

Innovatieve combinatie van doelgerichte middelen voor de behandeling van gemetastaseerd *BRAF*-gemuteerd colorectaal carcinoom

Innovative combined targeted therapy for the treatment of metastatic *BRAF* mutant colorectal cancer

drs. R.M.J.M. van Geel¹, prof. dr. R. Bernards², prof. dr. E.E. Voest³, dr. M.P.J.K. Lolkema⁴, dr. A. Cats⁵, prof. dr. S. Sleijfer⁶, dr. F.A.L.M. Eskens⁷ en prof. dr. J.H.M. Schellens⁸

Samenvatting

Bij patiënten met gemetastaseerd *BRAF*^{V600}-gemuteerd (*BRAFm*) melanoom is behandeling met een BRAF-remmer (vemurafenib of dabrafenib) doorgaans zeer actief. Patiënten met gemetastaseerd colorectaal carcinoom met exact dezelfde mutatie vertonen als zij worden behandeld met een BRAF-remmer echter nauwelijks respons. Preklinisch onderzoek heeft aangetoond dat deze primaire ongevoeligheid wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van een intracellulair feedbackmechanisme waarbij signaaloverdracht via de epidermale groeifactorreceptor (EGFR) wordt geactiveerd. Gelijktijdige behandeling met een BRAF-remmer en een EGFR-remmer leidde in vitro tot een synergistisch cytotoxisch effect en in vivo tot volledige remming van de tumor-groei van humane coloncarcinoommodellen in muizen. Op basis van deze gegevens zijn fase I/II-studies gestart waarin de veiligheid en effectiviteit wordt onderzocht van een BRAF-remmer in combinatie met een EGFR-remmer.

(*Ned Tijdschr Oncol* 2014;11:69-72)

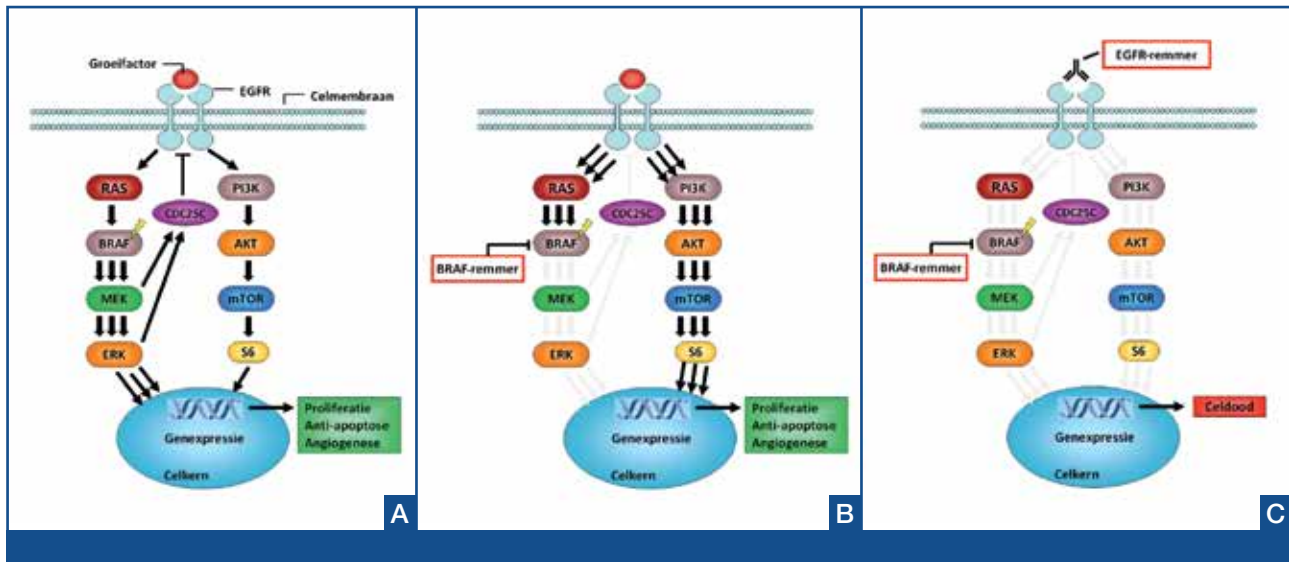
Summary

Treatment with a BRAF inhibitor (vemurafenib or dabrafenib) is effective in most patients with advanced *BRAF*^{V600} mutated (*BRAFm*) melanoma. However, in patients with colorectal cancer and exactly the same mutation, the response rate upon treatment with a BRAF inhibitor is negligible. Preclinical research demonstrated that this unresponsiveness is due to the presence of an intracellular feedback mechanism resulting in epidermal growth factor receptor (EGFR) activation. Concomitant treatment with a BRAF inhibitor and an EGFR inhibitor resulted in a synergistic cytotoxic effect in vitro in *BRAFm* colon cancer cell lines and complete inhibition of tumor growth in vivo of human *BRAFm* colon cancer xenografts in mice. On the basis of this concept phase I/II clinical trials were developed to investigate the safety and antitumor activity of a BRAF inhibitor combined with an EGFR inhibitor.

¹apotheker-onderzoeker, afdeling Klinische Farmacologie, Antoni van Leeuwenhoek, ²moleculair bioloog, afdeling Moleculaire Carcinogenese, Antoni van Leeuwenhoek, ³internist-oncoloog, afdeling Medische Oncologie, Antoni van Leeuwenhoek, ⁴internist-oncoloog, UMC Utrecht, ⁵maag-, darm- en leverarts, afdeling Maag-darm-leverziekten, Antoni van Leeuwenhoek, ⁶internist-oncoloog, Erasmus MC Kanker Instituut, ⁷internist-oncoloog, Erasmus MC Kanker Instituut, ⁸internist-oncoloog en klinisch farmacoloog, afdeling Klinische Farmacologie, Antoni van Leeuwenhoek en faculteit Bètawetenschappen, afdeling Farmaceutische Wetenschappen, Universiteit Utrecht. Correspondentie graag richten aan dhr. prof. dr. J.H.M. Schellens, afdeling Klinische Farmacologie, Antoni van Leeuwenhoek, Plesmanlaan 121, 1066 CX Amsterdam, tel.: 020 512 24 46, e-mailadres: j.schellens@nki.nl
Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: dit onderzoek is mede mogelijk gemaakt door Cancer Genomics.nl en is onderdeel van het Stand Up to Cancer (SU2C) en KWF-project DNA guided personalized cancer treatment; hoofdonderzoekers: prof. dr. E.E. Voest en prof. dr. R. Bernards, namens het Center for Personalized Cancer Treatment (CPCT). Grant-nummer: SU2C-AACR-DT0912.

Trefwoorden: BRAF, EGFR, gecombineerde doelgerichte therapie, gemetastaseerd colorectaal carcinoom

Keywords: BRAF, combined targeted therapy, EGFR, metastatic colorectal cancer



Figuur 1. Schematische weergave van de betrokken intracellulaire signaaloverdrachtmechanismen. **A.** Een *BRAF*-mutatie zorgt voor activiteit van ‘downstream’ eiwitten MEK en ERK, wat leidt tot stimulatie van tumorgroei bevorderende processen. Daarnaast zorgen MEK en ERK voor auto-inhibitie van EGFR via CDC25C, waardoor de PI3K-siginaaloverdracht op basaal niveau blijft. **B.** Door toedienen van een BRAF-remmer wordt de activiteit van BRAF, MEK en ERK geremd, maar valt het negatieve feedbackmechanisme via CDC25C weg. Dit resulteert in hyperactief EGFR en ‘downstream’ signaaloverdracht naar RAS en de PI3K-cascade, waardoor de tumorgroei in stand wordt gehouden. **C.** Gelijktijdige remming van zowel BRAF als EGFR heeft een synergistisch effect en resulteert in volledige remming van de tumorgroei in vitro en in vivo.

Inleiding

De ‘mitogen-activated protein kinase’ (MAPK) signaaltransductieroute speelt een belangrijke rol bij het aansturen van celgroei, celproliferatie en celoverleving (zie *Figuur 1A*). Deze route wordt geactiveerd door binding van extracellulaire groeifactoren of hormonen aan tyrosinekinasereceptoren, waaronder de epidermale groeifactorreceptor (EGFR).¹ Activerende mutaties in genen die coderen voor eiwitten die onderdeel uitmaken van deze signaaloverdrachtsroute kunnen leiden tot hyperactiviteit van deze route met als gevolg ongecontroleerde celproliferatie, verlengde celoverleving en stimulatie van andere tumorgroei bevorderende processen.² Mutaties in het *BRAF*-oncogen, het gen dat codeert voor het BRAF-eiwit, komen bij ongeveer 70% van de patiënten met melanoom voor, bij 40-45% van de papillaire schildklier carcinomen en bij ongeveer 10% van de patiënten met colorectaal carcinoom (CRC).³⁻⁵ In 80-90% van de *BRAF*-mutaties is er sprake van een puntmutatie in codon 600, waarbij het aminozuur valine is vervangen door een ander aminozuur (*BRAF*^{V600}).³

Rationale

Middelen die specifiek aangrijpen op gemuteerd BRAF, zoals vemurafenib en dabrafenib, zijn erg effectief gebleken bij de behandeling van patiënten met *BRAF**m*-melanoom.^{6,7} Bij patiënten met *BRAF**m*-CRC was de respons na behan-

deling met deze middelen echter vrijwel nihil.⁸ Prahallad et al. toonden in preklinisch onderzoek aan dat deze primaire ongevoeligheid wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van een negatief feedbackmechanisme, waarbij door de eiwitten MEK en ERK via een intermediair eiwit de activiteit van EGFR wordt geremd (zie *Figuur 1B*). Hierdoor wordt de activiteit van de 2 belangrijkste signaaltransductiepaden die onder invloed staan van EGFR, het MAPK-pad en het fosfatidylinositide-3-kinase (PI3K)-pad, ook afgeremd. Wanneer *BRAF**m*-tumorcellen worden blootgesteld aan een BRAF-remmer, wordt tevens de activiteit van MEK en ERK geremd. Hierdoor valt het negatieve feedbackmechanisme weg, wat achtereenvolgens leidt tot EGFR-hyperactiviteit, verhoogde activiteit van MAPK- en PI3K-siginaaltransductie, en stimulatie van processen die tumorgroei in stand houden.⁹ Combinatie van een BRAF-remmer met een EGFR-remmer (zie *Figuur 1C*) kon dit effect volledig teniet doen in in-vitro-experimenten en resulteerde in muismodellen met humane *BRAF*-gemuteerde CRC-cellen in een synergistisch anti-tumoreffect.^{9,10}

Om dit concept van gecombineerde doelgerichte therapie te vertalen naar een voor de patiënt geschikte behandeling zijn fase I/II-studies ontwikkeld waarin een BRAF-remmer in combinatie met een EGFR-remmer wordt onderzocht (<http://clinicaltrials.gov> NCT01719380, NCT01750918). Een voor de hand liggende manier van resistentieont-

Tabel 1. De belangrijkste in- en exclusiecriteria.

| Inclusiecriteria | Exclusiecriteria |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Leeftijd ≥ 18 jaar • Histologisch of cytologisch bewezen gemetastaseerd colorectaal carcinoom met progressie na systemische therapie • WHO-performance status ≤ 2 • Bewezen activerende <i>BRAF</i>-mutatie en <i>KRAS</i>-wildtype • Adequate hematologische, nier- en leverfuncties | <ul style="list-style-type: none"> • Symptomatische hersenmetastasen of leptomeningeale ziekte • Acute of chronische pancreatitis • Verstoorde gastro-intestinale functie of ziekte aan maag-darmkanaal die de absorptie van orale geneesmiddelen kunnen beïnvloeden • Klinisch significante cardiale aandoeningen |

wikkeling tegen deze combinatie lijkt een verhoogde PI3K-activiteit, 'downstream' van EGFR, door bijvoorbeeld een mutatie in *PIK3CA*, het gen dat codeert voor het PI3K-eiwit. Bovendien is in preklinisch onderzoek aangetoond dat de anti-tumoractiviteit van een 'triple' combinatie bestaande uit een BRAF-, EGFR- en PI3K-remmer nog groter is dan die van de duale combinatie met een BRAF- en EGFR-remmer (ongepubliceerde data). Daarom zal ook worden onderzocht of toevoeging van een PI3K-remmer aan de combinatie van een BRAF-remmer en een EGFR-remmer veilig en effectief is bij mensen.

Doelstellingen

De primaire doelen van deze studies zijn het vaststellen van de aanbevolen fase II-dosering van de BRAF-remmer-plus-EGFR-remmercombinatie en vervolgens het vaststellen van de anti-tumoractiviteit van deze combinaties bij een grotere groep patiënten met gemetastaseerd BRAFm-CRC. Het primaire eindpunt in fase II is progressievrije overleving. Secundaire doelstellingen zijn het karakteriseren van de veiligheid en verdraagbaarheid van de combinatiebehandeling, het bepalen van het farmacokinetische profiel, het vaststellen van de anti-tumoractiviteit met totale tumorrespons, duur van de respons en totale overleving als eindpunten, en het achterhalen van potentiële resistentiemechanismen.

Patiëntenpopulatie

Volwassen patiënten met gemetastaseerd colorectaal carcinoom met *KRAS*-wildtype en een activerende *BRAF*-mutatie komen in aanmerking voor deelname aan deze studie. Een overzicht van de belangrijkste in- en exclusiecriteria is weergegeven in Tabel 1. Jaarlijks wordt in Nederland bij ongeveer 10.000 mensen colorectaal carcinoom vastgesteld. Ongeveer de helft van deze patiënten komt in aanmerking voor een systemische behandeling, veelal met chemotherapie en doelgerichte medicijnen. Deze standaardbehandelingen hebben echter weinig tot geen effect bij de naar schatting 10% CRC-patiënten die

een *BRAF*-mutatie hebben. Specifiek voor deze groep patiënten zijn deze klinische studies opgezet.

Studieopzet

Dit onderzoek bestaat uit 2 delen: een fase I-dosisescalatiestudie gevolgd door een fase II-studie. In het fase I-deel worden de aanbevolen doseringen van de beide middelen vastgesteld. Hierbij wordt de EGFR-remmer te allen tijde toegediend in de geregistreerde monotherapie-dosering en de dosering van de BRAF-remmer wordt stapsgewijs verhoogd. De EGFR-remmer wordt intraveneus toegediend en de BRAF-remmer wordt oraal gegeven in de vorm van capsules.

In het fase II-deel worden grotere groepen patiënten behandeld met de eerder vastgestelde optimale doseringen. De behandeling wordt voortgezet totdat onacceptabele bijwerkingen optreden of ziekteprogressie wordt vastgesteld. Voor, tijdens en na behandeling worden op vaste tijden tumorbiopsen afgenomen in het kader van translationeel onderzoek. Hierbij wordt gezocht naar voorspellende biomarkers, worden veranderingen in farmacodynamische markers zoals gefosforyleerd ERK en AKT (pERK, pAKT) gemeten en wordt gezocht naar eventuele resistentiemechanismen. Patiënten worden 2 of 3 dagen opgenomen voor bloedafnamen ten behoeve van farmacokinetiek.

Vaststellen mutatiestatus

Bij alle patiënten dient voorafgaand aan studiedeelname te zijn vastgesteld dat er een activerende *BRAF*-mutatie aanwezig is in combinatie met afwezigheid van een mutatie in *KRAS*. Deze bepalingen kunnen plaatsvinden op gearhiveerd tumormateriaal of op een vers biopt van de primaire tumor of metastase. Als deze analyse niet in het lokale ziekenhuis kan worden uitgevoerd, kunnen patiënten hiervoor worden doorverwezen naar 1 van de 3 Nederlandse ziekenhuizen die deelnemen aan dit onderzoek: UMC Utrecht, Erasmus MC Kanker Instituut of Antoni van Leeuwenhoek.

Huidige status van dit onderzoek

In deze multicentrumstudies zijn op het moment van schrijven ruim 30 patiënten geïncludeerd. Het responspercentage is bemoedigend en diverse patiënten worden al meer dan een jaar behandeld met slechts geringe bijwerkingen.

Patiënten doorverwijzen

Voor vragen over dit onderzoek of voor (vragen over) verwijzing van potentiële patiënten voor dit onderzoek, kunt u contact opnemen met de lokale studiecoördinatoren prof. dr. Jan Schellens (j.schellens@nki.nl), dr. Ferry Eskens (f.eskens@erasmusmc.nl) of dr. Martijn Lolkema (m.p.j.k.lolkema@umcutrecht.nl).

Referenties

1. Dhillon AS, Hagan S, Rath O, Kolch W. MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene* 2007;26(22):3279-90.
2. Roberts PJ, Der CJ. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* 2007;26(22):3291-310.
3. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417(6892):949-54.
4. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, et al. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008;26(35):5705-12.
5. Nikiforov YE, Nikiforova MN. Molecular genetics and diagnosis of thyroid cancer. *Nat Rev Endocrinol* 2011;7(10):569-80.
6. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364(26):2507-16.
7. Hauschild A, Grob J-J, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380(9839):358-65.
8. Kopetz S, Desai J, Chan E, et al. PLX4032 in metastatic colorectal cancer patients with mutant BRAF tumors. *J Clin Oncol* 2010;28:15s;(suppl);abstr 3534).
9. Prahallad A, Sun C, Huang S, et al. Unresponsiveness of colon cancer to BRAF(V600E) inhibition through feedback activation of EGFR. *Nature* 2012;483(7387):100-3.
10. Corcoran RB, Ebi H, Turke a. B, et al. EGFR-mediated reactivation of MAPK signaling contributes to insensitivity of BRAF-mutant colorectal cancers to RAF inhibition with vemurafenib. *Cancer Discov* 2012;2(3):OF1-OF9.

Ontvangen 8 januari 2014, geaccepteerd 31 januari 2014.