

24. Juni 2013

---

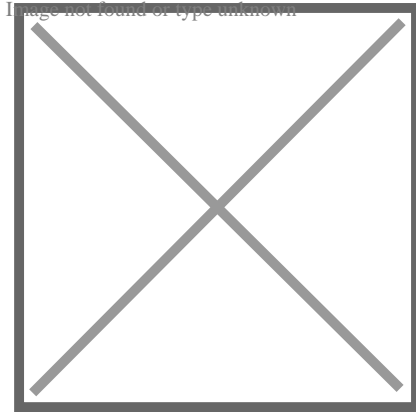
## Prognosemarker und molekulare Marker testikulärer Keimzelltumoren

### *Staging und Nachsorge*

**Die leitlinienempfohlene Therapie der klinisch lokalisierten sowie der metastasierten testikulären Keimzelltumore wird individualisiert und risikoadaptiert auf dem Boden etablierter klinischer, pathohistologischer und serologischer Prognosefaktoren durchgeführt. Molekulare Marker haben sich im klinischen Alltag noch nicht etabliert. Zielsetzung des vorliegenden Artikels ist es, die derzeit etablierten Prognosefaktoren mit den daraus abzuleitenden klinischen und therapeutischen Konsequenzen darzustellen und neue, potentiell nutzbare molekulare Marker vorzustellen.**

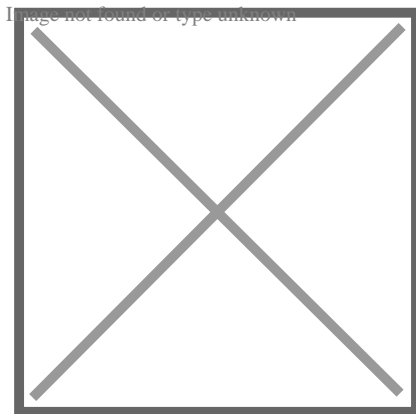
### **Klinisches Stadium I**

Die intratestikuläre vaskuläre Invasion (VI, Abb. 1) durch den Primärtumor repräsentiert beim nichtseminomatösen Keimzelltumor (NSKZT) den klinisch wichtigsten Prognosefaktor, der mit der Präsenz einer okkulten retroperitonealen Metastasierung assoziiert ist (1-3). Unter einer aktiven Surveillance entwickeln ca. 48% der Patienten Metastasen, während nur 14-22% der Patienten ohne VI ein Rezidiv erleiden. Der prozentuale Anteil embryonalen Karzinoms (%ECA, Abb. 2) am Gesamttumorvolumen sowie die Proliferationsrate, gemessen an der Ki-67-(MIB-1)-Expression, repräsentieren weitere wichtige Prognosefaktoren (4, 5). Der fehlende Nachweis einer VI in Kombination mit einem prozentualen Anteil des %ECA < 45% identifizierte 91,5% der Patienten korrekt in das pathologische Stadium I (4). Der Nachweis einer VI mit einem %ECA > 80% klassifizierte 88% der Patienten korrekt in das pathologische Stadium IIA/B. Die Kombination von VI, %ECA > 50% und einem Proliferationsindex > 20% identifizierte in einer prospektiven Studie der German Testicular Cancer Study Group das Vorliegen eines pathologischen Stadiums II mit einer positiven Prädiktion von 86,5% (5). Waren nur die Parameter VI und %ECA > 50% vorhanden, betrug das Risiko der okkulten Metastasierung 65%. War keiner der genannten Prädiktoren vorhanden, war das Risiko einer okkulten retroperitonealen Metastasierung mit 16% gering. In einer weiteren kleinen prospektiven Studie untersuchten Perotti et al. (6) anhand eines Prädiktionsmodells die beiden Parameter VI und/oder %ECA > 80%. Das Risiko einer okkulten retroperitonealen Metastasierung betrug 67%, wenn nur ein Prognosefaktor vorhanden war.



**Abb. 1: Intratestikuläre vaskuläre Invasion (VI) eines embryonalen Karzinoms.**

Die bisherige Suche nach molekularen Prognosefaktoren, die mit einem erhöhten Metastasierungsrisiko vergesellschaftet sind, verlief bis dato erfolglos. Die immunhistochemische Expressionsanalyse von p53, bcl-2, Cathepsin D und E-Cadherin stellte in Multivarianzanalysen keinen signifikanten, gegenüber %ECA und VI unabhängigen Risikofaktor dar (4). Der Nachweis von zirkulierenden Tumorzellen im peripheren Blut war ebenfalls nicht mit einer besseren Vorhersagekraft assoziiert. Aktuell wurde der Marker CXCL12 bei 182 Patienten mit einem NSKZT unter aktiver Surveillance bezüglich der Prädiktion eines Rezidivs analysiert (7). 182 Patienten konnten evaluiert werden, und es zeigte sich, dass die Expression des Markers mit einer Rezidivfreiheit nach 2 Jahren von 80,1% korrelierte, während eine fehlende Expression mit einer Rezidivfreiheit von nur 64,9% vergesellschaftet war (HR=0,54, 95% CI 0,28-1,04). In der multivariaten Analyse zeigten sich nur die fehlende Markereexpression (HR=0,43, 95% CI 0,22-0,83) sowie der Nachweis einer VI (HR=4,77, 95% CI 2,49-9,13) als hochsignifikant mit dem Auftreten eines Rezidivs assoziiert.



**Abb. 2: Embryonales Karzinom.**

Für das Seminom im klinischen Stadium I existieren mit der Tumorgöße (< versus > 4 cm) und dem Nachweis einer Rete-testis-Infiltration derzeit nur pathohistologische Prognosemarker, die in einer retrospektiven Studie identifiziert wurden, deren Validierung in prospektiven Studien jedoch noch aussteht. Bei Nachweis lediglich eines Prognosefaktors beträgt das Rezidivrisiko unter aktiver Surveillance 12-16%, während die Rezidivrate bei Vorliegen beider Parameter auf 32% ansteigt (8). Die prospektive Validierung der beiden genannten Marker ist von klinisch wichtiger Bedeutung. So zeigte sich in einer aktuellen retrospektiven Analyse von 502 Patienten mit

einem Seminom im klinischen Stadium I, dass keiner der Parameter als unabhängiger, statistisch signifikanter Risikofaktor für die Entwicklung eines Rezidivs nach aktiver Surveillance identifiziert werden konnte (9). Im klinischen Alltag sollten dementsprechend für alle Patienten die beiden Optionen aktive Surveillance oder systemische Chemotherapie mit einem Zyklus Carboplatin in einer Dosierung AUC7 besprochen werden (1).

Molekulare Prognosemarker, die mit einem erhöhten Rezidivrisiko assoziiert sein könnten, sind beim Seminom derzeit nicht adäquat erforscht.

### **Fortgeschrittene Keimzelltumoren**

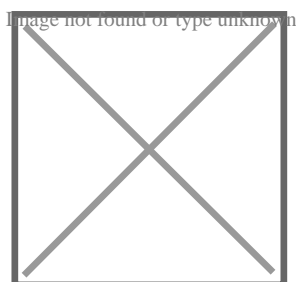
Die postchemotherapeutische retroperitoneale Lymphadenektomie (PC-RPLND) stellt einen integralen Bestandteil der multimodalen Therapie fortgeschrittener Keimzelltumoren dar. Die Rationale besteht in der kurativen Resektion residueller vitaler Karzinome und/oder maturer Teratome, die in ca. 15% bzw. 40% der Patienten pathohistologisch nachweisbar sind (1, 10). In knapp 50% der Patienten wird die PC-RPLND somit aufgrund des Nachweises von Narbe und Nekrose onkologisch unnötig durchgeführt und bedingt - provokant gesprochen - allenfalls therapieassoziierte Komplikationen ohne onkologischen Benefit. Bis dato hat eine Vielzahl von Arbeitsgruppen versucht, klinische und molekulare Marker zu identifizieren, die mit einem ungünstigen Ansprechen auf die systemische Chemotherapie und damit der Persistenz signifikanter pathohistologischer Befunde korrelieren. Weder beim Seminom noch beim NSKZT ist dies überzeugend gelungen (10). Es haben sich verschiedene Arbeitsgruppen mit klinischen Vorhersagemodellen beschäftigt, die aufgrund einer falsch-negativen Rate von 20-30% und einer diagnostischen Vorhersagekraft von nur 70-80% klinisch irrelevant geblieben sind (9-13). Kürzlich hat die German Testicular Cancer Study Group Prognosefaktoren zur Vorhersage von Narbe und Nekrose in residuellen Lymphknoten analysiert (14). Obwohl mit einer Serumkonzentration des AFP < 20 ng/ml sowie der Tumorgröße vor und nach Chemotherapie statistisch signifikante, in der Multivarianzanalyse unabhängige Risikofaktoren identifiziert wurden, lag die diagnostische Verlässlichkeit dennoch nur bei 75% und die Rate falsch-positiver Vorhersagen bei 20%.

Aktuelle Untersuchungen molekularer Marker bewegen sich entweder nur in dem Bereich präklinischer Studien oder haben nur sehr kleine Patientenkollektive in der Evaluation berücksichtigt. Vergouwe und Mitarbeiter etablierten ein anderes Modell zur Vorhersage von Narbe/Nekrose anhand einer großen, multiinstitutionellen Datenbank (11-13). Benigne Läsionen wurden in 33% der Patienten identifiziert, 28% der Patienten mit Residualtumoren < 1 cm zeigten matures Teratom oder vitales Karzinom in den Lymphknoten. In der Multivarianzanalyse waren das Fehlen von maturem Teratom im Primärtumor (odds ratio (OR)=4,5 (2,3-8,8)) und ein normaler AFP-Serumspiegel (OR=4,4 (2,2-8,7)) die statistisch signifikanten, mit dem Nachweis von Narbe/Nekrose assoziierten Marker, während die Korrelation einer normwertigen b-HCG-Konzentration (OR=1,4 (0,68-2,9)) und LDH-Serumkonzentration (OR=1,9 (1,2-2,9)) weniger nützlich war. Der positive Vorhersagewert für das Vorliegen von Narbe/Nekrose lag bei 81% und bedingt eine falsch-positive Vorhersage in 20% der Patienten, so dass auch dieses Modell klinisch kaum eine Anwendung findet.

Aufgrund der fehlenden verlässlichen Anwendbarkeit der klinischen Prognosemodelle haben sich verschiedene Arbeitsgruppen mit der Evaluierung von molekularen Prognosemarkern befasst, die mit einem Ansprechen auf die Systemtherapie und einer Persistenz von maturem Teratom/vitalem Karzinom assoziiert sein könnten. In den ersten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Integration von Markern der Chemoresistenz wie bcl-2, mdr-1 und die Proteinprodukte der Mismatch-Repair-Gene die diagnostische Vorhersagekraft der klinischen Modelle verbessern könnten (11). Insbesondere die Integration der mdr-1-Expression im Tumorgewebe des

primären Orchiectomiepräparates verbesserte die Sensitivität und den positiv prädiktiven Wert zur korrekten Identifikation von Patienten mit Narbe/Nekrose von 75% auf 85% bzw. von 78% auf 86%. Die externe retrospektive sowie die prospektive Validierung dieser Befunde stehen noch aus, so dass die Marker-basierten Modelle derzeit keine klinische Anwendung finden. Demgegenüber stehen Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe, die die mdr-1-Expression im Primärtumor nicht als signifikanten Prognosefaktor für das Vorliegen einer signifikanten Pathologie identifizieren konnten (15).

Die Analyse weiterer molekularer Marker ist jedoch in Bearbeitung und konzentriert sich auf die multifaktoriellen Mechanismen, die in der molekularen Pathogenese der intrinsischen oder extrinsischen Cisplatin-Resistenz eine Rolle spielen könnten (16). Dabei müssen (1) Transportproteine, die zu einer reduzierten Cisplatin-Akkumulation führen, (2) aktivierte Detoxifikationssysteme durch erhöhte intrazelluläre Konzentrationen von Radikalfängern wie Glutathion oder Metallothionein, (3) Veränderungen der DNA-Reparaturmechanismen, (4) Mechanismen der Toleranz gegenüber DNA-Schäden und (5) Veränderungen der Apoptose-induzierenden Signalkaskade berücksichtigt werden. Bei der Evaluation der gestörten intrazellulären Cisplatin-Akkumulation steht die Untersuchung reduzierter Expressionen des Ctr1 (Cooper transporter 1) sowie erhöhter Expressionen der Glutathion-S-Transferase im Vordergrund. Für beide Marker existieren derzeit nur Daten aus präklinischen, jedoch nicht aus klinischen Untersuchungen, so dass eine Abschätzung über eine mögliche Beteiligung an der Entwicklung der Cisplatin-Resistenz beim KZT nicht getroffen werden kann. Für die Metallothioneine konnte bei den KZT keine Korrelation zwischen ihrer Expression und dem Ansprechen auf eine Cisplatin-basierte Chemotherapie hergestellt werden. Bezüglich der DNA-Reparaturmechanismen (nucleotide excision repair, interstrand crosslinking repair, translesional synthesis polymerases) konnte allgemein gezeigt werden, dass Cisplatin-sensitive Tumorzellen einen geringeren Besatz an Reparaturenzymen zur Korrektur Cisplatin-induzierter DNA-Schäden aufweisen als die resistenten Zellen, so dass intrinsische Mechanismen ursächlich postuliert werden müssen. Der Mechanismus der Nukleotidexzision wird durch eine Vielzahl von Proteinen wie XPA, RPA, XPC-HR23B, TFIIH, ERCC1-XPF oder XPG vermittelt. In einer Vielzahl von Malignomen korreliert die ERCC1-XPF-Proteinexpression mit dem Ansprechen auf die Chemotherapie und der Überlebensrate. Bezüglich der testikulären Keimzelltumoren existieren derzeit Daten aus Zellkulturuntersuchungen, die zumindest eine Korrelation zwischen Expression und therapeutischem Ansprechen vermuten lassen. Die Mismatch-Repair-Gene scheinen in die Vermittlung einer Cisplatin-Resistenz involviert zu sein, wobei sich auch für dieses System kontroverse Aussagen für unterschiedliche Tumoren finden. Bei den testikulären Keimzelltumoren konnte ein direkter Zusammenhang zwischen einer reduzierten Expression von hMLH1 und hMSH2 und der Ausbildung einer Cisplatin-Resistenz bzw. dem progressionsfreien Überleben hergestellt werden. Weitere Studien an großen Patientenkollektiven müssen die oben genannten verschiedenen, in die Ausbildung von Cisplatin-Resistenzmechanismen potentiell involvierten molekularen Mechanismen weiter aufklären, um evtl. auch therapeutische Konsequenzen ableiten zu können.



## **Prof. Dr. med. Axel Heidenreich**

Direktor der Klinik und Poliklinik für Urologie  
Universitätsklinikum der RWTH Aachen  
Pauwelsstr. 30  
52074 Aachen

Tel.: 0241/808 9377

Fax: 0241/808 2441

E-Mail: aheidenreich@ukaachen.de

### **Abstract**

*A. Heidenreich, D. Pfister, Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Aachen*

Management of organ confined and metastatic testicular germ cell tumours is performed by the use of risk adapted and individualized therapeutic protocols based on established clinical, pathohistological and serological prognostic risk factors. Molecular are not ell established in the various treatment and follow-up scenarios of testicular germ cell tumours. It is the aim of the manuscript to present and to discuss the currently established prognostic markers and the clinical decision-making process derived from the presence or absence of these markers. If already analysed and clinically useful, we also highlight the role of molecular markers.

**Keywords:** *testicular germ cell tumour, prognostic risk factors*

### **Literaturhinweise:**

- (1) Beyer J, Albers P, Altena R, et al. Maintaining success, reducing treatment burden, focusing on survivorship: highlights from the third European consensus conference on diagnosis and treatment of germ-cell cancer. *Ann Oncol* 2013; 24(4):878-88.
- (2) Pont J, Höltl W, Kosak D, et al. Risk-adapted treatment choice in stage I nonseminomatous testicular germ cell cancer by regarding vascular invasion in the primary tumor: a prospective trial. *J Clin Oncol* 1990; 8:16-19.
- (3) Read G, Stenning SP, Cullen MH, et al. Medical Research Council prospective study of surveillance for stage I testicular teratoma. Medical Research Council Testicular Tumors Working Party. *J Clin Oncol* 1992; 10:1762-1768.
- (4) Heidenreich A, Sesterhenn IA, Mostofi FK, et al. Prognostic factors that identify patients with clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors at low risk and high risk for metastasis. *Cancer* 1998; 83:1002-1011.
- (5) Albers P, Siener R, Kliesch S, et al. German Testicular Cancer Study Group. Risk factors for relapse in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors: results of the German Testicular Cancer Study Group Trial. *J Clin Oncol* 2003;15;21(8):1505-12.
- (6) Perrotti M, Ankem M, Bancilla A, et al. Prospective metastatic risk assignment in clinical stage I nonseminomatous germ cell testis cancer: a single institution pilot study. *Urol Oncol.* 2004; 22(3):174-7.
- (7) Gilbert GC, Thway K, Chandler I, et al. Prediction of relapse in stage I nonseminomatous germ cell tumors (NSGCT) by CXCL12: Results from the MRC TE08 and TE22 clinical trials. *J Clin Oncol* 31, Suppl 6; Abstr. 319.
- (8) Warde P, Specht L, Horwich A, et al. Prognostic factors for relapse in stage I seminoma managed by

surveillance. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4448-4452.

(9) Soper MS, Hastings JR, Cosmatos HA, et al. Observation Versus Adjuvant Radiation or Chemotherapy in the Management of Stage I Seminoma: Clinical Outcomes and Prognostic Factors for Relapse in a Large US Cohort. *Am J Clin Oncol* 2012 Dec 27. (Epub ahead of print).

(10) Heidenreich A, Thüer D, Polyakov S. Postchemotherapy retroperitoneal lymph node dissection in advanced germ cell tumours of the testis. *Eur Urol* 2008; 53: 260-72.

(11) Vergouwe Y, Steyerberg EW, et al. Validation of a prediction model and its predictors for the histology of residual masses in nonseminomatous testicular cancer. *J Urol* 2001; 165:84-88.

(12) Vergouwe Y, Steyerberg EW, de Wit R, et al. External validation of a prediction rule for residual mass histology in testicular cancer: an evaluation for good prognosis patients. *Br J Cancer* 2003; 88:843-847.

(13) Vergouwe Y, Steyerberg EW, Foster RS, et al. Predicting retroperitoneal histology in postchemotherapy testicular germ cell cancer: a model update and multicenter validation with more than 1000 patients. *Eur Urol* 2007; 51:424-432.

(14) Albers P, Weissbach L, Krege S, et al. German Testicular Cancer Study Group. Prediction of necrosis after chemotherapy of advanced germ cell tumors: results of a prospective multicenter trial of the German Testicular Cancer Study Group. *J Urol* 2004;171:1835-8.

(15) Schrader AJ, Seger M, Konrad L, et al. Clinical impact of MDR1-expression in testicular germ cell cancer. *Exp Oncol* 2007;29(3):212-6.

(16) Köberle B, Tomicic MT, Usanova S, et al. Cisplatin resistance: preclinical findings and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta* 2010; 1806:172-182.