

## EGFR Mutationen in NSCLC

Das auf Chromosom 7p12 lokalisierte *EGFR*-Gen kodiert für ein 170 kDa Glycoprotein, eine transmembranöse Rezeptor-Tyrosinkinase, deren Liganden Wachstumsfaktoren (u.a. EGF, TGF- $\alpha$ ) sind. EGFR gehört zur Familie der humanen epidermalen Wachstumsfaktoren (HER) und wird in den meisten humanen Geweben exprimiert. EGFR ist an der Vermittlung der Signalübertragung für Zellwachstum und -proliferation beteiligt. In vielen soliden humanen Tumortypen wurde eine verstärkte EGFR-Expression gefunden, und es konnte gezeigt werden, daß von diesen Tumoren häufig auch ein oder mehrere EGFR-Liganden produzieren werden. Bei Patienten mit Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) wurden somatische Mutationen im *EGFR*-Gen gefunden. Alle Mutationen sind in den Exons 18 – 21 lokalisiert, die in der ATP-bindenden Region der Tyrosinkinase-Domäne des *EGFR*-Gens clustern. Mutationen in diesem Genabschnitt führen zu einer gesteigerten Aktivierung der Tyrosinkinaseaktivität, was vorrangig zu einem Anstieg der Zellproliferation führt, aber auch regulierend Einfluß auf mehrere andere Prozesse nimmt.

NSCLC-Patienten mit Mutationen im *EGFR*-Gen profitieren von einer Therapie, bei der Tyrosinkinase-Inhibitoren eingesetzt werden. Entscheidend für die Voraussage eines Therapieerfolges ist der Nachweis einer Mutation im *EGFR*-Gen in der Region der Tyrosinkinase-Domäne (Exons 18 - 21). Bei den Mutationen handelt es sich um missense Mutationen, Deletionen und in-frame Insertionen. Sie kommen in Westeuropa in ca. 5-10% der Bronchuskarzinome vor. Gehäuft sind sie bei Adenokarzinomen (speziell bei bronchioalveolären Karzinomen), Frauen und Nichtrauchern zu erwarten. Bei Patienten mit EGFR-Mutation ist die Wahrscheinlichkeit, auf die Therapie mit dem Tyrosinkinase-Inhibitor Gefitinib (Iressa; AstraZeneca) anzusprechen, besonders hoch.

Die Durchführung einer EGFR-Sequenzierung wird bei allen Bronchuskarzinomen empfohlen um bei Patienten mit EGFR Mutationen die Option einer Iressa-Behandlung nicht zu verpassen. Die Untersuchung von reinem Tumorgewebe (ohne Entzündungs- oder Stromazellen) ist bei der EGFR-Sequenzanalyse wichtig. Aus diesem Grund wird vor der Sequenzierung immer eine Mikrodissektion des Tumorgewebes durchgeführt. Dies minimiert die Zahl falsch-negativer Resultate. Unsere Kenntnisse über die Bedeutung von EGFR-Mutation für das Ansprechen auf Iressa sind neu. Bisher wurden nur Bronchuskarzinome untersucht. Es ist aber möglich, dass ähnliche Mutationen auch bei anderen Tumorarten vorkommen. Falls bei anderer Tumortypen eine Iressatherapie erwogen wird, könnte auch hier eine EGFR-Sequenzierung durchgeführt werden.

## Material

- Gewebekblock (frisch oder Paraffin)

- Bitte als Referenz einen HE-Schnitt beilegen, auf dem das Tumoreal eingezeichnet ist. Dies beschleunigt die Analyse deutlich, falls ein ausreichender Tumorzellgehalt durch Laser Capture Mikrodisektion sichergestellt werden muss.

### **Kontrollen**

Für die PCR-Amplifikation wird Wasser als Negativkontrolle bei jedem Exon mitgeführt. Der Erfolg der PCR wird im Agarosegel kontrolliert. Die Sequenzierung wird für jedes Exon in 5'-3' und 3'-5' Richtung durchgeführt.

### **Testprinzip**

DNA wird aus dem Tumorgewebe extrahiert. Mittels PCR werden die Exons 18, 19, 20 und 21 des EGFR Genes amplifiziert. Jedes Exon wird einzeln sequenziert.

## **Auswertung**

Die 5'-3' und 3'-5' Sequenzierungen jedes Exons werden von einem qualifizierten Molekularbiologen gelesen und mit einer Referenzsequenz verglichen.