

Aus dem Zentrum für Innere Medizin der Universität zu Köln  
Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I  
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. M. Hallek

***MET*-Amplifikationen in nicht-kleinzelligen  
Lungenkarzinomen: Eine Analyse der genetischen  
Heterogenität und des Ansprechens auf nicht-zielgerichtete  
systemische Therapie**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Lea Victoria Ruge  
aus Würzburg

promoviert am 01. Februar 2023

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln  
2023

**Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. G. R. Fink**

**1. Gutachterin oder Gutachter: Universitätsprofessor Dr. med. J. Wolf**

**2. Gutachterin oder Gutachter: Privatdozentin Dr. med. A. M. Schultheis**

## **Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertationsschrift ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe; die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Bei der Auswahl des Themas und der Fragestellung habe ich Unterstützungsleistungen von folgenden Personen erhalten:

Univ.-Prof. Dr. Jürgen Wolf

PD Dr. Matthias Scheffler

Dr. Anna Kron

Bei der Auswahl und Auswertung des Materials habe ich Unterstützungsleistungen von den in der Originalpublikation geführten Erstautorinnen und Erstautoren sowie allen als gleichberechtigt geführten Ko-Autorinnen und Ko-Autoren erhalten. Bei der Herstellung des Manuskriptes habe ich keine Unterstützungsleistungen erhalten.

Weitere Personen waren an der Erstellung der vorliegenden Arbeit nicht beteiligt. Insbesondere habe ich nicht die Hilfe einer Promotionsberaterin/eines Promotionsberaters in Anspruch genommen. Dritte haben von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertationsschrift stehen.

Die Dissertationsschrift wurde von mir bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden molekularpathologischen Befunde wurden ohne meine Mitarbeit im Labor der Abteilung für molekularpathologische Diagnostik des Instituts für allgemeine Pathologie und pathologische Anatomie der Universität zu Köln unter Leitung von Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Sabine Merkelbach-Bruse im Rahmen der Routinediagnostik des Netzwerks Genomische Medizin erhoben.

Die dieser Arbeit zugrundeliegenden epidemiologischen und klinischen Daten wurden von mir selbst erhoben. Die statistischen Auswertungen wurden im Rahmen der Publikation „Genetic Heterogeneity of MET-Aberrant NSCLC and Its Impact on the Outcome of Immunotherapy“ mittels dem Software-Programm SPSS 24 ohne meine Hilfe durchgeführt und visualisiert. Die daraus entstandenen Abbildungen werden in meiner Dissertationsschrift, die nach der Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln AM 2018/53 vom 03.09.2018 als Monografie mit Publikation gilt, mit entsprechendem Vermerk auf die Publikation verwendet.

### **Erklärung zur guten wissenschaftlichen Praxis**

Ich erkläre hiermit, dass ich die Ordnung zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis und zum Umgang mit wissenschaftlichem Fehlverhalten (Amtliche Mitteilung der Universität zu Köln AM 132/2020) der Universität zu Köln gelesen habe und verpflichte mich hiermit, die dort genannten Vorgaben bei allen wissenschaftlichen Tätigkeiten zu beachten und umzusetzen.

Köln, den 15.03.2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Lea Ruge', with a long horizontal flourish extending to the right.

(Lea Ruge)

## **Danksagung**

Mein Dank gilt neben allen Ko-Autorinnen und Ko-Autoren der Publikation besonders der Erstautorin Frau Dr. Anna Kron und dem Erstautor Herrn PD Dr. Matthias Scheffler für die Bereitstellung der Abbildungen und die fachliche sowie organisatorische Unterstützung. Weiterhin bedanke ich mich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Jürgen Wolf, der sich immer Zeit für meine Fragen genommen und sie konstruktiv beantwortet hat.

Zudem danke ich der Lung Cancer Group Cologne, die mich als Studentin so herzlich in ihr Team aufgenommen und mein Interesse für die Onkologie nicht nur geweckt, sondern über die Jahre auch vertieft hat.

Ein großer Dank gilt auch allen Netzwerkpartnern im Netzwerk Genomische Medizin sowie allen niedergelassenen Allgemeinmedizinerinnen und Onkologen, die die Patientenverläufe sorgfältig dokumentiert haben und jederzeit für Rückfragen zur Verfügung standen.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Mutter für ihre unermüdliche Motivation und emotionale Unterstützung danken.

*Meiner Mutter, Katja Ruge, gewidmet*

# 1 Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>9</b>
2.1	LUNGENKARZINOME .....	9
2.1.1	<i>Epidemiologie.....</i>	9
2.1.2	<i>Klassifikation.....</i>	10
2.1.3	<i>Stadieneinteilung .....</i>	11
2.1.4	<i>Therapieansätze in fortgeschrittenen Stadien .....</i>	12
2.1.4.1	Chemotherapie.....	12
2.1.4.2	Immuntherapie.....	13
2.1.4.3	Zielgerichtete Therapien .....	14
2.2	MET.....	15
2.2.1	<i>MET-Protein in seiner Struktur.....</i>	15
2.2.2	<i>MET-Signalweg .....</i>	16
2.2.2.1	Physiologische Funktion .....	16
2.2.2.2	Pathologische Bedeutung.....	17
2.2.3	<i>MET-Aberrationen im NSCLC.....</i>	18
2.2.3.1	MET-Überexpression .....	18
2.2.3.2	MET-Exon-14-Skipping-Mutationen .....	18
2.2.3.3	MET-Amplifikationen.....	19
2.2.3.3.1	Prävalenz und Charakteristika .....	19
2.2.3.3.2	MET als Resistenzmechanismus .....	19
2.2.3.3.3	Diagnostik.....	20
2.2.3.3.4	Einteilung in verschiedene Amplifikationslevel .....	20
2.2.4	<i>MET als Target.....</i>	21
2.3	ZIELSETZUNG DIESER ARBEIT .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>25</b>
3.1	FORM DER DATENERHEBUNG .....	25
3.1.1	<i>Netzwerk Genomische Medizin.....</i>	25
3.1.2	<i>Datenerfassung und -verarbeitung.....</i>	25
3.1.3	<i>Tumortypisierung durch die Pathologie der Uniklinik Köln .....</i>	26
3.1.3.1	NGS und LUN Panel .....	26
3.1.3.2	Nachweismethode der Amplifikation.....	27
3.1.3.3	PD-L1-Status Bestimmung .....	27
3.2	PATIENTEN.....	27

3.2.1	<i>Auswahlkriterien des Patientenkollektivs</i> .....	27
3.2.2	<i>Einteilung der Kohorte</i> .....	28
3.2.3	<i>Statistische Analyse</i> .....	29
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>30</b>
4.1	BESCHREIBUNG DER KOHORTE .....	30
4.1.1	<i>Klinische Charakteristika</i> .....	30
4.1.2	<i>Molekularpathologische Charakteristika</i> .....	32
4.1.3	<i>Muster der Ko-Alterationen</i> .....	33
4.1.4	<i>PD-L1-Expression</i> .....	34
4.2	ÜBERLEBENSANALYSE.....	35
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>36</b>
5.1	STÄRKEN UND SCHWÄCHEN .....	37
5.2	RELATION ZUM BISHERIGEN WISSENSSTAND .....	38
5.2.1	<i>Epidemiologische und demographische Daten</i> .....	38
5.2.2	<i>Muster der Ko-Alterationen</i> .....	39
5.2.3	<i>MET als prädiktiver Biomarker</i> .....	40
5.2.4	<i>Therapieansprechen</i> .....	42
5.2.5	<i>Überlebensanalyse</i> .....	43
5.3	AUSBLICK.....	44
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>54</b>
8.1	ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	54
8.2	TABELLENVERZEICHNIS .....	54
<b>9</b>	<b>VORABVERÖFFENTLICHUNG VON ERGEBNISSEN</b> .....	<b>55</b>
<b>10</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>56</b>



# 1 Abkürzungsverzeichnis

ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase
ASCO	American Society of Clinical Oncology
BRAF	Rapidly Accelerated Ficosarcoma Murine Sarcoma Viral Oncogene Homolog B
CUP	Cancer of Unknown Primary
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EMA	European Medicines Agency
EMT	Epithelial Mesenchymal Transition
FDA	Federal Drug Administration
FGFR1	Fibroblast Growth Factor Receptor 1
FISH	Fluoreszenz In Situ Hybridisierung
GCN	Gene Copy Number
HER2/ERBB2	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2/ Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2
HGF/SF	Hepatocyte Growth Factor / Scatter Factor
IASLC	International Association for the Study of Lung Cancer
ICB	Immunecheckpoint-Blockade
KB	Kilobase
LCMC	The Lung Cancer Mutation Consortium
MET	Mesenchymal Epithelial Transition
MET/CEN7-Ratio	MET/Centromer7-Ratio
N/A	Not Available
NGS	Next Generation Sequencing
NOS	Not Otherwise Specified
NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer
NTRK1	Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 1
ORR	Objective Response Rate
OS	Overall Survival
pAKT	Phosphorylated Protein Kinase B
PD-1	Programmed Cell Death-1
PD-L1	Programmed Cell Death Ligand-1
pERK	Phosphorylated Extracellular Signal-regulated Kinase
PFS	Progression Free Survival
RET	Receptor Tyrosinkinase Ret
RKI	Robert-Koch-Institut
ROS1	ROS-Proto-Oncogene 1
TKI	Tyrosinkinase Inhibitor
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization
ZNS	Zentrales Nervensystem
1-JÜR	1-Jahres-Überlebensrate
5-JÜR	5-Jahres-Überlebensrate

## 2 Einleitung

### 2.1 Lungenkarzinome

#### 2.1.1 Epidemiologie

Lungenkrebs gehört weltweit zu den häufigsten malignen Tumorerkrankungen und stellt eine führende Todesursache dar. So erkrankten 2012 laut Berichten der WHO insgesamt ca. 1,8 Millionen Menschen, was mit einer Inzidenz von 13 % dem größten Anteil bei den Tumorerkrankungen entsprach (bezogen auf jedes Alter und Geschlecht).<sup>5</sup> In den USA präsentiert sich das Lungenkarzinom neben dem Prostata- bzw. Mammakarzinom als zweithäufigste Tumorentität beider Geschlechter und weist die höchste krebsbezogene Mortalität auf: Männer über 40 und Frauen über 60 Jahren versterben häufiger an Lungenkrebs als an Brust-, Prostata- und kolorektalem Karzinom gemeinsam.<sup>6,7</sup> In Deutschland zeigt sich ein ähnliches Bild. 2013 erkrankten laut Berichten des Robert-Koch-Instituts insgesamt 53.500 Menschen an Lungenkrebs, 2016 waren es 57.500 Erkrankungen.<sup>8,9</sup> Die ungünstige Prognose und hohe Mortalität spiegeln sich hierzulande in einer relativen 5-JÜR (5-Jahres-Überlebensrate) von 21 % bei Frauen und 15 % bei Männern wider.<sup>8</sup> Da das Lungenkarzinom kaum Frühsymptome aufweist, werden weit mehr als die Hälfte der Patienten erst in fortgeschrittenem Stadium diagnostiziert und weisen nur noch eine relative 5-JÜR von 6 % auf.<sup>10</sup>

Haupttrisikofaktor für die Entstehung von Lungentumoren ist der Tabakkonsum<sup>11-13</sup>; so sind in Deutschland bei Männern 9 von 10 und bei Frauen 6 von 10 Lungenkarzinomen auf das Rauchen zurückzuführen.<sup>8</sup> Die enge Verflechtung zwischen Tabakexposition und Lungenkrebs bedingt eine beeindruckende historische Entwicklung, in welcher das Lungenkarzinom von einer sehr seltenen Erkrankung - mit einem geringen Anteil von nur 1 % aller Tumorarten Ende des 19. Jahrhunderts – zu der zweithäufigsten krebsbedingten Todesursache in den 1940er Jahren heranwuchs.<sup>14</sup> Nachdem 1929 erstmals eine Assoziation zwischen der Inhalation von Tabak und der Entstehung von Lungentumoren hergestellt wurde und seit den 1960er Jahren mehr Aufklärung diesbezüglich herrscht, zeigt sich nun ein Rückgang in der Inzidenz.<sup>14</sup> Während die altersstandardisierte Erkrankungs- und Sterberate in Deutschland seit den 1990er Jahren bei Männern abnimmt, zeigt sich dem gegenüber eine ansteigende Kurve bei Frauen, was durch ein zeitlich verschobenes Rauchverhalten zu erklären ist.<sup>8</sup> In einigen Ländern, wie beispielsweise den USA, zeigt sich aber auch schon eine rückläufige Tendenz bei Frauen.<sup>8</sup> Als Konsequenz der globalen Senkung der Raucherprävalenz ist nun jedoch ein Anstieg von Nicht-Tabak-assoziierten Lungenkarzinomen bei beiden Geschlechtern zu verzeichnen.<sup>6,15</sup> Da das Adenokarzinom die

vorherrschende histologische Differenzierung bei Nierauchern darstellt, ist demnach vor allem eine Zunahme dieses Subtyps zu beobachten.<sup>16</sup>

### 2.1.2 Klassifikation

Das Lungenkarzinom wird durch die *World Health Organization* (WHO) und die *International Association for the Study of Lung Cancer* (IASLC) klassifiziert.<sup>17,18</sup> Es lässt sich in zwei Hauptgruppen einteilen: das kleinzellige Lungenkarzinom (*Small Cell Lung Cancer*, SCLC) und das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom (*Non Small Cell Lung Cancer*, NSCLC). Das kleinzellige Lungenkarzinom ist zumeist neuroendokrin aktiv und weist aufgrund seines schnellen Tumorwachstums und früher Metastasierung eine besonders schlechte Prognose auf.<sup>19</sup> Das NSCLC umfasst neben seinen häufigsten Vertretern – dem Adeno- sowie dem Plattenepithelkarzinom – noch weitere Subtypen, wie das adenosquamöse und das großzellige Lungenkarzinom.<sup>7</sup> In dieser Arbeit ist vor allem das Adenokarzinom von Bedeutung, welches mit 42 % die am häufigsten vertretene histologische Tumordifferenzierung der Lunge darstellt. Daneben machen das Plattenepithelkarzinom ca. 25 % und das kleinzellige Karzinom ca. 20 % aller Lungenkarzinome aus.<sup>8</sup>

Die Bedeutung einer umfangreichen Diagnostik beim NSCLC hat in den letzten Jahren dramatisch zugenommen. Dies basiert auf der Beobachtung, dass die Senkung der Gesamt mortalität vor allem auf einem besseren Überleben der Patienten mit NSCLC beruht. Hier konnte bei steten Inzidenzraten von 2009 bis 2016 ein Anstieg der relativen 2-Jahres-Überlebensrate von 34 % auf 42 % verzeichnet werden.<sup>6</sup> Dieser bemerkenswerte Fortschritt ist durch die Entwicklung personalisierter Therapieansätze (siehe Kapitel 2.1.4.3 *Zielgerichtete Therapien*) und die dafür erforderliche verbesserte Diagnosestellung und Modifikation der Klassifikation bedingt, was vor allem in fortgeschrittenen Stadien zum Tragen kommt.<sup>15,17,20,21</sup> Vor der Änderung der WHO-Klassifikation im Jahre 2015 war der Anteil von NOS (*Not-Otherwise-Specified*)-Karzinomen mit einem Anteil von 30 –50 % aller NSCLC relativ hoch.<sup>15</sup> Dies änderte sich mit der neuen Klassifikation, in der standardisierte Kriterien für die Auswertung von kleinen Tumorbiopsien und Zytologien sowie für die Anwendung immunhistochemischer und molekularer Analysen empfohlen wurden.<sup>20-22</sup>

Dementsprechend erfolgt die heutige standardisierte Kategorisierung anhand von mikroskopischen, histologischen, immunhistochemischen und genetischen Untersuchungen.

### 2.1.3 Stadieneinteilung

Die Stadieneinteilung erfolgt anhand der TNM-Klassifikation sowie der UICC-Kriterien. Seit dem 1. Januar 2017 ist hierbei die 8. Version nach IASLC/UICC gültig, die auch als Basis für die Klassifizierung der untersuchten Patientenkohorte dieser Arbeit diente.<sup>3</sup> Im Rahmen dieser Untersuchung ist vor allem die Relevanz der fortgeschrittenen Stadien UICC IIIB/IV hervorzuheben, die bei Erstdiagnosestellung in zwei Drittel der Fälle aller Lungentumoren vorliegen.<sup>15,20</sup>

Stadium	Primärtumor	Lymphknoten	Fernmetastasen
0	Tis	N0	M0
IA1	T1a(mi) T1a	N0 N0	M0 M0
IA2	T1b	N0	M0
IA3	T1c	N0	M0
IB	T2a	N0	M0
IIA	T2b	N0	M0
IIIB	T1a-c T2a T2b T3	N1 N1 N1 N0	M0 M0 M0 M0
IIIA	T1a-c T2a-b T3 T4 T4	N2 N2 N1 N0 N1	M0 M0 M0 M0 M0
IIIB	T1a-b T2a-b T3 T4	N3 N3 N2 N2	M0 M0 M0 M0
IIIC	T3 T4	N3 N3	M0 M0
IVA	jedes T jedes T	jedes N jedes N	M1a M1b
IVB	jedes T	jedes N	M1c

Abbildung 1: Beschreibung der TNM-Stadien nach IASLC Lung Cancer Staging Project<sup>3</sup>

Kategorie	Stadium	Kurzbeschreibung
T (Tumor)	Tis	Carcinoma in situ
	T1	Größter Durchmesser <3cm, Hauptbronchus nicht beteiligt
	T1(mi)	Minimal invasives Adenokarzinom
	T1a	Größter Durchmesser ≤ 1cm
	T1b	Größter Durchmesser > 1cm und ≤ 2cm
	T1c	Größter Durchmesser > 2cm und ≤ 3cm
	T2	Größter Durchmesser >3cm und ≤ 5cm oder - Infiltration des Hauptbronchus ohne direkte Invasion der Karina - Infiltration der viszeralen Pleura - Tumorbedingte partielle Atelektase oder obstruktive Pneumonie
	T2a	Größter Durchmesser > 3cm bis ≤ 4cm
	T2b	Größter Durchmesser > 4cm bis ≤ 5cm
	T3	Größter Durchmesser > 5cm aber ≤ 7cm <u>oder</u> Infiltration von Thoraxwand, N. phrenicus, parietalem Perikard <u>oder</u> zusätzlicher Tumorknoten im selben Lungenlappen wie der Primärtumor
T4	Größter Durchmesser > 7cm oder direkte Infiltration von Diaphragma, Mediastinum, Herz, Gefäßen, Trachea, N. laryngeus recurrens, Ösophagus, Wirbelkörper, Karina <u>oder</u> zusätzlicher Tumorknoten in einem anderen ipsilateralen Lungenlappen	
N (Lymphknoten)	N0	Keine Lymphknotenmetastasen
	N1	Metastase in ipsilateralen, peribronchialen und/oder ipsilateralen hilären Lymphknoten und/oder intrapulmonalen Lymphknoten oder direkte Invasion dieser Lymphknoten
	N2	Metastase in ipsilateralen mediastinalen und/oder subkarinalen Lymphknoten
	N3	Metastase in kontralateralen mediastinalen, kontralateralen hilären, ipsi- oder kontralateral tief zervikalen, supraclavikulären Lymphknoten
M (Metastase)	M0	Keine Fernmetastasen
	M1	Fernmetastasen
	M1a	- separater Tumorknoten in einem kontralateralen Lungenlappen, Pleurabefall, maligner Pleuraerguss, maligner Perikarderguss
	M1b	- Isolierte Fernmetastase in einem extrathorakalen Organ
	M1c	- Mehrere Fernmetastasen in einem oder mehreren Organen

Abbildung 2: Klassifikation der Tumorstadien nach UICC8<sup>3</sup>

Die Tumorklassifikation im TNM-System ermöglicht die Entscheidung für das jeweilige therapeutische Vorgehen. Allgemein lässt sich sagen, dass in frühen Stadien ein kurativer Therapieansatz mit operativer Resektion und eventueller neoadjuvanter und/oder adjuvanter Therapie aus Radiatio und/oder systemischen Therapieansätzen verfolgt wird. In fortgeschrittenen Stadien kommt zumeist nur noch ein palliativer systemischer Therapieansatz in Frage.<sup>23</sup>

## 2.1.4 Therapieansätze in fortgeschrittenen Stadien

### 2.1.4.1 Chemotherapie

Der Einsatz einer palliativen Chemotherapie anstatt eines alleinigen *Best-Supportive-Care*-Konzeptes war trotz zahlreicher durchgeführter Studien jahrzehntelang stark umstritten. Ursachen dafür waren kontroverse Studienergebnisse mit teils grenzwertiger Signifikanz und unterschiedlichen Empfehlungen hinsichtlich der Etablierung einer zytostatischen Therapie als Standardtherapie.<sup>24-26</sup> Erst eine Metaanalyse durch die *Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group* im Jahr 1995 von 52 Studien mit insgesamt mehr als 10.000 Patienten zeigte einen signifikanten klinischen Nutzen von Cisplatin-haltigen Chemotherapien.<sup>27</sup> Der dort aufgezeigten Verbesserung der 1-JÜR um 10 % steht jedoch eine nicht zu vernachlässigende

Toxizität der Platinderivate gegenüber.<sup>23</sup> Häufige und potenziell therapielimitierende Nebenwirkungen umfassen Emesis, Myelosuppression, Oto-, Hepato-, Nephro- und periphere Neurotoxizität und können zu der Notwendigkeit einer Dosisreduktion mit entsprechend schlechterem Tumoransprechen führen.<sup>28,29</sup> Chemotherapeutika der 3. Generation (Gemcitabin, Paclitaxel, Docetaxel, Vinorelbin, Pemetrexed), die in Kombination mit den Platinderivaten nicht nur deren toxische Effekte reduzieren und somit auch einen Benefit für Patienten mit niedrigerem *Performance Status* darstellen, zeigen im Vergleich ein verbessertes Überleben.<sup>23</sup> So ist nach aktuellen Leitlinien beim NSCLC ohne vorliegende Treibermutationen und negativem PD-L1-Status je nach Komorbiditäten und ECOG-Status stets eine Kombinationstherapie mit Cis- oder Carboplatin und einem Zytostatikum der 3. Generation in Kombination mit einer Immuncheckpoint-Blockade (ICB)-Therapie anzustreben.<sup>30</sup>

#### 2.1.4.2 Immuntherapie

Durch die Entwicklung eines weitreichenderen Verständnisses der Ätiologie und Pathophysiologie von Neoplasien kristallisierte sich zudem eine neue Sichtweise auf die Interaktion zwischen körpereigenem Immunsystem und malignen Tumoren heraus. Die lange Zeit vorherrschende Hypothese der *Immunosurveillance*, die die Interaktion zwischen Tumor- und Immunzellen in einem homöostatischen Kreislauf sieht, wurde durch die neue Annahme des *Immunoediting* ergänzt.<sup>31-33</sup> Diese beschreibt immunsuppressive Wirkungen der Tumorzellen, die die Präsentation ihrer Antigene an MHC-I-Molekülen herunter- und die Expression von T-Zell-inhibierenden Molekülen hochregulieren können.<sup>32,34</sup>

Wichtig hierfür sind die sogenannten *Immune-Checkpoints*, die körpereigene Rezeptoren darstellen und als Ko-inhibierende Signale fungieren. Wichtige Beispiele sind CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte antigen-4*) und PD-1 (*programmed cell death-1*).<sup>33,35,36</sup> Im Rahmen dieser Arbeit ist besonders die PD-1-/PD-L1-Achse von Bedeutung, die neben dem NSCLC auch die Immunantwort anderer Tumore, wie dem Ovarial-, Nierenzell- und hepatozellulären Karzinom sowie dem malignen Melanom beeinflusst.<sup>33,37</sup>

Eine Expression des PD-1-Liganden ist in ca. 60% aller NSCLC zu finden<sup>33</sup> und wird anhand des *Tumor Proportion Score*, der den Prozentsatz membranös positiver Tumorzellen in der immunhistochemischen Anfärbung angibt, näher betrachtet.<sup>38</sup> Pembrolizumab und Nivolumab sind PD-1-spezifische Antikörper und seit 2014 bzw. 2015 von der FDA für Adenokarzinome und Plattenepithelkarzinome der Lunge ohne bekannte Treibermutationen und mit vorheriger erfolgter Standardchemotherapie in den USA zugelassen.<sup>39,40</sup> PD-L1-spezifische Antikörper sind

Atezolizumab, Durvalumab und Avelumab.<sup>33</sup> Nachdem die KEYNOTE-024-Studie zeigte, dass eine Pembrolizumab Monotherapie bei einem PD-L1-Score  $\geq 50$  % einer Chemotherapie in der Erstlinie überlegen ist (medianes *Progression Free Survival* (PFS) 10,3 Monate vs. 6 Monate), wurde diese als Erstlinientherapie zugelassen und definierte erstmals für Treibermutationsnegative NSCLC Patienten einen Chemotherapie-freien Standard.<sup>23,41,42</sup> Neuere Ergebnisse randomisierter Studien, z.B. der KEYNOTE-189-Studie, legen die Kombinationstherapie aus Immuncheckpoint-Blockade und Platin-basierter Kombinationstherapie für Treibermutationsnegative Patienten mit einem PD-L1-Level  $< 50\%$  sowie für Patienten mit negativer Expression fest.<sup>41-44</sup>

### 2.1.4.3 Zielgerichtete Therapien

Als weitere Therapiemodalität stehen die sogenannten *targeted therapies*, die ihren Durchbruch erstmalig 2004 mit der Entdeckung von aktivierenden *EGFR*-Mutationen erlebten, zur Verfügung.<sup>45</sup> Ihr Wirkmechanismus beruht auf der Beobachtung der *Oncogene Addiction*, ein Terminus, der 2002 von Bernard Weinstein geprägt wurde.<sup>46,47</sup> Das Konzept beschreibt die Tumorentstehung als mehrstufigen Prozess, der von aktivierenden Mutationen in Onkogenen oder inaktivierenden Mutationen in Tumorsuppressor-Genen abhängig ist. Bei stattgehabter Mutation erfolgt dann eine Selektion nach der Zellpopulation, die diese Treibermutation aufweist und dann zur Aufrechterhaltung des malignen Phänotyps benötigt wird.<sup>46,47</sup>

Das Vorkommen sogenannter Treibermutationen ist von klinischen Variablen wie Raucherstatus, Geschlecht und Ethnizität sowie von tumorassoziierten Variablen wie Histologie und Tumorstadium abhängig. Solche genetische Tumoralterationen finden sich bei ca. 60 % aller nicht-kleinzelligen Lungenkarzinome<sup>45</sup>, wobei Treibermutationen zumeist in Abwesenheit anderer Treibermutationen auftreten. Hinsichtlich der Mutationsmuster zeigt sich ein enormer Unterschied zwischen Plattenepithel- und Adenokarzinomen, wobei letztere deutlich häufiger durch Treibermutationen definiert sind und sich demnach besonders gut als Ziel für personalisierte Therapien eignen.<sup>7,16,48-50</sup> Folglich sollte vor Beginn einer Therapie immer eine molekularpathologische Untersuchung auf die häufigsten Alterationen erfolgen. Diese umfassen unter anderem die *EGFR*-, *BRAF*-, *KRAS*- und *HER2/ERBB2*-Mutationen bzw. -Amplifikationen sowie *ALK*-, *ROS1*- und *RET*-Translokationen. Aufgrund neuerer Kenntnisse haben sich ebenfalls die *NTRK*-Translokationen sowie die *MET*-Alterationen als wichtig herausgestellt.<sup>45,51,52</sup>

Therapiert wird entweder mit monoklonalen Antikörpern oder häufiger mit Kinase-Inhibitoren wie Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI), die die Lebensqualität und das Überleben der Patienten

gegenüber chemotherapierten Patienten deutlich verbessern.<sup>50,52,53</sup> Als Muster dient die Therapie mit EGFR-Inhibitoren, die bei vorliegenden Exon-19- oder Exon-21-Mutationen als Erstlinientherapie angewandt werden.<sup>23</sup> Beispiele hierfür sind die reversiblen Erstgenerations-TKI Gefitinib und Erlotinib, die 2009 bzw. 2011 in Europa als Erstlinientherapie zugelassen wurden<sup>54,55</sup>, die irreversiblen (kovalent bindenden) Zweitgenerations-TKIs wie Afatinib und Dacomitinib sowie der Drittgenerations-TKI Osimertinib, ebenfalls ein irreversibler Inhibitor.<sup>56</sup>

Neben EGFR-Inhibitoren existieren bereits bei anderen Mutationen weitere zugelassene Medikamente. Hier sind besonders der Multikinase-Inhibitor Crizotinib, der bei *ALK*- und *ROS1*-Translokationen zugelassen<sup>57,58</sup> wurde, sowie der spezifische MET-TKI Capmatinib zu erwähnen, der laut 2021er ASCO-Empfehlung Patienten mit *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen als Erst- oder Zweitlinientherapie angeboten werden sollte.<sup>45</sup>

## 2.2 MET

### 2.2.1 MET-Protein in seiner Struktur

c-MET ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase und wird auch als Hepatozyten-Wachstumsfaktor-Rezeptor (HGFR) bezeichnet.<sup>4</sup> Das MET-Protein wird durch das zugehörige *MET*-Gen kodiert und ist – ebenso wie sein Ligand – ein Heterodimer, verbunden über eine Disulfidbrücke. Es entsteht durch proteolytische Spaltung aus einem einsträngigen Vorläuferprotein und weist folglich eine  $\alpha$ - und eine  $\beta$ -Kette auf. Während die  $\alpha$ -Kette nur extrazellulär liegt, umfasst die  $\beta$ -Kette einen extrazellulären, einen transmembranösen sowie einen intrazellulären Anteil.<sup>2</sup> Der intrazelluläre Anteil der  $\beta$ -Kette besteht aus drei Regionen: dem juxtamembranösen Segment, der Tyrosinkinase-Region und der C-terminalen Region. Die Tyrosinkinase-Region ist die katalytische Region und bewirkt bei Aktivierung und Dimerisierung des Rezeptors eine Transphosphorylierung, wodurch nachgeschaltete Signalwege mit einem breiten Spektrum an biologischer Aktivität aktiviert werden.<sup>4</sup> Von pathophysiologischer Wichtigkeit hat sich auch das juxtamembranöse Segment herausgestellt. Dieses ist für die Regulierung der Rezeptoraktivität verantwortlich und bewirkt durch Bindung verschiedener Liganden eine Downregulation, Polyubiquitination, Endozytose und Degradation des Rezeptors.<sup>59</sup>

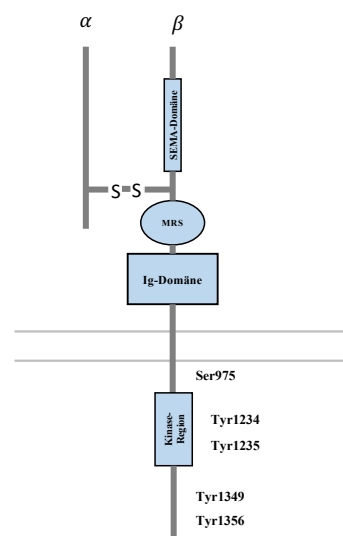


Abbildung 3: Aufbau des MET-Proteins nach Gentile<sup>4</sup>



Pathologische Wichtigkeit zeigt es bei Mutationen im dafür kodierenden Exon-14 des *MET*-Gens.<sup>60</sup>

## 2.2.2 MET-Signalweg

### 2.2.2.1 Physiologische Funktion

c-MET wird in epithelialen und endothelialen Zellen exprimiert und mittels parakriner Schleife durch HGF/SF, welches in benachbarten mesenchymalen Zellen exprimiert wird, aktiviert. Die wichtigsten nachgeschalteten Signalwege von c-MET sind der ERK/MAPK- sowie der PI3K/AKT-Signalweg.<sup>2</sup>

Die Interaktion des c-MET-Rezeptors mit seinem Liganden HGF/SF bewirkt multiple pleiotrope biologische Aktivitäten, die essenziell an der Organformation in der Embryonalentwicklung beteiligt sind. So vermittelt sie wichtige Einflüsse auf die Gastrulation, die epitheliale Morphogenese sowie die Angiogenese. Weiterhin ist der MET-Signalweg an migratorischen Prozessen beteiligt, wie beispielsweise der Myoblastenmigration und der Nervensprossung.<sup>2,4</sup> Aber auch in adulten Zellprozessen findet der Signalweg seine Wichtigkeit und ist dort verantwortlich für die Regeneration der Leber, die kutane Wundheilung sowie die Wundheilung nach akuten Gewebsverletzungen, besonders an Nieren, Leber und Herz.<sup>2,4,61,62</sup>

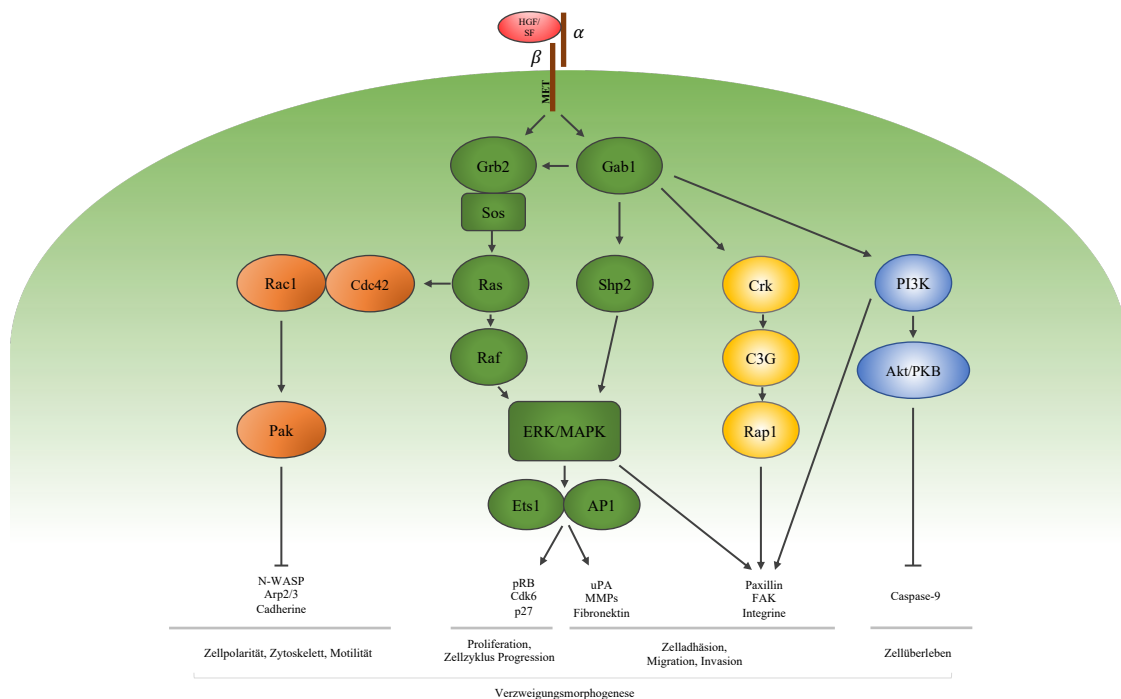


Abbildung 4: MET-Signalweg nach Birchmeier<sup>2</sup>

### 2.2.2.2 Pathologische Bedeutung

Das *MET*-Gen liegt auf Chromosom 7q21-7q31, ist 25 KB lang und besitzt 21 Exons.<sup>2</sup> Als Onkogen wurde es erstmalig in Form des TPR-*MET* (*translocated promoter region fused to MET*) in den 1980er Jahren entdeckt. Dafür wurde das *MET*-Gen einer Osteosarkom-Zelllinie in vitro mutagenisiert, wodurch eine Fusion aus Chromosom 1 und Chromosom 7 entstand und phänotypisch der Tyrosin-Rest Y1003, ein Bestandteil des juxtamembranösen Segments von c-MET, fehlte. Später wurde es in Magenkarzinomen gefunden.<sup>4</sup> Weitere Bedeutung erlangte *MET* durch den Fund inhärenter sowie somatischer Missense-Mutationen in papillären Nierenzellkarzinomen.<sup>62</sup> Heute ist bekannt, dass ein dysregulierter MET-Signalweg an der Onkogenese zahlreicher maligner Tumorerkrankungen beteiligt ist. So spielt er unter anderem eine Rolle in Kolon-, Magen-, Nieren-, Leber-, ZNS- und Lungenkarzinomen sowie in hämatologischen Malignitäten und in CUP-Läsionen.<sup>2,4,62</sup>

Eine Dysregulation mit konstitutiver Überaktivierung des MET-Rezeptors kann durch verschiedene Mechanismen zustande kommen: durch verstärkte parakrine Aktivierung, einer Entbindung dieses Mechanismus mit Entwicklung von autokrinen Aktivierungsschleifen, einer Überexpression von c-MET und/oder HGF/SF sowie durch genetische Aberrationen, wie Gentranslokationen, Mutationen und Amplifikationen.<sup>62,63</sup> Dementsprechend ergeben sich Veränderungen auf Transkriptions- oder auf genetischer Ebene, was zu *oncogene expedience* beziehungsweise *oncogene addiction* führen kann.<sup>4,64</sup> Eine vermehrte MET-Aktivierung führt zum sogenannten *invasive growth program*.<sup>64</sup> Dieses beschreibt nötige Attribute, um eine Stamm- und Vorläuferzellfähigkeit zu erlangen, und beinhaltet Zellverbreitung, Zell-Zell-Dissoziation, Motilität, Migration, Adaptation, Proliferation, Anti-Apoptose, Generierung neuer tubulärer Strukturen und epitheliale-mesenchymale-Transition (EMT).<sup>2,4,63,64</sup>

Zusammenfassend befähigt eine verstärkte MET-Aktivierung die Zellen durch verstärkte Proliferation und Angiogenese zum Tumorwachstum und durch die Produktion von Proteasen mit konsekutiver Invasion der Extrazellulärmatrix zur Tumorprogression. Weiterhin ermöglicht sie eine Zelldissoziation und hilft den Zellen, die Blutzirkulation zu erreichen und der Apoptose zu entgehen, wodurch die Migration und die Ausbildung von neuen Tumorzellnestern in Form von Metastasen gefördert werden.<sup>4,62</sup>

## 2.2.3 *MET*-Aberrationen im NSCLC

### 2.2.3.1 *MET*-Überexpression

Eine verstärkte c-MET-Expression ist in vielen Fällen von NSCLC beschrieben worden, wobei die beobachtete Prävalenz deutlich schwankt und einen Bereich von 5 % bis zu 75 % umfasst. Dominierend ist sie in Adenokarzinomen, jedoch weisen auch bis zu 40 % der Plattenepithelkarzinome eine Proteinüberexpression auf.<sup>65-67</sup> *MET*-überexprimierende NSCLC sind mit einem fortgeschrittenem Stadium und einer schlechten Prognose assoziiert und zudem ein häufiges Ereignis in Hirnmetastasen.<sup>52,66,68,69</sup> Eine Objektivierung des Expressionsgrades erfolgt mittels Immunhistochemie (IHC), in welcher die Anfärbung qualifiziert und quantifiziert wird, und im Ergebnis als 0, 1+, 2+ oder 3+ angegeben wird. Als *MET*-IHC-positiv gelten Tumore mit einem H-Score von 2+ und 3+, was bedeutet, dass mindestens 50 % der Tumorzellen eine moderate oder starke Intensität in der Anfärbung zeigen müssen.<sup>52</sup> Hervorgerufen wird eine veränderte Expression unter anderem durch *MET*-Amplifikationen und -Mutationen, wobei nicht immer eine Korrelation zueinander besteht. Weiterhin ist zu konstatieren, dass eine c-MET-Überexpression nicht notwendigerweise ein biologisches Korrelat aufzeigt.<sup>66</sup> Dies wird dadurch verdeutlicht, dass bei vorliegender Überexpression pAKT (Marker für die Aktivierung des PI3K/AKT-Signalweges) und pERK (Marker für den MAPK-Signalweg) nur in Abwesenheit von anderen Treibermutationen in signifikanter Menge nachweisbar sind.<sup>70</sup>

### 2.2.3.2 *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen

*MET*-Mutationen wurden erstmalig in Lungenkarzinomen entdeckt und treten in bis zu 5 % aller Adenokarzinome der Lunge auf.<sup>52,61,71</sup> Am häufigsten treten Veränderungen im Exon-14 auf, welches für die juxtamembranöse Domäne von c-MET kodiert, und folglich maßgeblich an der Herunterregulierung des Rezeptors beteiligt ist. So führen Deletionen, Punktmutationen oder auch alternative *Splice*-Varianten (*Exon Skipping*) zu einem Verlust dieser Region mit daraus resultierender verlängerter Aktivierung des Signals.<sup>64,72</sup> Da besonders *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen in Abwesenheit anderer Treibermutationen auftreten und sich als unabhängiger negativer prognostischer Faktor herausgestellt haben, können sie als prädiktiver Biomarker für zielgerichtete Therapien genutzt werden.<sup>52,73-75</sup> Auffällig ist, dass sie im Vergleich zu anderen Treibermutationen, wie beispielsweise *EGFR* und *KRAS*, bei signifikant älteren Patienten auftreten und eher Frauen und Nieraucher betreffen.<sup>52,72</sup> Zudem zeigt sich eine enge Assoziation zum histologischen Subtyp, sodass neben Adenokarzinomen vor allem ein vermehrtes Auftreten in sarkomatoiden Lungentumoren zu beobachten ist.<sup>73,76</sup> Diagnostiziert werden *MET*-Mutationen zunehmend mittels *Next-Generation-Sequencing* (NGS).<sup>77</sup>

*MET*-Exon-14-Mutationen gelten im Vergleich zu *MET*-Amplifikationen als frühes Ereignis der Karzinogenese und somit als primäre Treibermutationen. Da beobachtet wurde, dass diese Alterationen häufig gemeinsam miteinander auftreten und in fortgeschrittenen Erkrankungsstadien zudem eine höhere *MET*/CEN7-Ratio vorliegt, besteht die Möglichkeit, dass *MET*-Amplifikationen zu einem aggressiveren klinischen Phänotypen von *MET*-mutierten NSCLC führen könnten.<sup>72</sup>

### 2.2.3.3 *MET*-Amplifikationen

#### 2.2.3.3.1 Prävalenz und Charakteristika

*MET*-Amplifikationen treten in bis zu 5 % aller NSCLC auf, wobei die Prävalenz abhängig von der diagnostischen Schwelle sowie der Höhe des Amplifikationslevels ist und sich zu diesem gegensätzlich verhält.<sup>69,76</sup> Sie können in Plattenepithel- und Adenokarzinomen auftreten sowie alleine oder in Kombination mit anderen Treibermutationen wie *EGFR* und *KRAS*.<sup>68</sup> Auffällig ist, dass High-Level-Amplifikationen vorwiegend in Abwesenheit anderer Treibermutationen auftreten.<sup>52,71</sup> Eine Ausnahme stellen hierbei die *MET*-Exon-14-Mutationen dar. Vergleichbar zu diesen treten Amplifikationen mit einer hohen Kopienanzahl vor allem in schlecht differenzierten Adenokarzinomen und in sarkomatoiden Lungenkarzinomen auf.<sup>52,71</sup> Klinische Daten zeigen, dass High-Level-Amplifikationen einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor mit schlechterem Gesamtüberleben in NSCLC darstellen.<sup>52,66,68,71</sup>

#### 2.2.3.3.2 *MET* als Resistenzmechanismus

*MET*-Amplifikationen haben sich als Resistenzmechanismus nach erfolgter EGFR-inhibitorischer Therapie herausgestellt und sind hierbei in ca. 20 % der Fälle verursachend.<sup>66,78,79</sup> Die erworbene Resistenz wird vorwiegend durch Aktivierung der nachgeschalteten MAPK- und PI3K/AKT-Signalwege bedingt und stellt somit einen *Bypass*-Mechanismus zur TKI-Inhibition dar.<sup>78</sup> In-vitro- und in-vivo-Studien zeigen, dass eine zielgerichtete Therapie mit *MET*-Inhibitoren die Resistenz widerrufen und eine erneute Sensitivität gegenüber EGFR-TKI herstellen kann.<sup>78-80</sup> Zudem deuten neuere Daten darauf hin, dass *MET*-aktivierte Zellen auch eine Resistenz gegenüber Drittgenerations-EGFR-TKI verursachen können und die Kombination aus Osimertinib und *MET*-Inhibitor einen Lösungsansatz darstellen könnte.<sup>76,78,81</sup>

Darüber hinaus geben präklinische Studien Hinweise darauf, dass *MET*-Amplifikationen nicht nur eine Resistenz gegenüber zielgerichteten Therapien hervorrufen, sondern ebenfalls eine Rolle

in der Resistenz gegenüber Chemotherapeutika spielen und MET-Inhibitoren synergistisch zu zytostatischen Therapieregimen genutzt werden könnten.<sup>82</sup>

#### 2.2.3.3.3 Diagnostik

Die Fluoreszenz-In-Situ-Hybridisierung (FISH) hat sich als Standarddiagnostikum für *MET*-Amplifikationen etabliert.<sup>83</sup> Als wichtige Parameter gelten die Genkopienzahl pro Zelle (GCN), der Prozentsatz von Tumorzellen mit einer bestimmten Anzahl von *MET*-Signalen sowie die *MET*/CEN7-Ratio, welche das Verhältnis zwischen dem *MET*-Gen und dem zentromeren Teil von Chromosom 7 wiedergibt. Unterschieden wird zwischen der Polysomie, bei der die Kopienanzahl beider identisch und gesteigert ist, und der echten Amplifikation, bei der das *MET*-Gen isoliert vervielfacht ist und somit die Ratio angehoben wird.<sup>83,84</sup> Da das Tumorgewebe in den meisten Fällen heterogen ist und amplifizierte Tumorklone fleckenförmig vor dem Hintergrund nicht-amplifizierten Gewebes auftreten, ist die Untersuchung der gesamten Tumorprobe obligat.<sup>68,76,83</sup> Hinsichtlich der *MET*-Positivität und der Einteilung in Subgruppen wurden verschiedene Auswertungsalgorithmen entwickelt, jedoch besteht weiterhin kein Konsens diesbezüglich.<sup>84</sup> Eine einheitlich definierte Schwelle ist für die Vergleichbarkeit zwischen den Studien sehr wichtig und beeinflusst die Aussagekräftigkeit von *MET* als prädiktivem Biomarker. So sind zum Beispiel die wichtigsten FISH-Auswertungskriterien zur Evaluierung einer *MET*-positiven Probe das *Cappuzzo Scoring System* ( $GCN \geq 5$ ) und das *PathVysion Kit* ( $MET/CEN7 \geq 2$ ).<sup>85</sup>

#### 2.2.3.3.4 Einteilung in verschiedene Amplifikationslevel

Die Einteilung von *MET*-positiven NSCLC kann anhand von verschiedenen Kriterien erfolgen und variiert von Studie zu Studie. Für ein besseres Verständnis werden hier beispielhaft zwei Studien mit dem Fokus auf ihren Einteilungssystemen erläutert:

Tong et al. nutzten in ihrer retrospektiven Studie mit insgesamt 687 Patienten eine Kombination aus den zwei verschiedenen Scoring Systemen, *Cappuzzo Scoring System* und *PathVysion Kit*, um *MET*-positive NSCLC-Patienten herauszufiltern.<sup>52</sup> Zur weiteren Klassifizierung der 29 gefundenen positiven Patienten teilten sie diese in vier verschiedene Subgruppen ein, welche High-Level-Amplifikationen ( $MET/CEN7 \geq 5$ ), eine reine Polysomie ( $GCN \geq 5$ , ohne Genamplifikation), Low-Level-Amplifikationen mit hoher Genkopienzahl ( $2 \leq MET/CEN7 < 5$ ;  $GCN \geq 5$ ) sowie Low-Level-Amplifikationen mit niedriger Genkopienzahl ( $2 \leq MET/CEN7 < 5$ ;  $GCN < 5$ ) umfassten.<sup>52</sup>

Schildhaus et al. evaluierten in ihrer retrospektiven Studie mit insgesamt 693 Patienten ebenfalls die *MET/CEN7*-Ratio sowie die durchschnittliche Genkopienzahl pro Zelle.<sup>68</sup> Zudem untersuchen sie den Prozentsatz der Zellen mit  $\geq 4$ ,  $\geq 5$  und  $\geq 15$  *MET*-Signalen. Eine Einteilung erfolgte dann je nach Amplifikationslevel bzw. nach Level der Genkopienzahl und definierte sich, wie folgt:<sup>68</sup>

1. High-Level-Amplifikation
  - a. *MET/CEN7*-Ratio  $\geq 2$  oder
  - b. durchschnittliche Genkopienzahl pro Zelle  $\geq 6$  oder
  - c.  $\geq 10\%$  der Tumorzellen weisen  $\geq 15$  *MET*-Signale auf
2. Intermediate-Level-Vervielfachung der Genkopienzahl
  - a.  $\geq 50\%$  der Tumorzellen weisen  $\geq 5$  *MET*-Signale auf und
  - b. Kriterien der High-Level-Amplifikation werden nicht erfüllt
3. Low-Level-Vervielfachung der Genkopienzahl
  - a.  $\geq 40\%$  der Tumorzellen weisen  $\geq 4$  *MET*-Signale auf und
  - b. Kriterien der High-Level-Amplifikation und der Intermediate-Level-Vervielfachung der Genkopienzahl werden nicht erfüllt
4. alle anderen Tumoren werden als *MET*-negativ eingestuft

#### 2.2.4 MET als Target

Es gibt verschiedene Ansatzmöglichkeiten, den *MET*-Signalweg zu inhibieren. Dies kann einerseits auf der Ebene der Rezeptor/Ligand-Interaktion mit antagonisierenden monoklonalen Antikörpern gegen c-*MET* oder HGF/SF und andererseits auf der Ebene der TK-katalytischen Aktivität mittels Tyrosinkinase-Inhibitoren erfolgen.<sup>68</sup> Man unterscheidet zwischen *MET*-unspezifischen TKI (Crizotinib) und *MET*-spezifischen TKI (Capmatinib, Tepotinib, Savolitinib).<sup>86</sup>

Nachdem sich *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen als unabhängiger negativer prognostischer Faktor herausgestellt haben, bestätigten mehrere Studien ihre Aussagekräftigkeit als prädiktiver Biomarker mit einem Tumorsprechen auf zielgerichtete Therapien.<sup>60,87</sup> So zeigte beispielsweise die PROFILE-1001-Studie die Wirksamkeit einer Therapie mit Crizotinib bei NSCLC mit *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen.<sup>88</sup> Allerdings kam es letztlich zu keiner Zulassung von Crizotinib in dieser Indikation, in den USA wie auch in Europa ist Crizotinib bisher nur für *ROS1*- und *ALK*-positive Patienten zugelassen.<sup>57</sup> Nach positiver GEOMETRY-mono-1-Studie wurde 2020 Capmatinib durch die FDA in den USA für *MET*-Exon14-Skipping-Mutationen zugelassen, die Zulassung in Europa steht noch aus.<sup>57,89</sup> Ein weiterer zugelassener Tyrosinkinase-Inhibitor ist

Tepotinib, welcher auf Basis der VISION-Studie im Februar 2021 ebenfalls in den USA zugelassen wurde.<sup>90,91</sup> In Europa wurde es im Dezember 2021 durch die EMA für Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC mit *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen in Zweitlinie zugelassen.<sup>92</sup>

Bisher gibt es keine zielgerichteten Therapien, die für *MET*-Amplifikationen zugelassen sind. Es befinden sich jedoch zahlreiche Therapeutika in klinischen Studien, zumeist Phase-II-Studien. Hervorzuheben ist hierbei die PROFILE-1001-Studie. Diese teilte die Amplifikationslevel in verschiedene Arme auf und zeigte besonders bei den High-Level-Amplifikationen (*MET*/CEN7-Ratio  $\geq 4$ ) eine gute Wirksamkeit von Crizotinib (ORR 40 %, PFS 6,7 Monate).<sup>93</sup> Weiterhin ist Capmatinib als vielversprechend anzusehen und zeigte in der GEOMETRY-mono-1-Studie eine ORR von 29 % bei vortherapierten und 40 % bei Therapie-naiven Patienten mit einer Genkopienzahl  $\geq 10$  pro Zelle.<sup>89</sup> Obwohl diese beiden Studien eine unterschiedliche Einteilung ihrer Subkohorten vornahmen und High-Level-Amplifikationen nicht einheitlich definierten, ist dennoch ersichtlich, dass eine hohe Genkopienzahl mit dem Therapieansprechen korreliert.<sup>71</sup> Demnach nehmen sie eine Sonderstellung unter allen Amplifikationsleveln ein, was Hinweise darauf gibt, dass sie als prädiktiver Biomarker genutzt werden können.

TKI-Studien zu <i>de novo</i> -MET-Amplifikationen							
Studie	Phase	Kohorten	MET-Kriterien	ORR	mOS	mPFS	Referenz
<b>Crizotinib</b>							
<b>METROS</b> NCT02499614	Phase II	Kohorte A: (N=26) ROS1-Translokationen  Kohorte B: MET-Exon-14-Mutationen (N=9) oder MET-Amplifikationen (N=16)	Camidge-Kriterien:  Intermediate-Level MET/CEN7-Ratio ≥ 2,2 < 5  High-Level MET/CEN7-Ratio > 5	B: 27 %	B: 5,4 Monate	B: 4,4 Monate	Landi 2019  [98]
<b>AcSé Programm</b> NCT02034981	Phase II	Kohorte A: (N=25) MET-Amplifikationen  Kohorte B: (N=28) MET-Mutationen in Exon 14, 16-19  Kohorte C: (N=37) ROS1-Translokationen	Alle Amplifikationen GCN ≥ 6  Hohe Polysomie MET/CEN7-Ratio < 1.8  Low-Level MET/CEN7-Ratio ≥ 1,8 < 2,2  Intermediate-Level MET/CEN7-Ratio > 2,2 < 5  High-Level MET/CEN7-Ratio ≥ 5	A: 16 %	A: 7,7 Monate	A: 3,2 Monate	Moro-Sibilot 2019  [99]
<b>PROFILE1001</b> NCT00585195	Phase I	Kohorte A: (N=3) Low-Level- Amplifikationen  Kohorte B: (N=14) Intermediate-Level- Amplifikationen  Kohorte C: (N=21) High-Level- Amplifikationen	Low-Level MET/CEN7-Ratio ≥ 1,8 ≤ 2,2  Intermediate-Level MET/CEN7-Ratio > 2,2 < 4  High-Level MET/CEN7-Ratio ≥ 4	A: 33,3 %  B: 14,3 %  C: 38,1 %	n/a	A 1,8 Monate  B 1,9 Monate  C 6,7 Monate	Camidge 2021  [93]
<b>Capmatinib</b>							
<b>GEOMETRY-mono-1</b> NCT02414139	Phase II	Kohorte 1a: (N=69) MET-Amplifikationen GCN ≥ 10, vortherapiert  Kohorte 1b: (N=42) MET-Amplifikationen GCN 6-9, vortherapiert -geschlossen bei fehlender Signifikanz-  Kohorte 2: (N=54) MET-Amplifikationen GCN 4-5, vortherapiert -geschlossen bei fehlender Signifikanz-  Kohorte 3: (N=30) MET-Amplifikationen GCN <4, vortherapiert -geschlossen bei fehlender Signifikanz-  Kohorte 4: MET-Exon-14-Skipping-Mutationen, vortherapiert  Kohorte 5a: (N=15) MET-Amplifikationen GCN ≥ 10, Therapie-naiv  Kohorte 5b: (N=28) MET-Exon-14-Skipping-Mutationen, Therapie-naiv  Kohorte 6: (N=34) MET-Amplifikationen ≥ 10 oder -Exon-14-Skipping- Mutationen, vortherapiert  Kohorte 7: (N=23) MET-Exon-14-Skipping-Mutationen, Therapie-naiv	1a: 29 %  1b: 12 %  2: 9 %  3: 7 %  4: 41 %  5a: 40 %  5b: 68 %  6: 38 %  7: laufend	n/a	1a: 4,1 Monate  1b: 2,7 Monate  2: 2,7 Monate  3: 3,6 Monate  4: 5,4 Monate  5a: 4,2 Monate  5b: 12,4 Monate  6: 6,7 Monate  7: laufend	Wolf 2020  [89]	
<b>Tepotinib</b>							
<b>VISION</b>	Phase II	Kohorte A: MET-Exon-14-Skipping-Mutationen  Kohorte B: (N=24) MET-Amplifikationen  1L (N=7) Erstlinientherapie 2L (N=19) Zweitlinientherapie 3L (N=7) Drittlinientherapie	A: 46,5 %  B Gesamt: 42 %  1L: 71 % 2L: 30 % 3L: 29 %	A: 17,1 Monate  n/a	A: 8,6 Monate  B Gesamt: 4,2 Monate  1L: n/a 2L: n/a 3L: 1,4 Monate	Paik 2020  [87]	

Tabelle 1: TKI-Studien zu MET-Amplifikationen



## 2.3 Zielsetzung dieser Arbeit

Lungenkrebs ist eine schwerwiegende Erkrankung, die häufig erst im fortgeschrittenen Stadium entdeckt wird, somit zumeist unheilbar ist und oft auch rasch tödlich verläuft. Als vielversprechend haben sich personalisierte Therapieansätze herausgestellt, die aufgrund ihrer besseren Verträglichkeit und einem deutlich verlängertem Überleben bereits fester Bestandteil der Standardtherapien einiger NSCLC-Subtypen sind. Dennoch gilt besonders die genetische Heterogenität der Adenokarzinome als große Herausforderung und erfordert weitere Studien zu potenziellen Treibermutationen und Resistenzmechanismen. Die bisherige Forschung zu *MET*-Amplifikationen deutet darauf hin, dass *MET* sowohl als primärer onkogener Treiber als auch als sekundärer Resistenzmechanismus fungieren kann. Da Patienten mit NSCLC häufig *MET*-Amplifikationen verschiedener Level zeigen und eine besonders schlechte Prognose aufweisen, besteht die Dringlichkeit einer eingehenden Untersuchung dieser Patientengruppe.

In dieser Arbeit werden die Ergebnisse einer *Real-World*-Kohorte mit dem Fokus auf folgende Fragestellungen vorgestellt:

- Welche demographischen und molekularpathologischen Eigenschaften weisen *MET*-amplifizierte Patienten mit NSCLC auf? Wie unterscheiden sich diese nach Amplifikationslevel?
- Welche genetischen Begleitaberrationen treten bei den verschiedenen Amplifikationsleveln auf?
- Wie verhält sich das Gesamtüberleben (OS) dieser Patienten und wo liegen Unterschiede hinsichtlich Amplifikationslevel und dem verabreichten systemischen Therapieregime?
- Wie präsentiert sich das Tumoransprechen (ORR) auf zytostatische Therapien im Vergleich zu Immuntherapien? Gibt es Unterschiede zwischen den Subkohorten?
- Stellen *MET*-Amplifikationen einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor dar und können sie als potenzieller prädiktiver Biomarker dienen?

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Form der Datenerhebung

#### 3.1.1 Netzwerk Genomische Medizin

Die Patientendaten wurden im Rahmen einer Datenanalyse des Netzwerks Genomische Medizin (NGM) Lungenkrebs der Universitätsklinik Köln erhoben. Ziel des Netzwerks ist die Implementierung einer flächendeckenden umfassenden molekularen Diagnostik und des Zugangs zu personalisierter Therapie für alle Patienten mit fortgeschrittenem Lungenkrebs in Deutschland.<sup>94,95</sup> Nach erfolgter schriftlicher Einwilligung der Patienten zur Verarbeitung ihrer Daten zu wissenschaftlichen Zwecken werden umfassende Analysen des eingesendeten oder vor Ort entnommenen Tumormaterials auf molekulargenetische Veränderungen durchgeführt. Bei Nachweis therapeutisch relevanter Mutationen werden Behandlungsempfehlungen ausgesprochen bzw. aktuelle klinische Studien empfohlen. Die Behandlung findet vor Ort oder dezentral bei den Netzwerkpartnern statt.<sup>94</sup>

#### 3.1.2 Datenerfassung und -verarbeitung

Die Selektion der Patienten erfolgte auf Basis der molekularen Tumorveränderungen, die in den Jahren 2015 bis 2018 untersucht wurden. Die Patientenverläufe wurden mittels *Follow-Up*-Bögen bei den ärztlichen Behandlern erfragt, insbesondere demographische und klinische Charakteristika sowie Therapieverläufe und gegebenenfalls Todeszeitpunkt. Das Gesamtüberleben (*Overall Survival*, OS) errechnet sich vom Zeitpunkt des erstmalig diagnostizierten fortgeschrittenen Stadiums (ab Stadium IIIB) bis zum Tod. Bei lebenden Patienten zum Ende des *Follow-Up* Zeitraumes wurde ein Zensor verwendet.

Die Daten wurden in eine FileMaker-Datenbank (FileMaker, Claris International Inc., Cupertino, USA) zur internen Datenverarbeitung eingespeist. Die hier vorliegende Untersuchung entspricht einer retrospektiven Studie einer *Real-World*-Kohorte und wurde entsprechend vorgeschriebener Leitlinien<sup>96</sup> durchgeführt und von der zuständigen Ethikkommission im Rahmen des NGM- und nNGM-Votums begutachtet und genehmigt.

### 3.1.3 Tumortypisierung durch die Pathologie der Uniklinik Köln

#### 3.1.3.1 NGS und LUN Panel

Die Gensequenzierung erfolgte mittels NGS und wurde an Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Gewebeproben vorgenommen, um *MET*-Alterationen und andere Treibermutationen zu ermitteln. Zur Analyse wurden zwei verschiedene validierte Panels genutzt: LUN3 und LUN4. Molekularpathologische Untersuchungen bis 2015 wurden mit Hilfe von *AmpliSeq Chemistry* und dem LUN3-Panel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) vorgenommen, welches 19 Gene umfasste. In den Jahren nach 2015 wurde *GeneRead Chemistry* und das LUN4-Panel (Qiagen, Hilden, Deutschland) genutzt, welches entweder 17 oder 19 Gene umfasste. Genetische Aberrationen wurden nach klinikinternen Algorithmen herausgefiltert und ebenfalls mittels der FileMaker-Datenbank prozessiert. Als *Cut-Off*-Wert wurde ein Prozentsatz von 5 % aller Tumorzellen mit der jeweiligen genetischen Veränderung definiert.

	LUN3	LUN4
Gene	Exone	
<b>AKT1</b>	4	
<b>ALK</b>	21-25	
<b>ARAF</b>		7, 10, 15
<b>BRAF</b>	11, 15	11, 15
<b>CTNNB1</b>	3	3
<b>DDR2</b>	3-18	4-19
<b>EGFR</b>	18-21	18-21
<b>ERBB2/HER2</b>	19, 20	19, 20
<b>FGFR2</b>		8-10, 12
<b>FGFR3</b>		7, 10, 15
<b>KEAP1</b>		2-6
<b>KRAS</b>	2, 3	2-4
<b>MAP2K1</b>	2	2
<b>MET</b>	14	14, 16-19
<b>NFE2L2</b>		2
<b>NRAS</b>	2, 3	2-4
<b>PIK3CA</b>	9, 20	9, 20
<b>PTEN</b>	1-8	1-8
<b>TP53</b>	4-8	5-8

Tabelle 2: Verwendete Gen-Panel in der NGS-Diagnostik

### 3.1.3.2 Nachweismethode der Amplifikation

Zum Nachweis der *MET*-Amplifikationen wurde NGS angewandt, um die Genkopienzahl pro Zelle zu bestimmen. Anschließend wurde eine FISH angeschlossen und die *MET/CEN7*-Ratio bestimmt. Mittels dieser Werte erfolgte dann eine Einteilung in verschiedene Amplifikationslevel angelehnt an Schildhaus et al. (siehe Kapitel 3.2.2 *Einteilung der Kohorte*).<sup>68</sup>

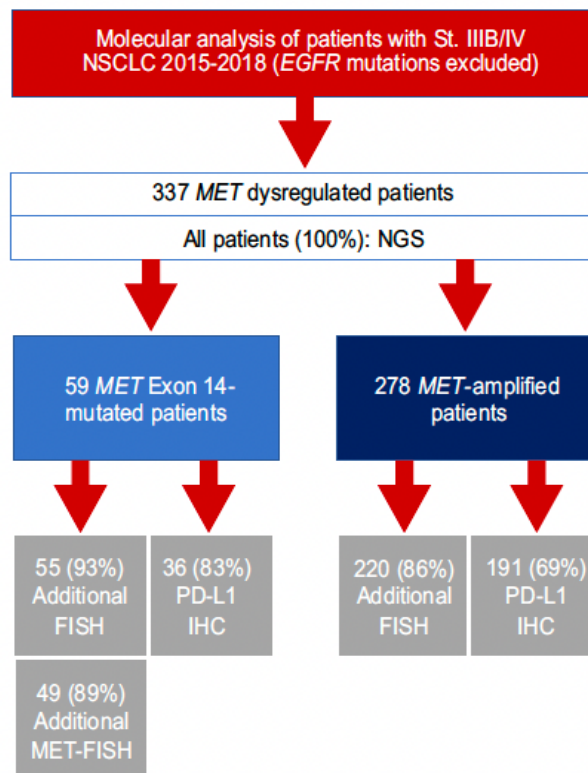
### 3.1.3.3 PD-L1-Status Bestimmung

Der PD-L1-Status wurde mittels Immunhistochemie erhoben und erfolgte auf Leica Bond mit Hilfe des *Primary Antibody Clone 28-8* (Abcam, Cambridge, Vereinigtes Königreich). Die Interpretation folgte den Dako-PD-L1-22C3-pharmDx-Richtlinien<sup>97</sup> und eine Objektivierung der Ergebnisse erfolgte mittels des *Tumor Proportion Score*. Eine regelhafte Analyse der *MET*-Proteinexpression ist in der IHC nicht vorgenommen worden.

## 3.2 Patienten

### 3.2.1 Auswahlkriterien des Patientenkollektivs

Wie beschrieben, erfolgte der Einschluss in die hier durchgeführte Analyse ausschließlich auf Basis von molekularpathologischen Untersuchungen und ohne weitere Selektionskriterien. Bei vorliegender *MET*-Alteration erfolgte eine weitere Prüfung hinsichtlich Ein- und Ausschlusskriterien für die hier durchgeführte Studie. Neben einer diagnostizierten *MET*-Aberration galten als weitere obligate Einschlusskriterien eine vorliegende Einwilligungserklärung sowie ein fortgeschrittenes Tumorstadium ab Stadium IIIB. Als Ausschlusskriterium galt eine vorliegende *EGFR*-Mutation, da kein Bezug der Amplifikationen auf das entsprechende Resistenzsetting genommen werden sollte. Andere Treibermutationen, wie *ALK* oder *KRAS*, wurden nicht exkludiert.



**Figure 1.** Analytical workflow: patients were analyzed between 2015 and 2018 within the Network Genomic Medicine. Subsequently, IHC for PD-L1 and FISH for the detection of rearrangements or amplifications were performed, if possible. FISH, fluorescence in situ hybridization; IHC, immunohistochemistry; NGS, next-generation sequencing; PD-L1, programmed death-ligand 1; St, stage.

Abbildung 5: Flussdiagramm der molekularpathologischen Diagnostik<sup>1</sup>

### 3.2.2 Einteilung der Kohorte

Die Kohorte umfasste insgesamt 337 Patienten, von denen 278 Patienten eine *MET*-Amplifikation und 59 Patienten eine *MET*-Exon-14-Skipping-Mutation aufwiesen. Bei simultanem Vorkommen beider Aberrationen erfolgte eine Zuordnung in die Gruppe der Mutationen. Von den 278 Patienten mit Amplifikationen wiesen 269 Patienten Überlebensdaten mit einem mindestens 1-monatigen *Follow-Up*-Zeitraum auf. Da der Fokus dieser Arbeit auf den Amplifikationen liegt, wird ausschließlich die weitere Unterteilung dieser Gruppe hier näher erläutert.

Patienten mit *MET*-Amplifikationen wurden nach zwei Kriterien unterteilt; nach der Ausprägung ihres Amplifikationslevels und der ihnen verabreichten Therapie. Wie bereits oben erwähnt, erfolgte die Klassifizierung des Amplifikationsgrades in verschiedene Level nach dem Vorbild von Schildhaus et al.<sup>68</sup> in Low-, Intermediate- und High-Level, wobei alle Patienten mit einer

$MET/CEN7$ -Ratio  $\geq 2$  oder einer GCN  $> 6$  als High-Level-amplifiziert gewertet wurden. Abweichend zu Schildhaus et al. nahmen wir eine weitere Unterteilung dieser Subgruppe anhand der Genkopienzahl pro Zelle vor. Hierbei ergaben sich drei Subgruppierungen, die sich definieren, wie folgt:

1. Low-Level-Amplifikationen (*METamp LL*): GCN  $< 4$
2. Intermediate-Level-Amplifikationen (*METamp IL*): GCN 4-5
3. High-Level-Amplifikationen (*METamp HL*):
  - a. Gruppe I (*METamp HL I*):  $MET/CEN7$ -Ratio  $\geq 2$  und GCN  $< 6$
  - b. Gruppe II (*METamp HL II*): GCN 6-9
  - c. Gruppe III (*METamp HL III*): GCN  $\geq 10$

Aufgrund der herausragenden Stellung der High-Level-Amplifikationen der Gruppe III mit einer GCN  $\geq 10$  erfolgte die Überlebensanalyse anschließend nur im Vergleich zu *MET*-amplifizierten Patienten mit einer GCN  $< 10$ .

Bei der Einteilung nach Therapieregimen wurde zwischen Chemo- und Immuntherapien unterschieden. Bei Patienten, die eine Immuntherapie nicht in Erstlinie erhalten haben, wurde im Falle einer vorangegangenen Chemotherapie dennoch eine Zuteilung in die Subgruppe der Immuntherapien vorgenommen. Grund hierfür war die Fragestellung, ob Immuntherapien, unabhängig von der Therapielinie, einen Einfluss auf das Überleben im Vergleich zur ausschließlichen Chemotherapie haben.

### 3.2.3 Statistische Analyse

Die Statistische Analyse erfolgte mit Hilfe des Software-Programmes SPSS 24 (IBM, Armonk, NY, USA). Qualitative Unterschiede von Merkmalen zwischen den verschiedenen Gruppen wurden mittels Chi-Quadrat-Test und exaktem Fischer-Test ermittelt. Eine Überlebensanalyse nach den verschiedenen Therapiemodalitäten wurde nach Kaplan-Meier durchgeführt, in medianem Gesamtüberleben (*median overall survival*, mOS) ausgedrückt und mittels Log-Rank-Test untereinander verglichen. Um potenzielle Störfaktoren anzupassen, erfolgte eine Modellierung der Überlebenszeit mittels Cox-Regression. Als deskriptives Maß dienten *Hazard Ratios* (HR), welche mit einem 95%igen Konfidenzintervall (CI) wiedergegeben wurden. Als statistisch signifikant wurden P-Werte  $< 0.05$  gewertet.

## **4 Ergebnisse**

### **4.1 Beschreibung der Kohorte**

#### **4.1.1 Klinische Charakteristika**

Insgesamt wurden 278 Patienten untersucht, von denen der überwiegende Anteil männlich (63,3 %) war. Mehr als 90 % wiesen eine positive Raucheranamnese auf, davon waren 52,9 % aktive Raucher und 39,6 % ehemalige Raucher. Der Anteil der Nieraucher lag bei 4,3 %. Das mediane Erkrankungsalter lag bei 65 Jahren und umfasste einen Bereich von 36 bis 86 Jahren. Zum Zeitpunkt der Erstdiagnose wies der größte Anteil der Patienten (84,2 %) ein fortgeschrittenes Stadium (UICC-Stadium  $\geq$  IIIB) auf. 129 Patienten hatten einen ECOG-Status von 1 und 67 Patienten von 0, sodass sich insgesamt 70,5 % der Patienten in einem guten physischen Zustand befanden. 124 der Patienten (47,1 %) erhielten eine alleinige Chemotherapie. Demgegenüber erhielten 87 Patienten eine Mono-Immuntherapie und 11 Patienten eine kombinierte Immunchemotherapie. Die klinischen Charakteristika sind in Tabelle 3 zusammengefasst.<sup>1</sup>

**Table 1. Clinical Characteristics of the Patients**

Baseline Patient Characteristics	Total Cohort, n (%)	METex14, n (%)	METamp, n (%)
Sex	337 (100)	59 (17.5)	278 (82.5)
Male	207 (61.4)	31 (52.5)	176 (63.3)
Female	130 (38.6)	28 (47.5)	102 (36.7)
Age at diagnosis (y)			
Mean	67	77	65
Range	36-89	51-89	36-86
Histology			
Nonsquamous	314 (93.2)	55 (93.2)	259 (93.1)
Squamous	15 (4.4)	4 (6.8)	11 (4.0)
W/o differentiation	8 (2.4)	—	8 (2.9)
Smoking history			
Never	33 (9.8)	21 (35.6)	12 (4.3)
Former	133 (39.5)	23 (39.0)	110 (39.6)
Current	159 (47.2)	12 (20.3)	147 (52.9)
N/A	12 (3.5)	3 (5.1)	9 (3.2)
ECOG performance status			
0	82 (24.3)	15 (25.4)	67 (24.1)
1	152 (45.1)	23 (39.0)	129 (46.4)
2	56 (16.6)	10 (16.9)	46 (16.5)
3	18 (5.4)	4 (6.8)	14 (5.0)
4	1 (0.3)	—	1 (0.4)
N/A	28 (8.3)	7 (11.9)	21 (7.6)
Tumor stage at diagnosis			
I A/B	18 (5.4)	5 (8.5)	13 (4.7)
II A/B	16 (4.8)	2 (3.3)	14 (5.0)
III A	19 (5.6)	3 (5.1)	16 (5.7)
III B/C	46 (13.6)	4 (6.8)	42 (15.1)
IV A/B/C	237 (70.3)	45 (76.3)	192 (69.1)
N/A	1 (0.3)	—	1 (0.4)
Treatment regimens			
With ICI exposure	319 (94.7)	56 (94.9)	263 (94.6)
Without ICI exposure	120 (37.6)	22 (39.3)	98 (37.3)
ICI mono			
First-line	10	3	7
Second-line	79	14	65
Third-line	18	3	15
ICI/chemocombination			
First-line	6	—	6
Second-line	7	2	5
Third-line	—	—	—
Chemo/W/O ICI exposure			
First-line	144 (45.1)	20 (35.7)	124 (47.1)
Second-line	47	9	38
Third-line	10	—	10

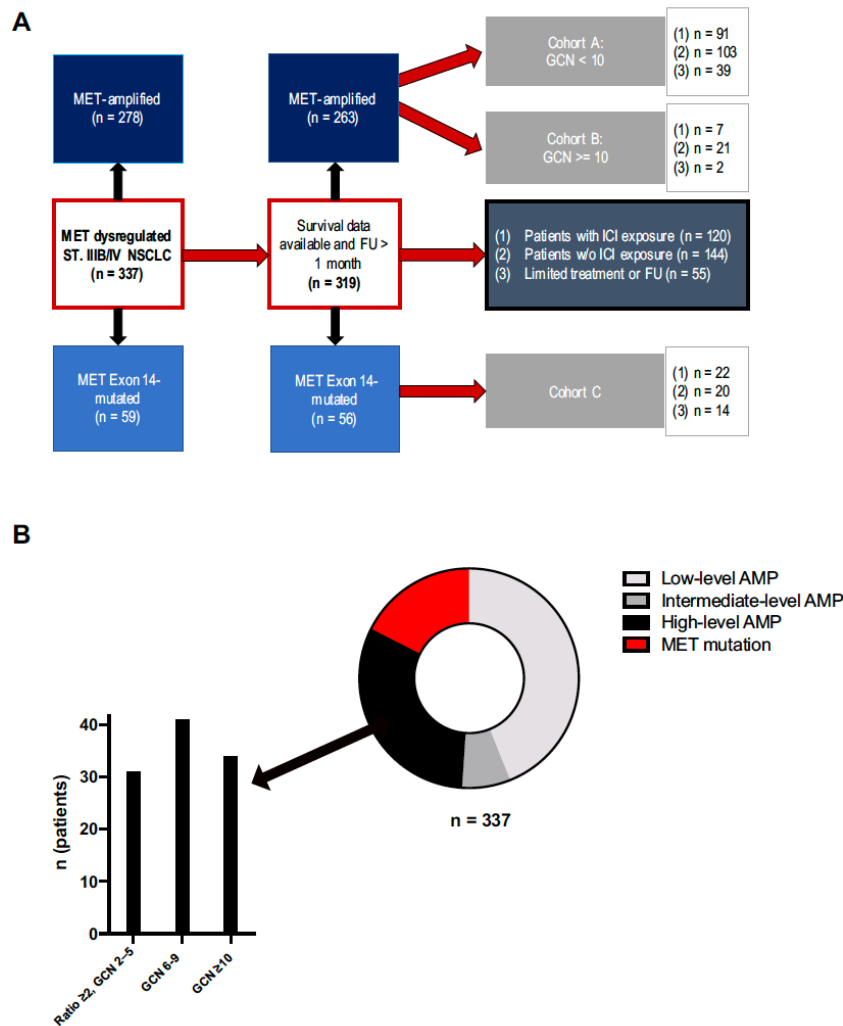
amp; amplified; chemo, chemotherapy; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; ex14, exon 14; ICI, immune checkpoint inhibitor; mono, monotherapy; N/A, not applicable; W/O, without.

*Tabelle 3: Klinische Charakteristika<sup>1</sup>*



#### 4.1.2 Molekularpathologische Charakteristika

Der überwiegende Anteil der Patienten (93,1 %) hatte ein Adenokarzinom in der histologischen Untersuchung. Lediglich 4 % wiesen ein Plattenepithelkarzinom auf, und bei 2,9 % der Patienten lag ein entdifferenzierter Tumor vor. Von den insgesamt 278 mit NGS untersuchten Patienten erhielten 220 Patienten eine anschließende FISH-Untersuchung (86 %). Überlebensdaten mit einem *Follow-Up*-Zeitraum von mehr als einem Monat lagen bei 263 *MET*-amplifizierten Patienten vor. Es konnten 148 Low-Level-amplifizierte Patienten (*METamp* LL: GCN < 4), 24 Intermediate-Level-amplifizierte Patienten (*METamp* IL: GCN 4-5) und insgesamt 106 High-Level-amplifizierte Patienten (*METamp* HL:  $MET/CEN7 \geq 2$  oder GCN  $\geq 6$ ) identifiziert werden, wovon 31 Patienten der Kategorie I (*METamp* HL I:  $MET/CEN7$ -Ratio  $\geq 2$  und GCN < 6), 41 Patienten der Kategorie II (*METamp* HL II: GCN 6-9) und 34 Patienten der Kategorie III (*METamp* HL III: GCN  $\geq 10$ ) zugeordnet wurden. Aufgrund von statistisch signifikanten Unterschieden im Therapieansprechen und Überleben wurde eine finale Unterteilung in zwei Kohorten vorgenommen. Daraus ergab sich die Kohorte A (GCN < 10) mit 233 Patienten und die Kohorte B (GCN  $\geq 10$ ) mit 30 Patienten.

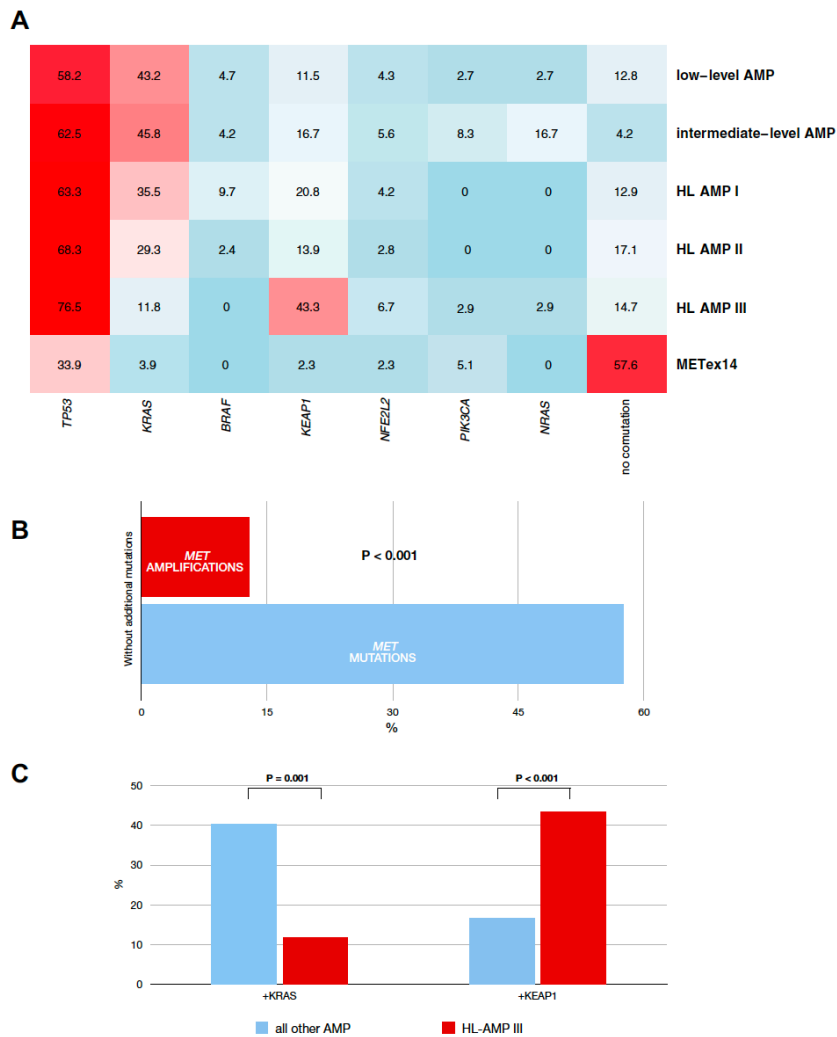


**Figure 2.** (A) Definition of clinical cohorts underlying survival analyses. (B) Proportions of *MET* alterations detected in the study cohort. ratio: *MET*/*CEN7*. AMP, amplification; FU, follow-up time; ICI, immune checkpoint inhibitor; GCN, gene copy number; *MET*/*CEN7*, *MET*-to-*CEN7* ratio; ST., stage; w/o, without.

Abbildung 6: Die Verteilung der Amplifikationslevel und Definition der verschiedenen Patientenkohorten <sup>1</sup>

### 4.1.3 Muster der Ko-Alterationen

242 Patienten (87,1 %) der *MET*-amplifizierten Patienten wiesen Ko-Alterationen auf. Bei keinem der Patienten konnte eine *EGFR*- (Exklusionskriterium), *ALK*- oder *ROS1*-Alteration nachgewiesen werden. Die häufigsten simultan auftretenden Alterationen waren *TP53*-, *KRAS*- und *KEAPI*-Mutationen, deren Häufigkeit abhängig vom Amplifikationslevel war. Es zeigten sich bei 76,5 % der High-Level-amplifizierten Patienten mit  $GCN \geq 10$  eine *TP53*- und bei 43,3 % eine *KEAPI*-Mutation. Letztere waren überwiegend inaktivierend. *KRAS*-Mutationen wurden vor allem bei niedrig-Level-amplifizierten Patienten gefunden und zeigten sich bei 43,2 % der Low-Level- und bei 45,8 % der Intermediate-Level-Amplifikationen.

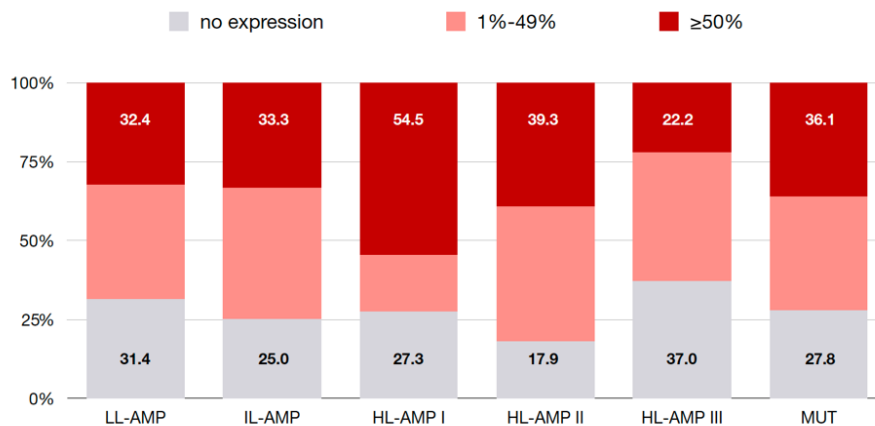


**Figure 3.** (A) Heatmap visualizing the frequency of co-occurring mutations in the different *MET*-altered cohorts. (B) Comparison of percentages of patients without additional mutation in the *MET*amp cohort and the *MET*ex14 cohort. (C) Bar plot visualizing the different prevalences of *KEAP1* and *KRAS* mutations in *MET*amp (cohort A) as compared with top-level *MET* amp (cohort B). AMP, amplification; amp, amplified; ex14, exon 14; HL, high-level.

Abbildung 7: Muster der Ko-Alterationen<sup>1</sup>

#### 4.1.4 PD-L1-Expression

Eine Immunhistochemie wurde bei 191 Patienten (69 %) aller *MET*-amplifizierten Patienten durchgeführt. Dabei zeigte sich eine PD-L1-Expression von  $\geq 50$  % bei 79 Patienten (34,8 %), von welchen 74 Patienten Überlebensdaten aufwiesen. Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede in der PD-L1-Expression zwischen den verschiedenen Amplifikationsleveln gefunden werden. So zeigte sich beispielsweise ein Anteil von 32,4 % PD-L1-positiven Patienten mit einer Expression  $\geq 50$  % in der Low-Level-Kohorte und ein Anteil von 22,2 % in der High-Level-Kohorte III. Eine Übersicht des Expressionsmusters findet sich in Abbildung 8.<sup>1</sup>

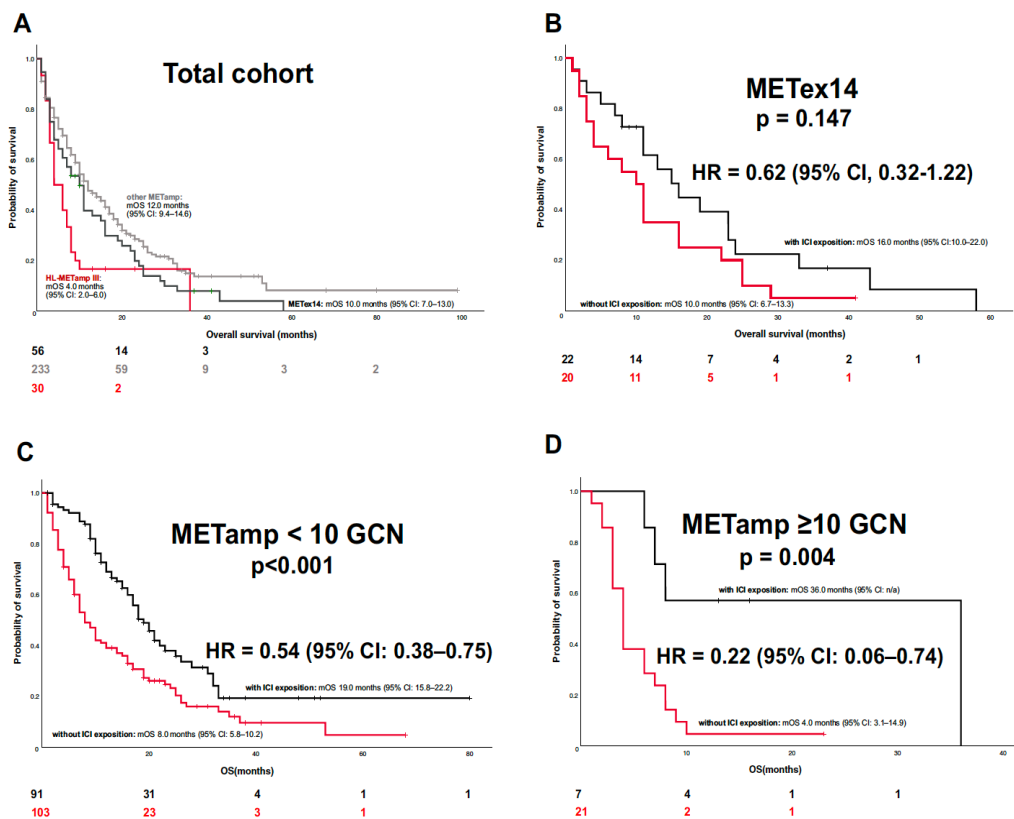


**Figure 4.** Distribution of different PD-L1 expression levels measured by IHC of the different AMP levels in contrast to *MET*ex14. AMP, amplification; ex14, exon 14; HL, high-level; IHC, immunohistochemistry; IL, intermediate-level; LL, low-level; MUT, mutation; PD-L1 programmed death-ligand 1.

*Abbildung 8: PD-L1-Expressionsmuster nach Amplifikationslevel<sup>1</sup>*

## 4.2 Überlebensanalyse

Es lagen Überlebensdaten von 263 der insgesamt 278 *MET*-amplifizierten Patienten vor und der mediane *Follow-Up*-Zeitraum betrug 34 Monate. Es konnte ein medianes Gesamtüberleben von 12 Monaten (95 % CI 9,4 – 14,6) in Kohorte A (GCN < 10) und 4 Monaten (95 % CI 1,9 – 6,0) in Kohorte B (GCN ≥ 10) beobachtet werden, was ein signifikant schlechteres Überleben der High-Level-amplifizierten Patienten zeigt. Weiterhin wurde eine Analyse nach appliziertem Therapieregime durchgeführt. Hier zeigte sich ein signifikant besseres Gesamtüberleben nach verabreichter Immuntherapie oder Immunchemotherapie im Vergleich zur alleinigen Chemotherapie. Es konnte ein mOS von 19 Monaten (95% CI 15,8 – 22,2) zu 8 Monaten (95 % CI 5,8 – 10,2) in der Kohorte der Niedrig-Level-amplifizierten Patienten (GCN < 10) und von 36 Monaten (95% CI n/a) zu 4 Monaten (95 % 3,1 – 4,9) in der Kohorte der High-Level-amplifizierten Patienten gezeigt werden. Eine Übersicht der Überlebensanalyse zeigt Abbildung 9.<sup>1</sup>



**Figure 5.** Survival curves with median OS (Kaplan-Meier) and differences in log rank ( $p$  value) and Cox regression (HR). Survival tables below the graphs reveal the number of patients alive at the respective time points, color-coded following the curves. (A) Total cohort revealing different prognostic values of cohorts A, B, and C. (B) In METex14, differences in survival by the addition of ICI to chemotherapy did not reach statistical significance. (C) Significant survival differences in cohort B favoring the addition of ICI to standard chemotherapy. (D) Significant survival differences in cohort C favoring the addition of ICI to standard chemotherapy. amp, amplified; CI, confidence interval; ex14, exon 14; GCN, gene copy number; HL, high-level; HR, hazard ratio; ICI, immune checkpoint inhibitor; mOS, median OS; OS, overall survival.

Abbildung 9: Überlebensanalyse der verschiedenen Kohorten<sup>1</sup>

## 5 Diskussion

Diese Arbeit beschreibt die Analyse einer großen *Real-World*-Kohorte, die insgesamt 337 Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC und *MET*-Aberration umfasste. 278 Patienten wiesen eine *MET*-Amplifikation auf, von 263 Patienten dieser Gruppe lagen Überlebensdaten vor. Die Untersuchung der Tumorproben erfolgte in den Jahren 2015 bis 2018 im Rahmen des NGM im Institut für Pathologie der Uniklinik Köln und wurde mittels NGS und FISH durchgeführt. Als diagnostische Kriterien dienten die durchschnittliche Genkopienzahl des *MET*-Gens pro Zelle sowie die *MET*/CEN7-Ratio, die zum positiven Nachweis der Amplifikationen sowie zu einer Unterteilung in Subgruppen herangezogen wurden. Aufgrund von statistisch signifikanten Unterschieden in der Analyse des Therapieansprechens und des Gesamtüberlebens wurde die

initial getroffene Einteilung der Kohorte in Low-, Intermediate- und High-Level zu Gunsten einer Unterteilung in nur zwei Subgruppen mit dem *Cut-Off*-Wert von 10 Genkopien pro Zelle (GCN < 10 vs. GCN  $\geq$  10) verlassen.

Die High-Level-Gruppe mit GCN  $\geq$  10 umfasste 34 Patienten, was einem Anteil von 10,1 % aller *MET*-Alterationen und 12,2 % aller *MET*-Amplifikationen entsprach. Bei keinem der Patienten mit *MET*-amplifiziertem NSCLC wurde eine *EGFR*-, *ALK*- oder *ROS1*-Alteration nachgewiesen, wobei *EGFR*-Mutationen als Exklusionskriterium dienten. Insgesamt zeigten sich jedoch bei mehr als 80 % der Amplifizierten simultan auftretende Mutationen, vorwiegend *TP53*- und *KRAS*-Mutationen mit einem vom Amplifikationslevel abhängigen Verteilungsmuster: Dem abnehmenden Anteil der *KRAS*-Mutationen von Low- zu High-Level stand hierbei eine Zunahme der *TP53*-Mutationen gegenüber. Weiterhin zeigte sich eine ähnliche Zunahme bei den *KEAP1*-Mutationen. Trotz fehlenden Unterschieds im PD-L1-Positivitätsmuster zeigte sich ein signifikant besseres Ansprechen der High-Level-Gruppe auf Immuntherapien im Vergleich zu der Gruppe mit GCN < 10. Weiterhin wies die Gruppe mit GCN  $\geq$  10 ein deutlich kürzeres Gesamtüberleben mit einer medianen Überlebenszeit von 4 Monaten im Vergleich zur Gruppe mit GCN < 10 mit einem mOS von 12 Monaten auf.

## 5.1 Stärken und Schwächen

Diese Arbeit untersucht in einer der bisher größten *Real-World*-Kohorten von 278 Patienten das Ansprechen von *MET*-amplifiziertem NSCLC, differenziert nach Amplifikationsleveln und anderen molekularen Charakteristika, auf nicht zielgerichtete systemische Therapien im Vergleich.

Die Kohorte weist mit 34 Patienten einen großen Anteil an High-Level-Amplifikationen auf. Durch Nutzung verschiedener diagnostischer Nachweismethoden (NGS, FISH, IHC) bei dem größten Anteil der Patienten ermöglicht diese Arbeit einen guten Einblick in das molekulare Profil von *MET*-amplifizierten Patienten mit NSCLC. Durch Bestimmung mehrerer Parameter (GCN, *MET*/CEN7-Ratio) konnte eine differenzierte Einteilung der Kohorte vorgenommen werden, die auf Klassifikationen bisher publizierter Studien<sup>68,71,89</sup> aufbaut, somit eine Vergleichbarkeit gewährleistet, diese aber gleichzeitig im Hinblick auf die Unterteilung von High-Level-Amplifikationen weiterentwickelt.

Trotz Bestimmung der *MET*/CEN7-Ratio wurde diese nicht für eine weitere Einteilung herangezogen, sondern nur als initialer *Cut-Off*-Wert für High-Level-Amplifikationen der Gruppe I verwendet. Da weder eine hohe Ratio noch eine hohe GCN isoliert betrachtet eine aussagekräftige Einstufung als High-Level ermöglichen<sup>84</sup>, wäre eine Abbildung der Korrelation zwischen diesen beiden Parametern von großem Interesse. Weiterhin erfolgte keine Untersuchung

der *MET*-Expression in der Immunhistochemie, wodurch hier keine Aussage zu der Korrelation zwischen hohen Amplifikationsleveln und der Stärke der Expression getroffen werden kann.

## 5.2 Relation zum bisherigen Wissensstand

### 5.2.1 Epidemiologische und demographische Daten

In der hier durchgeführten Analyse erfolgte eine Selektion nach *MET*-Alterationen, daher kann anhand der vorliegenden Daten keine Aussage zur Gesamtprävalenz von *MET*-Amplifikationen im NSCLC getroffen werden. Es zeigte sich jedoch eine deutliche Dominanz der identifizierten *MET*-Amplifikationen gegenüber *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen mit 82,5 % zu 17,5 %, was bisherige Daten hinsichtlich der Häufigkeit vorkommender *MET*-Alterationen stützt.<sup>89,98,99</sup>

Die initial angewandte Definition, die Amplifikationen mit einer *MET*/CEN7-Ratio  $\geq 2$  oder einer GCN  $> 6$  als High-Level-amplifiziert wertete, ergab einen Anteil von 31,5 % an High-Level-Amplifikationen. Im Laufe der Analyse wurde eine weitere Unterteilung dieser Subgruppe vorgenommen mit der Definition von *MET*-Amplifikationen mit einer Genkopienzahl  $\geq 10$  als High-Level Gruppe III.<sup>71</sup> Die Prävalenz dieser Subgruppe war 10,1 %. Dies zeigt eine durch unterschiedliche Klassifikationssysteme verursachte Diskrepanz in der Häufigkeit von Subgruppen, resultierend in einer erschwerten Vergleichbarkeit verschiedener Studien. So wurde beispielsweise eine vergleichbare Prävalenz der High-Level-Amplifikationen von 12,5 % in der METROS-Studie beobachtet, jedoch erfolgte hier eine Definition nach der *MET*/CEN7-Ratio bei einer kleinen Kohorte von nur insgesamt 16 amplifizierten Patienten.<sup>98</sup> In der GEOMETRY-mono-1-Studie konnten 84 von insgesamt 210 *MET*-amplifizierten NSCLC als High-Level eingestuft werden, was einer Prävalenz von 40 % entspricht und bei dem gleichen *Cut-Off*-Wert von GCN  $\geq 10$  eine deutliche Divergenz zu den hier aufgeführten Daten darstellt.<sup>89</sup> Zu ähnlichen Ergebnissen kam eine Subanalyse der PROFILE-1001-Studie, in der sich eine 55-prozentige Prävalenz der High-Level-Amplifikationen zeigte. Eine Einteilung erfolgte hier jedoch nicht nach der GCN, sondern der *MET*/CEN7-Ratio. Zudem wurde nur eine kleine Kohorte mit 38 Patienten untersucht.<sup>93</sup> Im Vergleich dazu berichteten Overbeck et al. eine Prävalenz ihrer Top-Level Kategorie (GCN  $\geq 10$ ) von 2,1 % – jedoch bezogen auf die gesamte Kohorte inkl. der *MET*-negativ getesteten Patienten – was vergleichbar zu den Daten von Schildhaus et al. ist.<sup>68,71</sup>

Hinsichtlich der klinischen Eigenschaften stützen die Ergebnisse dieser Arbeit die bereits beobachteten Charakteristika von Patienten mit *MET*-amplifiziertem NSCLC. So zeigte sich hier das Adenokarzinom mit 93,1 % als dominanter histologischer Subtyp, was mit der Verteilung in

anderen Studienkohorten vergleichbar ist.<sup>89,93,98,99</sup> Obwohl dies hier nicht weiter analysiert wurde, deuten bisherige Untersuchungen darauf hin, dass es sich besonders in der High-Level-Gruppe um schlecht differenzierte Adenokarzinome mit pleomorphen Eigenschaften handelt.<sup>71</sup> Weiterhin waren mit 63,3 % etwas mehr Männer betroffen, was der Geschlechterverteilung anderer Studien entspricht.<sup>68,71,93,99</sup> Das mittlere Alter bei Erstdiagnose betrug 65 Jahre, wobei keine gesonderte Analyse nach Amplifikationslevel erfolgte und somit keine Aussage für die High-Level-Gruppe getroffen werden kann. Zum Vergleich beobachteten Camidge et al. ein mittleres Erkrankungsalter von 66,5 Jahren und eine Zunahme mit steigendem Amplifikationslevel.<sup>93</sup> Auffällig war zudem die Assoziation mit einer positiven Raucheranamnese, da nur 4,3 % der gesamten Kohorte Nieraucher darstellten. Dies entspricht einem kleineren Anteil als in bisherigen Studien, wo sich ein Bereich von 7 % bis 42 % zeigte.<sup>84,89,93,98,99</sup>

### 5.2.2 Muster der Ko-Alterationen

Bei 87,1 % der *MET*-amplifizierten Patienten wurden Ko-Alterationen nachgewiesen. Da als Treiber fungierende Alterationen bekanntlich allein auftreten, spricht dies gegen eine Treiberfunktion. Zum Beispiel zeigte eine Studie des *Lung Cancer Mutation Consortium*, dass bei 10 untersuchten Genen (*EGFR*, *KRAS*, *ERBB2*, *AKT1*, *BRAF*, *MEK1*, *NRAS*, *PIK3CA*, *ALK* und *MET*) von mehr als 1000 Patienten nur ein Anteil von 3 % Treiberalterationen in mehr als einem Gen aufwies und neben den häufigeren *PIK3CA*-Alterationen vorwiegend *MET*-Amplifikationen mit einem Anteil von 17 % als zusätzliche Ko-Alterationen zu einem primären Treiber vorlagen. Die molekularpathologische Untersuchung wurde hier jedoch mit verschiedenen Methoden vorgenommen (SNaPShot, PCR, Sequenom MassARRAY, Sanger-Sequenzierung, Sanger-Sequenzierung mit PNA).<sup>50</sup>

Auffällig ist, dass die Häufigkeit sowie die Art der simultan auftretenden Alterationen nach Amplifikationslevel variiert. Da High-Level-Amplifikationen als potenzielle Treiber und prädiktive Biomarker beschrieben wurden<sup>52,71,89,93</sup>, ist ein besonderes Augenmerk auf diese Kohorte zu legen. Jedoch zeigte sich auch hier, dass eine nicht-homogene Gruppe mit genetischer Heterogenität vorliegt. So fanden sich vorwiegend koexistente *TP53*-Mutationen und *KEAP1*-Alterationen sowie in selteneren Fällen *KRAS*-Mutationen. Jedoch wies ein Anteil von 15 % gar keine simultan auftretenden genetischen Aberrationen auf, zumindest bezüglich der in den verwendeten NGS-Panel enthaltenen Gene.

Die Ergebnisse dieser Analyse widersprechen den bisherigen vorliegenden Daten und zeigen eine höhere Rate an Ko-Alterationen in den Kohorten aller Level. So zeigte in einer retrospektiven



Analyse von über 1000 Patienten, von denen 98 Patienten mit einer GCN  $\geq 5$  oder einer *MET/CEP7*-Ratio  $\geq 1.8$  als *MET*-positiv eingestuft wurden, nur ein Anteil von 56 % bzw. 47 % Ko-Alterationen. Zudem wurden dort *EGFR*-Mutationen inkludiert und beliefen sich auf einen Anteil von 22 % bzw. 8 %. Daneben traten mit jeweils ca. 20 % viele *KRAS*-Mutationen auf, was einem um etwa 50% höheren Vorkommen entspricht, als in unserer Analyse gezeigt.<sup>84</sup> Camidge et al. berichteten sogar nur eine Rate von 29,4 % an gleichzeitig auftretenden Treibern, welche zu 60 % aus *EGFR*-, zu 20 % aus *BRAF*- und zu 20 % aus *KRAS*-Mutationen bestanden. Erwähnenswert ist hier, dass lediglich eine kleine Kohorte von nur 38 Patienten untersucht wurde und die Aussagekraft dementsprechend limitiert ist.<sup>93</sup>

Zum Auftreten anderer Treiber als *MET* in der High-Level-Kohorte liegen bisher kontroverse Daten vor.<sup>68,71,85</sup> Sieht man von dem bekannten Resistenzmechanismus des gemeinsamen Auftretens mit *EGFR*-Mutationen ab, findet sich vorwiegend eine Ko-Existenz mit *MET*-Exon-14- und *KRAS*-Mutationen.<sup>52,71</sup> Dies wirft die Frage auf, welchen Mechanismus *MET*-Amplifikationen in diesen Kohorten spielen könnten. So beschrieben Schildhaus et al. eine *KRAS*-*MET*-Korrelation von 0,4 % in Therapie-naiven Patienten und eine steigende Prävalenz nach Applikation von zielgerichteten Therapien mit *KRAS*-Inhibitoren, was auf einen möglichen primären sowie sekundären Resistenzmechanismus hindeuten könnte. Unterstützend dazu dient weiterhin die Beobachtung, dass eine größere Überlappung erzielt werden konnte, indem niedrigere Level miteinbezogen wurden.<sup>68</sup> Somit würden *MET*-Amplifikationen in diesem Falle nicht als primäre Treiber fungieren. Da die dort aufgezeigte Korrelationsrate gering ist, könnte dies für ein seltenes Phänomen sprechen und eine Erklärung für einen eventuell fehlenden *Overlap* zwischen *MET* und *KRAS* in kleineren Kohorten sein. Im Rahmen des gemeinsamen Auftretens von *MET*-Exon-14-Skipping-Mutationen mit *MET*-Amplifikationen zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Gesamtüberlebens und des Therapieansprechens auf *MET*-TKI. In dieser Analyse wurden vorwiegend simultan auftretende *TP53*-Mutationen beobachtet, wozu bisher keine vergleichbaren Daten in der Literatur existieren. Von Interesse wäre hierbei, inwieweit diese die Prognose beeinflussen und ein schlechteres Ansprechen auf zielgerichtete Therapeutika prädikieren, da solche Effekte bereits in Bezug auf andere Treiber beobachtet wurden.<sup>53,101-105</sup>

### 5.2.3 *MET* als prädiktiver Biomarker

Unter der Annahme von *MET* als Treibermutation wurde eine Vielzahl von klinischen Studien durchgeführt, die nicht konklusive Ergebnisse zeigten und somit auf das Problem der Patientenselektion nach nicht standardisierten Biomarkern hinweisen. Es bestand weder ein

Konsens über die Art des Nachweises einer *MET*-Positivität noch über die Einteilung der verschiedenen Amplifikationsgrade. So hat sich die *MET*-Expression in der Immunhistochemie nicht als prädiktiver Biomarker für ein Therapieansprechen herausgestellt.<sup>106,107</sup> Zwar zeigt sich besonders in klar positiven und negativen Proben eine gute Korrelation zwischen dem IHC-Score und den FISH-Ergebnissen, jedoch wird ein IHC-Score 2+ sowohl häufig in Low- und Intermediate-Level-Amplifikationen sowie in FISH-negativen Tumorproben beobachtet.<sup>52,68,108</sup> Zudem zeigte eine Studie, in der ein H-Score  $\geq 300$  als *MET*-positiv galt, dass 96 % der *MET*-positiven Fälle keine zu detektierende Amplifikation oder Mutation aufwiesen.<sup>106</sup> Dieses Phänomen zeigte sich auch in der Onartuzumab-Studie, in der eine Inklusion nach IHC-positiver Diagnostik erfolgte und Erlotinib in Kombination mit Onartuzumab, einem monoklonalen *MET*-Antikörper, versus Erlotinib mit Placebo getestet wurde. Diese Studie verfehlte ihr primäres Ziel, indem sie keinen signifikanten Überlebensvorteil der Kombination gegenüber der Erlotinib-Monotherapie erreichte.<sup>107</sup>

Aufgrund dieser Erkenntnisse sahen wir davon ab, die *MET*-Expression in unsere Klassifikationskriterien aufzunehmen. Die Ermittlung weiterer Daten zur Korrelation von IHC- und FISH-Ergebnissen in einer großen Kohorte wie der in unserer Studie beschriebenen könnte aber von Interesse sein, da eine Mutation oder Amplifikation nicht zwangsläufig zu einer erhöhten Proteinexpression führen muss und dies der Grund für ein fehlendes Therapieansprechen trotz vorliegender High-Level-Amplifikation sein könnte.<sup>93,106,109</sup>

Das Ziel dieser Arbeit war unter anderem eine einheitliche Einteilung der Amplifikationslevel. Da der initial festgesetzte *Cut-Off*-Wert der *MET/CEN7*-Ratio von  $\geq 2$  und/oder  $GCN > 6$  für die High-Level-Kohorte mit weiteren Subgruppen keine signifikanten Unterschiede erbrachte, wurde dieser durch eine reine Differenzierung anhand der Genkopienzahl mit dem Schwellenwert  $GCN \geq 10$  ersetzt. Dies entspricht Resultaten der GEOMETRY-mono-1-Studie, in der die Arme der *MET*-amplifizierten Kohorten mit  $GCN < 10$  aufgrund von unzureichender Wirksamkeit geschlossen werden mussten.<sup>89</sup> Die hier gewählte Klassifizierung war an die Definition von Schildhaus et al. und der dort definierten Kriterien *MET/CEN7*-Ratio  $\geq 2$  und  $GCN \geq 6$  für High-Level-Amplifikationen angelehnt.<sup>68</sup> Aufgrund des im Verlauf geänderten Schwellenwertes ergibt diese Analyse keine weiteren Anhalte für die Bedeutung der *MET/CEN7*-Ratio. Jedoch ergab die Untersuchung einer großen Kohorte, in welcher die Genkopienzahl pro Zelle, das Maß der Prozentsätze der Tumorzellen mit  $\geq 4$ ,  $\geq 5$  und  $\geq 15$  Genkopien pro Zelle und die *MET/CEN7*-Ratio bestimmt wurden, dass die  $GCN$  die größte numerische Spannbreite aufweist. Nach Bestimmung der 90. Perzentile ergab sich dort – analog zu unseren Ergebnissen – ein Schwellenwert von  $GCN \geq 10$  für die Abgrenzung der Top-Level-Kohorte.<sup>71</sup> Eine zusätzliche

Untersuchung der *MET/CEN7*-Ratio könnte weitere Erkenntnisse über die Beschaffenheit der High-Level-amplifizierten Kohorte bringen. Dies wird durch die Klassifizierung von Camidge et al. deutlich, die eine Abgrenzung mittels einer *MET/CEN7*-Ratio  $\geq 5$  vornahm, die bereits in einigen Studien genutzt wurde.<sup>98,99</sup> Obwohl sich bei diesem Schwellenwert eine geringere Überlappung mit anderen Treibern findet, wurde bei besserem Vorhersagen des Therapieansprechens eine Modifikation zu Gunsten einer Ratio  $\geq 4$  vorgenommen.<sup>51,84,93,98,99,110,111</sup> Da eine hohe GCN-*MET/CEN7*-Ratio-Konkordanz von 88,2 % berechnet werden konnte, bleibt zu klären, welcher der beiden Faktoren aussagekräftiger und akkurater für die Etablierung eines einheitlichen Biomarkers ist.<sup>93</sup>

#### 5.2.4 Therapieansprechen

Die hier durchgeführte Analyse zeigt ein signifikant besseres Gesamtüberleben von *MET*-amplifizierten Patienten, die mit einer alleinigen Immuntherapie (vor oder nach Chemotherapie) oder einer kombinierten Immunchemotherapie behandelt wurden. So zeigte sich ein OS von 19 Monaten (95 % CI 15,8 – 22,2) vs. 8 Monaten (95 % CI 5,8 – 10,2) in der Kohorte mit GCN < 10 und ein noch deutlicherer Unterschied in der High-Level-Kohorte (36 Monate [95 % CI n/a] vs. 4 Monate [95 % CI 3,1 – 4,9]). Dies ist eine relevante Beobachtung, da bisher keine Daten hinsichtlich des Therapieansprechens von *MET*-amplifizierten Lungenkrebspatienten auf nicht zielgerichtete systemische Therapien differenziert nach Amplifikationsleveln und anderen molekularen Charakteristika existieren. Die Daten stellen somit einen Ausgangspunkt für die Beurteilung von Studienergebnissen mit Tyrosinkinase-Inhibitoren dar.

Da de-novo-*MET*-Amplifikationen seltener sind als Amplifikationen im Rahmen eines sekundären Resistenzmechanismus und sich die Patientenselektion nach einem adäquaten Biomarker als nicht eindeutig gestaltete, existieren bisher nur wenige Daten zum Einsatz von zielgerichteten Therapeutika.<sup>71,111</sup> Es hat sich jedoch herauskristallisiert, dass TKI-Aktivitäten vom Amplifikationslevel und vom Therapiestatus (Therapie-naive vs. vorthera-pierte Patienten) abhängig zu sein scheinen.<sup>89,93,108,112</sup> So zeigen sich signifikant bessere Ansprechraten auf Crizotinib in den High-Level-Kohorten – besonders in Therapie-naiven Patienten. Dennoch wurde keine durchschnittliche ORR größer als 40 % beobachtet.<sup>98,111,113,114</sup> Ähnliche Ergebnisse konnten in der GEOMETRY-mono-1-Studie beobachtet werden, die das Ansprechen *MET*-amplifizierter Patienten auf Capmatinib untersuchte: Dort zeigte sich eine ORR von 7 bis 12 % in der Kohorte mit GCN < 10 und eine ORR von 29 % in vorthera-pierten *MET*-Patienten mit GCN  $\geq 10$  sowie von 40 % in Therapie-naiven *MET*-Patienten mit GCN  $\geq 10$ . Trotz eines signifikanten Unterschiedes zwischen den verschiedenen Amplifikationsleveln wurde die vorab

festgelegte Schwelle der klinischen Relevanz nicht erreicht.<sup>51,89</sup> Es bleibt abzuwarten, ob andere Therapeutika, wie Tepotinib in der aktuell laufenden VISION-Studie, divergierende Ergebnisse bringen werden.

### 5.2.5 Überlebensanalyse

Da sich ein signifikant schlechteres Überleben der High-Level-Kohorte mit einer Genkopienzahl  $\geq 10$  im Vergleich zu niederen Leveln mit 4 Monaten (95 % CI 1,9 – 6,0) vs. 12 Monaten (95 % CI 9,4 – 14,6) zeigte, bekräftigt diese Untersuchung bereits bestehende Daten und hebt die Sonderstellung dieser Patientengruppe hervor, indem sie einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor aufzeigt.<sup>52,71</sup> Vergleichbare Werte wurden durch Overbeck et al. beobachtet, wo sich ein signifikant kürzeres Gesamtüberleben der Top-Level-Gruppe mit dem gleichen Schwellenwert von GCN  $\geq 10$  gegenüber niederen Leveln zeigte (8,2 Monate vs. 23,6 Monate;  $P=0,002$ ). Weiterhin wurde dort beobachtet, dass die schlechtere Prognose unabhängig vom initialen Tumorstadium sowie dem Therapiestatus war.<sup>71</sup>

Da die meisten Studien eine Überlebensanalyse an vortherafierten Patienten präsentieren, blieb offen, inwieweit High-Level-Amplifikationen tatsächlich einen unabhängigen negativen prognostischen Faktor darstellen oder ob sie vorwiegend zu einem schlechteren Therapieansprechen im Rahmen von Resistenzmechanismen prädestinieren. Demgegenüber zeigen unsere Überlebensdaten jedoch nun, dass ein längeres Überleben durch die Gabe von Immuntherapien – unabhängig vom PD-L1-Status – erreicht werden kann. Es gibt somit einen starken Hinweis darauf, dass das schlechtere Gesamtüberleben tatsächlich durch eine primäre Treiberfunktion begründet sein könnte.

### 5.3 Ausblick

Diese Arbeit liefert neue Erkenntnisse zu den molekularpathologischen Charakteristika von *MET*-Amplifikationen bei Patienten mit NSCLC. Da sich hierbei eine höhere Frequenz von simultan auftretenden Mutationen als in bisherigen Studien zeigt und dies vorwiegend durch *TP53*-, *KRAS*- und *KEAP1*-Mutationen dominiert wird, sollten weitere Forschungsansätze verfolgt werden:

- Durchführung weiterer retrospektiver, deskriptiver Studien der *MET*-High-Level-Kohorte mit Fokus auf vorliegende, möglicherweise zielgerichtet therapierbarer Ko-Alterationen (z.B. *KRAS*-G12C-Mutationen)
- Evaluierung von simultan auftretenden *TP53*-Mutationen hinsichtlich eines schlechteren Therapieansprechens auf MET-TKI sowie nicht zielgerichteter systemischer Therapien
- Charakterisierung der simultan auftretenden *TP53*-Mutationen hinsichtlich ihrer Genese (*Single Nucleotide Variant* vs. *Truncating Mutations*)

Weiterhin kann diese Arbeit die Rolle von High-Level-Amplifikationen als negativen prognostischen Faktor bekräftigen und auf eine primäre Treiberfunktion hindeuten. Demnach sollten die bereits verfügbaren MET-TKI weiter in klinischen Studien evaluiert werden. Im Hinblick darauf verbleiben folgende Forschungsansätze:

- Weitere Evaluierung der Selektion nach einem adäquaten Biomarker
  - a) Stellt die GCN  $\geq 10$  einen hinreichenden *Cut-Off*-Wert dar?
  - b) Erbringt die Selektion nach einem Biomarker kombiniert aus der *MET*/CEN7-Ratio, der GCN und des IHC-Scores höhere Ansprechraten in TKI-Studien?

Zudem kann hier ein signifikant besseres Therapieansprechen gezeigt werden ebenso wie ein längeres Überleben nach Applikation von Immuntherapien, weshalb Folgendes von Interesse sein könnte:

- Durchführung klinischer Studien zur Erstlinientherapie bei alleiniger Gabe von Immuntherapie oder Immunchemotherapie – unabhängig vom PD-L1-Status – bei High-Level-amplifizierten Patienten
- Systematische Analyse des Therapieansprechens auf ICB in Abhängigkeit vom PD-L1-Status bei Patienten mit *MET*-Amplifikationen, besonders mit High-Level-Amplifikationen

## 6 Zusammenfassung

**Einleitung:** Lungenkrebs stellt weltweit die führende Todesursache bei malignen Tumorerkrankungen dar. Mit Entdeckung neuer Therapiemodalitäten hat sich besonders das NSCLC als potenzielles Ziel personalisierter Medizin herausgestellt, da Adenokarzinome der Lunge zu einem erheblichen Anteil durch Treibermutationen definiert sind. *MET*-Amplifikationen treten in bis zu 5 % aller NSCLC auf und konnten als negativer unabhängiger prognostischer Faktor identifiziert werden. Da bisher kein einheitlicher Konsens hinsichtlich diagnostischer Kriterien für *MET*-Positivität vorliegt, erfolgte die Patientenselektion in klinischen Studien nach verschiedenen Biomarker-Definitionen. Es konnte hierbei beobachtet werden, dass insbesondere High-Level-Amplifikationen eine Sonderstellung einnehmen und als potenzieller Treiber fungieren und somit die besten Ansprechraten auf *MET*-TKI aufweisen. Da bisher keine Daten zu dem Ansprechen auf nicht zielgerichtete systemische Therapeutika existierten, führten wir eine retrospektive Studie zu dem Therapieansprechen auf Chemo- und Immuntherapien nach molekularpathologischen Charakteristika durch.

**Methoden:** Wir identifizierten 278 Patienten mit *MET*-Amplifikationen mittels NGS (LUN3- und LUN4-Panel), die in den Jahren 2015 bis 2018 diagnostiziert wurden und ein fortgeschrittenes Stadium aufwiesen. Anschließend wurde eine FISH-Untersuchung angeschlossen. Der PD-L1-Status wurde mittels Immunhistochemie bestimmt. Bis auf die Exklusion von Patienten mit simultan vorliegenden *EGFR*-Mutationen, wurden keine weiteren Ausschlusskriterien angewandt. Zur Einteilung in verschiedene Amplifikationsgrade wurde die mittlere Genkopienzahl des *MET*-Gens pro Zelle und die *MET*/CEN7-Ratio herangezogen.

**Ergebnisse:** Die Patienten wiesen ein durchschnittliches Erkrankungsalter von 65 Jahren auf, waren mit einem Anteil von 63,3 % männlich und wiesen zu 92,5 % eine positive Raucheranamnese auf. In 93 % der Fälle konnte ein Adenokarzinom in der Histologie nachgewiesen werden. Wir nahmen eine Einteilung in drei Amplifikationsgrade vor, die sich aus Low-Level- (GCN < 4; 43,9 %), Intermediate-Level- (GCN 4-5; 7,1 %) und High-Level-Amplifikationen (GCN > 6 oder *MET*/CEN7-Ratio  $\geq$  2; 31,5 %) zusammensetzte. Die Gruppe der High-Level-Amplifikationen wurde weiter unterteilt in HL I (*MET*/CEN7-Ratio  $\geq$  2 und GCN < 6; 9,2 %), HL II (GCN 6-9; 12,2 %) und HL III (GCN  $\geq$  10; 10,1 %). Aufgrund von statistischer Signifikanz erfolgte im Verlauf eine Korrektur auf zwei Vergleichsgruppen, deren Abgrenzung die HL III-Gruppe mit einem Schwellenwert von GCN  $\geq$  10 darstellte. Bei 87 % der Patienten konnten Ko-Alterationen nachgewiesen werden, die vorwiegend durch *TP53*, *KRAS* und *KEAP1* dominiert wurden. Diese zeigten ein vom Amplifikationslevel abhängiges Verteilungsmuster mit einer Zunahme der *TP53*- und *KEAP1*-Mutationen von Low- zu High-Level und einer Abnahme

der *KRAS*-Mutationen von High- zu Low-Level. Die PD-L1-Expression zeigte sich demgegenüber unabhängig vom Amplifikationsmuster. 47 % der Patienten erhielten eine Monotherapie mit einem Zytostatikum, 63 % wurden entweder mit einer kombinierten Immunchemotherapie oder mit einer Monotherapie mit einem ICB behandelt. Insgesamt konnte ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben der High-Level-Kohorte beobachtet werden mit 4,0 Monaten (95% CI 1,9 – 6,0) vs. 12,0 Monaten (95 % CI 9,4 – 14,6) in niedrigeren Leveln. Weiterhin zeigte sich ein deutlich besseres Ansprechen auf Immuntherapien, die vorwiegend als Monotherapie in Erstlinie nach Progress unter Chemotherapie verabreicht wurden. Dies spiegelte sich in einem OS von 19,0 Monaten (95 % CI 15,8 – 22,2) vs. 8,0 (95 % CI 5,8 – 10,2) Monaten bei Patienten mit GCN < 10 und einem OS von 36,0 Monaten (95% CI n/a) vs. 4,0 Monaten (95 % CI 3,1 – 4,9) in Patienten mit GCN  $\geq$  10 wider.

**Diskussion:** Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen in einer der weltweit größten Kohorten die bisherigen Erkenntnisse über die klinisch-demographischen Merkmale von Patienten mit *MET*-amplifiziertem NSCLC. Die Ergebnisse der analysierten molekularen Charakteristika führen bisherige Beobachtungen weiter und zeigen insbesondere eine höhere Frequenz an Ko-Alterationen sowie ein vom Amplifikationslevel abhängiges Verteilungsmuster der dominierend simultan vorkommenden *KRAS*-, *TP53*- und *KEAPI*-Mutationen. Aufgrund statistischer Überlegungen erfolgte final eine Unterteilung in zwei Subgruppen mit einem Schwellenwert von GCN  $\geq$  10, der sich bereits in vorherigen Studien als adäquater Biomarker für die Klassifizierung der High-Level-Kohorte herausstellte. Nach dieser Unterteilung konnte die Rolle von High-Level-Amplifikationen als unabhängiger negativer prognostischer Faktor bekräftigt werden, da sich in der Überlebensanalyse ein signifikant schlechteres Gesamtüberleben zeigte. Weiterhin liefert diese Untersuchung erstmalig Daten zu dem Ansprechen auf nicht zielgerichtete systemische Therapien und zeigt einen eindeutigen Benefit der Immuncheckpoint-Blockade bei *MET*-amplifizierten NSCLC. Demnach liefert sie grundlegende Erkenntnisse für die weitere Evaluierung von Immuntherapien in dieser Patientengruppe und gibt Hinweise für die Definition eines einheitlichen Biomarkers zur Patientenselektion zukünftiger klinischer Studien mit MET-TKI.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Kron A, Scheffler M, Heydt C, et al. Genetic Heterogeneity of MET-Aberrant NSCLC and Its Impact on the Outcome of Immunotherapy. *J Thorac Oncol* 2021; **16**(4): 572-82.
2. Birchmeier CB, W. Gherardi, E., Vande Woude GF. Met, metastasis, motility and more. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003; **4**(12): 915-25.
3. Goldstraw P, Chansky K, Crowley J, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Revision of the TNM Stage Groupings in the Forthcoming (Eighth) Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* 2016; **11**(1): 39-51.
4. Gentile A, Trusolino L, Comoglio PM. The Met tyrosine kinase receptor in development and cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2008; **27**(1): 85-94.
5. World Health Organization. World Cancer Report 2014. 2014.
6. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J Clin* 2021; **71**(1): 7-33.
7. Pikor LA, Ramnarine VR, Lam S, Lam WL. Genetic alterations defining NSCLC subtypes and their therapeutic implications. *Lung Cancer* 2013; **82**(2): 179-89.
8. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Krebs in Deutschland für 2015/2016. 2019.
9. Robert-Koch-Institut. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland. 2016. p. 1-274.
10. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* 2022; **72**(1): 7-33.
11. Samet JM. Environmental causes of lung cancer: what do we know in 2003? *Chest* 2004; **125**(5 Suppl): 80S-3S.
12. Brennan P, Hainaut P, Boffetta P. Genetics of lung-cancer susceptibility. *Lancet Oncol* 2011; **12**(4): 399-408.
13. Pesch B, Kendzia B, Gustavsson P, et al. Cigarette smoking and lung cancer: relative risk estimates for the major histological types from a pooled analysis of case-control studies. *Int J Cancer* 2012; **131**(5): 1210-9.
14. Witschi H. A short history of lung cancer. *Toxicol Sci* 2001; **64**(1): 4-6.
15. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *J Thorac Oncol* 2015; **10**(9): 1243-60.
16. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med* 2008; **359**(13): 1367-80.
17. Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of advances since 2015. *J Thorac Oncol* 2021.
18. International Association for the Study of Lung Cancer. International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC). *J Thorac Oncol* 2018; **13**(4).
19. Peifer M, Fernandez-Cuesta L, Sos ML, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small-cell lung cancer. *Nat Genet* 2012; **44**(10): 1104-10.
20. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med* 2013; **137**(5): 668-84.



21. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society: international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma: executive summary. *Proc Am Thorac Soc* 2011; **8**(5): 381-5.
22. Russell PA, Rogers TM, Solomon B, et al. Correlation between molecular analysis, diagnosis according to the 2015 WHO classification of unresected lung tumours and TTF1 expression in small biopsies and cytology specimens from 344 non-small cell lung carcinoma patients. *Pathology* 2017; **49**(6): 604-10.
23. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft DK, AWMF). Prävention, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Lungenkarzinoms, Langversion 1.0, AWMF-Registernummer: 020/007OL (Zugriff am 15.02.2022). 2018.
24. Ganz PA, Figlin RA, Haskell CM, La Soto N, Siau J. Supportive care versus supportive care and combination chemotherapy in metastatic non-small cell lung cancer. Does chemotherapy make a difference? *Cancer* 1989; **63**(7): 1271-8.
25. Rapp E, Pater JL, Willan A, et al. Chemotherapy can prolong survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer--report of a Canadian multicenter randomized trial. *J Clin Oncol* 1988; **6**(4): 633-41.
26. Cormier Y, Bergeron D, La Forge J, et al. Benefits of polychemotherapy in advanced non-small-cell bronchogenic carcinoma. *Cancer* 1982; **50**(5): 845-9.
27. Non-Small Cell Lung Cancer Collaborative Group. Chemotherapy in non-small cell lung cancer: a meta-analysis using updated data on individual patients from 52 randomised clinical trials. *BMJ* 1995; **311**(7010): 899-909.
28. Rossi A, Di Maio M. Platinum-based chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: optimal number of treatment cycles. *Expert Rev Anticancer Ther* 2016; **16**(6): 653-60.
29. NSCLC Meta-Analyses Collaborative Group. Chemotherapy in addition to supportive care improves survival in advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 16 randomized controlled trials. *J Clin Oncol* 2008; **26**(28): 4617-25.
30. ESMO. Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up, Ann Oncol (2018) 29 (suppl 4): iv192–iv237. <https://www.esmo.org/guidelines/lung-and-chest-tumours/clinical-practice-living-guidelines-metastatic-non-small-cell-lung-cancer> (Zugriff am 14.03.2022).
31. Finn OJ. Cancer immunology. *N Engl J Med* 2008; **358**(25): 2704-15.
32. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 2011; **480**(7378): 480-9.
33. Khanna P, Blais N, Gaudreau PO, Corrales-Rodriguez L. Immunotherapy Comes of Age in Lung Cancer. *Clin Lung Cancer* 2017; **18**(1): 13-22.
34. Karachaliou N, Cao MG, Teixeira C, et al. Understanding the function and dysfunction of the immune system in lung cancer: the role of immune checkpoints. *Cancer Biol Med* 2015; **12**(2): 79-86.
35. Forde PM, Reiss KA, Zeidan AM, Brahmer JR. What lies within: novel strategies in immunotherapy for non-small cell lung cancer. *Oncologist* 2013; **18**(11): 1203-13.
36. Vasekar M, Liu X, Zheng H, Belani CP. Targeted immunotherapy for non-small cell lung cancer. *World J Clin Oncol* 2014; **5**(2): 39-47.
37. Osmani L, Askin F, Gabrielson E, Li QK. Current WHO guidelines and the critical role of immunohistochemical markers in the subclassification of non-small cell lung

carcinoma (NSCLC): Moving from targeted therapy to immunotherapy. *Semin Cancer Biol* 2018; **52**(Pt 1): 103-9.

38. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, et al. [Predictive PD-L1 immunohistochemistry for non-small cell lung cancer : Current state of the art and experiences of the first German harmonization study]. *Pathologe* 2016; **37**(6): 557-67.

39. Kazandjian D, Suzman DL, Blumenthal G, et al. FDA Approval Summary: Nivolumab for the Treatment of Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer With Progression On or After Platinum-Based Chemotherapy. *Oncologist* 2016; **21**(5): 634-42.

40. Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, He K, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Whose Tumors Express Programmed Death-Ligand 1. *Oncologist* 2016; **21**(5): 643-50.

41. Dafni U, Tsourti Z, Vervita K, Peters S. Immune checkpoint inhibitors, alone or in combination with chemotherapy, as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer. A systematic review and network meta-analysis. *Lung Cancer* 2019; **134**: 127-40.

42. Arbour KC, Riely GJ. Systemic Therapy for Locally Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer: A Review. *JAMA* 2019; **322**(8): 764-74.

43. Hanna NH, Schneider BJ, Temin S, et al. Therapy for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer Without Driver Alterations: ASCO and OH (CCO) Joint Guideline Update. *J Clin Oncol* 2020; **38**(14): 1608-32.

44. Gandhi L, Garassino MC. Pembrolizumab plus Chemotherapy in Lung Cancer. *N Engl J Med* 2018; **379**(11): e18.

45. Hanna NH, Robinson AG, Temin S, et al. Therapy for Stage IV Non-Small-Cell Lung Cancer With Driver Alterations: ASCO and OH (CCO) Joint Guideline Update. *J Clin Oncol* 2021; **39**(9): 1040-91.

46. Weinstein IB. Cancer. Addiction to oncogenes--the Achilles heel of cancer. *Science* 2002; **297**(5578): 63-4.

47. Weinstein IB, Joe A. Oncogene addiction. *Cancer Res* 2008; **68**(9): 3077-80; discussion 80.

48. Herbst RS, Morgensztern D, Boshoff C. The biology and management of non-small cell lung cancer. *Nature* 2018; **553**(7689): 446-54.

49. Gerber DE, Gandhi L, Costa DB. Management and future directions in non-small cell lung cancer with known activating mutations. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014: e353-65.

50. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* 2014; **311**(19): 1998-2006.

51. Konig D, Savic Prince S, Rothschild SI. Targeted Therapy in Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. An Update on Treatment of the Most Important Actionable Oncogenic Driver Alterations. *Cancers (Basel)* 2021; **13**(4).

52. Tong JH, Yeung SF, Chan AW, et al. MET Amplification and Exon 14 Splice Site Mutation Define Unique Molecular Subgroups of Non-Small Cell Lung Carcinoma with Poor Prognosis. *Clin Cancer Res* 2016; **22**(12): 3048-56.

53. Aisner DL, Sholl LM, Berry LD, et al. The Impact of Smoking and TP53 Mutations in Lung Adenocarcinoma Patients with Targetable Mutations-The Lung Cancer Mutation Consortium (LCMC2). *Clin Cancer Res* 2018; **24**(5): 1038-47.

54. European Medicines Agency. Summary of Positive Opinion for Iressa. 2009. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/committee-medicinal-products-human-use-summary-positive-opinion-iressa\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop-initial/committee-medicinal-products-human-use-summary-positive-opinion-iressa_en.pdf) (Zugriff am 15.01.2022).
55. European Medicines Agency. Summary of opinion (post authorisation), Tarceva, Erlotinib. 2011. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop/chmp-post-authorisation-summary-positive-opinion-tarceva\\_en-0.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/smop/chmp-post-authorisation-summary-positive-opinion-tarceva_en-0.pdf) (Zugriff am 15.01.2022).
56. European Medicines Agency. Tagrisso. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/tagrisso> (Zugriff am 15.01.2022).
57. European Medicines Agency. Xalkori. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/xalkori> (Zugriff am 15.01.2022).
58. Kazandjian D, Blumenthal GM, Chen HY, et al. FDA approval summary: crizotinib for the treatment of metastatic non-small cell lung cancer with anaplastic lymphoma kinase rearrangements. *Oncologist* 2014; **19**(10): e5-11.
59. Kong-Beltran M, Seshagiri S, Zha J, et al. Somatic mutations lead to an oncogenic deletion of met in lung cancer. *Cancer Res* 2006; **66**(1): 283-9.
60. Frampton GM, Ali SM, Rosenzweig M, et al. Activation of MET via diverse exon 14 splicing alterations occurs in multiple tumor types and confers clinical sensitivity to MET inhibitors. *Cancer Discov* 2015; **5**(8): 850-9.
61. Mo HN, Liu P. Targeting MET in cancer therapy. *Chronic Dis Transl Med* 2017; **3**(3): 148-53.
62. Peruzzi B, Bottaro DP. Targeting the c-Met signaling pathway in cancer. *Clin Cancer Res* 2006; **12**(12): 3657-60.
63. Zorzetto M, Ferrari S, Saracino L, Inghilleri S, Stella GM. MET genetic lesions in non-small-cell lung cancer: pharmacological and clinical implications. *Transl Lung Cancer Res* 2012; **1**(3): 194-207.
64. Comoglio PM, Trusolino L, Boccaccio C. Known and novel roles of the MET oncogene in cancer: a coherent approach to targeted therapy. *Nat Rev Cancer* 2018; **18**(6): 341-58.
65. Ichimura E, Maeshima A, Nakajima T, Nakamura T. Expression of c-met/HGF receptor in human non-small cell lung carcinomas in vitro and in vivo and its prognostic significance. *Jpn J Cancer Res* 1996; **87**(10): 1063-9.
66. Tsuta K, Kozu Y, Mimae T, et al. c-MET/phospho-MET protein expression and MET gene copy number in non-small cell lung carcinomas. *J Thorac Oncol* 2012; **7**(2): 331-9.
67. Nakamura Y, Niki T, Goto A, et al. c-Met activation in lung adenocarcinoma tissues: an immunohistochemical analysis. *Cancer Sci* 2007; **98**(7): 1006-13.
68. Schildhaus HU, Schultheis AM, Ruschoff J, et al. MET amplification status in therapy-naive adeno- and squamous cell carcinomas of the lung. *Clin Cancer Res* 2015; **21**(4): 907-15.
69. Salgia R. MET in Lung Cancer: Biomarker Selection Based on Scientific Rationale. *Mol Cancer Ther* 2017; **16**(4): 555-65.
70. Reis H, Metzenmacher M, Goetz M, et al. MET Expression in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: Effect on Clinical Outcomes of Chemotherapy, Targeted Therapy, and Immunotherapy. *Clin Lung Cancer* 2018; **19**(4): e441-e63.

71. Overbeck TR, Cron DA, Schmitz K, et al. Top-level MET gene copy number gain defines a subtype of poorly differentiated pulmonary adenocarcinomas with poor prognosis. *Transl Lung Cancer Res* 2020; **9**(3): 603-16.
72. Awad MM, Oxnard GR, Jackman DM, et al. MET Exon 14 Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer Are Associated With Advanced Age and Stage-Dependent MET Genomic Amplification and c-Met Overexpression. *J Clin Oncol* 2016; **34**(7): 721-30.
73. Schrock AB, Frampton GM, Suh J, et al. Characterization of 298 Patients with Lung Cancer Harboring MET Exon 14 Skipping Alterations. *J Thorac Oncol* 2016; **11**(9): 1493-502.
74. Lee GD, Lee SE, Oh DY, et al. MET Exon 14 Skipping Mutations in Lung Adenocarcinoma: Clinicopathologic Implications and Prognostic Values. *J Thorac Oncol* 2017; **12**(8): 1233-46.
75. Heist RS, Shim HS, Gingipally S, et al. MET Exon 14 Skipping in Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist* 2016; **21**(4): 481-6.
76. Liang H, Wang M. MET Oncogene in Non-Small Cell Lung Cancer: Mechanism of MET Dysregulation and Agents Targeting the HGF/c-Met Axis. *Onco Targets Ther* 2020; **13**: 2491-510.
77. Subramanian J, Tawfik O. Detection of MET exon 14 skipping mutations in non-small cell lung cancer: overview and community perspective. *Expert Rev Anticancer Ther* 2021; **21**(8): 877-86.
78. Shi P, Oh YT, Zhang G, et al. Met gene amplification and protein hyperactivation is a mechanism of resistance to both first and third generation EGFR inhibitors in lung cancer treatment. *Cancer Lett* 2016; **380**(2): 494-504.
79. Remon J, Moran T, Majem M, et al. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in EGFR-mutant non-small cell lung cancer: a new era begins. *Cancer Treat Rev* 2014; **40**(1): 93-101.
80. Scheffler M, Merkelbach-Bruse S, Bos M, et al. Spatial Tumor Heterogeneity in Lung Cancer with Acquired Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase Inhibitor Resistance: Targeting High-Level MET-Amplification and EGFR T790M Mutation Occurring at Different Sites in the Same Patient. *J Thorac Oncol* 2015; **10**(6): e40-3.
81. Ortiz-Cuaran S, Scheffler M, Plenker D, et al. Heterogeneous Mechanisms of Primary and Acquired Resistance to Third-Generation EGFR Inhibitors. *Clin Cancer Res* 2016; **22**(19): 4837-47.
82. Wood GE, Hockings H, Hilton DM, Kermorgant S. The role of MET in chemotherapy resistance. *Oncogene* 2021; **40**(11): 1927-41.
83. Hieggelke L, Schultheis AM. Anwendungen der FISH in der Diagnostik von Lungenkarzinomen. *Wien klin Mag* 2021; **24**: 34-42.
84. Noonan SA, Berry L, Lu X, et al. Identifying the Appropriate FISH Criteria for Defining MET Copy Number-Driven Lung Adenocarcinoma through Oncogene Overlap Analysis. *J Thorac Oncol* 2016; **11**(8): 1293-304.
85. Drilon A, Cappuzzo F, Ou SI, Camidge DR. Targeting MET in Lung Cancer: Will Expectations Finally Be MET? *J Thorac Oncol* 2017; **12**(1): 15-26.
86. Garon EB, Brodrick P. Targeted Therapy Approaches for MET Abnormalities in Non-Small Cell Lung Cancer. *Drugs* 2021; **81**(5): 547-54.
87. Paik PK, Drilon A, Fan PD, et al. Response to MET inhibitors in patients with stage IV lung adenocarcinomas harboring MET mutations causing exon 14 skipping. *Cancer Discov* 2015; **5**(8): 842-9.

88. Drilon A, Clark JW, Weiss J, et al. Antitumor activity of crizotinib in lung cancers harboring a MET exon 14 alteration. *Nat Med* 2020; **26**(1): 47-51.
89. Wolf J, Seto T, Han JY, et al. Capmatinib in MET Exon 14-Mutated or MET-Amplified Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2020; **383**(10): 944-57.
90. Paik PK, Felip E, Veillon R, et al. Tepotinib in Non-Small-Cell Lung Cancer with MET Exon 14 Skipping Mutations. *N Engl J Med* 2020; **383**(10): 931-43.
91. Markham A. Tepotinib: First Approval. *Drugs* 2020; **80**(8): 829-33.
92. European Medicines Agency. Tepmetko. <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/summaries-opinion/tepmetko> (Zugriff am 27.02.2022).
93. Camidge DR, Otterson GA, Clark JW, et al. Crizotinib in Patients With MET-Amplified NSCLC. *J Thorac Oncol* 2021; **16**(6): 1017-29.
94. Netzwerk Genomische Medizin Lungenkrebs. Das Netzwerk. <https://ngm-cancer.com/das-netzwerk/> (Zugriff am 20.05.2021).
95. Nationales Netzwerk Genomische Medizin Lungenkrebs. Molekulare Diagnostik an spezialisierten Netzwerkzentren. <https://www.nngm.de/netzwerkzentren/zentrum-koeln-bonn/koeln/> (Zugriff am 20.05.2021).
96. European Medicines Agency. Guidelines for good clinical practice E6(R2). 2016. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-6-r2-guideline-good-clinical-practice-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-e-6-r2-guideline-good-clinical-practice-step-5_en.pdf) (Zugriff am 01.02.2022).
97. Agilent Technologies. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Interpretation Manual - Non-small Cell Lung Cancer (NSCLC). 2021. <https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/29435-d66799-pd-l1-ihc22c3-nsclc-int-man-en.pdf> (Zugriff am 10.02.2022).
98. Landi L, Chiari R, Tiseo M, et al. Crizotinib in MET-Deregulated or ROS1-Rearranged Pretreated Non-Small Cell Lung Cancer (METROS): A Phase II, Prospective, Multicenter, Two-Arms Trial. *Clin Cancer Res* 2019; **25**(24): 7312-9.
99. Moro-Sibilot D, Cozic N, Perol M, et al. Crizotinib in c-MET- or ROS1-positive NSCLC: results of the AcSe phase II trial. *Ann Oncol* 2019; **30**(12): 1985-91.
100. Cancer Genome Atlas Research N. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 2014; **511**(7511): 543-50.
101. Canale M, Petracci E, Delmonte A, et al. Impact of TP53 Mutations on Outcome in EGFR-Mutated Patients Treated with First-Line Tyrosine Kinase Inhibitors. *Clin Cancer Res* 2017; **23**(9): 2195-202.
102. Kron A, Alidousty C, Scheffler M, et al. Impact of TP53 mutation status on systemic treatment outcome in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2018; **29**(10): 2068-75.
103. Labbe C, Cabanero M, Korpanty GJ, et al. Prognostic and predictive effects of TP53 co-mutation in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer* 2017; **111**: 23-9.
104. Michels S, Massuti B, Schildhaus HU, et al. Safety and Efficacy of Crizotinib in Patients With Advanced or Metastatic ROS1-Rearranged Lung Cancer (EUCROSS): A European Phase II Clinical Trial. *J Thorac Oncol* 2019; **14**(7): 1266-76.
105. VanderLaan PA, Rangachari D, Mockus SM, et al. Mutations in TP53, PIK3CA, PTEN and other genes in EGFR mutated lung cancers: Correlation with clinical outcomes. *Lung Cancer* 2017; **106**: 17-21.
106. Guo R, Berry LD, Aisner DL, et al. MET IHC Is a Poor Screen for MET Amplification or MET Exon 14 Mutations in Lung Adenocarcinomas: Data from a Tri-

- Institutional Cohort of the Lung Cancer Mutation Consortium. *J Thorac Oncol* 2019; **14**(9): 1666-71.
107. Spigel DR, Edelman MJ, O'Byrne K, et al. Results From the Phase III Randomized Trial of Onartuzumab Plus Erlotinib Versus Erlotinib in Previously Treated Stage IIIB or IV Non-Small-Cell Lung Cancer: METLung. *J Clin Oncol* 2017; **35**(4): 412-20.
108. Schuler M, Berardi R, Lim WT, et al. Molecular correlates of response to capmatinib in advanced non-small-cell lung cancer: clinical and biomarker results from a phase I trial. *Ann Oncol* 2020; **31**(6): 789-97.
109. Reungwetwattana T, Liang Y, Zhu V, Ou SI. The race to target MET exon 14 skipping alterations in non-small cell lung cancer: The Why, the How, the Who, the Unknown, and the Inevitable. *Lung Cancer* 2017; **103**: 27-37.
110. Camidge DR, Otterson GA, Clark JW, et al. Crizotinib in patients (pts) with MET-amplified non-small cell lung cancer (NSCLC): Updated safety and efficacy findings from a phase 1 trial. *J Clin Oncol* 2018; **36**(15).
111. Recondo G, Che J, Janne PA, Awad MM. Targeting MET Dysregulation in Cancer. *Cancer Discov* 2020; **10**(7): 922-34.
112. Le X, Paz-Ares LG, Meerbeeck JV, et al. Tepotinib in patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) with MET amplification (METamp). *J Clin Oncol* 2021; **39**(15\_suppl): 9021-.
113. Camidge DR, Ou S-HI, Shapiro G, et al. Efficacy and safety of crizotinib in patients with advanced c-MET-amplified non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2014; **32**(15\_suppl): 8001-.
114. Vassal G, Ledele M-c, Tournigand C, et al. Activity of crizotinib in relapsed MET amplified malignancies: Results of the French AcSé Program. *J Clin Oncol* 2015; **33**(15\_suppl): 2595-.

## 8 Anhang

### 8.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Beschreibung der TNM-Stadien nach IASLC Lung Cancer Staging Project <sup>3</sup> .....	11
Abbildung 2: Klassifikation der Tumorstadien nach UICC8 <sup>3</sup> .....	12
Abbildung 3: Aufbau des MET-Proteins nach Gentile <sup>4</sup> .....	15
Abbildung 4: MET-Signalweg nach Birchmeier <sup>2</sup> .....	16
Abbildung 5: Flussdiagramm der molekularpathologischen Diagnostik <sup>1</sup> .....	28
Abbildung 6: Die Verteilung der Amplifikationslevel und Definition der verschiedenen Patientenkohorten <sup>1</sup> .....	33
Abbildung 7: Muster der Ko-Alterationen <sup>1</sup> .....	34
Abbildung 8: PD-L1-Expressionsmuster nach Amplifikationslevel <sup>1</sup> .....	35
Abbildung 9: Überlebensanalyse der verschiedenen Kohorten <sup>1</sup> .....	36

### 8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TKI-Studien zu MET-Amplifikationen .....	23
Tabelle 2: Verwendete Gen-Panel in der NGS-Diagnostik .....	26
Tabelle 3: Klinische Charakteristika <sup>1</sup> .....	31

## 9 Vorabveröffentlichung von Ergebnissen

Hiermit erkläre ich, dass ich mit der folgenden Veröffentlichung von Teilergebnissen der vorliegenden Doktorarbeit einverstanden war.

Kron A, Scheffler M, Heydt C, **Ruge L**, Schaepers C, Eisert AK, Merkelbach-Bruse S, Riedel R, Nogova L, Fischer RN, Michels S, Abdulla DSY, Koleczko S, Fassunke J, Schultheis AM, Kron F, Ueckerth F, Wessling G, Sueptitz J, Beckers F, Braess J, Panse J, Grohé C, Hamm M, Kabitz HJ, Kambartel K, Kaminsky B, Krueger S, Schulte C, Lorenz J, Lorenzen J, Meister W, Meyer A, Kappes J, Reinmuth N, Schaaf B, Schulte W, Serke M, Buettner R, Wolf J.  
**Genetic Heterogeneity of MET-Aberrant NSCLC and Its Impact on the Outcome of Immunotherapy.** *J Thorac Oncol.* 2021 Apr; 16(4):572-582.

Köln, den 15.03.2022



Prof. Dr. Jürgen Wolf  
(Doktorvater)



## **10 Lebenslauf**

### **Persönliche Daten**

Name: Lea Victoria Ruge  
Geburtsdatum: 10.06.1995  
Geburtsort: Würzburg  
Nationalität: Deutsch

### **Bildungsweg**

2001 – 2005 Katholische Grundschule Blücherstraße, Troisdorf  
2005 – 2013 Gymnasium zum Altenforst Troisdorf,  
Abschlussnote 1,2 (Abitur)  
2013 – 2019 Studium der Humanmedizin an der  
Rheinischen Friedrichs-Wilhelms-Universität Bonn,  
Erster und Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
2019 – 2020 Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln,  
Praktisches Jahr, Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

### **Berufliche Tätigkeit**

2021 – 2022 Teamleitung des Infektionsschutzzentrums 3,  
Gesundheitsamt Köln (Amtsleitung: Dr. Johannes Nießen)  
seit 10/2022 Assistenzärztin für Hämatologie/Onkologie  
Klinik I für Innere Medizin, Uniklinik Köln