

ABSCHLUSSBERICHT

Für die Hamburger Krebsgesellschaft e.V.
erstellt durch

PD Dr. rer. nat. Malte Kriegs

Klinik für Strahlentherapie & Radioonkologie
Labor für Strahlenbiologie & Experimentelle Radioonkologie
Universitäres Cancer Center (UCCH)
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

1.1 Thema

**Einsatz des funktionellen Kinomprofilings im Rahmen der personalisierten Krebstherapie:
*Proof-of-concept-Studie***

1.3 Tatsächlicher Beginn und geplante Projektdauer

Beginn: 01.03.2023

Projektdauer: 10 Monate

Projektende: 31.12.2023

ABSCHLUSSBERICHT

Die Behandlung gerade von fortgeschrittenen Krebserkrankungen entwickelt sich immer mehr in Richtung einer individuell angepassten, auf die molekularen Charakteristika des jeweiligen Tumors abgestimmten Therapie. Dabei kommen vor allem Substanzen zum Einsatz, die bestimmte Enzyme - sogenannte Kinasen - inhibieren sollen (Kinaseinhibitoren), und zwar spezifisch in den Tumorzellen, in denen diese Kinasen verstärkt aktiv sind. Da es eine Vielzahl unterschiedlicher Kinasen in menschlichen Zellen gibt und sich auch Tumorzellen diesbezüglich deutlich voneinander unterscheiden können, müsste eigentlich vorab bekannt sein, welche Kinasen in dem zu behandelnden Tumor überhaupt aktiv sind, um einen effektiven Inhibitor auszuwählen (Prädiktion). Um abzuschätzen, ob eine bestimmte Kinase in einem bestimmten Tumor verstärkt aktiv ist werden aktuell vor allem mögliche genetische Mutationen und die Expression der Kinasen analysiert. Jedoch sind beide Parameter nur Surrogatmarker, da sie nicht direkt Auskunft über die Aktivität der Kinasen geben. Im Rahmen des hier geförderten Projektes sollte überprüft werden, ob sich auch die funktionelle Analyse von Kinasen auf Ebene des Kinoms mit in die Abläufe der personalisierten Krebstherapie mit einbeziehen lassen. Die Arbeiten fanden vor allem auf Basis des Molekularen Tumorboards (MTB) des UCCH statt, in dem die Fälle im Zusammenhang mit der personalisierten Krebstherapie am UKE besprochen werden und Empfehlungen ausgesprochen werden.

Das Ziel dieses Projektes war es, die Machbarkeit einer Einbindung des funktionellen Kinomprofilings in die Abläufe des MTB am UCCH zu zeigen. Dabei sollte bei mindestens 5 Fällen, die innerhalb des MTBs des UCCH diskutiert werden, die Kinaseaktivität und mögliche inhibitorische Ansätze analysiert werden, vor allem mit Hilfe funktioneller Kinomanalysen. Dabei spielt die Einbettung der Methodik in die bereits etablierten Analysen eine große Rolle, da vor allem die genetischen Veränderungen nun auf funktioneller Ebene überprüft werden sollten. Das heißt konkret, dass in vielen Fällen zunächst die genetische Analyse abgewartet wurde, auf deren Basis die funktionellen Analysen durchgeführt werden sollte. Da sich aber der Zustand eines Teils der Patient:innen in der Zeit der genetischen Analysen zu sehr verschlechterte, wurden 2 der Patient:innen nicht molekular therapiert und die Kinomanalysen nicht durchgeführt. Die dadurch gesparten Ressourcen wurden für andere Fälle eingesetzt.

Insgesamt wurden in dem Projektzeitraum von 9 Patient:innen Proben für Kinomanalysen gewonnen. Aus den oben genannten Gründen wurden 2 Fälle ausgeschlossen, 5 wurden analysiert und bei 2 Fällen stehen die Analysen noch aus.

Insgesamt zeigte sich, dass sich die Sammlung der Proben und deren Analysen zeitlich und logistisch gut in die Abläufe des MTB einbauen lassen. Eine Herausforderung ist jedoch, dass noch wenige Erfahrungswerte im Bereich der Prädiktion zu vielen Kinasen und Inhibitoren vorliegen, auf die für die Analysen zurückgegriffen werden könnte. Das heißt, dass vor allem anfangs nicht klar ist, welche die geeignetsten Substanzen und Konzentrationen sind. Im Falle der Konzentrationen wurden im Folgenden in der Regel die 5x und 50x IC50 verwendet.

In Zukunft müssen mehr Fälle im Rahmen fortlaufender Analysen untersucht werden und eine engere Interaktion mit anderen Standorten geknüpft werden, um einen größeren Erfahrungsschatz aufzubauen. Entsprechende Initiativen sind initiiert.

Als Bsp. für die im Rahmen dieser Förderung gelaufenen Analysen werden zwei Fälle im Folgenden näher erläutert:

1. Fall: MolTB7: Es handelte sich hierbei um ein Sarcom, das im Rahmen des MASTER-Programms am DKFZ in Heidelberg molekular analysiert wurde. Auf Basis dieser Analysen wurde im MTB eine Therapie mit Trametinib (MEK1/2-Inhibitor) und Palbociclib (CDK4/6-Inhibitor) zusammen mit Pembrolizumab (Immuncheckpointinhibitor) vorgeschlagen. Die Aktivität von Trametinib und Palbociclib wurde mittels funktionellem Kinomprofilings überprüft (Abbildung 1). Dabei zeigten sich für beide Inhibitoren nur geringe und eher unspezifische Effekte. Gerade im Falle von Trametinib konnte über den getesteten Konzentrationsbereich kein eindeutiger Effekt beobachtet werden. In Übereinstimmung mit diesen Daten zeigte auch der Tumor kein Ansprechen auf die Therapie, so dass die Behandlung nach zwei Wochen umgestellt wurde.

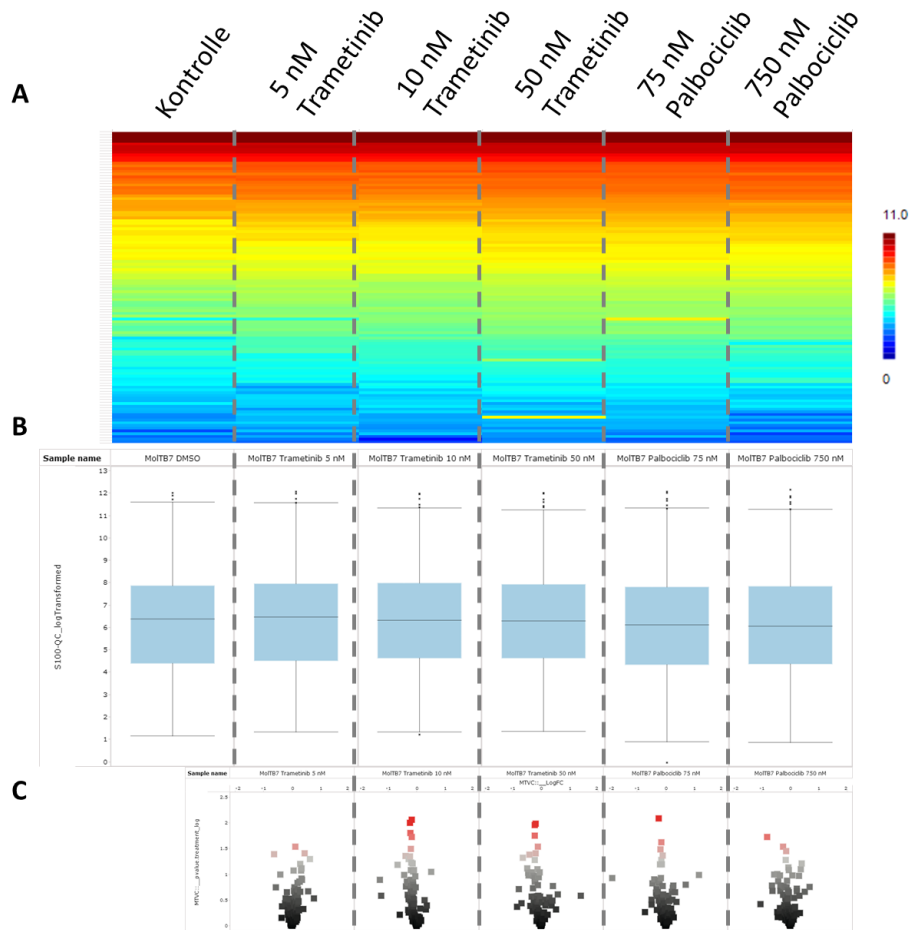


Abbildung 1: In-vitro-Testung von Trametinib und Palbociclib, MolTB7. (A) *Heatmap*-Darstellung der veränderten Peptidphosphorylierung nach Kinaseinhibition. (B) *Box plot* der mittleren Peptidsignale (mittlere Kinaseaktivität). (C) *Volcano plot*: die Peptide, die beim Vergleich von behandelter Probe zur Kontrolle (DMSO) als signifikant verändert detektiert wurden, sind hervorgehoben (Rosa bis Rot) (X-Achse: *log fold change* der Peptidphosphorylierung; Y-Achse: Signifikanz (plog) der Veränderung, >1.3 signifikante Veränderungen).

2. Fall: MolTB12: Hierbei handelte es sich um Speicheldrüsenkarzinom bei dem keine weiteren konventionellen Therapieoptionen bestanden. Auf Anfrage der HNO-Klinik haben wir Kinomanalysen am Tumor und dem korrespondierenden Normalgewebe durchgeführt (Abb. 2A). Dabei zeigte sich eine Hyperaktivität unterschiedlicher Kinase-Sub-Familien, wie z.B. SFK (FRK, Blk, Lyn, Hck), Insulinrezeptor-Subfamilie (IGF1R, InSR; nahe Verwandte Alk und Ltk), Ephrin-Rezeptoren (EphA3 und 2), TAM-subfamilie (TYRO3/AXL/MER) und Abl (Fig. 2B).

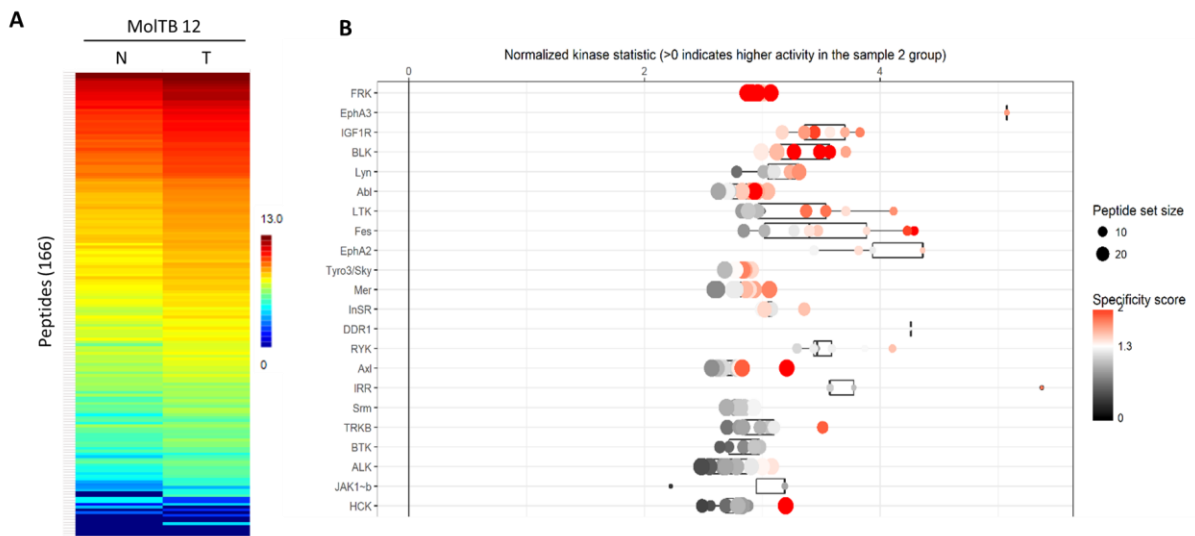


Abbildung 2: Funktionelle Kinomanalyse von HNSCC und korrespondierender Normalgewebsprobe. (A) *Heatmap-Darstellung* der Phosphorylierung von 166 Peptiden auf den Tyrosinkinase-Arrays. Rot bedeutet eine starke, blau eine schwache Phosphorylierung eines bestimmten Peptids. (B) Aus den Phosphorylierungsdaten abgeleitete Aktivitäten einzelner Tyrosinkinasen in der Tumorprobe im Vergleich zur Normalgewebsprobe. Rote Kreise identifizieren Kinasen mit signifikanten Unterschieden. Werte größer 0 bedeuten eine verstärkte Kinaseaktivität in der Tumorprobe.

Auf Grund dieses Aktivitätsmusters wurden die Inhibitoren Axitinib, Carbozantinib (Daten nicht gezeigt), Sorafenib und Dasatinib getestet (Fig. 3). Dabei zeigte sich der stärkste Effekt bei Dasatinib und zwar schon bei der niedrigsten Konzentration von 5 nM. Das Ausmaß der Inhibition durch Dasatinib war sehr beeindruckend, weshalb es gerechtfertigt ist anzunehmen, dass Dasatinib einen therapeutischen Einfluss auf den Tumor haben sollte. Diese Daten zeigen für die Patientin eine neue Therapieoption auf, die auf Grund der genetischen Analysen zuvor nicht diskutiert wurde. Die Daten wurden den behandelnden Ärzt:innen zur Verfügung gestellt und im MTB besprochen.

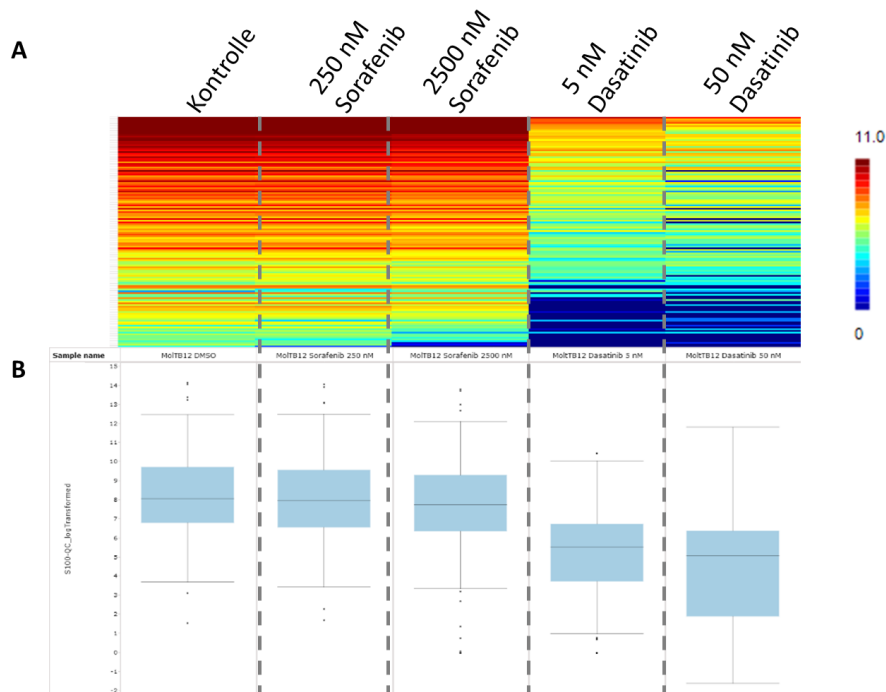


Abbildung 3: In-vitro-Testung verschiedener Multikinaseinhibitoren. (A) Heatmap-Darstellung der veränderten Peptidphosphorylierung nach Kinaseinhibition. (B) Box-Plot der mittleren Peptidsignale (mittlere Kinaseaktivität).

Fazit: Innerhalb des Projektes konnte gezeigt werden, dass sich die funktionelle Analyse des Kinoms sehr gut in die Abläufe der personalisierten Krebsmedizin am UKE einbinden lässt. Im Falle des Tumors MolTB7 bestätigen der klinische Verlauf das eher negative Ergebnis der funktionellen Analysen. Zudem zeigt der Fall MolTB12 eindrücklich, wie diese Analysen auch neue Therapieoptionen für die Patienten aufzeigen können. Im nächsten Schritt sollte eine fortlaufende Einbindung ins MTB angestrebt und dafür notwendige Mittel beantragt werden. Entsprechende Vorbereitungen hierfür laufen bereits.

Ich bedanke mich bei der Hamburger Krebsgesellschaft für die Förderung des Projektes, ohne die diese Arbeiten nicht möglich gewesen wären.

Hamburg, den 13.06.2024

(Malte Kriegs)