

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. W. Hiddemann

**Prognostische und prädiktive Biomarker
sowie
seltene Metastasierungswege
beim
metastasierten kolorektalen Karzinom**

Zusammenfassung des kumulativen Habilitationsprojekts

zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Innere Medizin
der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

**vorgelegt von
Frau Dr. med. Marlies Michl
aus München**

2017

Datum der Mündlichen Prüfung (Fakultätskolloquium): 17. Juli 2017

Fachmentorat: Herr Prof. Dr. W. Hiddemann (Leitender Fachmentor)

Herr Prof. Dr. V. Heinemann

Herr Prof. Dr. T. Kirchner

Zweitgutachter: Herr Prof. Dr. T. Pukrop

Frau Prof. Dr. A. Reinacher-Schick

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitende Zusammenfassung.....	5
2. Hintergrund.....	6
2.1. Das metastasierte kolorektale Karzinom (mKRK)	6
2.2. Das heterogene Kollektiv der KRK-Patienten im metastasierten Stadium.....	6
2.3. Die systemische Tumorthherapie beim nicht-resektablen KRK.....	8
2.4. Die RECIST-Kriterien als Staging-Goldstandard.....	9
2.5. Das <i>Depth-of-Response</i> (DpR) Modell und die <i>Early Tumor shrinkage</i> (ETS).....	11
2.6. Biomarker beim mKRK.....	12
3. Der Serum-Tumormarker CEA (<i>carcinoembryonic antigen</i>)	15
3.1. CEA als prognostischer und Monitoring-Biomarker beim mKRK.....	18
3.2. Die Korrelation von CEA-Verlauf mit der radiologischen Bildgebung nach RECIST unter Therapie.....	19
3.3. Die Korrelation von maximalem CEA-Abfall (CEA-Nadir) und radiologischer <i>Best Response</i>	23
3.4. Die Tiefe der CEA-Remission als prädiktiver Marker für die Effektivität einer Therapie (analog DpR-Modell).....	25
3.5. Das Überleben in Abhängigkeit von CEA <i>response vs. non-response</i>	28
3.6. Die Funktion von CEA in der Tumor-Angiogenese.....	30
3.7. CEA als prädiktiver Biomarker für eine zielgerichtete anti-VEGF-Therapie.....	34
4. Das zentrale Nervensystem (ZNS) als seltene Metastasenlokalisierung beim KRK.....
4.1. Das extrakranielle Metastasierungsmuster beim Vorliegen von ZNS- Metastasen vom KRK.....	39
4.2. Das intrakranielle Befallsmuster und die Symptome bei ZNS-Metastasen vom KRK.....	41
4.3. Überlebenszeitanalysen von Patienten mit mKRK und ZNS-Metastasen – Gesamtkollektiv und Subgruppen.....	42
4.4. Klinische prognostische Faktoren für das Überleben mit KRK und ZNS-Metastasen.....	48

4.5. Theorien zur Entstehung von ZNS-Metastasen beim KRK.....	50
4.6. Der Stellenwert von somatischen Mutationen für die Ausbildung verschiedener Metastasierungsmuster.....	52
4.7. Untersuchung von prognostischen Gewebe-Biomarkern für die Entwicklung von ZNS-Metastasen vom KRK.....	54
4.8. Therapieansätze für ZNS-Metastasen vom KRK.....	59
5. Zusammenfassung und Ausblick.....	61
6. Literaturverzeichnis.....	64
6.1. Literaturverzeichnis als Erstautor.....	75
7. Danksagung.....	76
8. Abbildungsverzeichnis.....	79
9. Abkürzungsverzeichnis.....	80
10. Eidesstattliche Erklärung.....	82

1. Einleitende Zusammenfassung

Die vorliegende kumulative Habilitationsarbeit befasst sich mit prognostischen und prädiktiven Biomarkern sowie mit seltenen Metastasierungswegen beim kolorektalen Karzinom (KRK). Alle im Folgenden aufgeführten Arbeiten dieses Habilitationsprojekts wurden an Patientenkollektiven mit primär nicht-resektablem metastasiertem kolorektalen Karzinom (mKRK) durchgeführt.

Im Fokus der wissenschaftlichen Tätigkeit und Publikationsaktivität standen Untersuchungen zum Serum-Tumormarker CEA (*carcinoembryonic antigen*) und dessen Stellenwert in der Beurteilung des Therapieansprechens auf eine Systemtherapie. Es konnte gezeigt werden, dass sich das Serum-CEA konkordant zur radiologischen Bildgebung, dem heute immer noch gültigen Staging-Goldstandard, verhält. In Analogie zum *Depth-of-Response*-Modell wurde herausgearbeitet, dass das Ausmaß des CEA-Abfalls von prognostischer Bedeutung für das Überleben ist und hierfür ein CEA-cutoff definiert.

Ein weiterer Fokus lag in der Untersuchung seltener Metastasierungswege, im Speziellen der Entwicklung von ZNS-Metastasen. Hier wurde das bisher größte Patientenkollektiv identifiziert und Überlebenszeiten, prognostische Faktoren und Metastasierungswege analysiert. Des Weiteren konnten Tumorproben aus diesem Patientenkollektiv hinsichtlich prognostischer Biomarker untersucht werden. Ziel dieser Zusammenfassung der kumulativen Habilitationsschrift ist es, die Ergebnisse der einzelnen Publikationen thematisch im wissenschaftlichen Kontext darzustellen und zu diskutieren. Daher wird im Rahmen dieser Arbeit nicht auf alle Aspekte des mKRK in gleicher Wichtung eingegangen.

2. Hintergrund

2.1. Das metastasierte kolorektale Karzinom (mKRK)

Das kolorektale Karzinom stellt eine der häufigsten malignen Tumorerkrankungen in der westlichen Welt dar. In Deutschland erkranken jährlich ca. 61.000 Frauen und Männer neu an Darmkrebs und etwa 25.000 versterben jährlich an dessen Folgen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 72 Jahren (Männer) bzw. 75 Jahren (Frauen) (Robert-Koch-Institut, Krebsregister). Fast zwei Drittel der Primärtumore sind im Kolon lokalisiert und etwa ein Drittel im Rektum (Siegel et al.). Histologisch handelt es sich fast ausschließlich um Adenokarzinome (>90%). Nur Adenokarzinome des Kolorektum sind in Registern unter ICD-10 CD10 bzw. CD18-20 abgebildet und werden in kolorektale Therapiestudien eingeschlossen.

Etwa 20% aller Patienten werden mit primär metastasiertem KRK diagnostiziert (synchrone Metastasierung) und weitere 45% entwickeln zu einem späteren Zeitpunkt Metastasen (metachrone Metastasierung) (SEER Cancer Statistics Review 1975-2013). Die Metastasierung erfolgt am häufigsten hämatogen in Leber (50-70%) und Lunge (10-30%) (Mirty et al), lymphogen in regionäre oder ferne Lymphknoten oder per continuitatem in das Peritoneum (5-15%) (Segelman et al; Vatandoust et al). Seltene befallene Organe sind Knochen, Weichgewebe oder das zentrale Nervensystem (ZNS). Letztgenannte werden meist in der Kategorie „andere“ zusammengefasst.

2.2. Das heterogene Kollektiv der KRK-Patienten im metastasierten Stadium

Der einheitlich behandelbare Patient mit mKRK existiert in dieser Form nicht mehr. Das Alter und die Komorbiditäten des Patienten (*fit* vs. *unfit*), die Anzahl und Lokalisation der Metastasen (Oligometastasierung vs. dissemierte Metastasierung), die

Anzahl der betroffenen Organe (1 Organ vs. ≥ 2 Organe), die Resektabilität der Metastasen (R0 vs. R1/2 vs. nicht operabel) sowie die Tumorbiologie (RAS, BRAF, MSS/MSI) beeinflussen die Therapiewahl und somit die Prognose substantziell. Um der Heterogenität dieses Patientenkollektivs gerecht zu werden, definierte die ESMO mKRK-Subgruppen mit dem Ziel optimale individuelle Therapiestrategien zu entwickeln (van Cutsem et al, ESMO guidelines, 2016):

- Metastasen primär R0-resektabel
- Oligometastasierung (2-3, max. 5 Metastasen), entweder primär oder sekundär resektabel nach Konversionschemotherapie
- Tumorassoziierte Symptome und/oder rasche Tumorprogression mit dringlichem Bedarf der Zytoreduktion (*tumor shrinkage*), möglicherweise resektabel nach intensiver Konversionschemotherapie
- Disseminierte Metastasierung ohne Tumor-assoziierte Symptome und ohne ausgewiesenes Ziel der schnellen Zytoreduktion (*never resectable*) und/oder multimorbider alter Patient (*unfit*)

Hieraus ergeben sich unterschiedliche Behandlungsstrategien bzw. -sequenzen, die heute standardmäßig im multidisziplinären Tumorboard erarbeitet werden. Die Therapie von KRK-Metastasen ist somit heute eine interdisziplinäre Herausforderung geworden. Es steht eine Vielzahl von systemischen Substanzen und lokalen Therapieverfahren zur Verfügung.

Auch die aktuelle 8. Version der TNM-Klassifikation (2017) der UICC und AJCC differenziert aufgrund der unterschiedlichen Prognose beim primär metastasierten KRK (UICC IV) folgende Subgruppen (s. Tab. 1, Brierley JD et al.).

Tab. 1: Aktuelle TNM-Klassifikation des mKRK UICC IV (8. Version, 2017)

TNM-Stadium	UICC	Befallene Organe
Jedes T jedes N M1a	IV A	nur Leber, Lunge, Ovar <i>oder</i> nicht-regionale Lymphknoten
Jedes T jedes N M1b	IV B	mehr als ein Organ
Jedes T jedes N M1c	IV C	Peritonealkarzinose mit oder ohne Organbefall

Tab. 1: Ausschnitt aus der aktuellen 8. Version der TNM-Klassifikation (2017) der UICC und AJCC für die Subgruppe des primär metastasierten kolorektalen Karzinom (Stadium UICC IV) (Brierley JD et al.)

ZNS-Metastasen finden aufgrund ihrer Seltenheit keine Berücksichtigung in diesen Klassifikationen. Im Gegensatz zu anderen seltenen Metastasenlokalisationen sind Patienten mit ZNS-Metastasen zudem aufgrund ihrer ungünstigen Prognose grundsätzlich von der Teilnahme an großen klinischen Studien ausgeschlossen und somit in prospektiven Studienpopulationen nicht repräsentiert.

2.3. Die systemische Tumorthherapie beim nicht-resektablen mKRK

In den letzten zwei Dekaden haben sich mit der Entdeckung prognostischer und prädiktiver molekularer Marker (RAS [*Rat Sarcoma*], BRAF [*Rapidly growing fibrosarcoma type B*], MSI/MSS [Mikrosatelliteninstabilität/-stabilität]) im Tumorgewebe neue Therapieoptionen für Patienten mit nicht-resektablen mKRK ergeben, was sich in zunehmenden Überlebenszeiten verdeutlicht (Michl et al [A]). In der palliativen Therapie des mKRK standen fast 50 Jahre lang mit 5-FU/Leukovorin die einzig wirksamen Substanzen zur Verfügung. Das mediane Überleben lag damals unter einem Jahr (Cunningham et al.). Mitte der 1990er Jahre konnte durch die Kombination von 5-FU/Leukovorin mit Irinotecan oder Oxaliplatin (FOLFIRI, FOLFOX) das mediane Überleben auf etwa 17 bis 20 Monate verlängert werden (Douillard et al. 2000, Giacchetti et al., Köhne et al.). Mit Einführung der monoklonalen anti-EGFR-

Antikörper Cetuximab (2004) und Panitumumab (2007) sowie des monoklonalen anti-VEGF-Antikörpers Bevacizumab (2005) wurden in Kombination mit den chemotherapeutischen Substanzen Überlebenszeiten von fast zwei Jahren beobachtet (OPUS trial [Bokemeyer et al. 2011], CRYSTAL study [van Cutsem et al. 2009]; Hurwitz et al., Saltz et al.). Heute erreichen Patienten mit mKRRK in den jüngst publizierten großen Phase-III-Studien in Abhängigkeit vom EGFR-Status mediane Überlebenszeiten von bis zu 30 Monaten (PRIME [Douillard et al. 2013], FIRE3 [Heinemann et al. 2014], TRIBE [Loupakis et al. 2014], PEAK [Schwartzberg et al. 2014], CALGB/SWOG 80405 [Venook et al.]). Das 5-Jahres-Überleben ist jedoch weiterhin ungünstig und wird mit 13,5 % angegeben (SEER Cancer Statistics Review 2006-2012).

2.4. Die RECIST -Kriterien als Staging-Goldstandard

Die radiologische Schnittbildgebung und Befundung nach RECIST (*Response Evaluation Criteria in Solid Tumors*) stellt immer noch den Goldstandard zur Beurteilung des Therapieansprechens auf eine Systemtherapie dar (Therasse et al, Eisenhauer et al). Die RECIST Kriterien Version 1.0 wurden im Jahr 2000 eingeführt und lösten die bis dahin gültigen WHO-Kriterien ab (Therasse et al). Eine Aktualisierung folgte im Jahr 2008 mit Herausgabe der Version 1.1, die bis heute Gültigkeit hat (Eisenhauer et al).

Die RECIST-Kriterien sehen eine Unterteilung der Metastasen in sogenannte Zielläsionen (*target lesions*) und Nicht-Zielläsionen (*non target lesions*) vor. Als Zielläsion sind Organmetastasen geeignet, die einen Durchmesser von mindestens 10 mm (Lymphknoten >15mm) zu Beginn der Therapie aufweisen. Die Vermessung der

Läsionen erfolgt unidimensional, wobei nur der größte Durchmesser einer Läsion in die Berechnung eingeht. Maximal werden 5 Zielläsionen herangezogen, wobei maximal 2 Läsionen aus demselben Organ stammen dürfen. Aus den längsten Einzeldurchmessern der Zielläsionen wird ein Summenwert gebildet, der im Verlauf der Therapie für die Beurteilung des Ansprechens dient (Tab. 2). Für die Vermessung der Metastasen sollte eine Schnittbildgebung dienen. Der Einsatz der Sonografie wird aufgrund der Untersucherabhängigkeit nicht empfohlen und sollte auf die Vermessung von oberflächlichen Strukturen wie z.B. der Schilddrüse oder von Lymphknoten beschränkt bleiben. Sollten weitere Metastasen vorliegen, stellen diese Nicht-Zielläsionen dar, welche zwar zu Beginn einer Therapie vermessen, im Verlauf aber nicht berichtet werden müssen.

Tab. 2: Die RECIST-Kriterien, Version 1.1

Kategorisierung des Therapieansprechens		Veränderung der Summe der längsten Durchmesser der Zielläsion
Progrediente Erkrankung	PD	>20% Zunahme (aber um mind. 5mm absolut) oder Auftreten einer neuen Metastase
Stabile Erkrankung	SD	weder PD, PR oder CR
Partielle Remission	PR	> 30% Abnahme mit Bestätigung der PR nach 4 Wochen
Komplette Remission	CR	keine Läsionen mehr nachweisbar, Bestätigung der CR nach 4 Wochen

Tab. 2: Die Kategorisierung des Therapieansprechens nach den RECIST 1.1 Kriterien

Nishino et al diskutieren in einem interessanten Übersichtsartikel aus dem Jahre 2012 die Lücken der RECIST-Kriterien und den Bedarf für eine personalisierte Krebs- und Therapie-spezifische Beurteilung des Therapieansprechens im Zeitalter der personalisierten und molekularen Medizin (Nishino M et al). Ein großer Kritikpunkt an den RECIST-Kriterien besteht derzeit in der fehlenden Einbindung von Tumoraktivität (messbar z.B. im FDG-PET), der Tumorbiologie (Stichwort „Krankheits-spezifische

Biomarker“) und funktionellen Ansprechkriterien v.a. auf neuere Substanzen (Stichwort „Tumor-Vaskularität unter anti-VEGF-Antikörpern“). Aufgrund der zunehmenden Verfügbarkeit modernerer Bildgebungstechnik (PET-CT, MRT), neuerer Messmethoden (z.B. volumetrische statt diametrische Auswertung) und Krankheits-spezifischen Biomarkern steigt die Notwendigkeit deren Integration in die Beurteilung des Therapieansprechens.

2.5. Das *Depth of Response (DpR)* Modell und die *Early Tumor Shrinkage (ETS)*

Die RECIST-Kriterien unterscheiden lediglich vier Kategorien, nämlich die CR (komplettes Therapieansprechen), die PR (partiell Therapieansprechen), die SD (stabile Erkrankung) und die PD (progrediente Erkrankung) (s. Tab. 2, S. 9). Sie stehen in der Kritik, die Beurteilung des Therapieansprechens stark zu vereinfachen und das Progressionsfreie Überleben (PFS) und das Gesamtüberleben (OS) nur ungenau vorherzusagen (Sargent et al). Zudem verursachen gerade die neueren Substanzen, und hier im Speziellen anti-VEGF-Antikörper, auch bei guter Wirksamkeit lediglich eine geringe diametrische Tumorreduktion (Grothey et al). Die größten Schwachstellen der RECIST-Kriterien sind daher (1) die Zusammenfassung aller Patienten mit CR und PR als „Therapieansprecher“ (*responder*) und (2) die fehlende Anerkennung eines geringen Therapieansprechens <30% (*minor response*), was nach RECIST als SD kategorisiert wird.

Die *Depth-of-Response (DpR)* ist ein neu eingeführtes kontinuierliches Maß zur Beurteilung des Therapieansprechens. Sie beschreibt die maximal erreichte Reduktion des Tumordurchmessers oder Tumolvolumens unter Therapie (in Prozent) im Vergleich zum Tumordurchmesser bzw. -volumen vor Therapiestart. Einige Analysen an großen prospektiven Studienkollektiven (FIRE-3, CRYSTAL, OPUS, TRIBE und PEAK) haben gezeigt, dass das Ausmaß der Abnahme von Tumordurchmesser bzw. -volumen

mit der Effektivität der Therapie korreliert und ein Prädiktor für das Überleben ist (Heinemann et al 2015, Mansmann et al 2013, Mansmann et al 2013, Cremolini et al, Schwartzberg et al).

Als Biomarker zur frühen Beurteilung des Therapieansprechens wurde jüngst die *Early Tumor Shrinkage* (ETS) eingeführt. Die ETS beschreibt das Ausmaß der Reduktion (in Prozent) von Tumordurchmesser oder Tumolvolumen nach nur 6 bis 8 Wochen nach Therapiestart. In den unterschiedlichen Publikationen liegt der ETS-cutoff bei 10–30 % und differenziert zu diesem festgelegten Zeitpunkt die *ETS-responder* von den *ETS-non-respondern* ($>$ vs. \leq 10–30 %). Während die DpR die maximale Tumorreduktion als kontinuierliches Maß unabhängig vom Zeitpunkt beschreibt, wird die ETS zu einem festen Zeitpunkt (6 bis 8 Wochen nach Therapiebeginn) zur dichotomisierten Beurteilung des Therapieansprechens herangezogen. Es konnte in mehreren (Meta-) Analysen großer Phase-III-Studien gezeigt werden, dass die ETS sowohl mit dem PFS als auch mit dem OS korreliert (Suzuki et al; Giessen et al 2013, Modest et al, Piessevaux et al. 2009 und 2013, Heinemann et al 2015, Cremolini et al). Diese Erkenntnisse weisen auf den Bedarf einer früheren und genaueren bzw. feineren Beurteilung des Therapieansprechens hin als der nach RECIST.

2.6. Biomarker beim mKRK

Der Einsatz und die klinische Relevanz von Biomarkern nehmen im Zeitalter der individualisierten Tumorthherapie kontinuierlich zu.

Der Begriff „Biomarker“ subsummiert eine große Bandbreite von molekularen, histologischen, serochemischen oder radiologischen Charakteristika. Biomarker sind definiert als messbare Indikatoren eines normalen biologischen Prozesses, eines pathologischen Zustands oder als Antwort auf eine Exposition mit einer Therapie (Biomarkers Definitions Working Group; FDA-NIH; 2001).

Biomarker werden wie folgt unterteilt (modifiziert nach FDA-NIH). Es werden jeweils Beispiele für das (m)KRRK genannt.

- **Diagnostischer Biomarker:** Ein Biomarker, der verwendet wird, um die Anwesenheit einer Krankheit zu erkennen/zu bestätigen oder Individuen mit einem Subtyp der Erkrankung zu identifizieren. **Beispiele für mKRRK:** RAS, BRAF, MSS/MSI
- **Monitoring-Biomarker:** Ein Biomarker, der seriell gemessen wird, um den Status einer Erkrankung zu beurteilen oder die Exposition gegenüber einem Arzneimittel nachzuweisen. **Beispiele für mKRRK:** radiologische Schnittbildgebung nach RECIST, Serum-Tumormarker CEA.
- **Pharmakodynamischer Biomarker / Response Biomarker:** Ein Biomarker, der gezeigt hat, dass eine biologische Antwort bei einer Person aufgetreten ist, die einem Arzneimittel ausgesetzt war. **Beispiele für mKRRK:** kein Biomarker verfügbar.
- **Prädiktiver Biomarker:** Identifiziert Personen, die wahrscheinlicher eine günstigere oder ungünstigere Wirkung von der Exposition gegenüber einem Arzneimittel erleben werden als ähnliche Personen ohne diesen Biomarker. **Beispiele für mKRRK:** RAS-Mutationsstatus und Hautexanthem für anti-EGFR-Therapie, *Depth-of-Reponse* (DpR) und *Early-Tumor-Shrinkage* (ETS), MSS/MSI für Checkpoint-Inhibition, kein Biomarker verfügbar für anti-VEGF-Therapie.
- **Prognostischer Biomarker:** Schätzt bei Patienten, die an der Erkrankung von Interesse leiden, die Wahrscheinlichkeit eines klinischen Ereignisses, eines Krankheitsrezidivs oder einer Krankheitsprogression ein. **Beispiele für mKRRK:** RAS, BRAF, (MSS/MSI), Serum-Tumormarker CEA

- **Sicherheits-/Toxizitäts-Biomarker:** Wird vor und/oder nach der Exposition gegenüber einem Arzneimittel gemessen und zeigt die Wahrscheinlichkeit, die Anwesenheit oder das Ausmaß einer Toxizität an. **Beispiele für mKRK:** Dihydropyrimidin-Dehydrogenase(DPD)-Mutation und erhöhte Toxizität von 5-FU (Meulendijks et al.), UDP *glucuronosyltransferase 1 family polypeptide A1* (UGT1A1) Polymorphismus und erhöhte Toxizität von Irinotecan (Barbarino et al).
- **Risiko-Biomarker / Susceptibility:** Zeigt bei einer Person, die derzeit nicht klinisch offensichtlich an einer Krankheit leidet, das Potenzial für die Entwicklung einer Krankheit an. **Beispiele für KRK:** kolorektale Polypen in der Endoskopie (Stichwort „Adenom-Karzinom-Sequenz“), hereditäre Polyposis-Erkrankungen wie HNPCC, FAP

Die therapeutisch relevanten und heute in Analogie zu den Leitlinien standardmäßig bestimmten Biomarker beim mKRK sind der erweiterte (*extended*) RAS-Mutationsstatus (KRAS und NRAS, jeweils Exon 2-4), der BRAF-Mutationsstatus sowie die Analyse der Mikrosatelliten-(In)stabilität (MSS/MSI) im histologischen Tumorgewebe (ESMO guidelines 2016, van Cutsem et al). Der RAS-Status hat prognostische und vor allem prädiktive Aussagekraft für die gegen den EGF-Rezeptor gerichteten Antikörpertherapien (CRYSTAL [van Cutsem et al 2009], OPUS [Bokemeyer et al 2015], PRIME [Douillard et al 2013], FIRE3 [Heinemann et al 2014], Köhne et al.). Dem BRAF-Status kommt sowohl ein negativer prädiktiver als auch ein negativer prognostischer Stellenwert zu (Tran et al, Venderbosch et al, Tol et al, Yokota et al).

Während RAS-Mutationen einen Mutationsschritt in der klassischen Adenom-Karzinom-Sequenz darstellen, spielt die BRAF-Mutation in der Karzinogenese über die serratierte Route eine Rolle (Fearon et al 1990 und 2011; Roustgi et al),

Die Datenlage zum prognostischen Stellenwert der MSS/MSI ist im Vergleich zu erstgenannten deutlich unsicherer, es weisen jedoch einige Analysen darauf hin, dass das Vorliegen einer MSI mit einem kürzen Überleben einhergeht (Venderbosch et al). Neuere Analysen zeigen jedoch die starke prädiktive Wertigkeit des MSS/MSI-Status hinsichtlich eines Therapieansprechens auf eine Immun-Checkpoint-Inhibition (Le et al).

Trotz etlichen Untersuchungen und vielversprechenden Ergebnissen zu weiteren Biomarkern beim mKRR, beeinflussen die klinischen Entscheidungen nur die drei oben genannten substanziell. Viele potenzielle Biomarker setzen sich in der breiten Anwendung nicht durch, da sie kein spezifisches biologisches Merkmal messen und keine verlässliche Krankheitsprognose bzw. Vorhersage des Therapieergebnisses ermöglichen. Ein typisches Beispiel hierfür stellt der Serum-Tumormarker CEA (*carcinoembryonic antigen*) dar, der daher im Zentrum der hier vorgestellten kumulativen Habilitationsarbeit steht.

3. Der Serum-Tumormarker CEA (*carcinoembryonic antigen*)

Das CEA (*carcinoembryonic antigen*) ist ein großes onkofetales Glykoprotein (~180 kD) der CEA- und Immunglobulin-Genfamilie. Es wurde erstmals 1965 von Phil Gold und Samuel O. Freedman in Zellextrakten aus kolorektalen Karzinomen identifiziert (Gold und Freedman et al). CEA wird in Zellen des embryonalen Entoderms und entsprechend in sich daraus entwickelnden Organen exprimiert (gesamter Gastrointestinaltrakt vom distalen Ösophagus bis zum anorektalem Übergang, Leber, Pankreas, Lunge, Thymus, Schilddrüse und Harnröhre). CEA wird in die Zellmembran inseriert (gebundenes CEA) und übernimmt dort mit der Regulierung der Zell-Zell-Adhäsion seine Hauptaufgabe zum Erhalt der Architektur von Zellverbänden (Pavlopoulou et al., Jessup et al). Durch *Shedding* kann CEA von der Membran abscheren und sich in Flüssigkeiten wie beispielsweise im Serum lösen (lösliches CEA). Bei Gesunden liegt der Serum-CEA-Spiegel in der Regel unter 5ng/ml, bei gesunden Rauchern unter 10ng/ml. Die CEA-Werte können in unterschiedlichen Laboren gewissen Schwankungen unterliegen, die Bundesärztekammer toleriert in ihren Richtlinien für Laboruntersuchungen (RILIBÄK) bei der Bestimmung von CEA eine maximal zulässige Abweichung von 14% (Bundesärztekammer 2008).

Malignome der oben genannten Organe können einen Anstieg des Serum-CEA verursachen. Es ist bisher unklar, ob CEA lediglich mit der absoluten Tumormasse korreliert oder eine funktionelle Rolle in der Tumorgenese einnimmt. Mehr als 80% aller Patienten mit mKRK weisen einen CEA-Wert >5ng/ml auf (Iwanicki-Caron et al., Ward et al, De Haas et al). Nach den ASCO-Empfehlungen zum Einsatz von Tumormarkern aus dem Jahre 2006 gilt CEA als Tumormarker der Wahl für das mKRK (Locker et al). Die ASCO, die ESMO und weitere Fachgesellschaften wie die *European Group on Tumor Markers* (EGTM) und die *National Academy of Clinical Biochemistry* (NACB) empfehlen beim mKRK vor Einleitung einer Systemtherapie und dann alle 1-3

Monate während einer Chemotherapie CEA-Bestimmungen im Serum zum Therapie-Monitoring vorzunehmen (Locker et al., Duffy et al., Sturgeon et al). Kontinuierlich ansteigende CEA-Werte (Mehrfachmessungen im Verlauf) rechtfertigen ein vorgezogenes radiologisches Staging.

Bei der Interpretation ansteigender CEA-Werte ist zu bedenken, dass gewisse Therapien oder auch benigne Erkrankungen einen CEA-Anstieg verursachen können, der nicht als Tumorprogression fehlgedeutet werden darf. So kann CEA beispielsweise in den ersten 4-6 Wochen nach Beginn einer Chemotherapie, v.a. mit 5-FU- und/oder Oxaliplatin, ansteigen (Ailawadhi et al, Sørbye et al 2003, Sørbye et al 2004). Dies ist vermutlich auf Therapie-induzierte Tumorzellnekrose und -apoptose sowie Veränderungen der Leberfunktion zurückzuführen (Strimpakos et al, Ailawadhi et al, Moertel et al). Transiente CEA-Anstiege zu Beginn einer Chemotherapie werden bei 10-15% aller Patienten beobachtet und scheinen mit einer günstigen Prognose assoziiert zu sein (sog. *CEA flare*) (Strimpakos et al, Ailawadhi et al). Zudem kann CEA Tumor-unabhängig im Rahmen benignen Erkrankung der o.g. entodermalen Organe erhöht sein (z.B. bei Gastritis, Ulkuserkrankung, Leberzirrhose, Pankreatitis, Diabetes mellitus, COPD, Divertikulitis, chronisch entzündlichen Darmerkrankungen etc.) (Locker et al).

Unter Beachtung dieser Einschränkungen sind steigende CEA-Werte jedoch als Krankheitsprogression zu werten und es kann eine Therapieumstellung erfolgen, selbst wenn kein radiologisches Korrelat vorliegt (Locker et al). Die Fachgesellschaften halten sich jedoch aufgrund fehlender Datenlage bedeckt hinsichtlich eines CEA-Grenzwertes oder Prozent-Anstieges, der eine serochemische Tumorprogression oder ein Therapieansprechen definieren soll.

3.1. CEA als prognostischer und Monitoring-Biomarker beim mKRK

In vielen Studien zum KRK wird der Baseline-CEA-Wert im Serum vor Therapie als unabhängiger prognostischer Faktor hinsichtlich des Krankheits-spezifischen Gesamtüberlebens dargestellt. In lokalisierten KRK-Stadien oder vor Metastasen Chirurgie bei Oligometastasierung scheint dem präoperativ gemessenen CEA-Wert ebenso ein relevanter prognostischer Stellenwert zuzukommen (Sun et al, Gaber et al, Wang et al 2014, Giessen et al 2014). So geht beispielsweise ein präoperativ gemessener CEA-Wert von $>200\text{ng/ml}$ mit einem signifikant kürzeren Gesamtüberleben nach Resektion kolorektaler Lebermetastasen einher ($p=0,01$) (Fong et al). Auch nach erfolgter Metastasenresektion eignet sich das CEA-Monitoring als kostengünstiges Verfahren im Rahmen der Nachsorge zur Früherkennung von Rezidiven (Graham et al).

Im metastasierten Stadium ist die Datenlage zur prognostischen Aussagekraft des Baseline-CEA-Wertes im Serum deutlich geringer. Dennoch weisen auch beim mKRK einige Studien auf die prognostische Relevanz von CEA hin (Michl et al, ASCO Poster 2014 [B]). So zeigten beispielsweise Sørbye et al, dass mKRK-Patienten mit hohem CEA-Baseline-Wert im Vergleich zu solchen mit niedrigem CEA-Baseline-Wert besonders von einer perioperativen Chemotherapie mit FOLFOX vor geplanter Lebermetastasen Chirurgie profitieren (Sørbye et al 2012). Freyer et al identifizierten in einem Kollektiv mit 432 Patienten und 5-FU-refraktären mKRK den CEA-Ausgangswert vor einer Irinotecan-basierten Zweitlinientherapie als signifikanten prognostischen Faktor für das PFS (Freyer et al).

Der prognostische Stellenwert von CEA hinsichtlich des Gesamtüberleben (OS) und der Zeit bis zur Progression (TTP) wurde daher in einem eigenen Patientenkollektiv mithilfe des Modells der zeitveränderlichen Kovariate untersucht. Dieses Modell berücksichtigt im Gegensatz zum Cox-Modell nicht nur den CEA-Ausgangswert zu

Beginn der palliativen Erstlinientherapie sondern alle CEA-Werte unter laufender Erst- und Zweitlinientherapie als zeitabhängige Kovariate bis zum Eintreten des Endpunktes (OS bzw. TTP). Das Modell wurde an unserem Institut für Epidemiologie und Biometrie der LMU entwickelt und seine Anwendbarkeit bereits an einigen Analysen zum Tumormarker CA19-9 beim Pankreaskarzinom getestet und publiziert (Boeck et al). Am eigenen Kollektiv mit 124 mKRK-Patienten, die eine palliative Erst- und Zweitlinientherapie erhielten, zeigte sich für CEA ein signifikanter prognostischer Stellenwert hinsichtlich des OS (HR 1,41; 95% CI 1,1–1,78; $p=0,004$) und der TTP (HR 1,29; 95% CI 1,15–1,44; $p <0,001$) (Koch et al).

3.2. Die Korrelation von CEA-Verlauf mit der radiologischen Bildgebung nach RECIST unter Therapie

In der Literatur adressieren nur wenige Publikationen die Frage, ob der serochemische CEA-Verlauf beim mKRK mit der radiologischen Bildgebung übereinstimmt (De Haas et al, Iwanicki-Caron et al, Ward et al.). Ziel solcher Studien ist es, alternative, kostengünstigere und für den Patienten weniger invasive bzw. belastende Staging-Verfahren zu etablieren, um die Frequenz von radiologischen Untersuchungen zu reduzieren.

De Haas et al. zeigten an einer Kohorte von 119 Patienten mit mKRK und Lebermetastasen eine Übereinstimmung von CEA-Verlauf und CT-Staging-Ergebnissen in über 90% der Fälle (De Haas et al). Die Autoren definierten einen CEA-Anstieg von $\geq 20\%$ als Progression (PD) und einen CEA-Abfall von $\leq 20\%$ als Therapieansprechen (PR). Ward et al. konnten sogar eine Spezifität und einen positiven prädiktiven Wert von 100% für einen CEA-Anstieg hinsichtlich einer radiologischen PD errechnen. Die Autoren zeigten zudem, dass steigende CEA-Werte dem radiologischen Nachweis einer Tumorprogression bis zu 16 Wochen vorausgehen können. Iwanicki-Caron et al. veröffentlichten 2008 eine 122 Patienten umfassende Studie, in welcher die Steigung

von CEA aus 4 bzw. 6 Laborwerten berechnet und mit der radiologischen Bildgebung korreliert wurde (Iwanicki-Caron et al). Anhand von AUC-Analysen versuchten die Autoren CEA-Grenzwerte mit einer hohen Sensitivität und Spezifität zu ermitteln. Es konnte eine Sensitivität und Spezifität von jeweils ca. 85% hinsichtlich des Erkennens einer Progression erreicht werden und die AUC lag bei 0,885 (95%CI 0,815–0,905; $p=0,0001$). Die Autoren schlussfolgerten, dass der CEA-Verlauf eine einfache und nicht invasive Methode zur Feststellung einer Progression ist und empfehlen dessen regelmäßige Messung. Ob die ermittelte Spezifität von 85% in dieser Situation für die klinische Entscheidungsfindung ausreichend hoch ist und in Anbetracht der sich stets verbessernden bildgebenden Möglichkeiten akzeptiert werden kann, wurde von anderen Autoren jedoch in Frage gestellt (Fakih et al).

Im Fokus der eigenen Arbeiten stand daher die Überprüfung dieser Hypothese in der Ära des breiten Einsatzes von anti-VEGF- und anti-EGFR-Antikörpern. An einem eigenen Kollektiv mit 124 mKRK-Patienten (Beobachtungszeitraum 2007 bis 2010, 67% Männer und 33% Frauen, medianes Alter 62,9 Jahre, 69% synchron metastasiert und 31% metachron metastasiert, Primarius in 60% im Kolon und in 37% im Rektum, 61% behandelt mit Chemotherapie plus Biological) wurde die Übereinstimmung von CEA-Verlauf und radiologischer Bildgebung in der palliativen Erstlinientherapie untersucht. Hierfür wurde ein speziell für diese Fragestellung geeignetes und bisher nicht publiziertes Modell erarbeitet (Abb. 1, Koch et al). Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten eine signifikante Korrelation von CEA-Verlauf und radiologischer Bildgebung unter Therapie (Michl et al [C]). Eine radiologisch nachgewiesene PR ging mit abfallenden CEA-Werten einher und eine radiologische PD mit ansteigenden CEA-Werten (s. Abb. 2, Michl et al [C]). Im Falle einer PD nahm der lnCEA-Wert im Median um 13,3% zu, im Fall einer PR um 27,3% im Median ab.

Des Weiteren wurden mithilfe einer gewichteten Kappa-Analyse nach Fleiss und Cohen (1968) (Fleiss et al) CEA-Grenzwerte in % ermittelt, deren Über- bzw. Unterschreiten 6-12 Wochen nach Einleitung einer palliativen Erstlinientherapie die höchste Korrelation mit der im selben Zeitraum erzielten radiologischen Beurteilung zeigten. Mit einer Spezifität von 100% wiesen ein CEA-Abfall von mindestens 65% auf eine PR und ein CEA-Anstieg um mindestens 45% auf eine PD ($\kappa_w=0,53$) hin (Koch et al).

Abb. 1: Innovatives Modell zur Bildung von linearen Regressionsgeraden aus den CEA-Werten zwischen den bildgebenden Untersuchungen

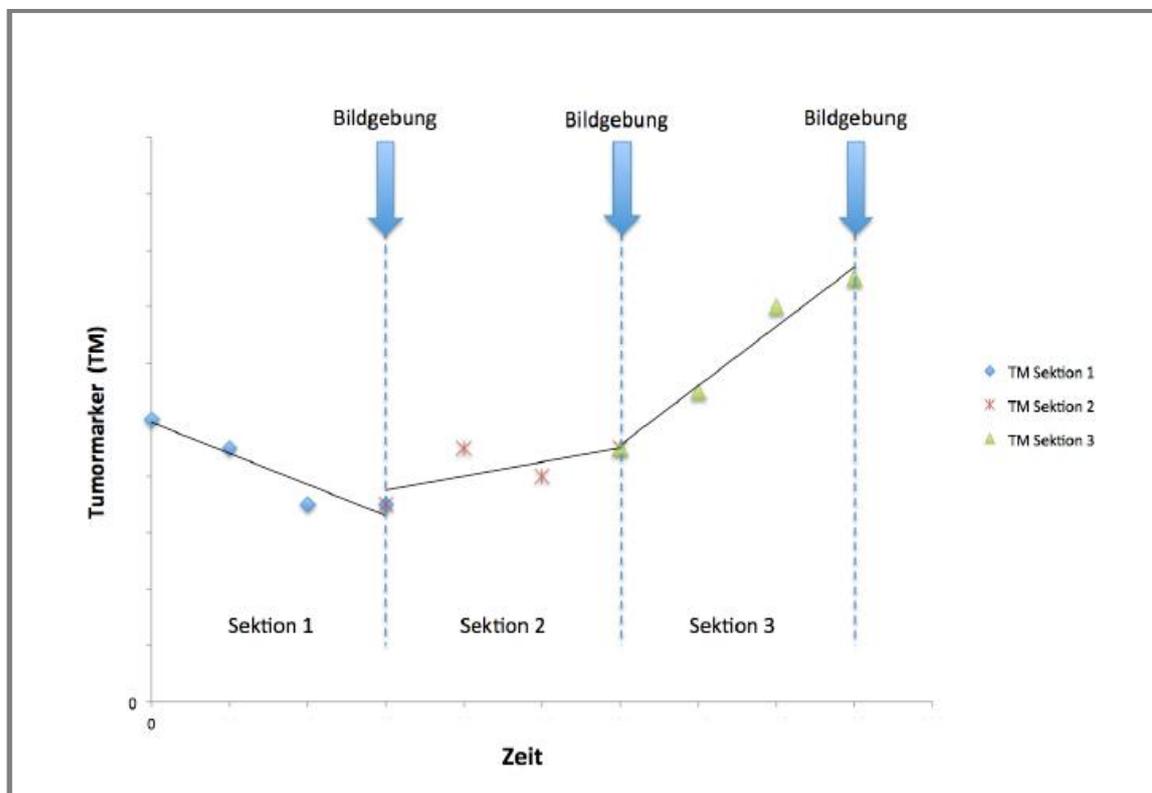


Abb. 1: Methodisch werden (1) die Steigungen der CEA-Regressionsgeraden mithilfe eines linearen Mixed Effects Modells und (2) die relative Änderung von CEA (in %) berechnet.

Aus den logarithmierten, zwischen zwei bildgebenden Untersuchungen bestimmten CEA-Werten, wird eine lineare Regressionsgerade gebildet. Der Zeitabschnitt zwischen zwei bildgebenden Untersuchungen wird als „Sektion“ bezeichnet. Abhängig von der Anzahl der radiologischen Untersuchungen bis zum Ende der ersten Chemotherapielinie können so unter Umständen mehrere Regressionsgeraden pro Patient gebildet werden. Die Steigung jeder Regressionsgerade pro Sektion wird mit dem Ergebnis der entsprechenden radiologischen Beurteilung korreliert. Analog zu den RECIST-Kriterien (Vergleich zum Ausgangsbefund oder zur Best Response unter Therapie) dient für die Bewertung einer CEA-Progression der tiefste CEA-Wert unter Therapie (CEA-Nadir) als Referenzwert. In die Berechnungen können, anders als in die meisten bisher publizierten Modellen, auch CEA-Werte und radiologische Befunde eingehen, deren zeitlicher Abstand variiert. (Koch et al)

Abb. 2a und b: Relative Änderung in % und Steigung der logarithmierten CEA-Werte in Korrelation zur radiologischen Beurteilung

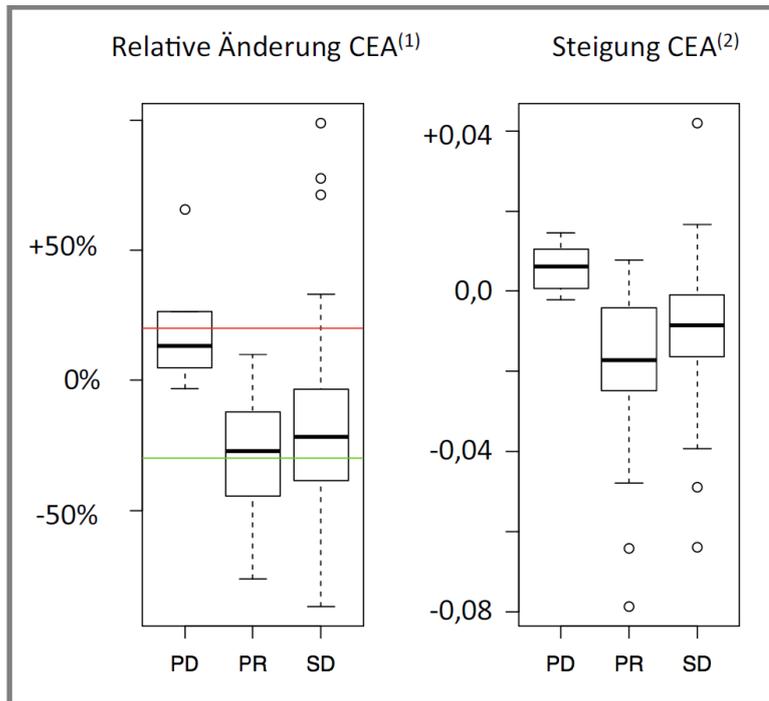


Abb. 2a: ⁽¹⁾ Auf der x-Achse ist die radiologische Beurteilung nach RECIST angegeben. Die y-Achse gibt die relative Änderung von lnCEA in % an. Innerhalb eines Kastens liegen jeweils 50% der Beobachtungen. Die rote Linie dient als Orientierungslinie und gibt eine Zunahme von 20% an, die grüne eine Abnahme um 30% (angelehnt an die RECIST-Kriterien).

⁽²⁾ Auf der x-Achse ist die radiologische Beurteilung nach RECIST angegeben. Die y-Achse gibt die

Steigung der logarithmierten CEA Werte differenziert nach der Zeit ($\Delta \ln \text{CEA} / \text{Zeit}$). Die Einheit der Steigung ist somit (ng/ml)/Tag. (Michl et al [C])

Radiologische Beurteilung	PD	PR	SD
Relative Änderung lnCEA *	+ 13,3%	- 27,3%	- 21,9%
Steigung [(ng/ml)/Tag] *	+ 0,006	- 0,017	- 0,009
Vergleich der Steigungen auf statistische Signifikanz **	Referenz	p=0,005	p=0,042
Intraklassen-Korrelation (ICC) = 0,41			

Tabelle 5: Korrelation von Bildgebung und CEA-Verlauf

* Median

** durch das lineare *Mixed Effects Modell*

Abb. 2b: Berechnete Mediane der relativen Änderung von lnCEA (in %) und der Steigungen der logarithmierten CEA Werte ($\Delta \ln \text{CEA} / \text{Zeit}$). Das Modell zeigt signifikant unterschiedliche Steigungen im CEA-Verlauf zwischen einer PD und einer PR ($p=0,005$) sowie zwischen einer PD und einer SD ($p=0,042$). (Michl et al [C])

3.3. Die Korrelation von maximalem CEA-Abfall (CEA-Nadir) und radiologischer Best response

Am gleichen Patientenkollektiv erfolgte die Analyse des Zusammenhangs von radiologischer *Best Response* und dem maximalen CEA-Abfall (CEA Nadir). Hier zeigte sich im Falle einer PR und SD eine Korrelation zwischen radiologischer *Best Response* und dem maximalen CEA-Abfall jedoch mit breiter Distribution des CEA-Nadirs (s. Abb 3).

Abb. 3: Zusammenhang zwischen der radiologischen Best Response und dem prozentualen CEA-Abfall in Bezug zum Baseline-CEA-Wert während der palliativen Erstlinienchemotherapie

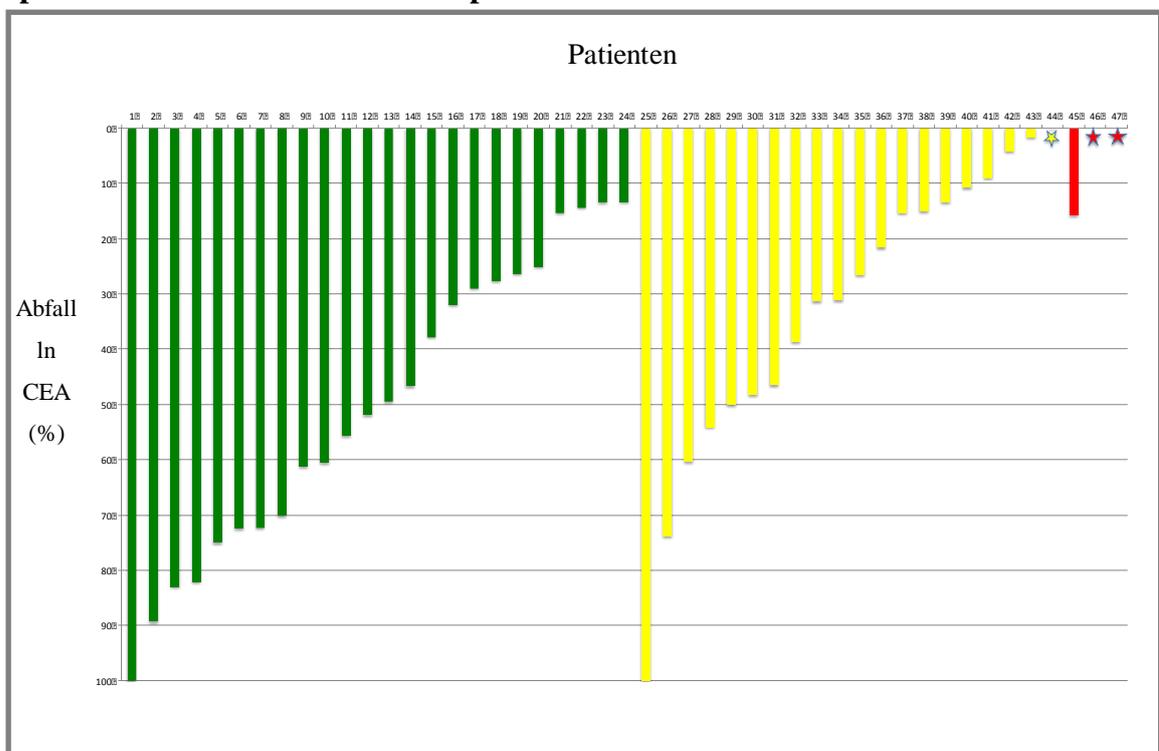


Abb. 3: Maximaler CEA-Abfall in % (CEA-Nadir) während der ersten palliativen Chemotherapielinie im Vergleich zum CEA-Ausgangswert vor Therapiestart. Es wurde mit den logarithmierten CEA-Werten gerechnet (Koch et al).

x-Achse: analysierte Patienten; y-Achse: maximaler InCEA-Abfall in %. Farbliche Darstellung der radiologischen Best Response: grün (PR), gelb (SD), rot (PD). Stern: kontinuierlicher CEA-Anstieg ab Beginn der Chemotherapie (d.h. kein CEA-Nadir vorhanden bzw. CEA-Ausgangswert ist Nadir).

Daher haben wir in einer weiteren Arbeit den Stellenwert der CEA-Remissionstiefe am Patientenkollektiv der prospektiven FIRE3-Studie in Analogie zum *Depth-of-Response-Modell* untersucht (s. Abb. 4, S. 24).

3.4. Die Tiefe der CEA-Remission als prädiktiver Marker für die Effektivität einer Therapie (analog DpR-Modell)

In Analogie zum DpR-Modell haben wir in einer eigenen Arbeit die Tiefe der CEA-Remission unter einer systemischen Erstlinientherapie und deren prädiktiven Stellenwert hinsichtlich Therapieeffektivität und Überleben analysiert (s. Abb. 4).

Abb. 4: CEA-Analysen analog des *Depth of Response* Modell

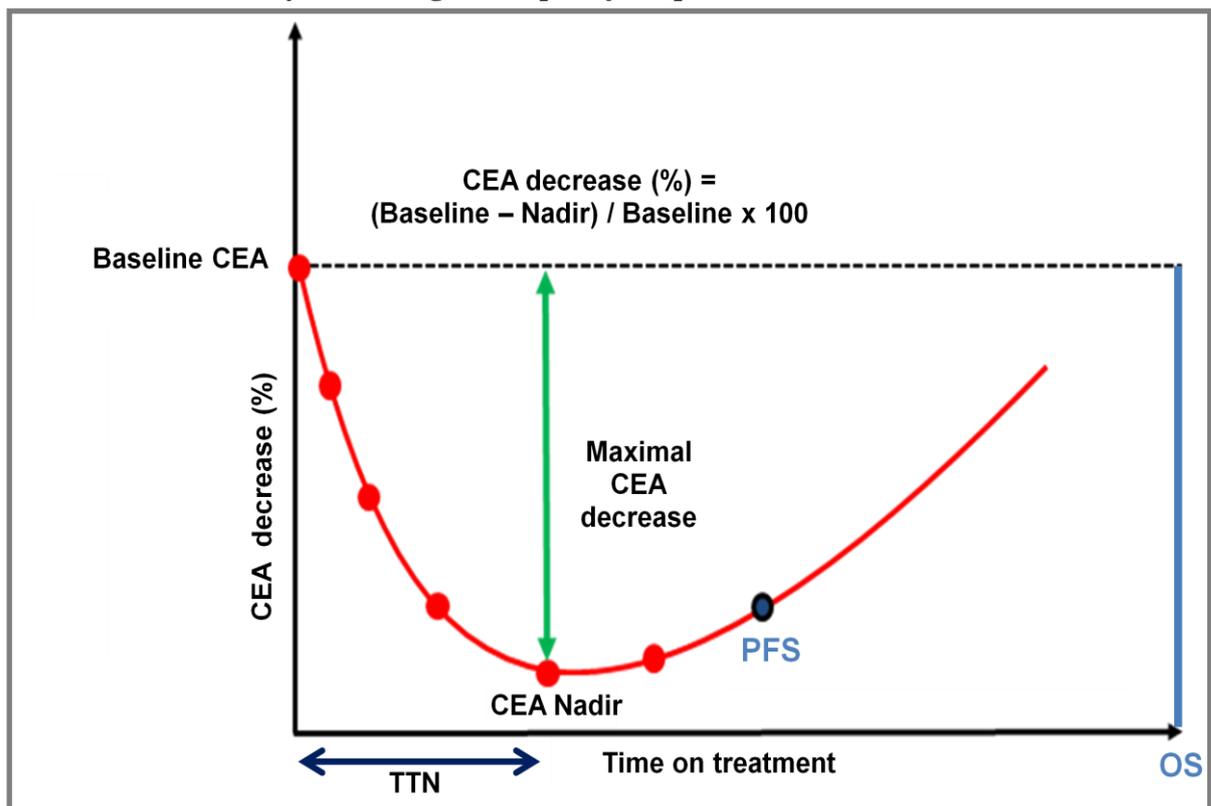


Abb. 4: CEA-Analysen analog des *Depth of Response* Modell (modifiziert nach Heinemann et al 2015). Untersucht wurde der (1) prognostische Stellenwert des Baseline-CEA-Wertes vor Therapiestart, (2) die Tiefe des CEA-Nadirs in Abhängigkeit vom applizierten Therapie-Regime, (3) die Zeit bis zum Eintreten der CEA-Nadirs (niedrigster CEA-Wert unter Therapie im Vergleich zum Baseline-CEA-Wert unabhängig vom gemessenen Zeitpunkt), und (4) der prognostische bzw. prädiktive Stellenwert von (1) und (2) für das Überleben (PFS und OS). TTN, Time to tumor marker nadir (Michl et al [D])

Hierzu diente das Patientenkollektiv der FIRE3-Studie, einer prospektiven randomisierten multizentrischen Phase-III-Studie, die bei 592 Patienten mit nicht-resektablem (K)RAS-Wildtyp mKRK in der palliativen Erstlinientherapie die Effektivität der zwei Therapieregime FOLFIRI und Cetuximab versus FOLFIRI und

Bevacizumab gegeneinander verglich. Die Ergebnisse hatten eine Überlegenheit des Cetuximab-Armes hinsichtlich der Ansprechrate und des Gesamtüberlebens gezeigt (Heinemann et al 2014). Unter der Annahme, dass der Serum-Tumormarker CEA die Tumorlast reflektiert und sich entsprechend der radiologischen Bildgebung verhält (Michl et al [C]; s. Kapitel 3.2.), wurde untersucht, ob der CEA-Verlauf mit dem Ausmaß des Therapieansprechens und somit mit dem Überleben korreliert. Zudem wurde erstmals die Anwendbarkeit des DpR-Modells für einen Serum-Biomarker geprüft.

In der KRAS-Wildtyp Population (*intention-to-treat, IIT*) zeigte eine größere Anzahl von Patienten im Cetuximab-Arm einen CEA-Abfall unter Therapie als im Bevacizumab-Arm (200 von 230 (87.0%) vs. 199 von 242 (82.2%); $p=0.11$). Entsprechend zeigten weniger Patienten im Cetuximab-Arm einen CEA-Anstieg ab Therapiestart (22 von 230 (9.6%) vs. 36 von 242 (14.9%)) (s. Abb 5). Die CEA-Remission fiel unter der Therapie mit FOLFIRI und Cetuximab tiefer aus als unter FOLFIRI und Bevacizumab (s. Abb 5). Im Median betrug der CEA-Abfall im Cetuximab-Arm 83,0% und im Bevacizumab-Arm 72,3% ($p=0.003$). Vergleichbare Ergebnisse fanden sich für die RAS-Wildtyp Population (Michl et al [D]). Die Zeit bis zum Eintreten des CEA-Nadir (*time to nadir, TTN*) betrug im Cetuximab-Arm im Median 3,3 Monate und im Bevacizumab-Arm 3,5 Monate. Hier bestand interessanterweise kein Unterschied zwischen den beiden Therapiearmen ($p=0.49$). Der CEA-Nadir scheint somit zeitlich zwischen die üblicherweise nach 6 bis 8 Wochen erhobene ETS und die nach 4 bis 6 Monaten eintretende DpR zu fallen (Heinemann et al 2015).

Abb. 5: Maximaler CEA-Abfall unter Therapie in den beiden FIRE3-Therapiearmen

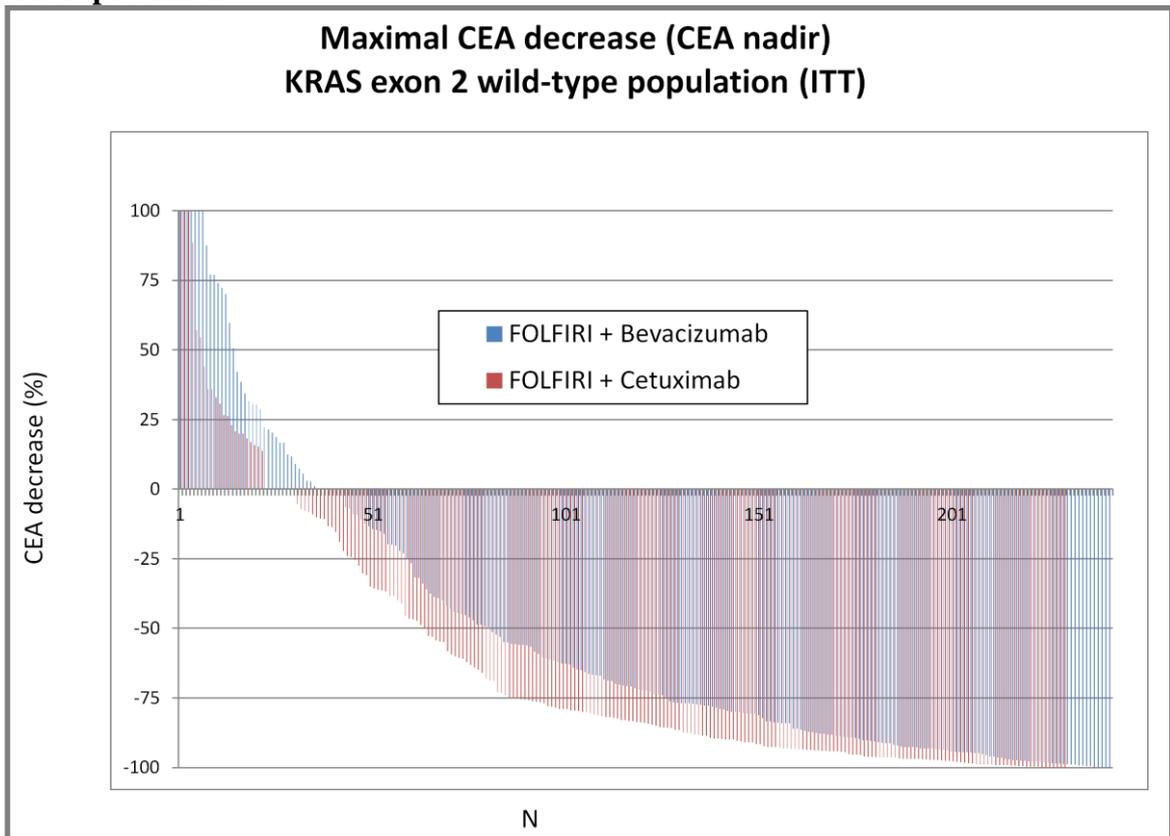


Abb. 5: Maximaler CEA-Abfall in % unter Therapie. Wasserfalldiagramm. N, untersuchte Patientenzahl; Bevacizumab-Arm blau (n=242); Cetuximab-Arm rot (n=230)

Auch im langfristigen Verlauf zeigten sich zu jedem gemessenen Zeitpunkt im Cetuximab-Arm niedrigere CEA-Nadir-Werte als im Bevacizumab-Arm. Der größte Unterschied zwischen den beiden Therapie-Armen bestand bereits 8 Wochen nach Therapiestart (69,7% vs. 51,2%) (Abb. 6) (Michl et al [D]). Diesen Unterschied in der frühen CEA-response könnte man mit der ETS (s. Kap. 2.5.) gleichsetzen, die als ein früher Indikator zur Beurteilung des Therapieansprechens beschrieben wurde (Cremolini et al, Piessevaux et al 2013, Douillard et al 2015).

Abb. 6: Langzeit-CEA-Nadir-Werte der beiden FIRE3-Therapiearme

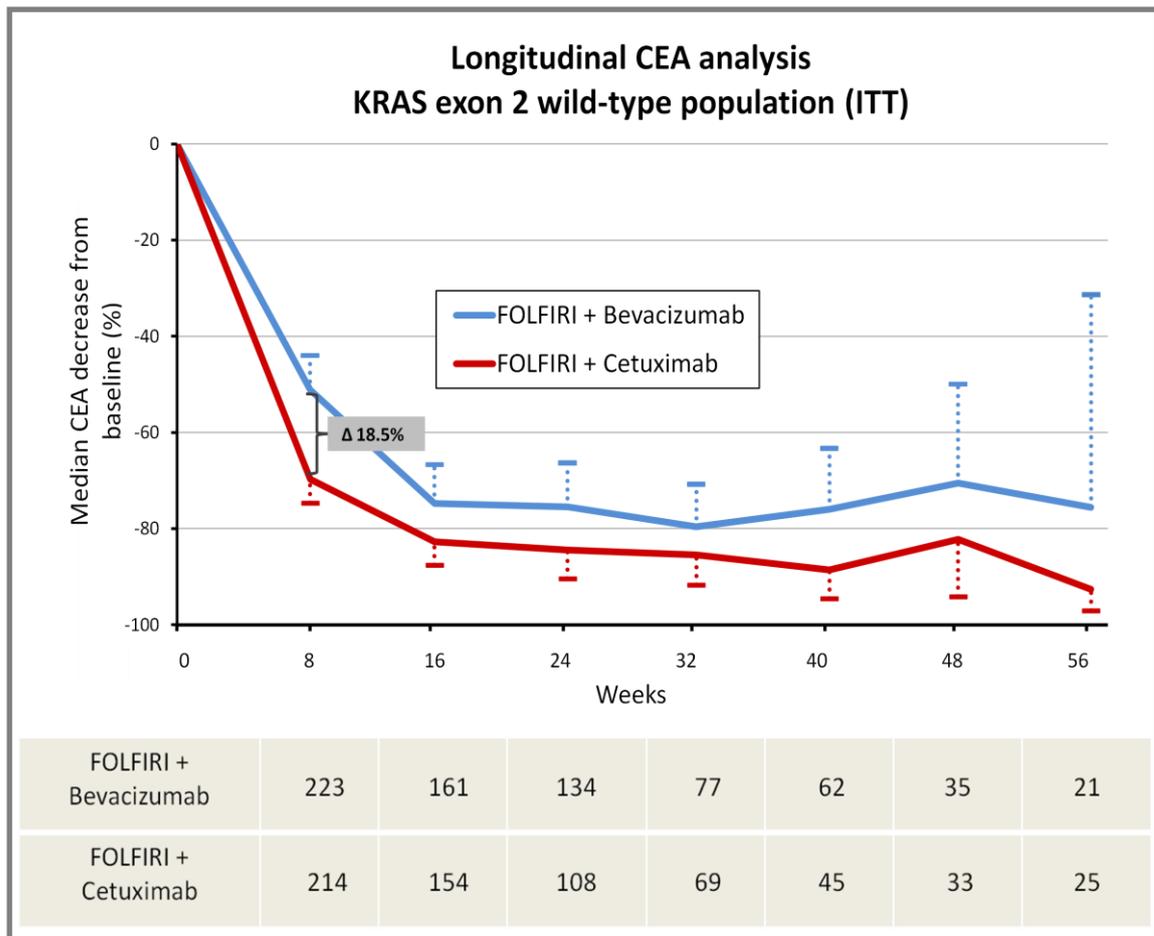


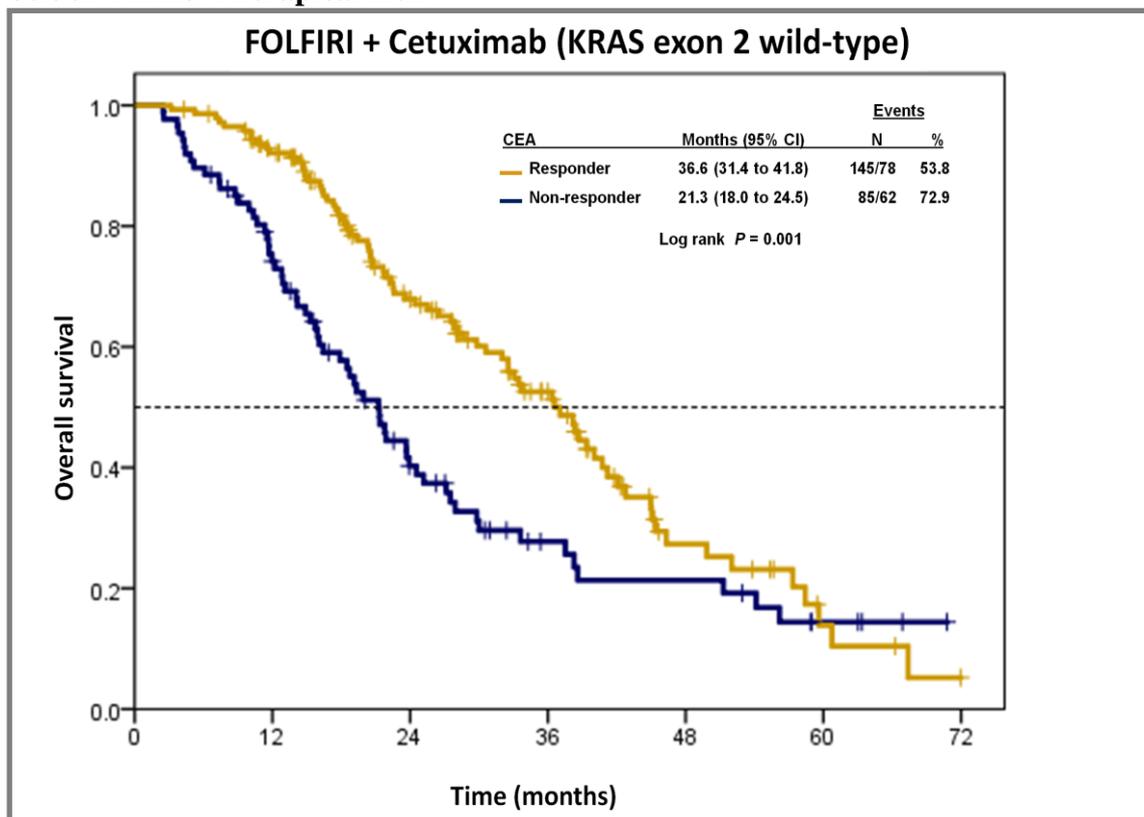
Abb. 6: Longitudinale Analyse des maximalen CEA-Abfalls in % (Median) in 8-wöchigen Abständen über einen Gesamtzeitraum von 56 Wochen in den zwei verschiedenen FIRE3-Therapie-Armen (Michl et al [D])

3.5. Das Überleben in Abhängigkeit von CEA *response vs. non-response*

Am vorgestellten FIRE3-Patientenkollektiv wurde mittels ROC(*Receiver Operating Characteristic*)-Analyse der optimale CEA-Grenzwert von 75% identifiziert, nach dem entsprechend zwei Patientengruppen definiert werden konnten, nämlich die CEA-*responder* (CEA-Abfall von >75% unter Therapie) und die CEA-*non-responder* (CEA-Abfall von ≤75%). Im Cetuximab-Arm fanden sich mehr CEA-*responder* als im Bevacizumab-Arm (145 von 230 Patienten (63.0%) vs. 116 von 242 Patienten (47.9%), $p=0.002$). Die Überlebensanalysen zeigten, dass die CEA *responder* im Cetuximab-Arm

ein signifikant längeres PFS (11.8 months versus 7.4 months; $p=0.004$) und OS (36.6 months versus 21.3 months; $p=0.001$) aufwiesen als die *CEA-non-responder*. In der multivariaten Analyse zeigte sich sogar eine noch stärkere Assoziation zwischen *CEA response* und PFS (HR 0.50; 95%CI, 0.28-0.59; $p<0.001$) bzw. OS (HR 0.40; 95%CI, 0.28-0.59; $p<0.001$) (s. Abb. 7, Michl et al [D]). Im Gegensatz hierzu, fand sich im Bevacizumab-Arm kein solcher Zusammenhang zwischen *CEA response* und Überleben. Vergleichbare Ergebnisse lieferten die Analysen der Subpopulation mit extended RAS-Wildtyp mKRK.

Abb. 7: Gesamtüberleben (OS) in Abhängigkeit von der CEA-response in den beiden FIRE3-Therapiearmen



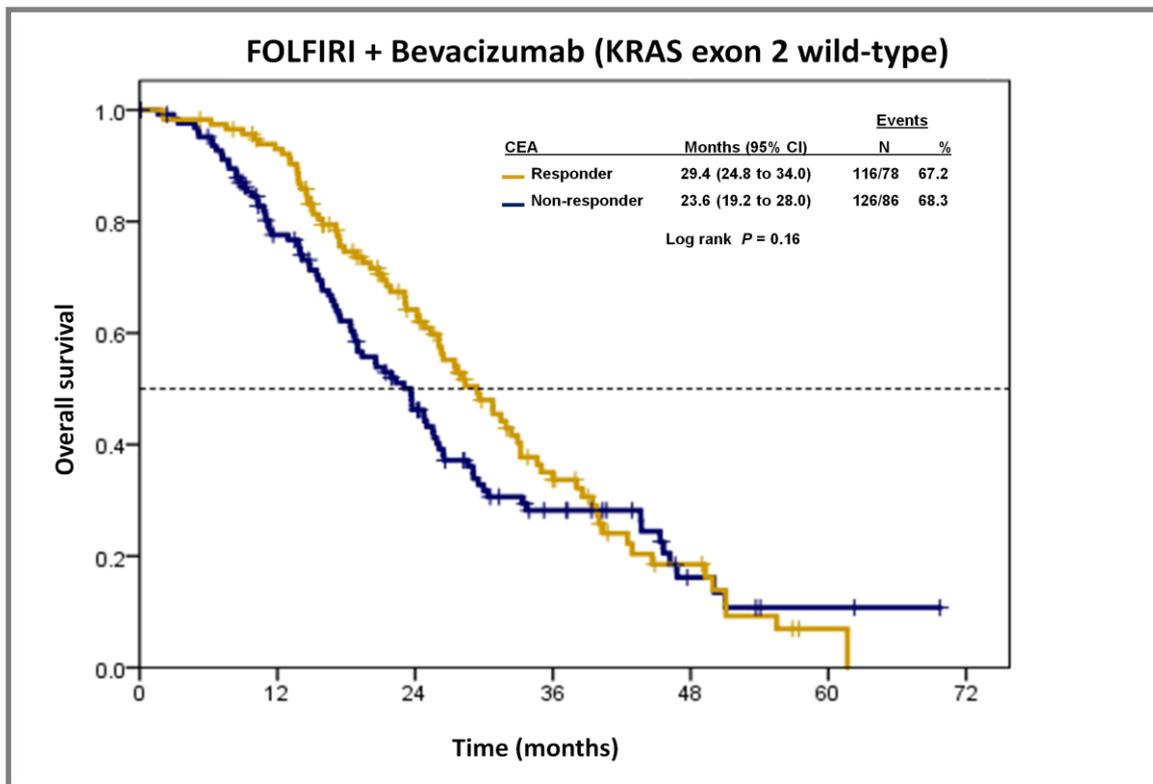


Abb. 7: Gesamtüberleben (OS) in Abhängigkeit von der CEA-response in den beiden Therapiearmen der FIRE3-Studie. a) OS der CEA-responder vs. CEA-non-responder unter FOLFIRI und Cetuximab; b) OS der CEA-responder vs. CEA-non-responder unter FOLFIRI und Bevacizumab

Diese Erkenntnisse stehen im Einklang mit der aktuellen Vorstellung, dass bei (K)RAS-Wildtyp-Patienten höhere Ansprechraten (ORR) und eine tiefere DpR durch eine Erstlinientherapie mit anti-EGFR-Antikörpern im Vergleich zu anti-VEGF-Antikörpern erreicht werden können (Elez et al). Denn obwohl keine der jüngsten *Head-to-Head*-Studien, die eine anti-EGFR- versus eine anti-VEGF-Therapie beim mKRK verglichen, ihren Endpunkt erreichte, zeigte die Metaanalyse der Studien FIRE-3, PEAK und CALGB/SWOG 80405 an mehr als 2000 Patienten mit KRAS-Wildtyp-mKRK eine signifikant höhere ORR und ein längeres OS unter einer anti-EGFR-basierten Erstlinientherapie (Khattak et al).

Erfreulicherweise wurde das von uns erstmals publizierte Modell zur CEA-response als prädiktiver Marker für Therapieansprechen und Überleben von der japanischen Arbeitsgruppe um Sunakawa et al aufgenommen und dessen Anwendbarkeit an einem

gepoolten Patientenkollektiv der prospektiven Phase II Studien JACCRO CC-05 (einarmig Cetuximab und FOLFOX) und CC-06 (einarmig Cetuximab und SOX [S1 und Oxaliplatin]) untersucht. Sunakawa et al zeigten in Analogie zu unseren eigenen Ergebnissen, dass die Tiefe der CEA-Remission unter einer anti-EGFR-basierten Therapie signifikant mit dem PFS ($p < 0,0001$) und dem OS ($p = 0,019$) korreliert. Die CEA-responder zeigten ein signifikant längeres PFS (11,8 vs. 5,5 Monate; HR 0,46; 95%CI 0,28–0,73; $p = 0,0009$) und OS (36,2 vs. 23,5 Monate; HR 0,57; 95%CI 0,30–1,05; $p = 0,072$) als die CEA-non-responder. Zudem korrelierte die Tiefe der CEA-Remission signifikant mit der DpR ($p < 0,0001$) (Sunakawa et al).

3.6. Die Funktion von CEA in der Tumor-Angiogenese

Man nimmt an, dass VEGF (*vascular endothelial growth factor*) den stärksten pro-angiogenetischen Stimulus der Tumorgenese darstellt (Carmeliet et al). Daher wird dieser Pfad in der Tumorthherapie gezielt mit Substanzen gegen den VEGF-Rezeptor inhibiert. Dennoch scheint die anti-VEGF-Blockade nicht immer die gewünschte Wirkung hervorzurufen, weshalb angenommen wird, dass die Tumor-Angiogenese nicht nur von VEGF sondern auch von anderen Faktoren induziert werden könnte.

Obwohl CEA bei vielen Malignomen hochreguliert ist und erhöhte Serum-CEA-Spiegel gemessen werden, gelang es bisher nicht dem CEA eine eindeutige Rolle in der Tumorgenese zuzuordnen. Ilantzis et al zeigten bereits im Jahre 1997, dass erhöhte CEA-Konzentrationen auf der Zelloberfläche von extrahierten humanen Kolonozyten aus frisch gewonnenem Kolonkarzinom-Gewebe invers mit dem Grad der Zelldifferenzierung korrelieren (Ilantzis et al 1997). Interessanterweise wurde in den letzten Jahren auf Basis von in-vitro- und in-vivo-Analysen die Hypothese aufgestellt, dass der deregulierten Überexpression von CEA eine Schlüsselrolle in der Tumorgenese

zukommt, da CEA die Zelldifferenzierung verhindert und die Gewebearchitektur zerstört (Ilantzis et al 2002, Chan et al, Taheri et al). Das lösliche CEA soll zudem eine autokrine Funktion beim Wachstum und Überleben von Krebszellen inne haben, indem es u.a. die Apoptose bzw. die Anoikis (Zelltod durch Verlust der Zell-Zell-Adhäsion) verhindert (Bajenova et al, Ordoñez C et al).

Die Wiener Arbeitsgruppe um Prager et al zeigte jüngst an kolorektalen Zelllinien und im Mausmodell, dass CEA Dosis-abhängig, direkt und VEGF-unabhängig die Tumor-Angiogenese induziert (Bramswig et al). Bereits ab einer Konzentration von 10 ng/ml steigerte CEA die endotheliale Zellmigration, ein wichtiger Schritt in der Tumor-Angiogenese, und aktivierte intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden, die die Zellproliferation und -differenzierung steuern. Die Wirkung von CEA trat unabhängig von der VEGF/VEGFR-1/-2 vermittelten Signaltransduktion ein. Daher schlussfolgerten die Autoren, dass dem CEA möglicherweise eine eigenständige funktionelle Rolle bei der Tumor-Angiogenese zukommt. Demnach könnte CEA den anti-angiogenetischen Effekt der medikamentösen VEGF-Blockade umgehen und die VEGF-Inhibition bei erhöhter CEA-Expression wirkungslos bleiben (Bramswig et al).

Um die Übertragbarkeit dieser Erkenntnisse auf den Menschen zu überprüfen, untersuchten dieselben Autoren in einer retrospektiven Analyse an 169 Patienten mit mKRK, ob der CEA-Konzentration im Serum ein prädiktiver Stellenwert hinsichtlich der Effektivität einer anti-VEGF-gerichteten Therapie zukommt. Hierzu wurde der Baseline-CEA-Wert im Serum vor Beginn der palliativen Erstlinientherapie mit der Ansprechrate und dem Überleben (DCR [*disease control rate*], PFS und OS) unter einer Bevacizumab-basierten Chemotherapie korreliert. Die Patienten wurden nach der Höhe des Baseline-CEA-Werte in zwei Gruppen unterteilt, nämlich solche mit niedrigem CEA-Spiegel (≤ 26.8 ng/ml) und solche mit hohem CEA-Spiegel (> 26.8 ng/ml). Als CEA-*cutoff* wurde der Median von 26,8 ng/ml in der Gesamtpopulation gewählt. Als

Vergleichsgruppe dienten Patienten, die den anti-EGFR-Antikörper Cetuximab erhalten hatten. Der Chemotherapie-*Backbone* war in beiden Gruppen FOLFOX/XELOX oder FOLFIRI/XELIRI. Prager et al konnten zeigen, dass in der Patientengruppe, die eine Bevacizumab-basierte Therapie erhalten hatte, sich sowohl die DCR als auch das PFS und OS in Abhängigkeit des Baseline-CEA-Wertes signifikant voneinander unterschieden. So profitierten Patienten mit niedrigem Baseline-CEA-Wert in allen untersuchten Endpunkten signifikant stärker von der anti-VEGF-basierten Therapie als Patienten mit hohen Baseline-CEA-Werten (DCR 84% vs. 60%; χ^2 -Test, $i < 0,005$; OR 0,579; 95% CI 0,422-0,795; $p < 0,001$; PFS 8,5 Monate vs. 6,4 Monate, $p = 0,023$; OS 37.5 Monate vs. 21.4 Monate, $p = 0,019$) (Prager et al). Im Gegensatz hierzu ergab sich für die Patienten unter einer Cetuximab-basierten Therapie kein Unterschied in DCR oder PFS in Abhängigkeit vom Baseline-CEA-Wert (Prager et al). Bezüglich des OS ist möglicherweise in beiden Therapiearmen der prognostische Stellenwert von CEA der prädiktiven Aussagekraft überlegen. Die Autoren schlussfolgerten, dass CEA, neben seinem prognostischen Stellenwert, eventuell als prädiktiver Biomarker für anti-VEGF-basierte Therapien fungieren könnte.

3.7. CEA als prädiktiver Biomarker für eine zielgerichtete anti-VEGF-Therapie

Obwohl in Deutschland seit 2005 Biologicals gegen VEGF in Kombination mit Chemotherapie zugelassen sind und breiten Einsatz finden, existieren bisher keine prädiktiven Marker für die zielgerichtete VEGF-Therapie (Ellis et al). Auch kommt bis heute dem Serum-CEA kein bekannter Stellenwert als prädiktiver Biomarker beim mKRK zu.

Auf Basis der Hypothese, dass CEA eine funktionelle Rolle in der Tumor-Angiogenese einnimmt und daher möglicherweise die Wirksamkeit einer anti-VEGF-basierten Therapie beeinflussen könnte (Bramswig et al, Prager et al), analysierten wir in eigener

Arbeit den Stellenwert des Baseline-CEA-Wertes hinsichtlich Therapieeffektivität und Überleben. Hierzu diente erneut das Patientenkollektiv der FIRE3-Studie (s. S. 27).

Als idealer CEA-*cutoff* wurde der Grenzwert zur unteren Quartile identifiziert (≤ 6.2 vs. > 6.2 ng/ml), der dem statistischen Median von 28,6 ng/ml hinsichtlich PFS und OS in der uni- und multivariaten Analyse überlegen war (Michl et al [E], Abb. 8). Da der errechnete CEA-*cutoff* zudem nahe am physiologischen CEA-Wert von ≤ 5 ng/ml lag und unter dem Grenzwert von < 10 ng/ml, der zuvor als minimal wirksame Konzentration zur Aktivierung der Angiogenese in-vitro identifiziert worden war (Bramswig et al), verwendeten wir diesen CEA-*cutoff* für alle unsere weiteren Analysen.

Abb. 8: Gesamtüberleben unterteilt nach Quartilen des Baseline-CEA-Wertes im Serum in beiden FIRE3-Therapiearmen

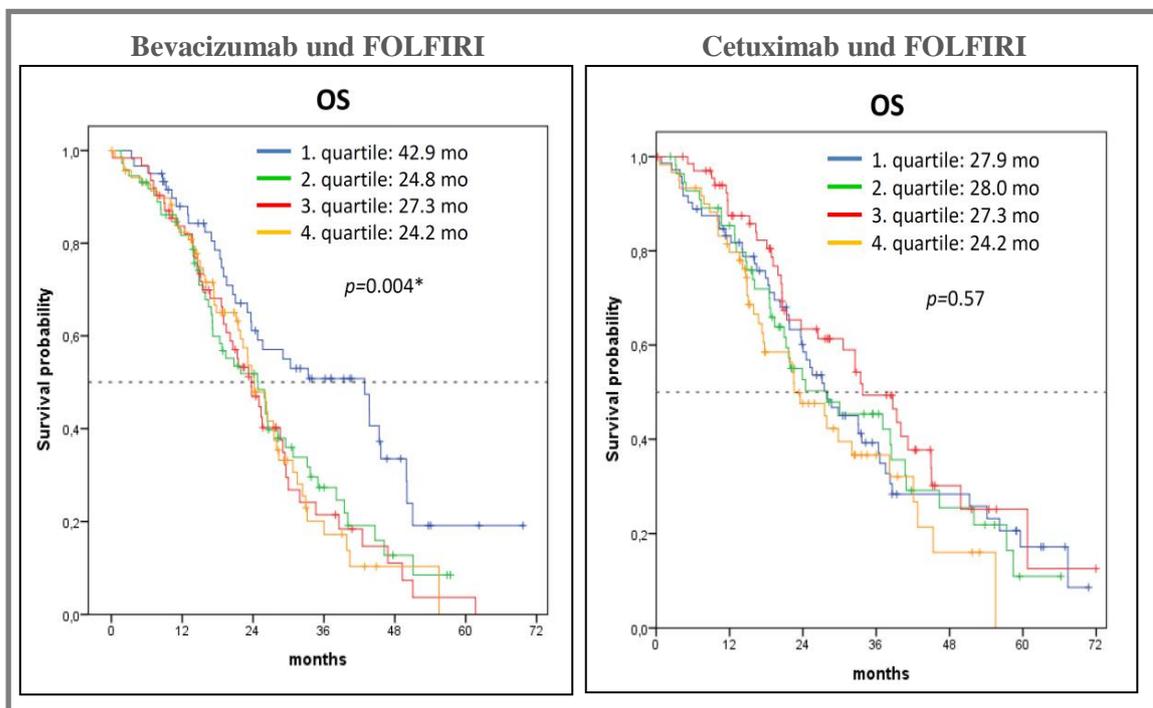


Abb. 8: Gesamtüberleben unterteilt nach Quartilen des Baseline-CEA-Wertes im Serum in beiden Therapiearmen. CEA-Quartilen: 1.Quartile CEA $\leq 6,2$ ng/ml; 2.Quartile CEA > 6.2 ng/ml und $\leq 28,6$ ng/ml; 3.Quartile CEA $> 28,6$ ng/ml und $\leq 143,5$ ng/ml; 4.Quartile CEA $> 143,5$ ng/ml (Michl et al [E])

Im Bevacizumab-Arm zeigten die Patienten mit höheren CEA-Werten >6,2ng/ml (Quartilen 2 bis 4) ein signifikant kürzeres PFS ($p=0,04$) und OS ($p=0,001$) als die Patienten mit niedrigen CEA-Werten $\leq 6,2$ ng/ml. Dieser Effekt wurde im Cetuximab-Arm nicht beobachtet (s. Abb. 8 und Tab. 3, Michl et al [E]).

Tab. 3: Korrelation von Baseline-CEA-Wert und Therapieansprechen bzw. Überleben in den beiden FIRE3-Therapiearmen

Bevacizumab arm: KRAS exon 2 wild-type (ITT)					
CEA baseline values Outcome	CEA ≤ 6.2 ng/ml		CEA >6.2 ng/ml		p
	n/events	%/mo	n/events	%/mo	
ORR	60/38	63.3	205/113	55.1	0.26
DCR	60/54	90.0	205/175	85.4	0.36
PFS	60/49	10.6	205/183	10.4	0.04*
OS	60/34	42.9	205/145	24.2	0.001*

Cetuximab arm: KRAS exon 2 wild-type (ITT)					
CEA baseline values Outcome	CEA ≤ 6.2 ng/ml		CEA >6.2 ng/ml		p
	n/events	%/mo	n/events	%/mo	
ORR	72/40	55.6	184/121	65.8	0.13
DCR	72/56	77.8	184/151	82.0	0.43
PFS	72/63	9.2	185/160	10.4	0.98
OS	72/49	27.9	185/108	30.0	0.94

Cetuximab arm: extended RAS wild-type population					
CEA baseline values Outcome	CEA ≤ 6.2 ng/ml		CEA >6.2 ng/ml		p
	n/events	%/mo	n/events	%/mo	
ORR	50/29	58.0	123/89	72.4	0.07
DCR	50/40	80.0	123/103	83.7	0.56
PFS	50/42	10.0	123/102	10.8	0.66
OS	50/32	27.9	123/70	37.1	0.81

Tab 3: Korrelation von Baseline-CEA-Wert und Therapieansprechen bzw. Überleben in den beiden FIRE3-Therapiearmen. Für den Cetuximab-Arm sind sowohl die Patienten mit KRAS Exon 2 Wildtyp (IIT) als auch die Subgruppe mit erweitertem RAS Wildtyp aufgeführt (Michl et al [E]).

ORR, *Overall Response Rate*; DCR, *Disease Control Rate*; PFS, *Progression Free Survival*; OS, *Overall Survival*; *signifikant

Des Weiteren wurde das Ausmaß des CEA-Abfalls bzw. die Tiefe der CEA-Remission (CEA *reduction* bzw. *shrinkage*) in den beiden Therapiearmen untersucht und die Patientengruppe mit niedrigem Baseline-CEA-Wert gegen die Patientengruppe mit erhöhtem Baseline-CEA-Wert verglichen (s. Abb. 9).

Abb. 9: Überleben nach Baseline-CEA-Wert und Tiefe der CEA-Remission in den beiden FIRE3-Therapiearmen

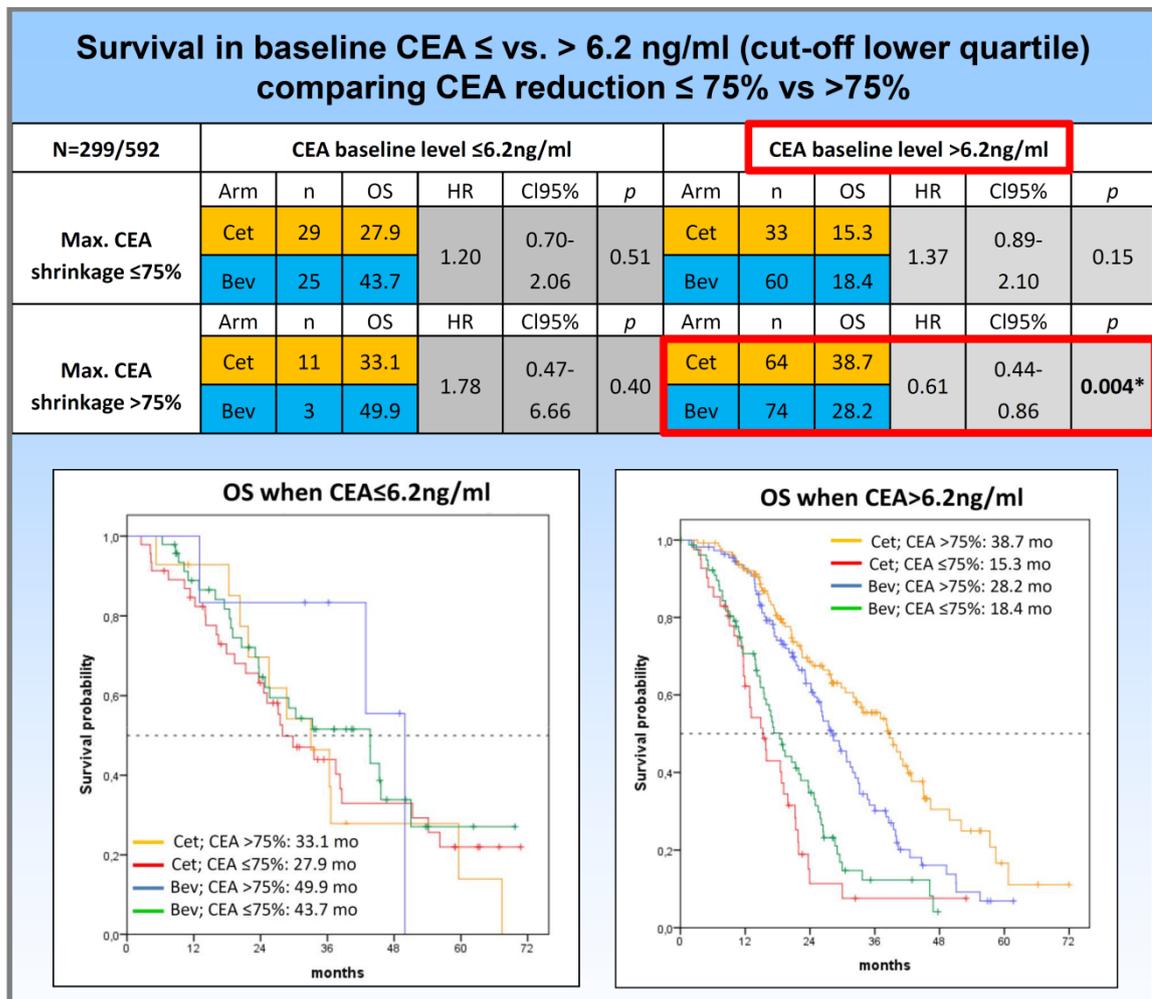


Abb. 9: Überleben (OS) nach Baseline-CEA-Wert und Tiefe der CEA-Remission unter Therapie in der beiden FIRE3-Therapiearmen (Michl et al [E]). Cet, Cetuximab; Bev, Bevacizumab; OS, Overall Survival; CEA *shrinkage* / CEA *reduction* / Tiefe der CEA-Remission (in %)

Die Analysen ergaben, dass das Überleben bei niedrigem Baseline-CEA-Wert von ≤6,2ng/ml weitestgehend unabhängig ist von der Wahl des Therapie-Regimes und der

darunter erreichten Tiefe der CEA-Remission. Im Gegensatz dazu ist bei erhöhtem Baseline-CEA-Wert von $>6,2\text{ng/ml}$ eine starke CEA-Remission von $>75\%$ mit einem signifikant längeren Überleben vergesellschaftet. Diese Patientengruppe profitierte besonders von einer Cetuximab-basierten Therapie im Vergleich zu einer Bevacizumab-basierten Therapie (38,7 Monate vs. 28,2 Monate; $p=0,004$) (s. Abb. 9, Michl et al [E]).

Ähnliche Analysen zu CEA wurden bis zu diesem Zeitpunkt bisher nicht angestellt und waren die ersten in der international publizierten Literatur. Interessanterweise wurde ganz aktuell eine Analyse zum Stellenwert des Baseline-CEA-Wertes am Patientenkollektiv der prospektiven multizentrischen RAISE-Studie durchgeführt. Die RAISE-Studie untersuchte Placebo-kontrolliert die Effektivität des anti-VEGF-Antikörpers Ramucirumab in der Zweitlinientherapie beim nicht-resektablen mKRR (Ramucirumab plus FOLFIRI versus Placebo plus FOLFIRI) (Tabernero et al). Die Autoren zeigen, dass Patienten mit niedrigem Baseline-CEA-Spiegel stärker von einer anti-VEGF-gerichteten Therapie profitieren als solche mit hohen Baseline-CEA-Werten (CEA-cutoff in dieser Analyse \leq vs. $>10\text{ng/ml}$ i.S.e. doppelten Normwertes) (Yoshino et al). Diese Ergebnisse sind durchaus im Einklang mit unseren CEA-Daten aus der FIRE3-Studie.

Auf Basis dieser Ergebnisse wurde es im Rahmen dieser Habilitationsschrift gewagt, eine Hypothese zur optimierten Wahl des Therapie-Regimes in Abhängigkeit vom Baseline-CEA-Wert zu formulieren (s. Abb. 10). Dieses Modell ist als experimentell anzusehen und entspricht keiner gültigen Empfehlung. Unausweichlich bedarf es weiterer Untersuchungen zum Stellenwert von CEA an großen (wenn möglich prospektiven) mKRR-Patientenkollektiven, um unsere Ergebnisse zu validieren.

Abb 10: Hypothese zur Wahl des effektivsten Therapie-Regimes in Abhängigkeit vom Baseline-CEA-Wert

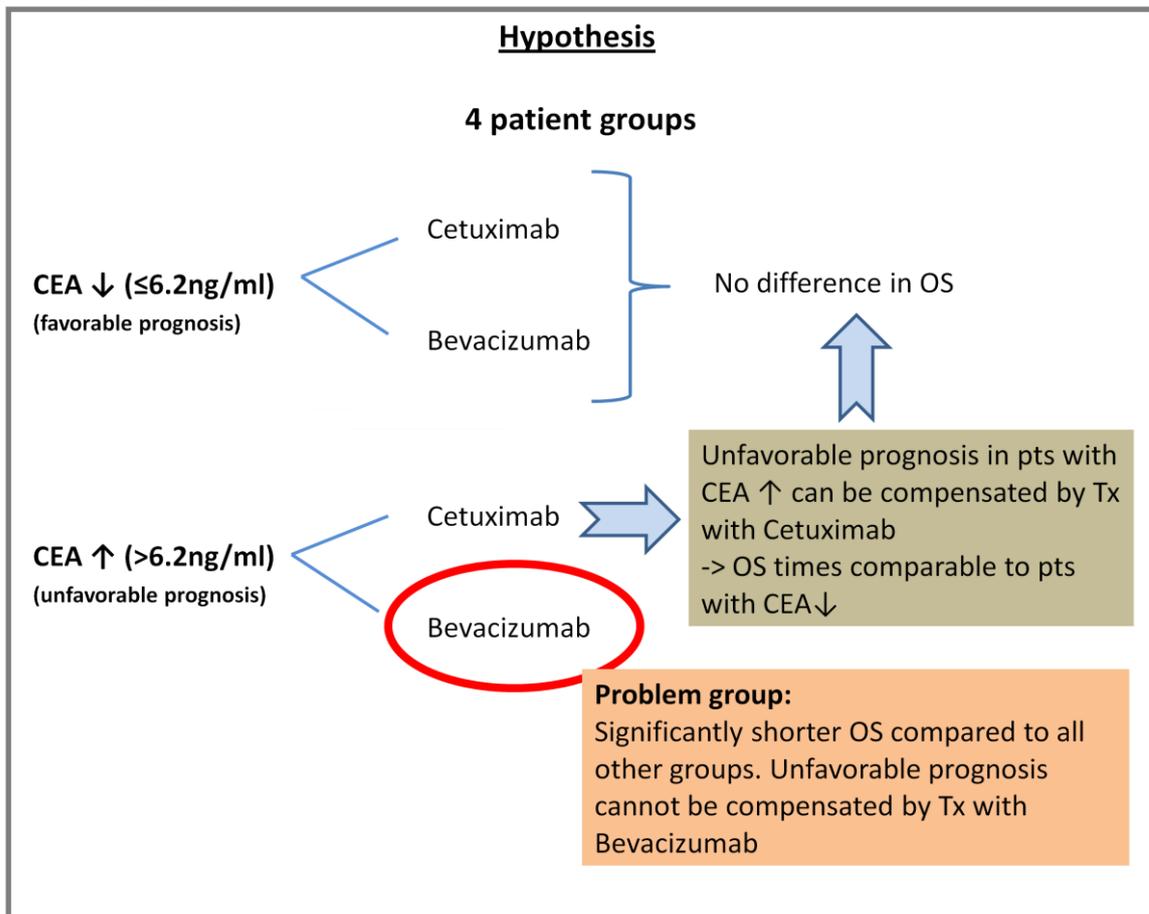


Abb 10: Hypothese zur Wahl des effektivsten Erstlinientherapie-Regimes in Abhängigkeit vom Baseline-CEA-Wert beim nicht-resektablen RAS-Wildtyp mKRK (abgeleitet von den eigenen CEA-Ergebnissen aus der FIRE3-Studienpopulation und den Ergebnissen der RAISE-Studie) (Michl et al [E]; Yoshino et al).

4. Das zentrale Nervensystem (ZNS) als seltene Metastasenlokalisation beim KRK

Nur etwa 2-4% aller KRK-Patienten entwickeln im Laufe ihrer Erkrankung ZNS-Metastasen (Riihimäki M, Go et al, Schouten et al, Nieder et al 2009). Umgekehrt handelt es sich bei nur 5% aller histologisch untersuchten ZNS-Metastasen um Adenokarzinom-Metastasen aus dem Kolorektum. Somit liegt die Inzidenzrate von ZNS-Metastasen beim KRK deutlich unter der bei anderen soliden Malignomen wie beispielsweise dem Lungen-, Mamma-, Nierenzell- oder Malignen Melanom (Barnholtz-Sloan et al). ZNS-Metastasen scheinen beim mKRK am häufigsten in der Altersklasse von 50 bis 65 Jahren aufzutreten (Barnholtz-Sloan et al, Michl et al [F]), was deutlich unter dem medianen KRK-Erkrankungsalter von 72 Jahren (Männer) bzw. 75 Jahren (Frauen) in epidemiologischen Registern liegt (Robert-Koch-Institut, Krebsregister).

Obwohl das kolorektale Karzinom eines der häufigsten Malignome darstellt, ist bis heute nur wenig bekannt über die Genese, die Prognose und das Überleben von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen. In der Literatur wird meist nur von einem seltenen und späten Phänomen gesprochen (Go et al). Die wenigen Daten zu diesem Thema stammen meist aus retrospektiven post-mortem-Studien (Weiss et al, Temple et al) oder aus Abteilungen für Neurochirurgie und Strahlentherapie, die die Ergebnisse einer untersuchten Therapiemethode an einem selektionierten Patientenkollektiv präsentieren (Wronski et al, Windsor et al, Bartelt et al, Schoeggel et al, Amichetti et al, Vogelbaum et al).

Epidemiologische Analysen zeigen, dass die Inzidenz von ZNS-Metastasen beim KRK in den letzten Dekaden angestiegen ist (Tabouret et al, Nieder et al 2009). Ein Grund hierfür liegt möglicherweise in der höheren Detektionsrate durch den Fortschritt in diagnostischen Verfahren und in der Verfügbarkeit immer präziserer

neuroradiologischer Bildgebungstechnik (Tabouret et al, Nieder et al 2009). Ein weitaus wichtigerer Grund wird in den optimierten Therapiestrategien des zugrundeliegenden Primärtumors und dessen Fernmetastasen vermutet. Diese ermöglichen längere Überlebenszeiten und lassen den Patienten das Entstehen der ZNS-Metastasierung als Spätmanifestation der Systemerkrankung erleben (Sundermeyer et al, Damiens et al, Bernardi et al). Unterstrichen wird diese Annahme durch die Beobachtung, dass die Zeitspanne von (m)KRK-Erstdiagnose bis zur Diagnose der ZNS-Metastasierung über die Zeit zugenommen hat, was sich möglicherweise durch den Fortschritt der Systemtherapien und lokalen Metastasentherapien erklären lässt (Nieder et al 2009).

In einer eigenen Arbeit initiierten wir in Zusammenarbeit mit dem Tumorregister München (TRM) eine Studie mit der bis dato größten publizierten Patientenzahl mit mKRK und ZNS-Metastasen (n=228, Beobachtungszeitraum 1998 bis 2011). Ziel war es, dieses Patientenkollektiv zu charakterisieren, die beobachteten Überlebenszeiten zu analysieren und prognostische Subgruppen zu identifizieren (Michl et al [F]). In einem Folgeprojekt wurden Tumorproben von Primarien histo- und molekularpathologisch auf prognostische Marker hin untersucht (Michl et al [G]). Die Ergebnisse der eigenen Untersuchungen sind im Folgenden unter den jeweiligen Kapiteln beschrieben und werden im jeweiligen Kontext zu Daten aus der Literatur diskutiert.

4.1. Das extrakranielle Metastasierungsmuster bei Vorliegen von ZNS-Metastasen vom KRK

Wenn ZNS-Metastasen diagnostiziert werden, findet sich der Primarius häufiger im distalen Kolon und Rektum (zwei Drittel) als im proximalen Kolon (ein Drittel) (Hammoud et al, Farnell et al, Damiens et al, Michl et al [F]). Dies entspricht der normalen Häufigkeitsverteilung der kolorektalen Primarien. In über 60% der Fälle liegt

bei Erstdiagnose des KRK ein Stadium T3/4 N+ G2 ohne Fernmetastasierung (M0) vor (Michl et al [F]). Am eigenen Patientenkollektiv konnten wir zeigen, dass 197 von 228 Patienten (86,4%) extrakranielle Metastasen neben der ZNS-Metastasierung aufwiesen. Hiervon entwickelten sich 69,3% der ZNS-Metastasen metachron zur extrakraniellen Metastasierung, d.h. als letzter Schritt der Metastasierung. Umgekehrt entwickelte kein Patient nach der ZNS-Metastasierung eine extrakranielle Metastasierung (s. Abb. 13, S.46; Michl et al [F]). Aufgrund der Tatsache, dass auch andere Autoren ähnlich hohe Zahlen für extrakranielle Manifestationen beschreiben (80-95%), ist anzunehmen, dass das ZNS einen späten bzw. den letzten Metastasierungsort darstellt (Farnell et al, Damiens et al).

Die extrakranielle Metastasierung findet sich in etwa 25-40% in nur einem Organ, in weiteren 25-40% in zwei oder mehreren Organen (Farnell et al, Michl et al [F]). Das am häufigsten betroffene Organ ist die Lunge (63-80%) (Farnell et al, Chyun et al, Cascino et al, Temple et al, Kye et al), das zweithäufigste die Leber (15-30%) (Hammoud et al, Farnell et al). Qiu et al. arbeiteten in einer SEER[*Surveillance, Epidemiology, and End Results Program*]-Analyse an 46.027 mKRC-Patienten eindrücklich heraus, dass Patienten mit Lungenmetastasen ein signifikant höheres Risiko aufweisen ZNS-Metastasen zu entwickeln als Patienten ohne Lungenmetastasen (3,1% vs. 0,1%, $p < 0,001$) (Qiu et al). Dieses Risiko war deutlich höher als bei Vorliegen von Lebermetastasen. Eine ähnlich starke Assoziation zwischen dem erhöhten Risiko für die Entwicklung von ZNS-Metastasen bei Vorliegen von Lungenmetastasen zeigten auch Yeager et al (HR 2,3; 95% CI 1,13–4,82; $p = 0,022$) (Yaeger et al).

In der von uns untersuchten Kohorte, in der alle Patienten bereits ZNS-Metastasen aufwiesen, waren die Häufigkeiten von Leber- und Lungenmetastasen vergleichbar (Leber 45%, Lunge 42%; nur Leber 28%, nur Lunge 24%, nur Leber und Lunge 10%).

Diese Ergebnisse stehen prinzipiell nicht im Widerspruch mit den Ergebnissen von Qui et al und Yaeger et al, die ihre Daten aus epidemiologischen Longitudinalstudien erhoben haben. Die in unserem Kollektiv gleiche Häufigkeitsverteilung von Leber- und Lungenmetastasen, die etwas im Gegensatz zu den älteren Daten aus den Dekaden 1970 bis 2000 steht (Farnell et al, Chyun et al, Cascino et al, Temple et al, Kye et al, Hammoud et al), könnte in den heute deutlich verbesserten Therapiemethoden von Lebermetastasen begründet sein.

Bei etwa 2-10% aller Patienten mit ZNS-Metastasen vom KRK ist das ZNS der einzige Metastasierungsort (Hammoud et al, Cascino et al, Chyun et al, Damiens et al, Kye et al, Alden et al). In dem von uns untersuchten Kollektiv zeigte sogar ein überdurchschnittlich hoher Anteil von Patienten eine rein auf das ZNS beschränkte Metastasierung (31 von 228 Patienten, 13,6%, s. Abb. 13, Michl et al [F]).

4.2. Das intrakranielle Befallsmuster und die Symptome bei ZNS-Metastasen vom KRK

Die Angaben zu Anzahl und Lage der ZNS-Metastasen sind sehr limitiert, da solch präzise Angaben in epidemiologischen Registern nicht erfasst werden. Die Daten stammen meist aus Interventionsstudien von Strahlentherapeuten oder Neurochirurgen, die die Patienten einer entsprechenden Behandlung unterzogen. Dementsprechend werden nur therapiefähige Patienten erfasst, während Patienten mit multiplen bzw. disseminierten ZNS-Metastasen oder deutlich reduziertem Allgemeinzustand unterrepräsentiert sind. Trotz dieser Einschränkung werden im Folgenden die in der Literatur verfügbaren Daten hierzu vorgestellt und diskutiert.

In etwa zwei Drittel der Fälle liegt nur eine singuläre ZNS-Metastase vor, in etwa ein Drittel der Fälle multiple ZNS-Metastasen (Farnell et al, Kye et al). Im Median finden

sich zwei ZNS-Metastasen (Streuung: eine bis sieben ZNS-Metastasen) (Fountzilias et al). Bei solitärer oder singulärer ZNS-Metastasierung ist die Filia in etwa zwei Drittel der Fälle supratentoriell (Großhirn) und in etwa einem Drittel der Fälle infratentoriell (Kleinhirn, Hirnstamm) lokalisiert (Farnell et al, Cascino et al). Bei multipler Metastasierung findet man in 50% der Fälle Manifestationen beidseits des Tentoriums cerebri (Farnell et al). Die besten Daten zum intrazerebralen Verteilungsmuster wurden von Delattre et al veröffentlicht und beschreiben die Lage in 80% im Großhirn, in 15% im Kleinhirn und in 5% im Hirnstamm (Delattre et al). Letztere stimmen am besten mit den Ergebnissen aus unserem Patientenkollektiv überein, in dem wir die Metastasen in über 90% im Großhirn lokalisiert fanden (Michl et al [F]).

Da beim mKRR keine diagnostischen Empfehlungen zum ZNS-Screening im Rahmen des Stagings existieren, werden über 95% aller mKRR-Patienten erst beim Auftreten von neurologischen Symptomen diagnostiziert. In Abhängigkeit der Literatur unterscheiden sich die Angaben zur Häufigkeit der auftretenden Symptome teilweise stark: Körperliche Schwäche bzw. Fatigue (44%), Gangstörungen (5-59%), Kopfschmerzen (27-51%), Hemiparese (38%), Sprachstörungen (10-30%), Gedächtnisstörungen (27%), Krampfanfälle (5-24%, hiervon jeweils die Hälfte generalisiert und fokal), Verwirrtheit oder Somnolenz (5-19%), Übelkeit und Erbrechen (3%) (Farnell et al, Kye et al, Damiens et al).

4.3. Überlebenszeitanalysen von Patienten mit mKRR und ZNS-Metastasen - Gesamtkollektiv und Subgruppen

In der Literatur wird für mKRR-Patienten mit ZNS-Metastasen ein medianes Überleben von 26 bis 38 Monaten ab dem Zeitpunkt der Erstdiagnose des KRR berichtet (Hammoud et al, Fountzilias et al, Michl et al [F]). Die ZNS-Metastasen werden im

Median 24–32 Monate nach Erstdiagnose des KRK diagnostiziert (Michl et al [F], Kye et al, Damiens et al). Ab dem Zeitpunkt der Diagnose von ZNS-Metastase(n) leben die Patienten im Median noch 2 bis 6 Monate (Wronski et al, Windsor et al, Alden et al, Jiang et al, Kruser et al, Schoeggl et al, Damiens et al). Die Ergebnisse unserer eigenen Analyse bestätigen die bisher publizierten kurzen Überlebenszeiten in der internationalen Literatur (Michl et al [F], Abb. 11).

Abb. 11: Überlebenszeit-Analysen von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen (Patientenkollektiv TRM)

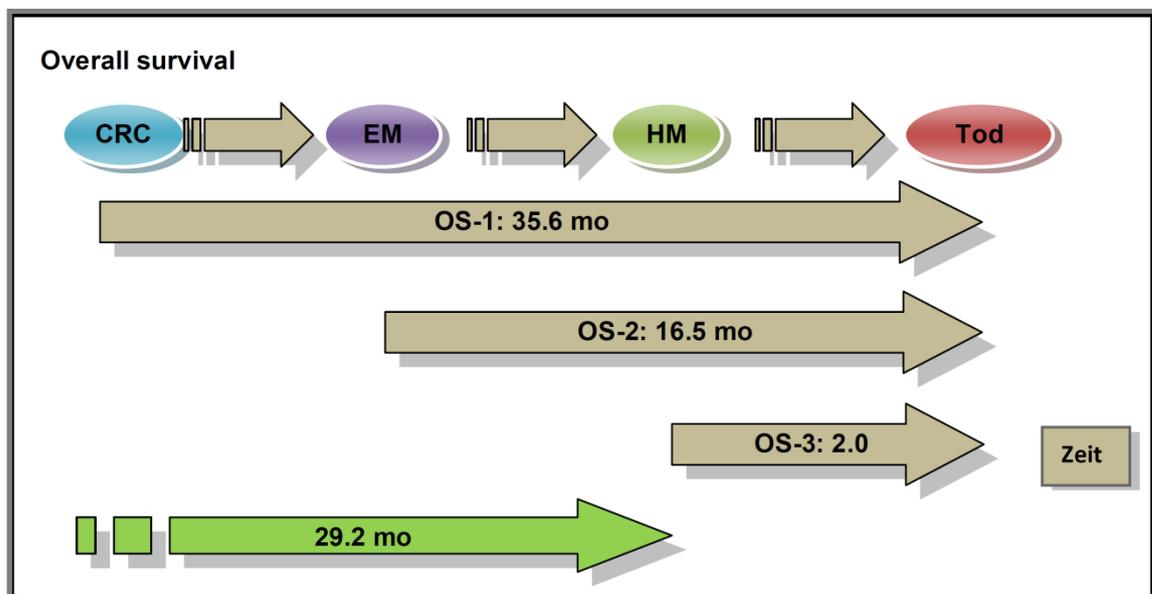


Abb. 11: Überlebenszeit-Analysen von 228 KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen aus dem Tumorregister München (1998-2011) (Michl et al [F]). OS-1, Überleben ab dem Zeitpunkt der Erstdiagnose KRK; OS-2, Überleben ab dem Zeitpunkt der extrakraniellen Metastasierung; OS-3, Überleben ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung. EM, extrakranielle Metastasierung; HM, Hirnmetastasen.

Das 6-Monats-Überleben von 26-40% und das 1-Jahres-Überleben von 11-13% ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung sind als äußerst ungünstig anzusehen (Kruser et al, Michl et al [F]). Sind die ZNS-Metastasen nicht therapierbar, reduziert sich die Überlebenszeit auf nur 2 Monate (Damiens et al). Somit leben Patienten mit mKRK und ZNS-Metastasen deutlich kürzer als Patienten mit ZNS-Metastasen von anderen

Malignomen. Die Ursache hierfür ist unbekannt. Als mögliche Erklärung ziehen Berghoff et al den deutlich höheren Proliferationsindex (ki67, Median 64%) in ZNS-Metastasen vom Kolorektum im Vergleich zu anderen soliden Malignomen heran (Berghoff et al). Im Gegensatz dazu berichten einzelne Autoren in Fallserien von längeren Überlebenszeiten bei hoch selektionierten Patienten, deren ZNS-Metastasen intensiv therapierbar sind (Go et al, Hammoud et al, Damiens et al, Jiang et al, Kye et al), oder beschreiben sogar Langzeit-Überlebende mit Überlebenszeiten bis zu vielen Jahren (Farnell et al, Kye et al).

Wir analysierten in unserem Patientenkollektiv zudem die Überlebenszeiten nach (1) den befallenen extrakraniellen Organen (Lungen- vs. Lebermetastasierung) (Abb. 12) sowie (2) dem zeitlichen Auftreten der extra- und intrakraniellen Metastasierung (Abb. 13 und 14). Hier zeigte sich, dass eine Lungenmetastasierung deutlich später im Krankheitsverlauf auftrat als eine Lebermetastasierung (24,3 Monate vs. 7,5 Monate). Das Zeitintervall zwischen Lungen- und ZNS-Metastasen war deutlich kürzer als das zwischen Leber- und ZNS-Metastasen (19,6 Monate vs. 27,1 Monate; HR 0,74; 95%CI 0,53-1,04; $p=0,08$). Die Patienten mit Lungenmetastasen wiesen jedoch insgesamt ein signifikant längeres Überleben auf als die Patienten mit Lebermetastasen (43,9 Monate vs. 34,6 Monate; HR 1,74; 95%CI 1,23-2,47; $p=0,002$) (Abb. 12). Sogar ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung unterschied sich das Überleben noch in Abhängigkeit vom extrakraniellen Metastasierungsmuster (3,8 Monate [Lunge] vs. 1,1 Monate [Leber]; HR 1,46; 95%CI 1,04-2,06; $p=0,028$). Patienten mit kombinierter Leber- und Lungenmetastasierung (nicht mit abgebildet) wiesen in allen untersuchten Zeitintervallen ein signifikant ungünstigeres Überleben auf als Patienten mit Leber- oder Lungenmetastasierung (unpublizierte Daten aus: Doktorarbeit von Herrn Johannes Thurmaier).

Abb. 12: Überlebenszeit-Analysen von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen unterteilt nach dem extrakraniellen Metastasierungsmuster (Lunge, Leber)

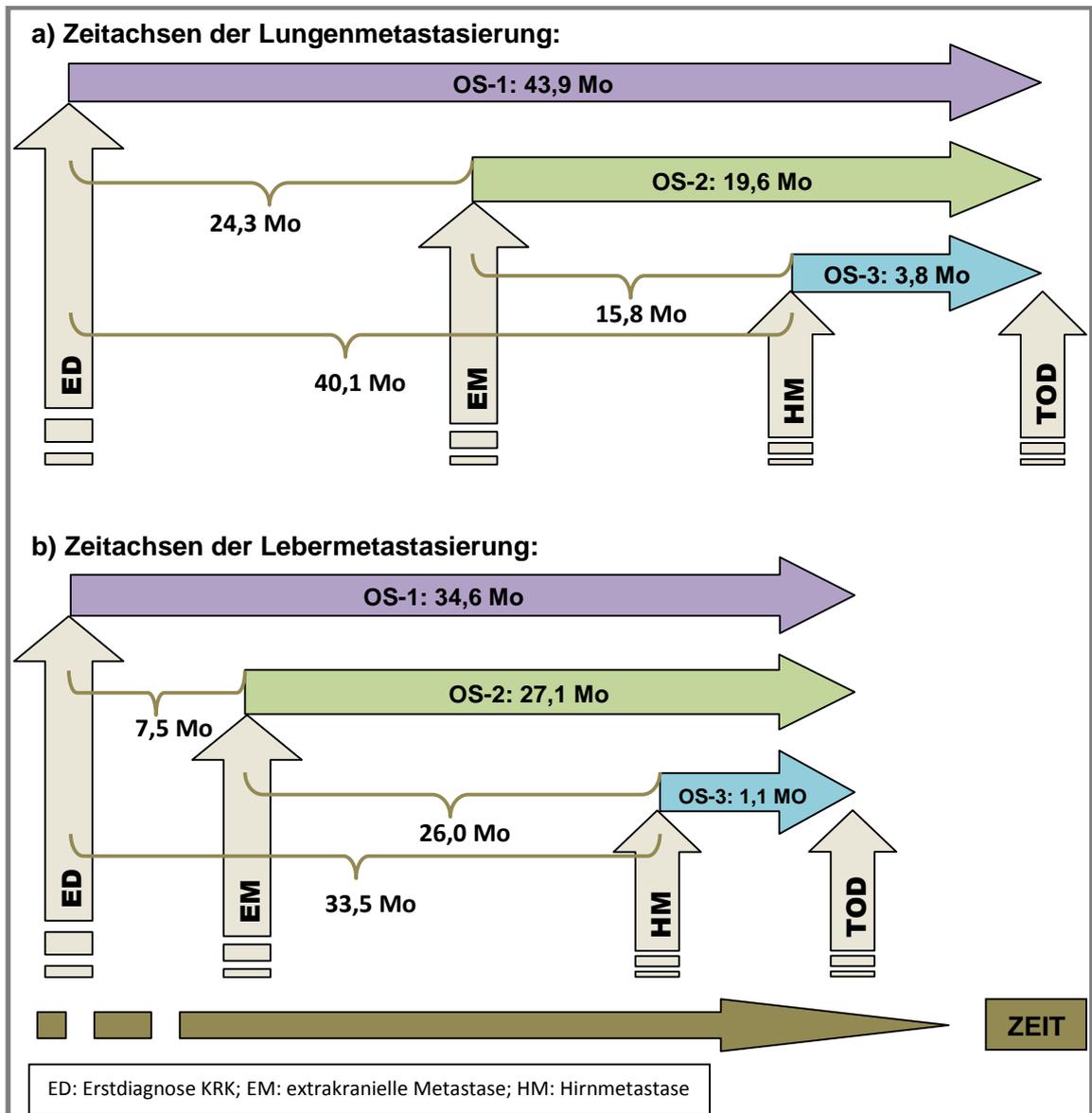


Abb. 12: Überlebenszeit-Analysen von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen unterteilt nach dem extrakraniellen Metastasierungsmuster (Lunge vs. Leber). OS-1, Überleben ab dem Zeitpunkt der Erstdiagnose KRK; OS-2, Überleben ab dem Zeitpunkt der extrakraniellen Metastasierung; OS-3, Überleben ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung. EM, extrakranielle Metastasierung; HM, Hirnmetastasen (unpublizierte Daten; Doktorarbeit von Herrn Johannes Thurmaier)

Wir bildeten an unserem Patientenkollektiv zudem sechs Subgruppen entsprechend des zeitlichen Auftretens der extra- und intrakraniellen Metastasierung (synchron vs. metachron) (Abb. 13 und 14). Die besten Überlebenszeiten wiesen diejenigen Patienten

auf, deren extra- und intrakranielle Metastasierung jeweils metachron, d.h. sukzessive im Krankheitsverlauf aufgetreten war. Die ungünstigste Gruppe bildeten die Patienten mit synchroner extra- und intrakranieller Metastasierung. Ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung war das Überleben in allen Subgruppen ungünstig. Eine Ausnahme bildete hier die kleine Gruppe der Patienten mit synchroner ZNS-Metastasierung ohne extrakranielle Metastasierung. Dies ist möglicherweise auf eine fehlende Schwächung der Patienten durch Vortherapien und einen damit einhergehenden guten Allgemeinzustand zurückzuführen.

Abb. 13: Einteilung von Patienten mit KRK und ZNS-Metastasen nach dem zeitlichen Auftreten von extra- und intrakraniellen Metastasen

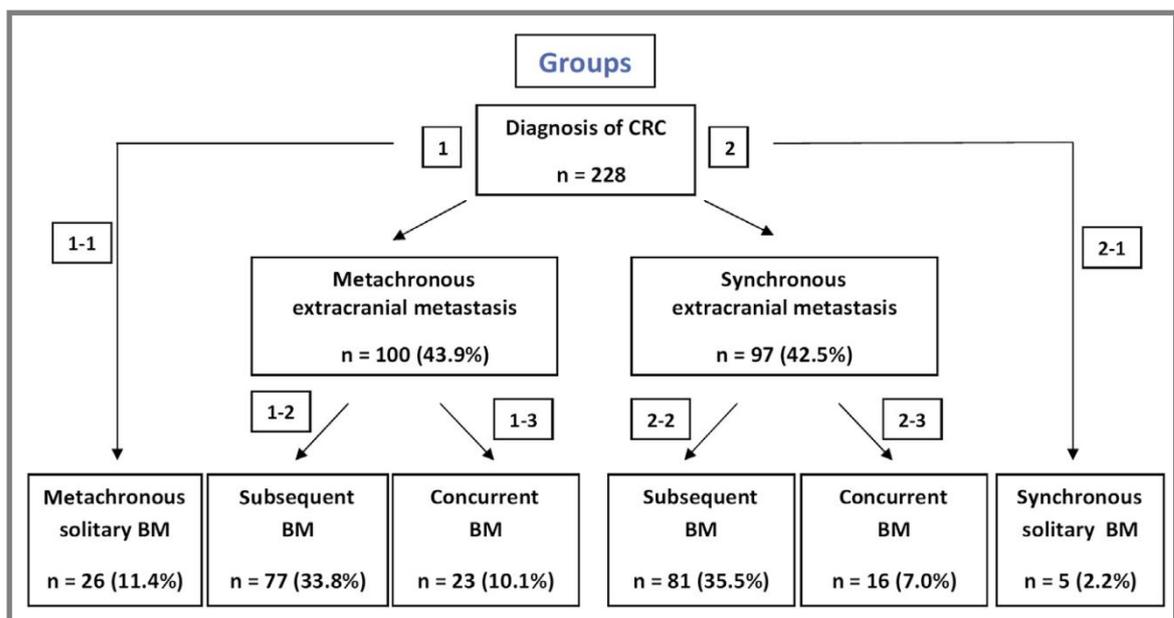
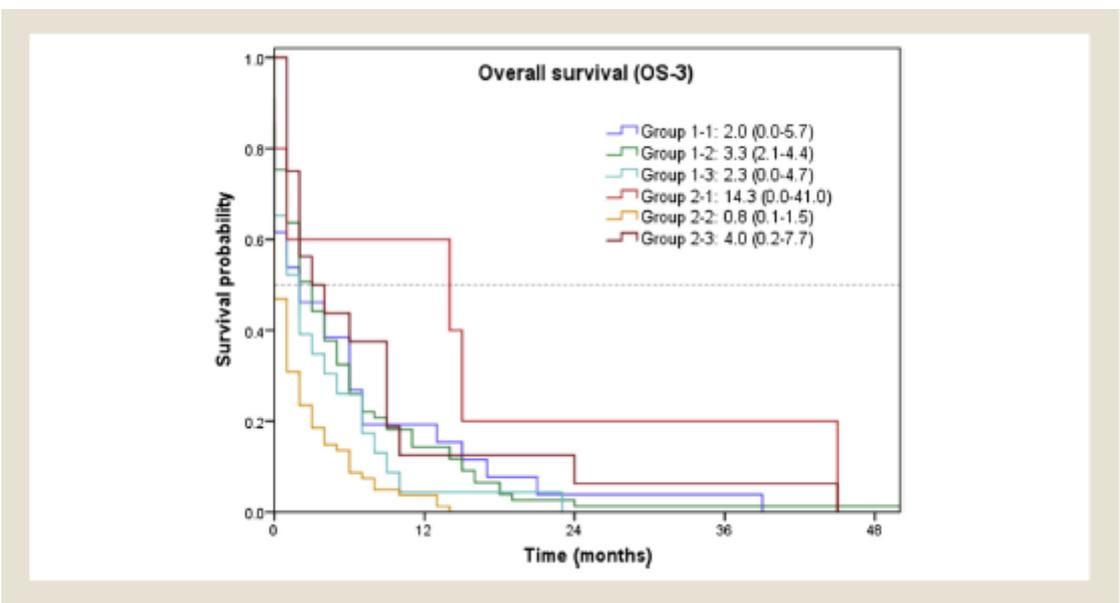
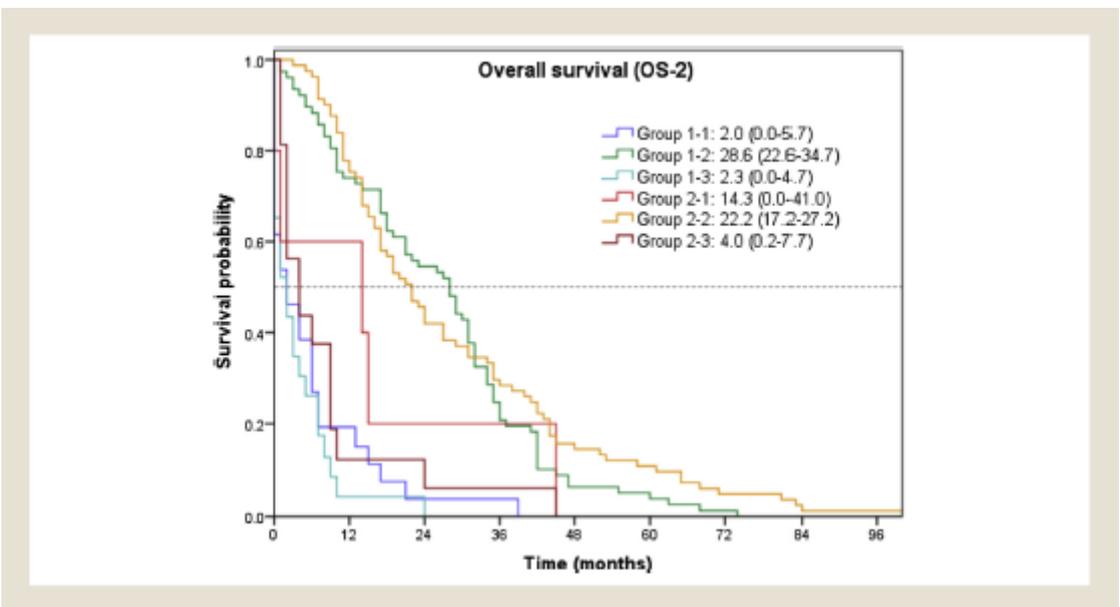
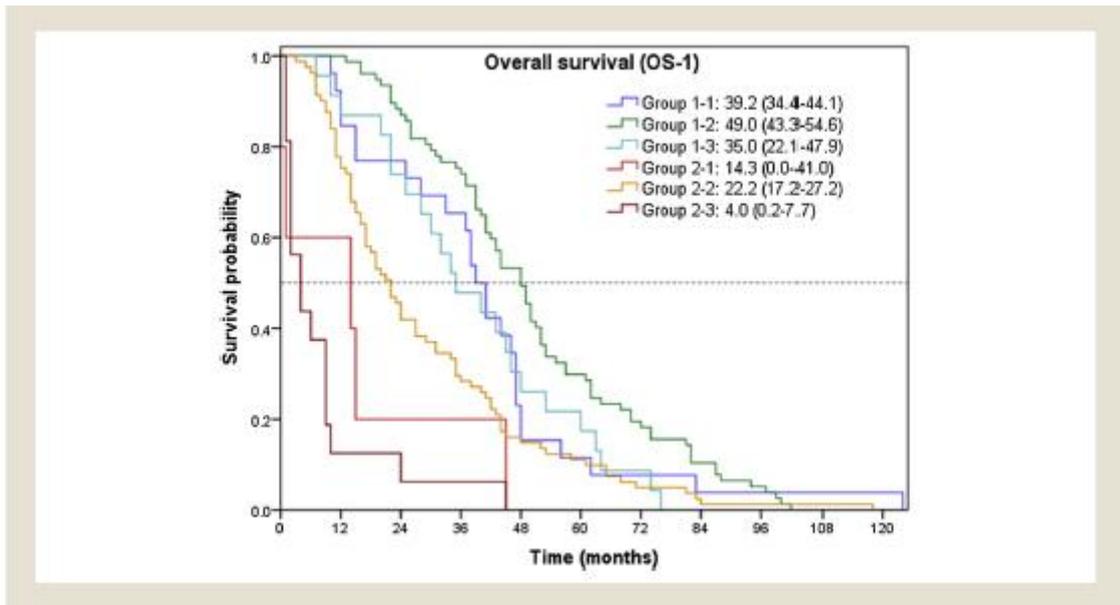


Abb. 13: Einteilung von Patienten mit KRK und ZNS-Metastasen nach dem zeitlichen Auftreten von extra- und intrakraniellen Metastasen (Michl et al [F]). Es wurde eine Unterscheidung nach metachronem und synchronem Auftreten von extra- und intrakraniellen Metastasen vorgenommen und daraus prognostische Subgruppen gebildet. BM, *brain metastasis*

Abb. 14 (S. 46): Überlebenskurven der 6 Patienten-Subgruppen ab Erstdiagnose des KRK (OS-1), ab der Diagnose der extrakraniellen Fernmetastasierung (OS-2) und ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung (OS-3)



Legende zu Abb. 14 (S. 46): Überlebenskurven der 6 Patienten-Subgruppen ab Erstdiagnose des KRK (OS-1), ab der Diagnose der extrakraniellen Fernmetastasierung (OS-2) und ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung (OS-3). Subgruppen unterteilt nach Abb. 13, S. 45 (Michl et al [F])

4.4. Klinische prognostische Faktoren für das Überleben mit ZNS-Metastasen und KRK

In der Literatur werden zwei Prognose-Scores eingesetzt, die beide in der strahlentherapeutischen Szene entwickelt wurden. Sie sollen helfen abzuschätzen, welche Patienten mit ZNS-Metastasen von strahlentherapeutischen Interventionen profitieren: (1) der RPA (*Recursive Partitioning Analysis*), der das Patientenalter, den Allgemeinzustand und das Ausmaß der extrakraniellen Metastasierung einbezieht (Gaspar et al 2000, Gaspar et al 2007). Ein Nachteil des RPA ist die fehlende Einbindung des zugrundeliegenden Primärtumors. (2) der DS-GPA (*Diagnosis-Specific Graded Prognostic Assessment*), der für jedes Malignom bzw. jede Malignomgruppe individuelle Prognosefaktoren formuliert. Für gastrointestinale Primarien nennt der DS-GPA als einzigen signifikanten Prognosefaktor den Karnofsky-Index (Sperduto et al, Nieder et al 2016).

Der Allgemeinzustand des Patienten wird in klinisch-epidemiologischen Registern in der Regel nicht miterfasst. Auch für unser Patientenkollektiv lag hierzu leider keine Information vor. Es wurden stattdessen die vorliegenden Angaben zu Patienten- und Tumorcharakteristika auf ihren prognostischen Stellenwert hinsichtlich des Überlebens untersucht. In der Literatur variieren die Aussagen zum prognostischen Stellenwert klinischer Patienten- und Tumorcharakteristika teils stark zwischen den unterschiedlichen Autoren. Als prognostisch günstige Faktoren für ein längeres Überleben werden aber häufig ein guter Allgemeinzustand (ECOG *performance status* 0 und 1 bzw. Karnofsky Index $\geq 70\%$), ein jüngeres Alter < 65 (60) Jahre, das Vorliegen

solitärer und singulärer ZNS-Metastasen sowie die Abwesenheit von extrakraniellen Organmetastasen und hier im Speziellen von Knochenmetastasen beschrieben (Farnell et al, Nieder et al 2016, Gaspar et al 2010, Michl et al [F]). Ein guter Allgemeinzustand scheint hierbei den wichtigsten aller Prognosefaktoren darzustellen (Gaspar et al 2000, Sperduto et al). Unsere eigenen Daten lieferten als einzigen prognostischen Faktor - unabhängig vom Krankheitsstadium - das Patientenalter (Michl et al [F]).

Günstig auf das Überleben wirkt sich zudem der Faktor „Therapierbarkeit der ZNS-Metastasen“ aus, d.h. ob der Patient sowohl hinsichtlich seines Allgemeinzustands als auch hinsichtlich der Lage und Größe der ZNS-Metastase(n) resektabel bzw. strahlentherapeutisch behandelbar ist. Ungünstig für die Therapierbarkeit und somit letztlich für das Überleben ist vor allem das Vorliegen multipler und multilokulärer ZNS-Metastasen (z.B. bilateral, bilobär, supra- und infratentoriell) (Kye et al). Interessanterweise wurde auch ein erhöhter CEA-Wert von >5ng/ml als ungünstiger Faktor für das Überleben mit ZNS-Metastasen beschrieben (Kye et al). Letzteres ist a.e. der erhöhten extrakraniellen Tumorlast bzw. der aggressiveren Tumorbilogie extrakranieller Tumormanifestationen zuzuschreiben.

Das Stadium des Primärtumors, das extrakranielle Befallsmuster, das Patientengeschlecht sowie die Zeit von KRK-Erstdiagnose bis zum Auftreten der ZNS-Metastasierung scheinen prognostisch eher irrelevant zu sein (Hammoud et al, Damiens et al). Interessanterweise konnte auch für die Lage der Metastase(n) im ZNS und für das Auftreten von neurologischen Symptomen bisher keine prognostische Relevanz nachgewiesen werden (Farnell et al, Kye et al).

Seit Kurzem liegen starke Daten dafür vor, dass die Lokalisation des Primarius in rechts- oder linksseitigem Kolon (Grenze kurz vor lienaler Flexur) prognostisch relevant ist. Patienten mit Tumoren im rechtsseitigen Kolon zeigen ein deutlich kürzeres PFS und OS sowie geringere Ansprechraten auf Systemtherapien als solche im

linksseitigen Kolon (Arnold et al, Tejpar et al, von Einem et al 2014). Wir haben daher erstmals in der Literatur unser mKRRK-Patientenkollektiv mit ZNS-Metastasen nach dieser Variable untersucht. Patienten mit linksseitig gelegenen Karzinomen lebten ab Diagnose der ersten Fernmetastase signifikant länger als Patienten mit rechtsseitig gelegenen Karzinomen (17,9 Monate vs. 11,2 Monate; HR 0,69; 95%CI 0,50-0,96; $p=0,026$). Keinen Unterschied zeigte sich jedoch im Überleben ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung (noch unpublizierte Daten aus der Doktorarbeit von Herrn Johannes Thurmaier). Sobald jedoch ZNS-Metastasen auftreten, verlieren die prognostischen Biomarker offensichtlich ihre Relevanz.

4.5. Theorien zur Entstehung von ZNS-Metastasen beim KRRK

Die rein mechanisch bzw. hämodynamisch begründeten Hypothesen von Ewing (1940) und Casino (1983), nach denen die Tumorzell-Absiedelungen im ZNS rein hämatogen durch die Ablage von Tumoremboli entlang der vaskulären Versorgungsgebiete erklärt wurden, gelten inzwischen als überholt (Ewing et al, Cascino et al). Im Gegensatz dazu behält weiterhin die bereits im Jahre 1889 von Stephen Paget aufgestellte *Seed-and-Soil*-Theorie zumindest teilweise ihre Gültigkeit. Demnach kann eine Tumorzelle (*seed*, Saat) nur dann in einem Zielorgan (*soil*, Ackerboden) anwachsen, wenn dieses Zielorgan eine günstige *Microenvironment* für die Tumorzelle aufweist (Fidler et al). Ein ZNS-spezifisches *Homing* und die direkte Interaktion der Tumorzellen mit der neuronalen Substanz sind die derzeit stärksten Erklärungen für die Entwicklung von ZNS-Metastasen und die moderne Auslegung der *Seed-and-Soil*-Theorie. Man vermutet jedoch, dass beide Theorien ihre Berechtigung haben, denn das Verteilungsmuster der Metastasen im ZNS korreliert mit dem Ausmaß von Blutfluss und Gewebenvolumen (80% im Großhirn, 15% im Kleinhirn und 5% im Hirnstamm) (Delattre et al). Das ZNS

bietet eine Umgebung, die sich substanzial von allen anderen Organen unterscheidet. Die Faktoren, welche die Ansiedelung und Proliferation von Tumorzellen im ZNS unterstützen oder hemmen, sind praktisch nicht verstanden. Reaktive Astrozyten und Mikroglia scheinen jedoch im direkten Kontakt mit den eingedrungenen Tumorzellen zu stehen und den Prozess der Metastasenbildung sogar zu unterstützen (Lorger et al, Fitzgerald et al, Joyce et al, Pukrop et al). Andere Autoren sehen die Ursache für das Metastasenwachstum im ZNS eher in der Interaktion mit der zerebralen Mikrovaskularisation als mit den Glia (Caponell et al).

Brastianos et al zeigten mittels whole-exome-sequencing an 86 Gewebeproben von ZNS-Metastasen und zugehörigem Primarius sowie normalem Organgewebe (leider nur vier KRK-Patienten), dass alle Metastasen einer sogenannten *branched evolution* folgen. Dieser Begriff besagt, dass sich Primärtumor und Metastase zwar gemeinsame Vorfahren teilen, sich aber mit der Zeit unabhängig voneinander weiter entwickeln. Die Autoren fanden bei 53% aller Patienten andere Alterationen im ZNS-Metastasengewebe als im zugehörigen Primariusgewebe (Brastianos et al). Die Autoren postulieren zudem, dass die Anzahl von *Driver*- und *Passenger*-Mutationen zunimmt. Auch Xie et al zeigten mittels *whole-genome-sequencing* Analysen von Primarius- und Metastasengewebe zweier KRK-Patienten unterschiedliche klonale Entwicklungsmuster (Xie et al). Im Gegensatz hierzu zeigen Aprile et al eine sehr hohe Konkordanzrate (95,1%) des molekularen Profils von kolorektalem Primariusgewebe und dazugehöriger ZNS-Metastase (Aprile et al 2017).

Die Arbeitsgruppe um Yaeger et al aus dem Memorial Sloan and Kettering Cancer Center in New York konzentrierte sich im Speziellen auf kolorektale Malignome, und zeigte, dass das Vorliegen einer *RAS*-Mutation und einer *PIK3CA*-Mutation signifikant mit einer höheren kumulativen Inzidenz für das Auftreten von ZNS-Metastasen assoziiert war (*RAS*-Mutation: 1.4% vs. 0.2%; $p < 0.01$; *PIK3CA*-Mutation: 1.4% vs.

0.8%, $p=0.0013$). Der *RAS*-Mutationsstatus blieb in der Multivariat-Analyse weiterhin ein unabhängiger prognostischer Faktor für die Entwicklung von ZNS-Metastasen (HR 3,7; 95%CI 1,7–8,1; $p<0,01$) (Yaeger et al). Auch El-Deiry et al zeigten mittels *molekularem Profiling* an 6.892 kolorektalen Tumorproben und entsprechendem Metastasengewebe, dass Patienten mit ZNS-Metastasen die höchste Rate an KRAS-Mutationen im Vergleich zu anderen Organmetastasen aufwiesen (65% vs. 47%, $p<0.01$) (El-Deiry et al).

4.6. Der Stellenwert von somatischen Mutationen für die Ausbildung verschiedener Metastasierungsmuster

Der Mutationsstatus der Onkogene KRAS, BRAF, PIK3CA und NRAS scheint nicht nur prognostische und prädiktive Relevanz zu besitzen, sondern auch Einfluss zu nehmen auf die Art des metastatischen Phänotyps beim mKRK (Lipsyc et al 2015). Es treten bei RAS-Wildtyp beispielsweise häufiger Lebermetastasen, bei KRAS-Mutation häufiger Lungen-, ZNS- und Knochenmetastasen auf (Tie et al, Yaeger et al). Tie et al untersuchten die Prävalenz von KRAS-Mutationen in den unterschiedlichen Organmetastasen und fanden drastische Häufigkeitsunterschiede (KRAS-Mutation in Leber (32,3%), Lunge (62,0%) und ZNS (56,5%); $p=0,003$). Zum Zeitpunkt der Diagnose mKRK weist ein Patient mit KRAS-Mutation ein höheres Risiko auf, eine Lungenmetastasierung zu entwickeln, als bei Vorliegen eines KRAS-Wildtyp-Tumors (22% vs. 13%, $p<0.01$). Eine KRAS-Mutation ist demnach mit einer signifikant höheren kumulativen Inzidenz für Lungen-, Knochen- und ZNS-Metastasen vergesellschaftet und stellt einen unabhängigen prädiktiven Faktor dar für die Metastasierungswahrscheinlichkeit in diese Organe (Hazard Ratio für Metastasierungswahrscheinlichkeit in Lunge (HR 1,5), Knochen (HR 1,6) und ZNS (HR 3,7)) (Tie et al). Nach kurativer Resektion von kolorektalen Lebermetastasen ist

bei Vorliegen einer KRAS-Mutation nicht nur das RFS (*recurrence free survival*) und OS verkürzt (Karagkounis et al., Vauthey et al., Kemeny NE), sondern Rezidiv-Metastasen treten auch häufiger in nicht-hepatischen Organen wie in Lunge, ZNS und Knochen auf als in der Leber selbst (Kemeny et al, Tie et al).

Im Falle einer BRAF-Mutation, einem sehr ungünstigen prognostischen Faktor, kommt es häufiger zur Peritonealkarzinose und fernen Lymphknotenmetastasen als zu Lebermetastasen (Tran et al, Yokota et al, Lypsic et al). Patienten mit BRAF-Mutation weisen zudem bereits im lokalisierten Stadium häufiger ungünstige Eigenschaften auf wie eine Lymphgefäß- (L1) und Perineuralscheiden-Invasion (Pn1), einen positiven Lymphknotenstatus (N+) und ein *tumor budding* (mikroskopischer Nachweis von Tumorzellen oder Tumorzellgruppen in der Invasionsfront des Karzinoms). Ebenso ist die BRAF-Mutation häufiger mit ungünstigen histologischen Subtypen vergesellschaftet wie einem geringen Differenzierungsgrad (G3) oder einer muzinösen oder Siegelringzell-Histologie (Pai et al, Russo et al, Yaeger et al).

Die PIK3CA-Mutation beeinflusst den klinischen Verlauf nach dem heutigen Kenntnisstand nicht, tritt aber gehäuft zeitgleich mit KRAS-Mutationen auf und ist mit einer erhöhten Inzidenz an Lungen- und ZNS-Metastasen assoziiert (Yaeger et al, Russo et al). Man geht jedoch davon aus, dass diese starke Assoziation von PIK3CA-Mutation mit Lungen- und ZNS-Metastasen vielmehr durch die Ko-Mutation des (K)RAS-Gens begünstigt ist. Eine NRAS-Mutation bringt möglicherweise ein kürzeres Überleben mit sich, wird jedoch bisher nicht mit einem spezifischen Metastasierungsmuster in Zusammenhang gebracht (Wang et al 2013).

Der Mikrosatelliten-Status beeinflusst das Metastasierungspotenzial des Tumors ebenfalls substantiell. Patienten mit MSI-Karzinomen entwickeln signifikant seltener Fernmetastasen als Patienten mit MSS-Karzinomen (Malesci, et al). Demzufolge weisen Fernmetastasen fast immer eine MSS auf (Haddad, et al).

4.7. Untersuchung von prognostischen Gewebe-Biomarkern für die Entwicklung von ZNS-Metastasen vom KRK

Wir untersuchten daher in einem gemeinsamen Projekt mit den Kollegen der Pathologie der LMU diese molekularen Biomarker in unserem mKRK-Patientenkollektiv mit ZNS-Metastasen. Als Vergleichsgruppe diente eine mKRK-Patientenpopulation mit ausschließlich auf die Leber beschränkten Metastasen. Alle Patienten mit ZNS-Metastasen zeigten einen Mikrosatelliten-stabilen Tumor (MSS, positive hMLH1-Proteinexpression). Während etwa die Hälfte aller mKRK-Patienten mit ZNS-Metastasen eine Mutation im Exon 2 des KRAS-Gen zeigte (15 von 29; 51,7%), lag bei den Patienten mit alleinigen Lebermetastasen in großer Mehrheit ein KRAS-Wildtyp vor (26 von 36; 72,2%).

Abb. 15: Biomarker-Expression in Kolonkarzinomen mit ZNS-Metastasen

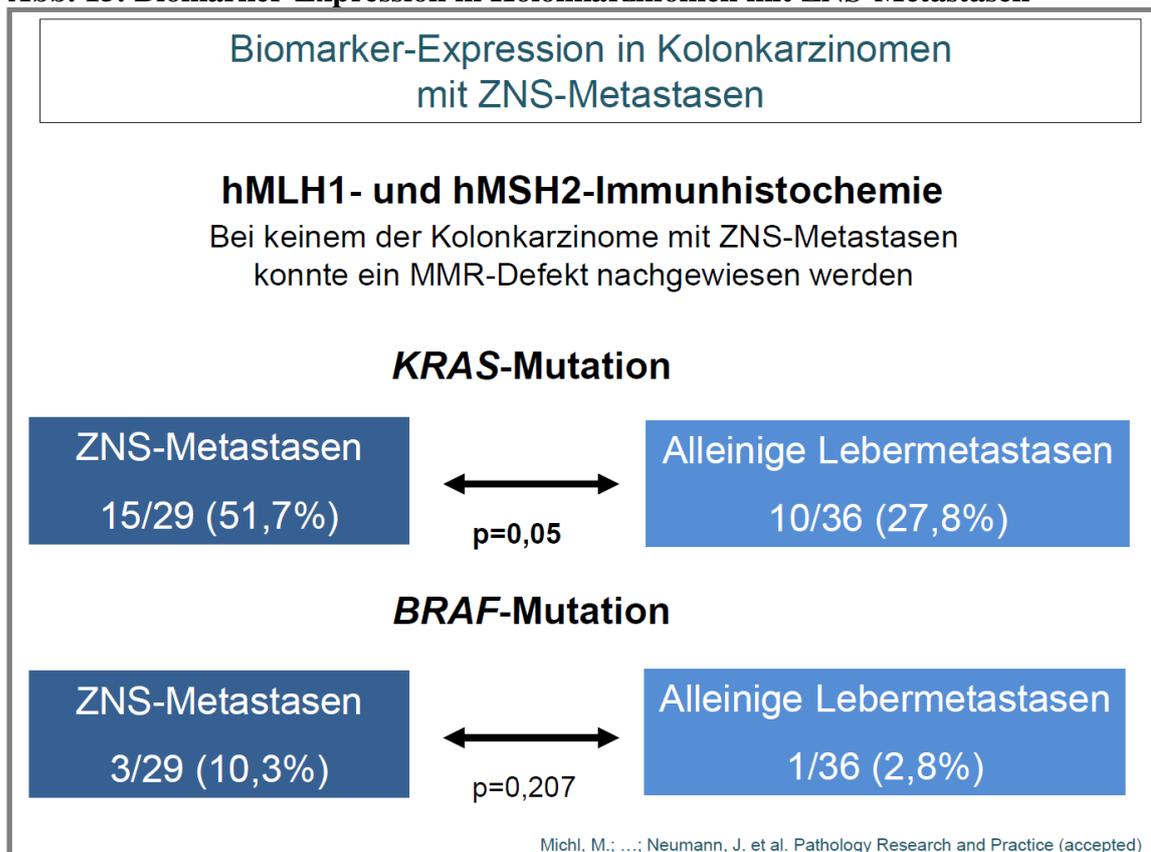


Abb. 15: Biomarker-Expression in Kolonkarzinomen mit ZNS-Metastasen. Folie aus Vortrag von Prof. Dr. T. Kirchner und PD Dr. J. Neumann, Pathologie der LMU, zur Präsentation unserer Ergebnisse auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) 2015. Mit freundlicher Genehmigung von Herrn PD Dr. J. Neumann zum Abdruck in dieser Schrift zur Veranschaulichung des Studiendesigns zur Verfügung gestellt.

Hier zeigte sich ein statistischer Trend hin zur Assoziation von KRAS-Mutationen und metastatischer Absiedelung von KRK-Metastasen im ZNS ($p=0,05$) (s. Abb. 15). Ein ähnlicher Trend wurde für das Vorliegen einer BRAF-Mutation beobachtet, erreichte aber vermutlich aufgrund der geringen Fallzahl keine statistische Signifikanz (10,3% vs. 2,8%; $p=0,21$) (Michl et al [G]).

In den letzten Jahren konnten beim KRK unterschiedliche Karzinogenesewege sowie morphologische und molekulare Subtypen definiert werden (Fearon, 2011; Hugen, et al., 2014; Jass, 2007). Einzelne Studien konnten zeigen, dass diese Subtypen mit unterschiedlichen klinischen Verläufen und verschiedenen Mustern der Metastasierung korrelieren. Vorrangig scheinen hier neben dem Mikrosatelliten-Status (Instabilität (MSI) vs. Stabilität (MSS)) (Benatti, et al. 2005) eine Deregulation im Wnt/ β -catenin-Signalweg (Fodde et al 2007, Horst et al 2009) sowie Alterationen im EGFR-Signalweg (Epidermal Growth-factor Receptor) (Horst et al 2012, Ormanns et al) eine wichtige Rolle zu spielen.

Wir untersuchten daher an beiden Patientenpopulationen weitere prognostische Biomarker, im Speziellen die nukleäre β -catenin Expression und die Stammzellmarker CD44 und CD133. Die Rationale hierfür war das 2005 publizierte Konzept der migrierenden Krebsstammzellen beim KRK, das insbesondere an der Karzinom-Invasionsfront eine starke nukleäre Expression von β -catenin beschreibt (Brabletz et al. 2005). In der mehrstufigen Karzinogenese analog der Adenom-Karzinom-Sequenz (Fearon et al 1990), nach der sich etwa 80-90% aller KRK entwickeln, kommt es in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung zu einer inaktivierenden Mutation im APC-Tumorsuppressorgen. In direkter Folge entsteht eine Deregulation im Wnt/ β -catenin-Signalweg (Clevers et al 2006 und 2012). Die Funktion des Wnt-Signalwegs liegt in der Regulation der Stabilität von β -catenin. Zu den Zielgenen des Wnt/ β -catenin-

Signalwegs gehören unter anderem die Stammzellmarker CD44 und CD133 (Wielenga et al. 1999; Katoh et al. 2007). Die resultierenden migrierenden Stammzellen könnten wesentlich zur Ausbildung von Fernmetastasen beitragen. Basierend hierauf war aus unserem Hause im Jahr 2012 ein einfacher Algorithmus publiziert worden, der das Metastasierungspotential von KRK unter Einsatz von nur drei Biomarkern (Mikrosatelliten-Status, Expression von β -catenin und von CD133) vorhersagen lässt (Neumann et al). Neumann et al zeigten, dass eine MSS und eine hohe Expression von β -catenin und CD133 in 94,4% mit dem Auftreten von Fernmetastasen assoziiert waren (Neumann et al).

Wir untersuchten daher die Gewebeproben (Primarius) unseres mKRK-Patientenkollektivs mit ZNS-Metastasen auf die genannten Krebsstammzellmarker und verglichen das Expressionsmuster mit dem Vergleichskollektiv (alleinige Lebermetastasierung). Eine starke nukleäre Expression von β -catenin sowie eine starke Expression von CD44 und CD133 waren in unserer Studie mit einer hämatogenen Metastasierung in die Leber, aber nicht mit einer Dissemination in das ZNS assoziiert (Abb. 16, A-C). Bei KRK-Patienten mit einer alleinigen ZNS Metastasierung konnte in keinem der Fälle eine starke CD133-Expression nachgewiesen werden (Abb. 16, F). Die Kombination der untersuchten Krebsstammzellmarker zeigte eine höhere Trennschärfe für die Vorhersage von unterschiedlichen Mustern der Fernmetastasierung ($p=0,000004$) (Abb. 17, Michl et al [G]).

Abb. 16: Korrelation der Expression von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 mit unterschiedlichen Metastasierungsmustern beim mKRK (Leber vs. ZNS)

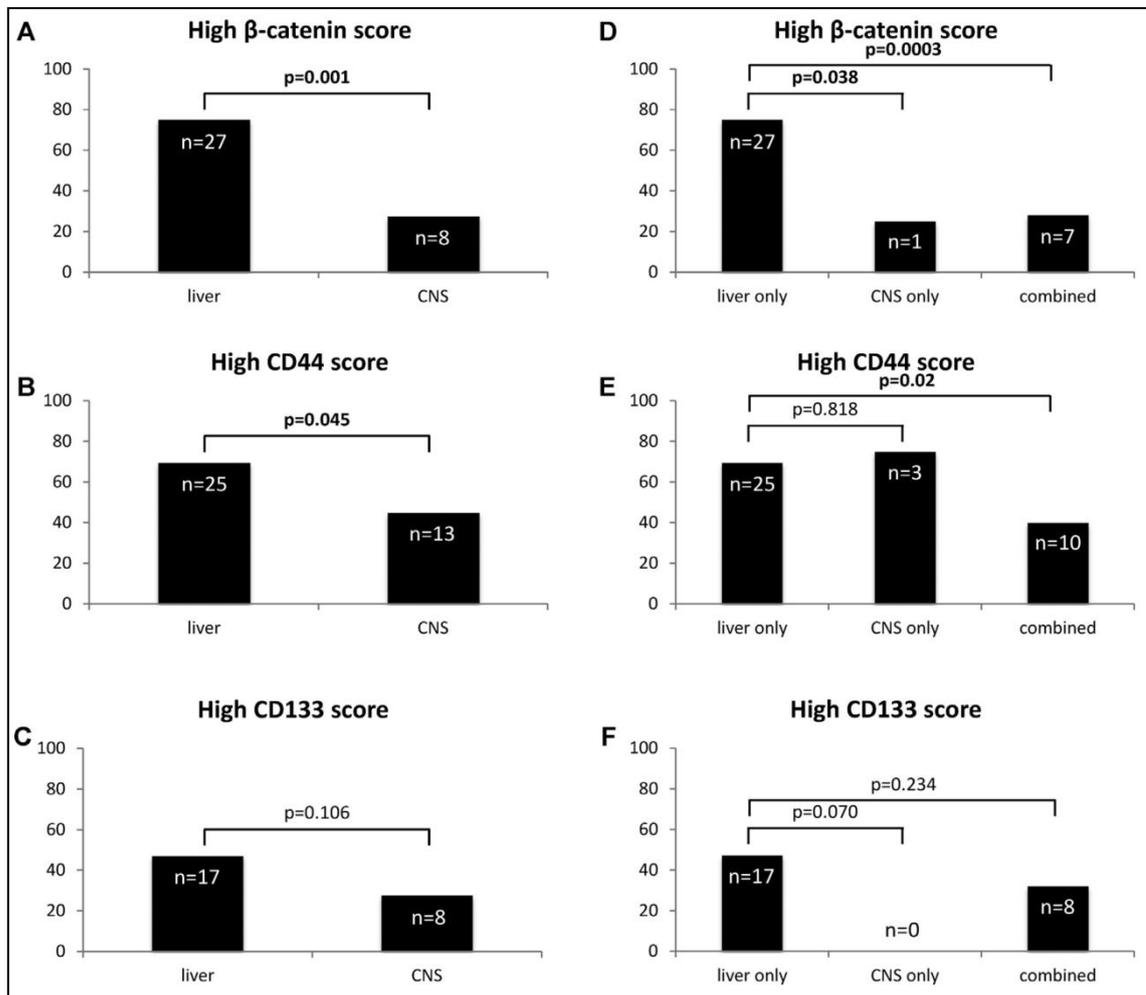


Abb. 16: Korrelation der unterschiedlichen Expressionsmuster von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 mit unterschiedlichen KRK-Metastasierungsmustern

A bis C: Expression von β -catenin (A), CD44 (B) und CD133 (C) bei KRK-Patienten mit alleinigen Lebermetastasen vs. ZNS-Metastasen.

D bis F: Expression von β -catenin (D), CD44 (E) und CD133 (F) bei KRK-Patienten mit alleinigen Lebermetastasen vs. alleinigen ZNS-Metastasen vs. gleichzeitig vorliegenden Leber- und ZNS-Metastasen (combined). (Michl et al [G])

Abb. 17 Kombination der Expressionsmuster von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 und Korrelation mit unterschiedlichen Metastasierungsmustern beim mKRK (Leber vs. ZNS)

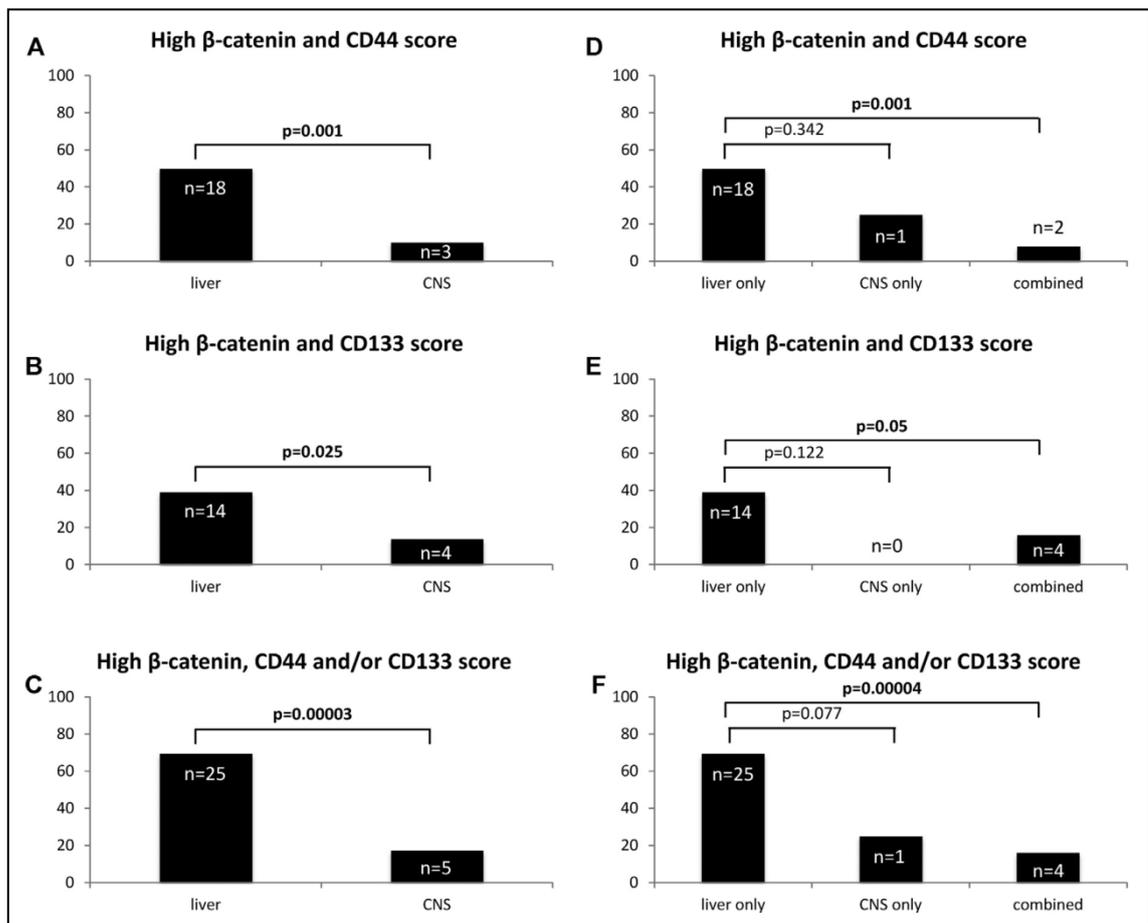


Abb. 16: Korrelation der Kombination aus den unterschiedlichen Expressionsmustern von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 mit unterschiedlichen KRK-Metastasierungsmustern

A bis C: Expression von β -catenin und CD44 (A), β -catenin und CD133 (B) und β -catenin und CD44 und/oder CD133 (C) bei KRK-Patienten mit alleinigen Lebermetastasen vs. ZNS-Metastasen.

D bis F: Expression von β -catenin und CD44 (D), β -catenin und CD133 (E) und β -catenin und CD44 und/oder CD133 (F) bei KRK-Patienten mit alleinigen Lebermetastasen vs. alleinigen ZNS-Metastasen vs. gleichzeitig vorliegenden Leber- und ZNS-Metastasen (combined). (Michl et al [G])

4.8. Therapieansätze für ZNS-Metastasen vom KRK

Die Therapie von kolorektalen ZNS-Metastasen unterscheidet sich nicht von der anderer Malignome. Die drei Säulen der ZNS-Metastasen-Therapie sind die neurochirurgische Resektion, die Strahlentherapie (Radiochirurgie, Stereotaxie oder Ganzhirnbestrahlung) und die Systemtherapie (symptomatisch mit Steroiden und/oder kausal mit Tumor-spezifischer Zytostase) (Owonikoko et al, Gaspar et al 2010, Kalkanis et al, Linksey et al). Bis heute wurden keine randomisierten Studien zur Therapie von ZNS-Metastasen beim KRK durchgeführt. Die Therapieentscheidung obliegt daher allein dem behandelnden Ärzteteam, das anhand von Allgemeinzustand des Patienten sowie nach Ausmaß, Anzahl, Lokalisation und Symptomatik der ZNS-Metastasen über das optimale therapeutische Vorgehen entscheidet.

Bei kolorektalen ZNS-Metastasen wurde mehrfach über den erfolgreichen Einsatz von systemischen Steroiden, die neurochirurgische Resektion (Wronski et al, Kye et al), die Radiochirurgie (Schoeggel et al) und die Ganzhirnbestrahlung (WBRT) (Farnell et al, Amichetti et al, Kruser et al) berichtet. Die längsten Überlebenszeiten erreichen Patienten durch eine Kombination aus neurochirurgischer Resektion und anschließender WBRT (Gu et al, Damiens et al, Fountzilias et al, Sperduto et al, Nieder et al 2016). Die Kombination ist der alleinigen neurochirurgischen Resektion und der alleinigen Radiatio eindeutig überlegen und wurde daher mit einer Level 1 Empfehlung versehen (Gaspar et al 2010, Kalkanis et al). Bei geeigneten Patienten (guter Allgemeinzustand und limitierte Anzahl von ZNS-Metastasen) kann durch diese Therapiesequenz das Überleben auf bis zu 12 bis 15 Monate verlängert werden (Kye et al, Hammoud et al, Farnell et al, Kalkanis et al, Owonikoko et al, Suzuki et al, Patchell et al).

Systemtherapien zeigen bei ZNS-Metastasen vom KRK nur äußerst geringe Wirkung. Viele Zytostatika, die beim KRK zwar Primärtumor und extrakranielle Metastasen

erfolgreich bekämpfen, scheinen keinen substanziellen Effekt auf ZNS-Metastasen zu haben. Die Ursache hierfür ist unbekannt. Man vermutet, dass das veränderte ZNS-*microenvironment* die Empfindlichkeit der Tumorzellen gegenüber Systemtherapien verändert. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass Astrozyten die Tumorzellen im ZNS direkt vor Chemotherapie-induzierter Toxizität beschützen, indem sie die durch 5-FU oder Platinderivate induzierte Apoptoserate senken (Kim et al). El-Deiry vermuten die schlechten Ansprechraten auf anti-EGFR-Therapien in der hohen KRAS-Mutationsrate von kolorektalem ZNS-Metastasengewebe (El-Deiry et al). Obwohl in-vitro und in-vivo Studien zeigen, dass ZNS-Metastasenzellen VEGF exprimieren, scheint nicht allein VEGF für die Tumor-Angiogenese im ZNS verantwortlich zu sein, denn eine medikamentöse VEGF-Blockade kann die Tumorlast nur teilweise reduzieren (Yano et al). Dennoch führt die Kombination von Systemtherapie mit lokalen Therapieverfahren bei ausgewählten Patienten zu einem verbesserten Überleben (Fountzilias et al). Finkelmeier et al beschreiben eine Fallserie von fünf Patienten mit mKRK und ZNS-Metastasen, die nach neurochirurgischer Resektion, Stereotaxie oder WBRT erfolgreich und sicher mit Bevacizumab-basierter Chemotherapie behandelt wurden (Finkelmeier et al).

Demnach sollte ausgewählten Patienten im klinischen Alltag eine intensive Therapie angeboten werden, idealerweise mit neurochirurgischer Resektion, WBRT und Systemtherapie, vor allem im Fall von persistierenden extrakraniellen Tumormanifestationen. Die genannten prognostischen Faktoren müssen in weiteren Studien validiert werden, bevor sie unterstützend in die Therapiefindung mit einbezogen werden zu können.

5. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorgestellte kumulative Habilitation zum nicht-resektablen mKRR bestand aus zwei Teilen und stellte im Wesentlichen Untersuchungen zum Serum-Tumormarker CEA sowie zu den selten auftretenden ZNS-Metastasen an.

Es konnte gezeigt werden, dass der CEA-Verlauf unter einer palliativen Systemtherapie mit der radiologischen Bildgebung nach RECIST korreliert. Eine enge Korrelation scheint für die radiologisch festgestellte *Best Response* und den maximalen CEA-Abfall vorzuliegen. Erstmals in der internationalen Literatur wurden Untersuchungen zur prognostischen und prädiktiven Aussagekraft der Tiefe der CEA-Remission analog des DpR-Modells angestellt. Die Tiefe der CEA-Remission wurde erstmals als prädiktiver Marker für die Therapieeffektivität und das Überleben beschrieben. Zudem wurden Untersuchungen zum prädiktiven Stellenwert des Baseline-CEA-Wertes hinsichtlich der Wirksamkeit einer anti-VEGF-gerichteten Therapie unternommen. Bis heute existiert kein prädiktiver Biomarker für VEGF-basierte Therapien, was in der Ära der personalisierten Krebstherapie stark kritisiert wird. In der FIRE3-Studie profitierten Patienten mit niedrigem Baseline-CEA-Wert mehr von einer anti-VEGF-Therapie als solche mit erhöhtem Baseline-CEA-Wert, vor allem hinsichtlich des OS. Im Falle eines erhöhten Baseline-CEA-Wertes erreichte eine anti-EGFR-Therapie eine tiefere CEA-Remission und eine bessere ORR und DCR als die anti-VEGF-Therapie. Beide von uns erstmals vorgestellten Modelle zur CEA-Remission und zum prädiktiven Stellenwert von CEA hinsichtlich einer anti-VEGF-Therapie wurden bereits von anderen Studiengruppen reproduziert und vor wenigen Monaten publiziert (Sunakawa et al, Yoshino et al). Diese sehr interessanten neuen Aspekte zum Stellenwert von CEA sollten Anlass sein für weitere Untersuchungen auf diesem Gebiet. In Folgeprojekten planen wir weitere Analysen an großen prospektiven Studienkollektiven durchzuführen.

Im bisher größten Kollektiv von Patienten mit KRK und ZNS-Metastasen (n=228) konnte gezeigt werden, dass ZNS-Metastasen eher bei jüngeren (Altersklasse 50 bis 65 Jahre) als bei älteren Patienten auftreten und fast immer ein spätes wenn nicht das letzte Metastasierungsereignis im Verlauf der Erkrankung darstellen. Die große Mehrheit der Patienten weist bereits extrakranielle Metastasen auf, die hier in gleicher Häufigkeit in Leber und Lunge vorliegen. Der Primarius befindet sich häufiger im distalen Kolon und Rektum als im proximalen Kolon und in den meisten Fällen liegt bei Erstdiagnose des KRK ein Stadium T3/4 N+ G2 ohne Fernmetastasierung (M0) vor. Mit Feststellung der ZNS-Metastasierung ist das Überleben äußerst ungünstig und beträgt meist nur wenige Monate. Eine besondere Subgruppe scheinen Patienten mit ausschließlich ZNS-Metastasen (ohne extrakranielle Metastasen) zu bilden, deren Überleben deutlich länger ist als das aller anderen Patienten. Mit Ausnahme von Allgemeinzustand und Patientenalter ließen sich bisher keine prognostischen klinischen Faktoren für das Überleben definieren. Werden die ZNS-Metastasen zu einem Zeitpunkt erkannt, zu dem eine gute Therapierbarkeit vorliegt, kann das Überleben mit optimaler Therapie (Neurochirurgie und Radiatio) substanziell verlängert werden (Stichwort Langzeitüberlebende). Bisher besteht bei fehlenden neurologischen Symptomen leider keine Empfehlung für eine zerebrale Bildgebung beim mKRK. Hier wäre es wünschenswert bei Risikopatienten (RAS-Mutation, Lungen- und/oder Knochenmetastasen) Empfehlungen für ein entsprechendes ZNS-Screening in Leitlinien aufzunehmen.

Untersucht man Gewebe von Primarius und kolorektalen ZNS-Metastasen, so weisen diese überdurchschnittlich häufig eine (K)RAS-Mutation auf. Dies erklärt möglicherweise auch, warum bei diesen Patienten häufig Metastasierungsmuster mit einer hohen Rate an Lungen- und Knochenmetastasen beobachtet werden. Thema der aktuellen Fachdiskussion bleibt weiterhin die Untersuchung der Frage, welche

molekularbiologischen Subtypen mit welchen Metastasierungsmustern verbunden sind. In einer Vergleichsuntersuchung eines KRK-Patientenkollektiv mit ZNS-Metastasen versus alleiniger Lebermetastasierung konnten wir zeigen, dass die Deregulierung des Wnt/ β -catenin-Signalwegs und eine hochgradige Expression der Krebsstammzellmarker CD44 und CD133 mit einer Fernmetastasierung in die Leber, aber nicht mit einer Metastasierung in das ZNS, korrelieren. Somit ist zu vermuten, dass für die Ausbildung von ZNS-Metastasen andere Mechanismen als eine Deregulation des Wnt/ β -catenin-Signalwegs und der Erwerb von Stammzeleigenschaften in den Tumorzellen von Bedeutung sind. Im Rahmen weiterer Projekte werden wir weitere Gewebeproben von Primarius, Organmetastase und ZNS-Metastase untersuchen und vergleichen. Im Aufbau befindet sich zudem ein prospektives ZNS-KRK-Register (GECCCObrain) zur Akquise von Patientendaten und Tumorproben dieser seltenen Subgruppe von KRK-Patienten.

6. Literaturverzeichnis
(Auflistung alphabetisch)

- Ailawadhi S, Sunga A, Rajput A, et al. Chemotherapy induced carcinoembryonic antigen surge in patients with metastatic colorectal cancer. *Oncology* 2006; 70:49–53
- Alden TD, Gianino JW, Saclarides TJ. Brain metastases from colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1996; 39:541-5
- Amichetti M, Lay G, Dessì M, et al. Results of whole brain radiation therapy in patients with brain metastases from colorectal carcinoma. *Tumori* 2005; 91:163-7
- Aprile G, Casagrande M, De Maglio G, et al. Comparison of the molecular profile of brain metastases from colorectal cancer and corresponding primary tumors. *Future Oncol* 2017; 13:135-144
- Arnold D, Lueza B, Douillard JY, et al. Prognostic and predictive value of primary tumour side in patients with RAS wild-type metastatic colorectal cancer treated with chemotherapy and EGFR directed antibodies in six randomised trials. *Ann Oncol* 2017 Apr 12 [Epub ahead of print]
- Bajenova O, Gorbunova A, Evsyukov I, et al. The Genome-Wide Analysis of Carcinoembryonic Antigen Signaling by Colorectal Cancer Cells Using RNA Sequencing. *PLoS One* 2016; 11:e0161256
- Barbarino JM, Haidar CE, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: very important pharmacogene information for UGT1A1. *Pharmacogenet Genomics* 2014; 24:177–183
- Barnholtz-Sloan JS, Sloan AE, Davis FG, et al. Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System. *J Clin Oncol* 2004; 14:2865-2872
- Bartelt S, Momm F, Weissenberger C et al. Patients with brain metastases from gastrointestinal tract cancer treated with whole brain radiation therapy: prognostic factors and survival. *World J Gastroenterol* 2004; 10:3345-8
- Benatti P, Gafa R, Barana D, et al. Microsatellite Instability and Colorectal Cancer Prognosis. *Clin Cancer Res* 2005; 23:8332-40
- Berghoff AS, Ilhan-Mutlu A, Dinhof C, et al. Differential role of angiogenesis and tumour cell proliferation in brain metastases according to primary tumour type: analysis of 639 cases. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2015; 41:e41-55
- Bernardi D, Tomassi O, Stefani M, et al. Comment on “Clinical features and course of brain metastases in colorectal cancer: an experience from a single institution”. *Curr Oncol*. 2013; 20:e278
- Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:89-95
- Boeck S, Haas M, Laubender RP, et al. Application of a time-varying covariate model to the analysis of CA 19-9 as serum biomarker in patients with advanced pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16:986–94
- Bokemeyer C, Bondarenko I, Hartmann JT, et al. Efficacy according to biomarker status of cetuximab plus FOLFOX-4 as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the OPUS study. *Ann Oncol* 2011; 22:1535-1546

- Bokemeyer C, Köhne CH, Ciardiello F et al. FOLFOX4 plus cetuximab treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015; 51:1243–1252
- Brabletz, T, Jung A, Spaderna S, et al. Opinion: Migrating Cancer Stem Cells - an Integrated Concept of Malignant Tumour Progression. *Nat Rev Cancer* 2005, 9: 744-9
- Bramswig KH, Poettler M, Unseld M, et al. Soluble carcinoembryonic antigen activates endothelial cells and tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2013; 73:6584-96
- Brastianos PK, Carter SL, Santagata S, et al. Genomic Characterization of Brain Metastases Reveals Branched Evolution and Potential Therapeutic Targets. *Cancer Discov* 2015; 5:1164-77
- Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *The TNM Classification of Malignant Tumours*, 8th edition, Dec 2016
- Bundesärztekammer - Arbeitsgemeinschaft der deutschen Ärztekammern. Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriums-medizinischer Untersuchungen; *Deutsches Ärzteblatt* 2008. 105:341-55
- Carbonell WS, Ansorge O, Sibson N, et al. The vascular basement membrane as “soil” in brain metastasis. *PLoS ONE* 2009; 4:e5857
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407:249-57
- Cascino TL, Leavengood JM, Kemeny N, et al. Brain metastases from colon cancer. *J Neurooncol* 1983; 1:203-9
- Chan CH, Camacho-Leal P, Stanners CP. Colorectal hyperplasia and dysplasia due to human carcinoembryonic antigen (CEA) family member expression in transgenic mice. *PLoS ONE* 2007; 2:e1353
- Chyun Y, Hayward E and Lokich J. Metastasis to the central nervous system from colorectal cancer. *Med Pediatr Oncol* 1980; 8:305-8
- Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell* 2006; 127:469-80
- Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149:1192-205
- Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C et al. Early tumor shrinkage and depth of response predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with first-line chemotherapy plus bevacizumab: results from phase III TRIBE trial by the Gruppo Oncologico del Nord Ovest. *Ann Oncol* 2015; 26: 1188–1194
- Cunningham D, Findlay M. The chemotherapy of colon cancer can no longer be ignored. *Eur J Cancer* 1993; 29:2077–2079
- Damiens K, Ayoub JP, Lemieux B, et al. Clinical features and course of brain metastases in colorectal cancer: an experience from a single institution. *Curr Oncol* 2012; 19:254-258
- De Haas RJ, Wicherts DA, Flores E, et al. Tumor marker evolution: comparison with imaging for assessment of response to chemotherapy in patients with colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol* 2010; 17:1010–23
- Delattre JY, Krol G, Thaler HT, et al. Distribution of brain metastases. *Arch Neurol* 1988; 45:741–744

- Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 2000; 355:1041-1047
- Douillard JY, Oliner KS, Siena S, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013; 369:1023-34
- Douillard JY, Siena S, Peeters M, et al. Impact of early tumour shrinkage and resection on outcomes in patients with wild-type RAS metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer* 2015; 51:1231-1242
- Duffy MJ, Lamerz R, Haglund C, et al. Tumor markers in colorectal cancer, gastric cancer and gastrointestinal stromal cancers: European group on tumor markers 2014 guidelines update. *Int J Cancer* 2014; 134: 2513–2522
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45:228-47
- El-Deiry WS, Vijayvergia N, Xiu J, et al. Molecular profiling of 6,892 colorectal cancer samples suggests different possible treatment options specific to metastatic sites. *Cancer Biol Ther* 2015; 16:1726-37
- Elez E, Argiles G, Tabernero J. First-Line Treatment of Metastatic Colorectal Cancer: Interpreting FIRE-3, PEAK, and CALGB/SWOG 80405. *Curr Treat Options Oncol* 2015; 16: 52
- Ellis LM, Hicklin DJ. Pathways mediating resistance to vascular endothelial growth factor-targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2008; 14:6371–5
- Ewing J. Metastasis. In: Ewing J, (ed): *Neoplastic Diseases: A Treatise on Tumours*. 1940, Philadelphia: W. B. Saunders. pp 62-74.
- Fakih MG. Carcinoembryonic antigen monitoring in metastatic colorectal cancer: words of caution. *J Clin Oncol* 2008; 26(34):e7; author reply 8e
- Farnell GF, Buckner JC, Cascino TL, et al. Brain metastases from colorectal carcinoma. The long term survivors. *Cancer* 1996; 78:711-6
- Fearon ER. Molecular Genetics of Colorectal Cancer. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 479-507
- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell* 1990;61:759-67
- Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the ‘seed and soil’ hypothesis revisited. *Nature Reviews Cancer* 2003; 3:453–458
- Finkelmeier F, You SJ, Waidmann O, et al. Bevacizumab in Combination with Chemotherapy for Colorectal Brain Metastasis. *J Gastrointest Cancer* 2016; 47:82-8
- Fitzgerald DP, Palmieri D, Hua E, et al. Reactive glia are recruited by highly proliferative brain metastases of breast cancer and promote tumor cell colonization. *Clin Exp Metastasis* 2008; 25:799–810
- Fleiss J, Cohen J. The equivalence of weighted kappa and the intraclass correlation coefficient as measures of reliability. *Educational and Psychological Measurement* 1973; 33:613-619
- Fodde R, Brabletz T. Wnt/Beta-catenin signaling in cancer stemness and malignant behavior. *Curr Opin Cell Biol* 2007; 19:150-8

- Fong Y, Fortner J, Sun RL, et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999; 230:309-18; discussion 318-21
- Food and Drug Administration & National Institutes of Health. BEST (Biomarkers, Endpoints, and other tools) resource NCBI <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791>
- Fountzilas C, Chang K, Hernandez B, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of patients with colorectal cancer who develop brain metastasis: a single institution experience. *J Gastrointest Oncol* 2017; 8:55-63
- Freyer G, Rougier P, Bugat R, et al. Prognostic factors for tumour response, progression-free survival and toxicity in metastatic colorectal cancer patients given irinotecan (CPT-11) as second-line chemotherapy after 5FU failure. CPT-11 F205, F220, F221 and V222 study groups. *Br J Cancer* 2000; 83:431-7
- Gaber A, Nodin B, Hotakainen K, et al. Increased serum levels of tumour-associated trypsin inhibitor independently predict a poor prognosis in colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 2010; 10:498
- Gaspar LE, Mehta MP, Patchell RA, et al. The role of whole brain radiation therapy in the management of newly diagnosed brain metastases: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2010; 96:17-32
- Gaspar LE, Scott C, Murray K, et al. Validation of the RTOG recursive partitioning analysis (RPA) classification for brain metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 47:1001-6
- Gaspar L, Scott C, Rotman M, et al. Recursive partitioning analysis (RPA) of prognostic factors in three Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) brain metastases trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37:745-51
- Giacchetti S, Perpoint B, Zidani R, et al. Phase III multicenter randomized trial of oxaliplatin added to chronomodulated fluorouracil-leucovorin as first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2000;18:136-147
- Giessen C, Laubender RP, Fischer von Weikersthal L, et al. Early tumor shrinkage in metastatic colorectal cancer: Retrospective analysis from an irinotecan-based randomized first-line trial. *Cancer Sci* 2013; 104: 718-724
- Giessen C, Nagel D, Glas M, et al. Evaluation of preoperative serum markers for individual patient prognosis in stage I-III rectal cancer. *Tumour Biol*. 2014; 35:10237-48
- Go PH, Klaassen Z, Meadows MC, et al. Gastrointestinal cancer and brain metastasis: a rare and ominous sign. *Cancer* 2011; 117:3630-40
- Gold P, Freedman SO. Demonstration of tumor-specific antigens in human colonic carcinomata by immunological tolerance and absorption techniques. *J Exp Med* 1965; 121:439-62
- Graham RA, Wang S, Catalano PJ, et al. Postsurgical surveillance of colon cancer: preliminary cost analysis of physician examination, carcinoembryonic antigen testing, chest x-ray, and colonoscopy. *Ann Surg* 1998; 228:59-63
- Grothey A, Hedrick EE, Mass RD et al. Response-independent survival benefit in metastatic colorectal cancer: a comparative analysis of N9741 and AVF2107. *J Clin Oncol* 2008; 26:183-189
- Gu XD, Cai YT, Zhou YM, et al. Prognostic factors and multidisciplinary treatment modalities for brain metastases from colorectal cancer: analysis of 93 patients. *BMC Cancer* 2015; 15:902

- Haddad R, Ogilvie RT, Croitoru M, et al. Microsatellite Instability as a Prognostic Factor in Resected Colorectal Cancer Liver Metastases. *Ann Surg Oncol* 2004; 11:977-82
- Hammoud MA, McCutcheon IE, Elsouki R, et al. Colorectal carcinoma and brain metastasis: distribution, treatment, and survival. *Ann Surg Oncol* 1996; 3:453-63
- Heinemann V, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15:1065-75
- Heinemann V, Stintzing S, Modest DP et al. Early tumour shrinkage (ETS) and depth of response (DpR) in the treatment of patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Eur J Cancer* 2015; 51:1927-1936
- Horst D, Chen J, Morikawa T, et al. Differential Wnt activity in colorectal cancer confers limited tumorigenic potential and is regulated by MAPK signaling. *Cancer Res* 2012; 72:1547-56
- Horst D, Reu S, Kriegl L, J. et al. The intratumoral distribution of nuclear beta-catenin is a prognostic marker in colon cancer. *Cancer* 2009; 115:2063-70
- Hugen N, van de Velde CJ, de Wilt JH, et al. Metastatic Pattern in Colorectal Cancer Is Strongly Influenced by Histological Subtype. *Ann Oncol* 2014; 25:651-7
- Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 350:2335-2342
- Iliantzis C, Demarte L, Screatton RA, et al. Deregulated expression of the human tumor marker CEA and CEA family member CEACAM6 disrupts tissue architecture and blocks colonocyte differentiation. *Neoplasia* 2002; 4:151-63
- Iliantzis C, Jothy S, Alpert LC, et al. Cell-surface levels of human carcinoembryonic antigen are inversely correlated with colonocyte differentiation in colon carcinogenesis. *Lab Invest* 1997; 76:703-716
- Iwanicki-Caron I, Di Fiore F, Roque I, et al. Usefulness of the serum carcinoembryonic antigen kinetic for chemotherapy monitoring in patients with unresectable metastasis of colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26:3681-6
- Jass JR. Classification of Colorectal Cancer Based on Correlation of Clinical, Morphological and Molecular Features. *Histopathology* 2007; 50:113-30
- Jessup JM, Thomas P. CEA and metastasis: a facilitator of site specific metastasis. In: *Cell Adhesion and Communication Mediated by the CEA Family: Basic and Clinical Perspectives*. Stanners C.P., ed., 1998. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, Netherlands, pp 195-222
- Jiang XB, Yang QY, Sai K, et al. Brain metastases from colorectal carcinoma: a description of 60 cases in a single Chinese cancer center. *Tumour Biol* 2011; 32:1249-56
- Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009; 9:239-252
- Kalkanis SN, Kondziolka D, Gaspar LE, et al. The role of surgical resection in the management of newly diagnosed brain metastases: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2010; 96:33-43

- Karagkounis G, Torbenson MS, Daniel HD, et al. Incidence and prognostic impact of KRAS and BRAF mutation in patients undergoing liver surgery for colorectal metastases. *Cancer* 2013; 119:4137-44
- Katoh Y, Katoh M. Comparative genomics on prom1 gene encoding stem cell marker Cd133. *Int J Mol Med* 2007; 19: 967-70
- Kemeny NE, Chou JF, Capanu M, et al. KRAS mutation influences recurrence patterns in patients undergoing hepatic resection of colorectal metastases. *Cancer* 2014; 120:3965-71
- Khattak MA, Martin H, Davidson A, et al. Role of first-line anti-epidermal growth factor receptor therapy compared with anti-vascular endothelial growth factor therapy in advanced colorectal cancer: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Clin Colorectal Cancer* 2015; 14: 81-90
- Kim SJ, Kim JS, Park ES, et al. Astrocytes upregulate survival genes in tumor cells and induce protection from chemotherapy. *Neoplasia*. 2011;13:286–298
- Köhne CH, van Cutsem E, Wils J, et al. Phase III study of weekly high-dose infusional fluorouracil plus folinic acid with or without irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40986. *J Clin Oncol* 2005; 23:4856-4865
- Koch J. Dissertation zum Erwerb des Doktorgrads der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität zu München aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III, Klinikum Großhadern. Thema: Untersuchung der Korrelation von Tumor- und Serummarkern mit radiologischer Bildgebung bei Patienten mit metastasiertem kolorektalem Karzinom während einer palliativen Chemotherapie. 2014
- Kruser TJ, Chao ST, Elson P, et al. Multidisciplinary management of colorectal brain metastases: a retrospective study. *Cancer* 2008; 113:158-65
- Kye BH, Kim HJ, Kang WK, et al. Brain metastases from colorectal cancer: the role of surgical resection in selected patients. *Colorectal Dis* 2012; 14:e378-385
- Le DT, Uram JN, Wang H et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015; 372:2509–2520
- Linskey ME, Andrews DW, Asher AL, et al. The role of stereotactic radiosurgery in the management of patients with newly diagnosed brain metastases: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol*. 2010; 96:45-68
- Lipsyc MD, Yaeger R. Impact of somatic mutations on patterns of metastasis in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol* 2015; 6:645-9
- Lipsyc MD, Yaeger R, Dengel LT, et al. Axillary Lymph Node Involvement, a Unique Pattern of Metastasis in BRAF-Mutant Colorectal Cancer. *JAMA Oncology* 2015; 1:686-7
- Locker GY, Hamilton S, Harris J, et al. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24:5313–27
- Lorger M, Felding-Habermann B. Capturing changes in the brain microenvironment during initial steps of breast cancer brain metastasis. *Am J Pathol* 2010; 176:2958–2971
- Loupakis F, Cremolini C, Masi G, et al. Initial therapy with FOLFOXIRI and bevacizumab for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2014; 371:1609-18
- Malesci A, Laghi L, Bianchi P, et al. Reduced Likelihood of Metastases in Patients with Microsatellite-Unstable Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13:3831-9

- Mansmann U, Sartorius U, Laubender R et al. Quantitative analysis of the impact of deepness of response on post-progression survival time following first-line treatment in patients with mCRC. *Ann Oncol* 2013; 24(Suppl 4): Abstract O-0009
- Mansmann UR, Sartorius U, Laubender RP et al. Quantitative analysis of the impact of deepness of response on post-progression survival time following first-line treatment in patients with mCRC. *J Clin Oncol* 2013; 31: Abstract 3630
- Meulendijks D, Henricks LM, Sonke GS et al. Clinical relevance of DPYD variants c.1679T>G, c.1236G>A/HapB3, and c.1601G>A as predictors of severe fluoropyrimidine-associated toxicity: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2015; 16:1639–1650
- Mitry E, Guiu B, Coscinea S, et al. Epidemiology, management and prognosis of colorectal cancer with lung metastases: a 30-year population-based study. *Gut* 2010; 59:1383-1388
- Modest DP, Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, et al. Relation of early tumor shrinkage (ETS) observed in first-line treatment to efficacy parameters of subsequent treatment in FIRE-3 (AIOKRK0306). *Int J Cancer* 2017; 140:1918-1925.
- Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, et al. An evaluation of the carcinoembryonic antigen (CEA) test for monitoring patients with resected colon cancer. *JAMA* 1993; 270:943-947
- Neumann J, Horst D, Kriegl L, et al. A simple immunohistochemical algorithm predicts the risk of distant metastases in right-sided colon cancer. *Histopathology* 2012; 60:416-26
- Nieder C, Hintz M, Grosu AL. Colorectal cancer metastatic to the brain: analysis of prognostic factors and impact of KRAS mutations on presentation and outcome. *Clin Transl Oncol* 2016; 18:88-92
- Nieder C, Pawinkaski A, Balteskard L. Colorectal Cancer Metastatic to the Brain: Time Trends in Presentation and Outcome. *Oncology* 2009; 76:369-74
- Nishino M, Jagannathan JP, Krajewski KM et al. Personalized tumor response assessment in the era of molecular medicine: cancer-specific and therapy-specific response criteria to complement pitfalls of RECIST. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 198:737-745
- Ordoñez C, Screaton RA, Ilantzis C, Stanners CP. Human carcinoembryonic antigen functions as a general inhibitor of anoikis. *Cancer Res* 2000; 60:3419–3424
- Ormanns S., Neumann J, Horst D, et al. Wnt signaling and distant metastasis in colon cancer through transcriptional activity of nuclear beta-catenin depend on active PI3K signaling. *Oncotarget* 2014; 5:2999-3011
- Owonikoko TK, Arbiser J, Zelnak A, et al. Current approaches to the treatment of metastatic brain tumours. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014; 11:203-22
- Pai RK, Jayachandran P, Koong AC, et al. BRAF-mutated, microsatellite-stable adenocarcinoma of the proximal colon: an aggressive adenocarcinoma with poor survival, mucinous differentiation, and adverse morphologic features. *Am J Surg Pathol* 2012; 36:744-52
- Patchell RA, Tibbs PA, Regine WF, et al. The management of brain metastases. *Cancer Treat Rev* 2003; 29:533-540
- Pavlopoulou A, Scorilas A. A Comprehensive Phylogenetic and Structural Analysis of the Carcinoembryonic Antigen (CEA) Gene Family Genome. *Biol Evol*. 2014; 6:1314-1326

- Piessevaux H, Buyse M, De Roock W et al. Radiological tumor size decrease at week 6 is a potent predictor of outcome in chemorefractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab (BOND trial). *Ann Oncol* 2009; 20:1375-1382
- Piessevaux H, Buyse M, Schlichting M et al. Use of early tumor shrinkage to predict long-term outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2013; 31:3764-3775
- Prager GW1, Braemswig KH, Martel A, et al. Baseline carcinoembryonic antigen (CEA) serum levels predict bevacizumab-based treatment response in metastatic colorectal cancer. *Cancer Sci* 2014;105:996-1001
- Pukrop T, Dehghani F, Chuang HN, et al. Microglia promote colonization of brain tissue by breast cancer cells in a Wnt-dependent way. *Glia* 2010; 58:1477-1489
- Qiu M, Hu J, Yang D, et al. Pattern of distant metastases in colorectal cancer: a SEER based study. *Oncotarget* 2015; 6:38658-66
- Riihimäki M, Hemminki A, Sundquist J, et al. Patterns of metastasis in colon and rectal cancer. *Sci Rep.* 2016; 6:29765
- Robert Koch Institut (RKI), Zentrum für Krebsregisterdaten (ZfKD), Darmkrebs (ICD-10, C18-21), Prognose für 2016. Stand: 17.12.2015
- Russo AL, Borger DR, Szymonifka J, et al. Mutational analysis and clinical correlation of metastatic colorectal cancer. *Cancer* 2014; 120:1482-90
- Rustgi AK. BRAF: a driver of the serrated pathway in colon cancer. *Cancer Cell* 2013; 24:1-2
- Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, et al. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26:2013-2019
- Sargent DJ, Rubinstein L, Schwartz L, et al. Validation of novel imaging methodologies for use as cancer clinical trial end-points. *Eur. J. Cancer* 2009; 45:290-9
- Schoeggl A, Kitz K, Reddy M, et al. Stereotactic radiosurgery for brain metastases from colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2002; 17:150-155
- Schouten LJ, Rutten J, Huveneers HA, et al. Incidence of brain metastases in a cohort of patients with carcinoma of the breast, colon, kidney, and lung and melanoma. *Cancer* 2002; 94:2698-705
- Schwartzberg LS, Rivera F, Karthaus M, et al. PEAK: A Randomized, Multicenter Phase II Study of Panitumumab Plus Modified Fluorouracil, Leucovorin, and Oxaliplatin (mFOLFOX6) or Bevacizumab Plus mFOLFOX6 in Patients With Previously Untreated, Unresectable, Wild-Type KRAS Exon 2 Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2014; 32:2240-7
- SEER Cancer Statistics Review 1975-2013, National Cancer Institute (NCI), https://seer.cancer.gov/csr/1975_2013/results_merged/sect_06_colon_rectum.pdf
- Segelman J, Granath F, Holm T, et al. Incidence, prevalence and risk factors for peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. *Br J Surg* 2012; 99:699-705
- Siegel R et al, DeSantis C, Jemal A. Colorectal Cancer Statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64:104-117

- Sørbye H, Dahl O. Carcinoembryonic antigen surge in metastatic colorectal cancer patients responding to oxaliplatin combination chemotherapy: implications for tumor marker monitoring and guidelines. *J Clin Oncol* 2003; 21:4466–7
- Sørbye H, Dahl O. Transient CEA increase at start of oxaliplatin combination therapy for metastatic colorectal cancer. *Acta Oncol* 2004; 43:495-498
- Sørbye H, Mauer M, Gruenberger T, et al. Predictive factors for the benefit of perioperative FOLFOX for resectable liver metastasis in colorectal cancer patients (EORTC Intergroup Trial 40983). *Ann Surg* 2012; 255:534-9
- Sperduto PW, Chao ST, Sneed PK, et al. Diagnosis-specific prognostic factors, indexes, and treatment outcomes for patients with newly diagnosed brain metastases: a multi-institutional analysis of 4,259 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 77:655-61
- Strimpakos AS, Cunningham D, Mikropoulos C, et al. The impact of carcinoembryonic antigen flare in patients with advanced colorectal cancer receiving first-line chemotherapy. *Ann Oncol* 2010; 21:1013–9
- Sturgeon CM, Duffy MJ, Stenman UH, et al. National Academy of Clinical Biochemistry laboratory medicine practice guidelines for use of tumor markers in testicular, prostate, colorectal, breast, and ovarian cancers. *Clin Chem* 2008; 54:e11–79
- Sun L, Chu K, Cheng S, et al. Preoperative serum carcinoembryonic antigen, albumin and age are supplementary to UICC staging systems in predicting survival for colorectal cancer patients undergoing surgical treatment. *BMC Cancer* 2009; 9:288
- Sunakawa Y, Ichikawa W, Tsuji A, et al. CEA response and depth of response (DpR) to predict clinical outcomes in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) treated with first-line cetuximab plus oxaliplatin-based chemotherapy: A sub-analysis of the JACCRO CC-05/06 trials. *J Clin Oncol* 35, 2017 (suppl 4S; abstract 648)
- Sundermeyer ML, Meropol NJ, Rogatko A, et al. Changing patterns of bone and brain metastases in patients with colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2005; 5:108-13
- Suzuki C, Blomqvist L, Sundin A, et al. The initial change in tumor size predicts response and survival in patients with metastatic colorectal cancer treated with combination chemotherapy. *Ann Oncol* 2012; 23: 948-954
- Taberero J, Yoshino T, Cohn AL, et al. Ramucirumab versus placebo in combination with second-line FOLFIRI in patients with metastatic colorectal carcinoma that progressed during or after first-line therapy with bevacizumab, oxaliplatin, and a fluoropyrimidine (RAISE): a randomised, double-blind, multicentre, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015; 16:e262
- Tabouret E, Chinot O, Metellus P, et al. Recent trends in epidemiology of brain metastases: an overview. *Anticancer Res* 2012; 32:4655-62
- Taheri M, Saragovi HU, Stanners CP. The adhesion and differentiation inhibitory activities of the immunoglobulin superfamily member, carcinoembryonic antigen, can be independently blocked. *J Biol Chem* 2003; 278:14632-9
- Tejpar S, Stintzing S, Ciardiello F, et al. Prognostic and Predictive Relevance of Primary Tumor Location in Patients With RAS Wild-Type Metastatic Colorectal Cancer: Retrospective Analyses of the CRYSTAL and FIRE-3 Trials. *JAMA Oncol* 2016 Oct 10 [Epub ahead of print]

- Temple DF, Ledesma EJ, Mittelman A. Cerebral metastases. From adenocarcinoma of the colon and rectum. *N Y State J Med* 1982; 82:1812-4
- Therasse P, Eisenhauer EA, Verweij J. RECIST revisited: a review of validation studies on tumour assessment. *Eur J Cancer* 2006; 42:1031-9
- Tie J, Lipton L, Desai J, et al. KRAS mutation is associated with lung metastasis in patients with curatively resected colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17:1122-30
- Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJ. BRAF mutation in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361:98–99
- Tran B, Kopetz S, Tie J et al. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer* 2011; 117:4623–4632
- Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360:1408-1417
- Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, et al. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2016; 27:1386-1422
- Vatandoust S, Price TJ, Karapetis CS. Colorectal cancer: Metastases to a single organ. *World J Gastroenterol* 2015; 21:11767-76
- Vauthey JN, Zimmitti G, Kopetz SE, et al. RAS mutation status predicts survival and patterns of recurrence in patients undergoing hepatectomy for colorectal liver metastases. *Ann Surg* 2013; 258:619-27
- Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS et al. Mismatch repair status and BRAF mutation status in metastatic colorectal cancer patients: a pooled analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS studies. *Clin Cancer Res* 2014; 20:5322–5330
- Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz HJ, et al. CALGB/SWOG 80405: Phase III trial of irinotecan/5-FU/leucovorin (FOLFIRI) or oxaliplatin/5-FU/leucovorin (mFOLFOX6) with bevacizumab (BV) or cetuximab (CET) for patients (pts) with KRAS wild-type (wt) untreated metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum (MCRC). 2014 ASCO Annual Meeting (Abstract No. LBA3). *J Clin Oncol* 32:5s, 2014 (suppl; abstr LBA3)
- Vogelbaum MA, Suh JH. Resectable brain metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24:1289-94
- von Einem JC, Heinemann V, von Weikersthal LF, et al. Left-sided primary tumors are associated with favorable prognosis in patients with KRAS codon 12/13 wild-type metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus chemotherapy: an analysis of the AIO KRK-0104 trial. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140:1607-14
- Wang RF, Song BR, Peng JJ, et al. The Prognostic Value of Preoperative Serum CEA and CA19-9 Values in Stage I-III Colorectal Cancer. *Hepatogastroenterology* 2014; 61:994-9
- Wang Y, Velho S, Vakiani E, et al. Mutant N-RAS protects colorectal cancer cells from stress-induced apoptosis and contributes to cancer development and progression. *Cancer Discov* 2013; 3:294-307
- Ward U, Primrose JN, Finan PJ, et al. The use of tumour markers CEA, CA-195 and CA-242 in evaluating the response to chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Br J Cancer* 1993; 67:1132–5
- Weiss L, Grundmann E, Torhorst J, et al. Haematogenous metastatic patterns in colonic carcinoma: an analysis of 1541 necropsies. *J Pathol* 1986; 150:195-203

- Wielenga VJ, Smits R, Korinek V, et al. Expression of Cd44 in APC and TCF mutant mice implies regulation by the Wnt pathway. *Am J Pathol* 1999; 154:515-23
- Windsor AA, Koh ES, Allen S, et al. Poor Outcomes after Whole Brain Radiotherapy in Patients with Brain Metastases: Results from an International Multicentre Cohort Study. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2013; 25:674-80
- Wronski M, Arbit E. Resection of brain metastases from colorectal carcinoma in 73 patients. *Cancer* 1999; 85:1677-85
- Xie T, Cho YB, Wang K, et al. Patterns of somatic alterations between matched primary and metastatic colorectal tumors characterized by whole-genome sequencing. *Genomics* 2014; 104:234-41
- Yaeger R, Cowell E, Chou JF, et al. RAS mutations affect pattern of metastatic spread and increase propensity for brain metastasis in colorectal cancer. *Cancer* 2015; 121:1195-203
- Yano S, Shinohara H, Herbst RS, et al. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor Is Necessary but not Sufficient for Production and Growth of Brain Metastasis. *Cancer Res* 2000; 60:4959–4967
- Yokota T, Ura T, Shibata N, et al. BRAF mutation is a powerful prognostic factor in advanced and recurrent colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 104:856-62
- Yoshino T, Obermannová R, Bodoky G, et al. Baseline carcinoembryonic antigen as a predictive factor of ramucirumab efficacy in RAISE, a second-line metastatic colorectal carcinoma phase III trial. *Eur J Cancer* 2017; 78:61-69

6.1. Literaturverzeichnis als Erstautor

(Auflistung nach chronologischer Nennung im Text)

- A. Michl M, Holtzem B, Koch J, et al. Metastatic colorectal cancer-analysis of treatment modalities and survival now and then. *Dtsch Med Wochenschr.* 2014; 139:2068-72
DOI: 10.1055/s-0034-1387283
- B. Michl M, Fischer von Weikersthal L, Crispin A, et al. AIO KRK0306, FIRE3 trial: CEA and CA19-9 influence outcome of patients with KRAS exon wild-type metastatic colorectal cancer (mCRC) receiving first-line therapy with FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab. *J Clin Oncol* 32:5s, 2014 (suppl; abstr 3592)
DOI: 10.1097/CAD.0000000000000510
- C. Michl M, Koch J, Laubender RP, et al. Tumor markers CEA and CA 19-9 correlate with radiological imaging in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy. *Tumour Biol* 2014; 35:10121-7
DOI: 10.1007/s13277-014-2280-7
- D. Michl M, Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, et al. CEA response is associated with tumor response and survival in patients with KRAS exon 2 wild-type and extended RAS wild-type metastatic colorectal cancer receiving first-line FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab (FIRE-3 trial). *Ann Oncol* 2016; 27:1565-72
DOI: 10.1093/annonc/mdw222
- E. Michl M, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. Baseline carcinoembryonic antigen (CEA) serum levels predict bevacizumab-based treatment response in patients with KRAS exon 2 wild-type metastatic colorectal cancer (mCRC) receiving 1st-line therapy with FOLFIRI plus cetuximab or bevacizumab (AIO KRK0306, FIRE3 trial)? *J Clin Oncol* 33, 2015 (suppl; abstr 3581)
DOI: not applicable
- F. Michl M, Thurmaier J, Schubert-Fritschle G, et al. Brain Metastasis in Colorectal Cancer Patients: Survival and Analysis of Prognostic Factors. *Clin Colorectal Cancer* 2015; 14:281-90
DOI: 10.1016/j.clcc.2015.05.009
- G. Michl M, Heinemann V, Jung A, et al. Expression of cancer stem cell markers in metastatic colorectal cancer correlates with liver metastasis, but not with metastasis to the central nervous system. *Pathol Res Pract* 2015; 211:601-9
DOI: 10.1016/j.prp.2015.05.006

7. Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Hiddemann bedanken, dem Ärztlichen Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik III am Klinikum der Universität München. Er ermöglichte meine exzellente und vielseitige klinische Ausbildung zur Fachärztin für Innere Medizin, Hämatologie und Onkologie und unterstützte von Anbeginn kontinuierlich, wohlwollend und allumfassend meine wissenschaftlichen Aktivitäten. Als Vorsitzender im Fachmentorat ermöglicht er mir nun zudem, die Lehrbefähigung für Innere Medizin, Hämatologie und Onkologie an der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München zu erwerben.

Mein ganz besonderer Dank gilt außerdem meinem Arbeitsgruppenleiter Herrn Professor Dr. med. Volker Heinemann, Oberarzt der Medizinischen Klinik und Poliklinik III und Leiter des Comprehensive Cancer Center München (CCCM). Er war mir mit seinem umfangreichen klinisch-onkologischen Wissen und seinem tief begründeten Interesse an onkologisch-wissenschaftlichen Fragestellungen auf der Suche nach der Wahrheit in all den Jahren stets Mentor und Vorbild zugleich. Unermüdlich und vertrauensvoll förderte er fast väterlich meinen Werdegang und stand mir zu jedem Zeitpunkt mit seiner Kreativität, Erfahrung und Lösungsorientiertheit zur Seite. Meinen wissenschaftlichen Fortgang verdanke ich zu einem großen Teil ihm.

Außerdem möchte ich mich herzlichst bei allen meinen Kollegen und Mitgliedern der onkologischen Arbeitsgruppe für den kontinuierlichen Austausch und die kollegiale Zusammenarbeit und Unterstützung bei vielen wissenschaftlichen Projekten und Publikationen bedanken (alphabetisch genannt): Herr Prof. Dr. Stefan Böck, Herr Dr. med. Jobst von Einem, Herr PD Dr. med. Clemens Giessen-Jung, Frau PD Dr. med. Dorit Di Gioia, Herr Dr. med. Michael Haas, Herr Dr. med. Julian Holch, Herr Dr. med. Stefan Kruger, Herr PD Dr. med. Dominik Modest, Herr Dr. med. Christoph Schulz,

Herr Prof. Dr. med. Hans-Joachim Stemmler, Herr Prof. Dr. med. Sebastian Stintzing und Herr Dr. med. Benedikt Westphalen. Auch die Mitglieder unseres Studiensekretariats, Frau Neumann, Frau Schemberg, Herrn Wolff und Herrn Voigt möchte ich lobend erwähnen. Ein besonderer Stolz und Dank gilt meinen beiden Doktoranden, Herrn Dr. med. Johannes Koch und Herrn Johannes Thurmaier, für Ihre motivierte Mitarbeit an den jeweiligen Projekten.

Eine interdisziplinäre onkologische Forschung wäre ohne exzellente, verlässliche und motivierte Kooperationspartner in anderen Instituten und Abteilungen nicht möglich. Für die fruchtbare Zusammenarbeit und die Mitgliedschaft im Fachmentorat danke ich von Herzen Herrn Professor Dr. med. Thomas Kirchner, dem Direktor des Instituts für Pathologie an der LMU München, ebenso seinen Mitarbeitern Herrn PD Dr. med. Dr. med.-univ. Jens Neumann und Herrn Prof. Dr. rer. nat. Andreas Jung.

Für die Unterstützung in statistischen Fragestellungen danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. Ulrich Mansmann, dem Leiter des Instituts für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie (IBE) der LMU, sowie seinen Mitarbeitern Herrn Dr. Dipl. verw. wiss. Rüdiger Laubender und Herrn Dr. med. Alexander Crispin.

Ohne die großartige Leistung des Tumorregister München unter der Leitung von Frau Prof. Dr. med. Jutta Engel, in dem seit Jahrzehnten Patienten mit Tumorerkrankungen systematisch registriert und dokumentiert werden, wäre die Identifikation von dem bisher größten mKRR-Patientenkollektiv mit ZNS-Metastasen niemals realisierbar gewesen. In Zusammenarbeit mit den Mitarbeitern Frau Dr. rer. biol. hum. Gabriele Schubert-Fritschle und Herrn Max Wiedemann konnte dieses Projekt entstehen.

Ebenso möchte ich den Herren PD Dr. med. Philipp Papprottka, PD Dr. med. Tobias Jakobs und Prof. Dr. med. Ralf-Thorsten Hoffmann aus dem Institut für Radiologie,

sowie aus der Klinik für Nuklearmedizin Herrn Prof. Dr. med. Peter Bartenstein und seinen Mitarbeitern Herrn PD Dr. med. Wolfgang Fendler und Herrn Ass.-Prof. PD Dr. med. Alexander Haug Dank aussprechen.

Der Loehrs-Stiftung danke ich für die finanzielle Unterstützung meiner Forschungsaktivitäten und der European School of Oncology (ESO) für das Auslands-Stipendium.

Nicht zuletzt möchte ich, stellvertretend für die universitären Zentren und wissenschaftlich tätigen Institutionen, großen Dank richten an alle Studienpatienten und deren Angehörige, an Studienzentren und Prüfvärzte, sowie an niedergelassene kooperierende Kollegen, ohne deren Engagement und Bereitschaft zur wissenschaftlichen Mitarbeit neue Erkenntnisse nicht möglich wären.

8. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 Innovatives Modell zur Bildung von linearen Regressionsgeraden aus den CEA-Werten zwischen den bildgebenden Untersuchungen
- Abb. 2 Relative Änderung in % und Steigung der logarithmierten CEA-Werte in Korrelation zur radiologischen Beurteilung
- Abb. 3 Zusammenhang zwischen der radiologischen Best Response und dem prozentualen CEA-Abfall in Bezug zum Baseline-CEA-Wert während der palliativen Erstlinienchemotherapie
- Abb. 4 CEA-Analysen analog des Depth of Response Modell
- Abb. 5 Maximaler CEA-Abfall unter Therapie in den beiden FIRE3-Therapiearmen
- Abb. 6 Langzeit-CEA-Nadir-Werte der beiden FIRE3-Therapiearme
- Abb. 7 Gesamtüberleben (OS) in Abhängigkeit von der CEA-response in den beiden FIRE3-Therapiearmen
- Abb. 8 Gesamtüberleben unterteilt nach Quartilen des Baseline-CEA-Wertes im Serum in beiden FIRE3-Therapiearmen
- Abb. 9 Überleben nach Baseline-CEA-Wert und Tiefe der CEA-Remission in den beiden FIRE3-Therapiearmen
- Abb. 10 Hypothese zur Wahl des effektivsten Therapie-Regimes in Abhängigkeit vom Baseline-CEA-Wert
- Abb. 11 Überlebenszeit-Analysen von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen (Patientenkollektiv TRM)
- Abb. 12 Überlebenszeit-Analysen von KRK-Patienten mit ZNS-Metastasen unterteilt nach dem extrakraniellen Metastasierungsmuster (Lunge, Leber)
- Abb. 13 Einteilung von Patienten mit KRK und ZNS-Metastasen nach dem zeitlichen Auftreten von extra- und intrakraniellen Metastasen
- Abb. 14 Überlebenskurven der 6 Patienten-Subgruppen ab Erstdiagnose des KRK (OS-1), ab der Diagnose der extrakraniellen Fernmetastasierung (OS-2) und ab dem Zeitpunkt der ZNS-Metastasierung (OS-3)
- Abb. 15 Biomarker-Expression in Kolonkarzinomen mit ZNS-Metastasen
- Abb. 16 Korrelation der Expression von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 mit unterschiedlichen Metastasierungsmustern beim mKRK (Leber vs. ZNS)
- Abb. 17 Kombination der Expressionsmuster von nukleärem β -catenin, CD44 und CD133 und Korrelation mit unterschiedlichen Metastasierungsmustern beim mKRK (Leber vs. ZNS)

9. Abkürzungsverzeichnis

AJCC	<i>American Joint Committee on Cancer</i>
ASCO	<i>American Society of Clinical Oncology</i>
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
BRAF	<i>Rapidly growing fibrosarcoma type B</i>
bzw.	beziehungsweise
CA19-9	<i>Carbohydrate-Antigen 19-9</i>
CEA	<i>Carcinoembryonic Antigen</i>
DCR	<i>Disease Control Rate</i>
DpR	<i>Depth of Response</i>
ECOG	<i>Eastern Co-operative Oncology Group</i>
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
ESMO	<i>European Society of Medical Oncology</i>
ETS	<i>Early Tumor Shrinkage</i>
HR	<i>Hazard Ratio</i>
KRAS	<i>Kirsten Rat Sarcoma</i>
KRK	Kolorektales Karzinom
ln	natürlicher Logarithmus
mKRK	Metastasiertes kolorektales Karzinom
MRT	Magnetresonanztomografie
MSI	Mikrosatelliten-Instabilität
MSS	Mikrosatelliten-Stabilität
NACB	<i>National Academy of Clinical Biochemistry</i>
NRAS	<i>Neuroblastoma Rat Sarcoma</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
PET-CT	Positron-Emissions-Tomografie
PIK3CA	Gen (CA) der <i>Phosphoinositid-3-Kinase</i>
RAS	<i>Rat Sarcoma</i>
RECIST	<i>Response Evaluation Criteria in Solid Tumors</i>

RFS	<i>Recurrence Free Survival</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
SEER	<i>Surveillance, Epidemiology, and End Results Program</i>
TNM	<i>Tumor-Node-Metastasis</i>
TRM	Tumorregister München
TTP	<i>Time to Progression</i>
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
vs.	versus
ZNS	Zentrales Nervensystem

10. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- die schriftliche Habilitationsleistung selbständig verfasst wurde und die Herkunft des verwendeten oder zitierten Materials ordnungsgemäß kenntlich gemacht wurde
- mir bisher kein akademischer Grad entzogen wurde und kein Verfahren gegen mich anhängig ist, welches die Entziehung eines akademischen Grades zur Folge haben könnte
- ich noch kein Habilitationsverfahren im gleichen Fach erfolglos beendet habe.

München, Mai 2017

Dr. med. Marlies Michl