdaten wurde die Hypothese abgeleitet, dass bestimmte miRNAs Indikatoren für die Tumoraggressivität sein könnten und damit eine Prognosebeurteilung ermöglichen (Jung, Mollenkopf et al. 2009; Schaefer, Jung et al. 2010; Schaefer, Stephan et al. 2010; Wotschofsky, Meyer et al. 2011).

Daher wurde ein Projektantrag mit dem Titel „Micro-RNA als Risikostratifikatoren nach Tumornephrektomie“ bei der Monika-Kutzner-Stiftung eingereicht und bewilligt. Ziel der Studie ist es, ein Profil von miRNAs an Formalin-fixiertem, Paraffin-eingebettetem Nephrektomiegewebe zu erstellen, um so nach der Nephrektomie Patienten hinsichtlich eines Rezidivrisikos stratifizieren zu können.

Die Studie wird in drei Phasen mit jeweiligen Entscheidungspunkten durchgeführt (Identifizierungs-, Validierungs- und Verifizierungsphase), derzeit befinden sich die Untersuchungen am Ende der Identifizierungsphase.

In einem Folgeprojekt sollen auch blutbasierte Biomarker zur Vorhersage eines Tumorrezidivs nach Tumornephrektomie untersucht werden.

## **2. Primäre Resistenz gegenüber einer Erstlinientherapie mit Sunitinib**

Auf der Basis der oben vorgestellten Untersuchung zur Bedeutung der primären Resistenz beim mRCC (Busch, Seidel et al. 2011; Heng, Mackenzie et al. 2012) und der ausgewiesenen Expertise des urologischen Forschungslabors auf dem Gebiet der miRNAs (Wotschofsky, Liep et al. 2012) wurde ein weiterer Projektantrag mit dem Titel

„MicroRNAs als Prädiktoren einer primären Therapieresistenz des metastasierten Nierenzellkarzinoms gegenüber dem Tyrosinkinaseinhibitor Sunitinib“ bei der Walter-Schulz-Stiftung eingereicht und bewilligt.

Ziel dieser Studie ist es, ein Profil von miRNAs an Formalin-fixiertem, in Paraffin-eingebettetem Nephrektomiegewebe von mRCC Patienten mit und ohne primärer Resistenz unter Erstlinienbehandlung mit Sunitinib zu erstellen. Zusammen mit den konventionellen klinisch-pathologischen Kenngrößen soll ein Rechenmodell entwickelt werden, dass eine verbesserte Vorhersage der primären Resistenz bei Sunitinib-Behandlung ermöglicht.

### **3. Prädiktion des therapeutischen Ansprechens einer zielgerichteten Therapie**

Für Patienten mit mRCC fehlen bislang sinnvolle Biomarker, um das Ansprechen einer zielgerichteten Therapie vorhersagen zu können. In den letzten Jahren wurden bei einem Großteil der Patienten mit mRCC, die in der Charité Klinik für Urologie therapiert wurden, Blutproben gesammelt, um das Ansprechen der zielgerichteten Therapie mit bestimmten miRNA-Profilen sowie freier zirkulierender Tumor-DNA zu korrelieren. Hierfür wurden bereits erste Projektanträge geschrieben.

Zudem wird der Erfolg der zielgerichteten Therapie bisher ausschließlich durch radiologische Kriterien der RECIST-Befundung bewertet (Therasse, Arbuck et al. 2000). Auch hier könnten Biomarker, die parallel zur CT/MRT-Diagnostik erfolgen, eine sinnvolle Ergänzung darstellen. Eine Kooperation mit Frau Dr. Ahi-Sema Issever (Charité, Klinik für Radiologie, CCM), dem urologischen Forschungslabor und der Klinik für Urologie CCM wurde für dieses Projekt initiiert. Die Proben und Befunde sind erhoben, erste Ergebnisse werden für den Herbst 2013 erwartet.

## 6. Literaturverzeichnis

- Bergers, G. and D. Hanahan (2008). "Modes of resistance to anti-angiogenic therapy." Nat Rev Cancer **8**(8): 592-603.
- Buchler, T., R. Klapka, et al. (2012). "Sunitinib followed by sorafenib or vice versa for metastatic renal cell carcinoma--data from the Czech registry." Ann Oncol **23**(2): 395-401.
- Busch, J., C. Seidel, et al. (2013). "Retrospective Comparison of Triple-sequence Therapies in Metastatic Renal Cell Carcinoma." Eur Urol **64**(1): 62-70.
- Busch, J., C. Seidel, et al. (2011). "Sequence therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: comparison of common targeted treatment options following failure of receptor tyrosine kinase inhibitors." Eur Urol **60**(6): 1163-1170.
- Busch, J., C. Seidel, et al. (2011). "Intrinsic resistance to tyrosine kinase inhibitors is associated with poor clinical outcome in metastatic renal cell carcinoma." BMC Cancer **11**: 295.
- Cheng, L., S. Zhang, et al. (2009). "Molecular and cytogenetic insights into the pathogenesis, classification, differential diagnosis, and prognosis of renal epithelial neoplasms." Hum Pathol **40**(1): 10-29.
- Di Lorenzo, G., C. Buonerba, et al. (2010). "Third-line sorafenib after sequential therapy with sunitinib and mTOR inhibitors in metastatic renal cell carcinoma." Eur Urol **58**(6): 906-911.
- Escudier, B., A. Pluzanska, et al. (2007). "Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial." Lancet **370**(9605): 2103-2111.
- Ferlay, J., P. Autier, et al. (2007). "Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006." Ann Oncol **18**(3): 581-592.
- Ficarra, V., A. Galfano, et al. (2008). "Risk stratification and prognostication of renal cell

- carcinoma." World J Urol **26**(2): 115-125.
- Garcia, J. A., T. E. Hutson, et al. (2010). "Sorafenib in patients with metastatic renal cell carcinoma refractory to either sunitinib or bevacizumab." Cancer **116**(23): 5383-5390.
- Gerullis, H., L. Bergmann, et al. (2010). "Feasibility of sequential use of sunitinib and temsirolimus in advanced renal cell carcinoma." Med Oncol **27**(2): 373-378.
- Grunwald, V., C. Seidel, et al. (2011). "Treatment of everolimus-resistant metastatic renal cell carcinoma with VEGF-targeted therapies." Br J Cancer **105**(11): 1635-1639.
- Grunwald, V., S. Weikert, et al. (2011). "Efficacy of sunitinib re-exposure after failure of an mTOR inhibitor in patients with metastatic RCC." Onkologie **34**(6): 310-314.
- Gudbjartsson, T., T. J. Jonasdottir, et al. (2002). "A population-based familial aggregation analysis indicates genetic contribution in a majority of renal cell carcinomas." Int J Cancer **100**(4): 476-479.
- Heng, D. Y., M. J. Mackenzie, et al. (2012). "Primary anti-vascular endothelial growth factor (VEGF)-refractory metastatic renal cell carcinoma: clinical characteristics, risk factors, and subsequent therapy." Ann Oncol **23**(6): 1549-1555.
- Heng, D. Y., W. Xie, et al. (2011). "Progression-free survival as a predictor of overall survival in metastatic renal cell carcinoma treated with contemporary targeted therapy." Cancer **117**(12): 2637-2642.
- Heng, D. Y., W. Xie, et al. (2009). "Prognostic factors for overall survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with vascular endothelial growth factor-targeted agents: results from a large, multicenter study." J Clin Oncol **27**(34): 5794-5799.
- Herrmann, E., N. Marschner, et al. (2011). "Sequential therapies with sorafenib and sunitinib in advanced or metastatic renal cell carcinoma." World J Urol **29**(3): 361-366.
- Hudes, G., M. Carducci, et al. (2007). "Temsirolium, interferon alfa, or both for

- advanced renal-cell carcinoma." N Engl J Med **356**(22): 2271-2281.
- Jung, M., H. J. Mollenkopf, et al. (2009). "MicroRNA profiling of clear cell renal cell cancer identifies a robust signature to define renal malignancy." J Cell Mol Med **13**(9B): 3918-3928.
- Karakiewicz, P. I., A. Briganti, et al. (2007). "Multi-institutional validation of a new renal cancer-specific survival nomogram." J Clin Oncol **25**(11): 1316-1322.
- Karakiewicz, P. I., D. J. Lewinshtein, et al. (2006). "Tumor size improves the accuracy of TNM predictions in patients with renal cancer." Eur Urol **50**(3): 521-528; discussion 529.
- Karaman, M. W., S. Herrgard, et al. (2008). "A quantitative analysis of kinase inhibitor selectivity." Nat Biotechnol **26**(1): 127-132.
- Kattan, M. W., V. Reuter, et al. (2001). "A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma." J Urol **166**(1): 63-67.
- Ljungberg, B., N. C. Cowan, et al. (2010). "EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update." Eur Urol **58**(3): 398-406.
- Lopez-Beltran, A., M. Scarpelli, et al. (2006). "2004 WHO classification of the renal tumors of the adults." Eur Urol **49**(5): 798-805.
- Mackenzie, M. J., B. I. Rini, et al. (2011). "Temsirrolimus in VEGF-refractory metastatic renal cell carcinoma." Ann Oncol **22**(1): 145-148.
- Mills, E. J., B. Rachlis, et al. (2009). "Metastatic renal cell cancer treatments: an indirect comparison meta-analysis." BMC Cancer **9**: 34.
- Motzer, R. J., N. Agarwal, et al. (2009). "NCCN clinical practice guidelines in oncology: kidney cancer." J Natl Compr Canc Netw **7**(6): 618-630.
- Motzer, R. J., B. Escudier, et al. (2008). "Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial." Lancet **372**(9637): 449-456.
- Motzer, R. J., T. E. Hutson, et al. (2007). "Sunitinib versus interferon alfa in metastatic

- renal-cell carcinoma." N Engl J Med **356**(2): 115-124.
- Porta, C., C. Paglino, et al. (2012). "Sorafenib rechallenge in metastatic renal cell carcinoma." BJU Int **110**(6 Pt B): E235.
- Porta, C., G. Procopio, et al. (2011). "Sequential use of sorafenib and sunitinib in advanced renal-cell carcinoma (RCC): an Italian multicentre retrospective analysis of 189 patient cases." BJU Int **108**(8 Pt 2): E250-257.
- Rini, B. I., B. Escudier, et al. (2011). "Comparative effectiveness of axitinib versus sorafenib in advanced renal cell carcinoma (AXIS): a randomised phase 3 trial." Lancet **378**(9807): 1931-1939.
- Schaefer, A., M. Jung, et al. (2010). "Diagnostic and prognostic implications of microRNA profiling in prostate carcinoma." Int J Cancer **126**(5): 1166-1176.
- Schaefer, A., C. Stephan, et al. (2010). "Diagnostic, prognostic and therapeutic implications of microRNAs in urologic tumors." Nat Rev Urol **7**(5): 286-297.
- Seidel, C., J. Busch, et al. (2012). "Progression free survival of first line vascular endothelial growth factor-targeted therapy is an important prognostic parameter in patients with metastatic renal cell carcinoma." Eur J Cancer **48**(7): 1023-1030.
- Sorbellini, M., M. W. Kattan, et al. (2005). "A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma." J Urol **173**(1): 48-51.
- Sternberg, C. N., I. D. Davis, et al. (2010). "Pazopanib in locally advanced or metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase III trial." J Clin Oncol **28**(6): 1061-1068.
- Tan, M. H., R. Kanesvaran, et al. (2010). "Comparison of the UCLA Integrated Staging System and the Leibovich score in survival prediction for patients with nonmetastatic clear cell renal cell carcinoma." Urology **75**(6): 1365-1370; 1370 e1361-1363.
- Therasse, P., S. G. Arbuuck, et al. (2000). "New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of

- Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada." J Natl Cancer Inst **92**(3): 205-216.
- Thompson Coon, J. S., Z. Liu, et al. (2009). "Sunitinib and bevacizumab for first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma: a systematic review and indirect comparison of clinical effectiveness." Br J Cancer **101**(2): 238-243.
- Vickers, M. M., T. K. Choueiri, et al. (2010). "Clinical outcome in metastatic renal cell carcinoma patients after failure of initial vascular endothelial growth factor-targeted therapy." Urology **76**(2): 430-434.
- Volpe, A. and J. J. Patard (2010). "Prognostic factors in renal cell carcinoma." World J Urol **28**(3): 319-327.
- Weikert, S., C. Kempkensteffen, et al. (2011). "Sequential mTOR inhibitor treatment with temsirolimus in metastatic renal cell carcinoma following failure of VEGF receptor tyrosine kinase inhibitors." World J Urol.
- Wotschofsky, Z., J. Liep, et al. (2012). "Identification of metastamirs as metastasis-associated microRNAs in clear cell renal cell carcinomas." Int J Biol Sci **8**(10): 1363-1374.
- Wotschofsky, Z., H. A. Meyer, et al. (2011). "Reference genes for the relative quantification of microRNAs in renal cell carcinomas and their metastases." Anal Biochem **417**(2): 233-241.
- Zisman, A., A. J. Pantuck, et al. (2001). "Improved prognostication of renal cell carcinoma using an integrated staging system." J Clin Oncol **19**(6): 1649-1657.
- Zisman, A., A. J. Pantuck, et al. (2002). "Risk group assessment and clinical outcome algorithm to predict the natural history of patients with surgically resected renal cell carcinoma." J Clin Oncol **20**(23): 4559-4566.

## 7. Danksagung

Bei verschiedenen Personen möchte ich mich herzlich bedanken:

- Bei Prof. Dr. Kurt Miller für die Möglichkeit zu habilitieren und die fortwährende Unterstützung während der letzten Jahre.
- Bei PD Dr. Ahmed Magheli für die hervorragende Zusammenarbeit, für viele Stunden an Ausbildung und bereichernden inhaltlichen Debatten. Durch ihn wurde mein wissenschaftliches Interesse permanent stimuliert und in konkrete Projekte überführt.
- Bei Prof. Weikert für eine sehr produktive Kooperation mit den Kollegen der Onkologie aus Hannover (PD Dr. Viktor Grünwald und Dr. Christoph Seidel) auf dem Gebiet der Behandlung des metastasierten Nierenzellkarzinoms, die letztendlich in diese Habilitation gemündet hat. Prof. Weikert hat mein Interesse an der Tumorentität geweckt und mit mir die Projekte initiiert.
- Bei Prof. Schrader, der mich als junger Assistent gefördert hat und mich in die interdisziplinäre Hodentumorggruppe brachte.
- Bei Prof. Jung für eine intensive Kooperation mit dem urologischen Forschungslabor und für viele tiefgreifende inhaltliche Diskussionen sowie persönliche Ratschläge.
- Bei Prof. Loening, der mich immer wieder inspiriert.
- Bei Prof. Mark Gonzalgo und der Deutschen Gesellschaft für Urologie, denen ich einen unvergesslichen Aufenthalt in Stanford verdanke.
- Bei meinen Arbeitskollegen möchte ich mich bedanken, mit denen ich die letzten Jahre zusammen gearbeitet habe. Insbesondere bei Dr. Barbara Erber, Irena Goranova, Dr. Henriette Kessler, Robert Peters und Dr. Frank Friedersdorff für viele Diskussionen und freundschaftliche bzw. kollegiale Ratschläge.
- Drei Vorbilder für meine urologische Karriere möchte ich nennen: PD Dr. Stefan Hinz, PD Dr. Carsten Kempkensteffen und PD Dr. Ahmed Magheli, die mich seit meiner Studentenzeit immer wieder anspornen.
- Zu guter Letzt möchte ich mich Renate Rittermann für Korrekturen, bei meiner Familie und insbesondere bei meiner Frau Dr. Marjam Rittermann für jahrelange Unterstützung und die Entbehrungen bedanken, ohne die diese Habilitation nicht möglich geworden wäre.

## **8. Eidesstattliche Erklärung gemäß § 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité**

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern /Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden.
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

.....

Dr. Jonas Busch

Berlin, den 29.08.2013