



BRAF-MUTATIONSANALYSEN

Das zunehmende Verständnis molekularer Grundlagen der Tumorbio­logie und die technischen Fortschritte in den molekularbiologischen Untersuchungsmethoden eröffnen die Möglichkeit, direkt an Gewebepreparaten tumorassozierte Veränderungen auf molekularer Ebene zu diagnostizieren. Solche molekularpathologischen Befunde gewinnen immer mehr an Bedeutung für die Diagnostik, Therapieplanung und Prognoseeinschätzung bei verschiedenen Tumorerkrankungen. Zu den Tests der molekularen Pathologie zählt die **Mutationsanalyse** von **BRAF** (V-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1) bei v. a. bei metastasierten malignen Melanomen, kolorektalen Karzinomen, gastrointestinalen Polypen und Schilddrüsenkarzinomen.

BIOLOGISCHER HINTERGRUND

Das BRAF-Gen codiert für das BRAF-Protein, eine Serin/Threonin Proteinkinase. BRAF ist ein essentielles Glied im EGFR-Signaltransduktionsweg (EGFR: Epidermal Growth Factor Receptor), der Wachstumssignale des EGF-Rezeptors in den Zellkern weiterleitet. Der aktivierte EGFR-Transduktionsweg forciert Wachstum (Proliferation), Zellüberleben (anti-Apoptose), Gefäßbildung (Angiogenese) und Metastasierung (Ausbildung von Motilitätsstrukturen).

In diesem Signalweg hat BRAF die Funktion eines regulierten molekularen Schalters, der durch aktiviertes KRAS in den „An“-Zustand geschaltet wird und die Signale an MEK weiterleitet. In vielen Tumoren (z. B. kolorektale Karzinome, maligne Melanome, Schilddrüsen-Karzinome, NSCLC, u. a.) ist BRAF aufgrund einer aktivierenden Kodon-600-Mutation im BRAF-Gen im permanenten „An“-Zustand und gibt die wachstumsfördernden Signale unabhängig von der Aktivierung des EGFR-Signalweges weiter – die Signalkaskade wird durch mutiertes BRAF vom EGFR entkoppelt. So kann die Blockierung des EGFR durch anti-EGFR-Therapien in Tumoren mit einer aktivierenden BRAF-Mutation den EGFR-Signalweg nicht stilllegen. Andererseits stellt mutiertes BRAF einen Angriffspunkt für neue Medikamente dar.

MEDIZINISCHE UND KLINISCHE BEDEUTUNG

Malignes Melanom

Ca. 60 % der malignen Melanome zeigen eine BRAF-Mutation im Kodon 600. Patienten mit metastasiertem malignem Melanom können von einer Therapie mit BRAF-Inhibitoren (Vemurafnib, Dabrafenib) profitieren, wenn eine BRAF Kodon 600-Mutation im Tumormaterial nachweisbar ist.

Anmerkung: Während des Therapieverlaufes mit BRAF-Inhibitoren kann sich eine Resistenz aufgrund multipler Ursachen, u.a. durch den Erwerb von sekundären, Resistenz-assoziierten Mutationen z. B. im NRAS-Gen ausbilden.

Kolorektales Karzinom (CRC; colorectal cancer))

BRAF und Prognose:

Bei CRC-Patienten ist eine BRAF-Mutation mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Diese schlechtere Prognose scheint sich jedoch auf CRC mit hochgradiger Mikrosatelliteninstabilität (MSI-H) zu beschränken.

BRAF und anti-EGFR-Therapie:

Nach derzeitigem Kenntnisstand ist eine BRAF-Mutation bei CRC prognostisch, aber nicht signifikant prädiktiv. Das heißt der BRAF-Mutationsstatus sagt das Ansprechen auf eine anti-EGFR-Therapie mit z. B. Cetuximab nicht sicher voraus.

Schilddrüsenkarzinom

Bei Schilddrüsenkarzinomen ist die BRAF V600E-Mutation ein spezifischer Marker, der nur in papillären und ähnlichen Schilddrüsenkarzinomen und nicht in follikulären

Schilddrüsenkarzinomen oder benignen Läsionen zu finden ist. Damit kommt der BRAF V600E Mutation eine diagnostische Bedeutung für den spezifischen Nachweis von papillären Schilddrüsenkarzinomen und ähnlichen Malignitäten insbesondere bei schwierigem Probenmaterial wie Feinnadel-Biopsien zu.

Zudem ist die BRAF V600E-Mutation ein prädiktiver, molekularer Marker für ein aggressives Tumorwachstum und eine schlechte Prognose, was wiederum eine stringenter Therapie indiziert.

Bei der **HNPCC-Diagnostik** (Hereditary non-polyposis colorectal cancer; erblicher Darmkrebs) ist die BRAF-Mutationsanalyse ein molekulares Werkzeug, dass bei den hochgradig mikrosatelliteninstabilen Tumoren (MSI-H) mit mHLH1-Ausfall eine Assoziation mit HNPCC ausschließt und so eine weitere Analyse auf MLH1-Keimbahnmutationen erspart.

Gastrointestinale Polypen

BRAF V600E-Mutationen kommen in sessilen serratierten Adenomen häufiger vor als in anderen Adenomen. Daher kann bei Adenomen eine BRAF V600E-Mutation auf den sessil serratierten Karzinogeneseweg und damit auf das Malignitätspotenzial hinweisen.

INDIKATION FÜR EINE BRAF-MUTATIONSANALYSE

- BRAF-Inhibitor-Therapie (Vemurafnib, Dabrafenib) bei metastasiertem malignem Melanom
- Diagnostik und Verlaufsprognose bei kolorektalem Karzinom.
- Diagnostik von Gastrointestinaler Polypen
- Diagnostik von papillären Schilddrüsenkarzinomen und deren Abgrenzung von follikulären Schilddrüsenkarzinomen sowie Verlaufsprognose bei papillären Schilddrüsenkarzinomen.
- Ausschluss eines Lynch-Syndroms bei der HNPCC-Diagnostik.

NACHWEISMETHODEN

Anwendung hochsensitiver, unabhängiger Analysemethoden:

- ✓ PCR-Amplifikation mit HRM-Analyse (high resolution melting analysis)
- ✓ V600E/K/M/R/D-mutationspezifische PCR
- ✓ Sequenzierung

UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Frisches oder Formalin-fixiertes Tumorgewebe (Primärtumor oder Metastase) aus PE oder OP-Präparat.

ANSPRECHPARTNER

Dr. Marcus Bettstetter

LITERATUR

- Ogino *et al.* Predictive and prognostic roles of BRAF mutation in stage III colon cancer: results from intergroup trial CALGB 89803. Clin Cancer Res. 2012;18:890-900.
- Phipps *et al.* BRAF mutation status and survival after colorectal cancer diagnosis according to patient and tumor characteristics. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2012 Aug 16
- Bokemeyer *et al.* Addition of cetuximab to chemotherapy as first-line treatment for KRAS wild-type metastatic colorectal cancer: pooled analysis of the CRYSTAL and OPUS randomised clinical trials. Eur J Cancer. 2012 Jul;48(10):1466-75.
- Chapman *et al.* Improved survival with vemurafinib in melanoma with BRAF V600E mutation. N Engl J Med. 2011 Jun 30;364(26):2507-16.
- Nazarian *et al.* Melanomas acquire resistance to B-Raf(V600E) inhibition by RTK or N-Ras upregulation. Nature. 2010; 468: 973-7.
- Larkin *et al.* Combined vemurafinib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. N Engl J Med. 2014 Nov 13;371(20):1867-76.
- Nikiforova MN, Nikiforov YE. Molecular diagnostics and predictors in thyroid cancer. Thyroid. 2009 Dec;19(12):1351-61.
- Zatelli MC *et al.* BRAF V600E mutation analysis increases diagnostic accuracy for papillary thyroid carcinoma in fine-needle aspiration biopsies. Eur J Endocrinol. 2009 Sep;161(3):467-73.
- Loughrey M *et al.* Incorporation of somatic BRAF mutation testing into an algorithm for the investigation of hereditary non-polyposis colorectal cancer. Fam Cancer. 2007;6(3):301-10.
- Baretton GB. Serrated pathway of colorectal carcinogenesis. Pathologie. 2010 Feb;31(1):9-15.
- Noffsinger AE. Serrated polyps and colorectal cancer: new pathway to malignancy. Annu Rev Pathol. 2009;4:343-64.