

# Spleißvariante AR-V7

**I. Tsaur, C. Becker, P. Thelen &  
F. C. Roos**

## **Der Urologe**

Organ der Deutschen Gesellschaft für  
Urologie Organ des Berufsverbandes  
der Deutschen Urologen

ISSN 0340-2592

Urologe

DOI 10.1007/s00120-017-0461-x



Urologe  
DOI 10.1007/s00120-017-0461-x

© Springer Medizin Verlag GmbH 2017



CrossMark

I. Tsauro<sup>1,5</sup> · C. Becker<sup>2,5</sup> · P. Thelen<sup>3,5</sup> · F. C. Roos<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Klinik für Urologie und Kinderurologie, Universitätsmedizin Mainz, Mainz, Deutschland

<sup>2</sup>Forschungskoordination, Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V., Düsseldorf, Deutschland

<sup>3</sup>Klinik für Urologie, Universitätsmedizin Göttingen, Göttingen, Deutschland

<sup>4</sup>Klinik für Urologie und Kinderurologie des Universitätsklinikums der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt, Frankfurt, Deutschland

<sup>5</sup>Für: Fachgruppe Molekulare Urologie der Arbeitsgruppe urologische Forschung der Deutschen Gesellschaft für Urologie, Düsseldorf, Deutschland

## Spleißvariante AR-V7

### Ist die Zeit reif für ihre routinemäßige Anwendung als prädiktiver Marker beim Prostatakarzinom?

Zunehmende experimentelle und klinische Erkenntnisse weisen auf das Potenzial der Androgenrezeptorspleißvariante 7 (AR-V7) hin und beim kastrationsrefraktären metastasierten Prostatakarzinom (CRPC) eine Resistenz gegenüber der hormonellen Therapie und somit eine limitierte Wirksamkeit der Androgenrezeptorsignalinhibitoren (ARSI) Abiraterone und Enzalutamid anzuzeigen. Doch ist die „prime time“ für die breite klinische Anwendung des Markers bereits eingeläutet?

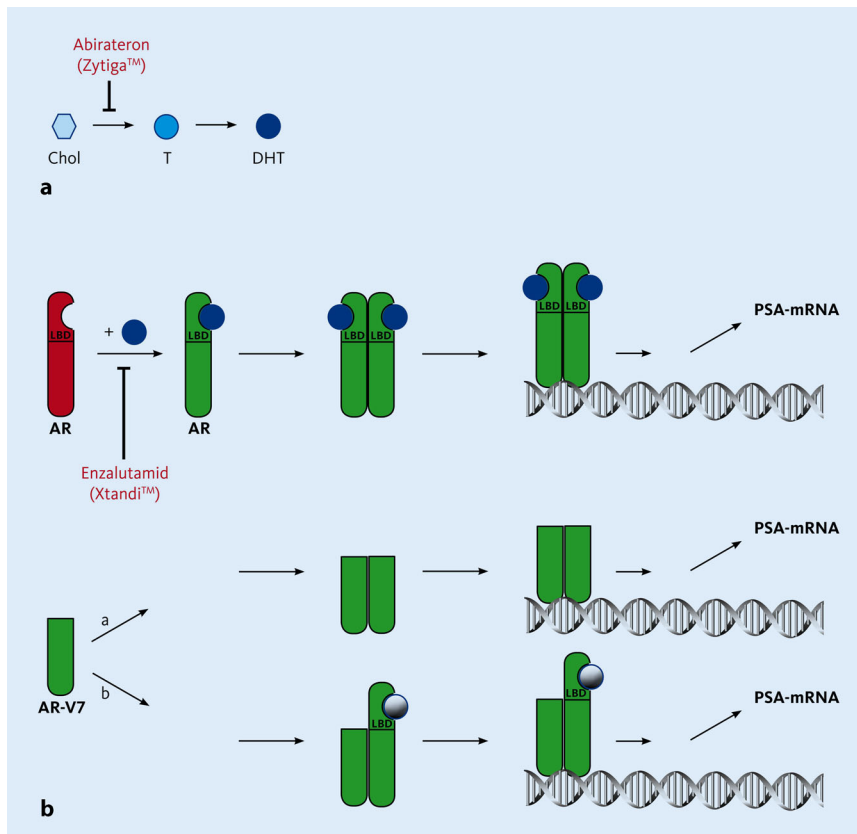
Der potenzielle Nutzen der Bestimmung des AR-V7-Status bei Patienten mit einem metastasierten CRPC wurde erstmalig von Antonarakis et al. in einer klinischen Studie analysiert [1]. Es wurden jeweils 31 Patienten eingeschlossen, welche eine Therapie mit Abiraterone oder Enzalutamid erhalten haben. In dieser Studie wurde nur die quantitative RT-PCR zur Detektion bzw. Quantifizierung von AR-V7-mRNA in zirkulierenden Tumorzellen verwendet. Jeweils 12 und 6 der mit Enzalutamid bzw. Abiraterone behandelten Patienten wiesen hierbei messbare AR-V7-mRNA-Expression vor Einleitung der Therapie auf. Im Vergleich zu AR-V7-negativen, demonstrierten diese Patienten eine niedrigere PSA-Ansprechrates, kürzeres biochemisches, klinisches und radiologisches progressionsfreies sowie Gesamtüberleben. Alles in allem erwies sich für die AR-V7-positiven Patienten

nahezu kein klinischer Vorteil unter der Behandlung mit Abiraterone oder Enzalutamid, was auf eine prädiktive Wertigkeit des AR-V7-Status bzgl. des Therapieansprechens auf ARSIs deuten könnte. In der Nachfolgestudie der Gruppe wurden zusätzlich 37 Patienten untersucht, welche mit Docetaxel oder Cabazitaxel behandelt wurden, von denen 17 AR-V7-positiv waren [2]. Es zeigten sich hierbei keine signifikanten Unterschiede bzgl. der PSA-Ansprechrates und des biochemischen sowie klinischen bzw. radiologischen progressionsfreien Überlebens in Abhängigkeit des AR-V7-Status. Bezüglich dieser klinischen Endpunkte erbrachte jedoch der Vergleich mit den aktualisierten onkologischen Daten der Patienten aus der ersten Studie, die mit einem ARSI behandelt wurden, signifikante Vorteile für die AR-V7-positiven Patienten unter Behandlung mit einem Taxan. Bei den AR-V7-negativen Patienten zeigte sich eine vergleichbare Wirksamkeit zwischen den Substanzen.

Diese Studien belegen den prädiktiven Charakter von AR-V7 in Therapieverläufen des CRPC in dem Maße, dass die Fortsetzung einer effektiven Hormontherapie bzw. der Wechsel zu einer ebenfalls aussichtsreichen Behandlung mit einem ARSI bei Vorliegen von AR-V7 nicht ratsam erscheint. Ebenso ist aber die Effektivität von Taxanen in AR-V7-positiven Patienten weitaus weniger von diesem Resis-

tenzmechanismus beeinträchtigt. Es ist bemerkenswert, dass dieser Marker bereits als mRNA solch eine prädiktive Wertigkeit aufweist. Eine Alles-oder-Nichts-Qualität als Marker hätte dagegen nur der Nachweis des AR-V7-Proteins selbst, vorzugsweise im Zellkern der Tumorzellen bzw. CTC. Aber den oben genannten Studien zufolge können bereits durch mRNA-Analytik, verbunden mit günstigerer Signalstärke und Amplifizierbarkeit, valide Aussagen möglicher Therapiesequenzen getroffen werden. Die Bestimmung der AR-V7-Funktion selbst bleibt zwar wünschenswert, ist aber analytisch ungleich schwieriger.

Diese Problematik wurde jedoch in einem anderen Konzept zur Bestimmung des AR-V7-Status von Scher et al. aufgegriffen [3, 4]. Hier wurde in der Tat das AR-V7-Protein in Zellkernen der zirkulierenden Tumorzellen mittels Immunfluoreszenz detektiert. 191 Blutproben aus 161 Patienten vor Beginn einer neuen Therapielinie (128 Prä-ARSI und 63 Prä-Taxan) wurden untersucht. 34 Proben waren AR-V7-positiv. Wiederum demonstrierten AR-V7-positive Patienten bei Behandlung mit einem ARSI signifikante Nachteile in Bezug auf posttherapeutische PSA-Veränderungen, radiologisches progressionsfreies Überleben, Therapiedauer und Gesamtüberleben im Vergleich zu AR-V7-negativen. Bei Taxanen war dieser Nachteil ausschließlich auf das Gesamtüberleben beschränkt. Insbe-



**Abb. 1** ▲ Androgenabhängige und -unabhängige Signalvermittlung durch Androgenrezeptor und Androgenrezeptorspleißvarianten: a Die Biosynthese von Testosteron (T) aus Cholesterin (Chol) verläuft über mehrere enzymatische Schritte. Abiraterone (Zytiga™) inhibiert dabei spezifisch den durch das Enzym Steroid-17 $\alpha$ -Hydroxylase (CYP17A1) katalysierten Schritt. Das aktivere Androgen Dihydrotestosteron (DHT) entsteht durch Hydrierung von Testosteron durch das Enzym 5 $\alpha$ -Reduktase. b Der inaktive Androgenrezeptor (AR, rot) wird an seiner Ligandenbindungsdomäne (LBD) durch Testosteron oder DHT aktiviert (AR, grün) und dimerisiert mit einem weiteren aktivierten AR-Molekül (vereinfachte Darstellung). Das Dimer migriert in den Zellkern, bindet dort Responseelemente auf der DNA und löst die mRNA-Expression von androgenabhängigen Genen, wie z. B. PSA, aus (Schema oben). Die Aktivierung des natürlichen AR ist kompetitiv durch Enzalutamid (Xtandi™) hemmbar. Alternative Spleißvarianten (AR-V, grün), bei denen die LBD funktionslos ist oder fehlt, wie z. B. die AR-V7, sind konstitutiv aktiv: a Homodimere aus AR-V7 führen zu unkontrollierter Expression ursprünglich androgenabhängiger Gene; b alternativ sind auch Heterodimere aus AR-V7 und AR mit undefinierter Ligandenbindung als Mechanismus für Therapieresistenzen denkbar. Die Aktivität der Androgenrezeptorvarianten ist pharmakologisch weder durch Abirateron noch durch Enzalutamid hemmbar (Therapieresistenz, Kreuzresistenz)

sondere zeigte sich eine Sterberisikoreduktion um 76 %, wenn AR-V7-positive Patienten mit einem Taxan statt einem ARSI behandelt wurden. Die beste Aussagekraft des AR-V7-Status bzgl. des Therapieansprechens war bei der Definition der AR-V7-Positivität im Falle eines sich ausschließlich im Zellkern (und nicht zusätzlich im Zytoplasma) befindlichen Proteins gegeben. In derartigen Assays kann der Resistenzmechanismus, über das bloße Indiz mRNA hinaus, direkt am Ort des Geschehens als Funktion nachgewiesen werden. So offenbart das Vorliegen des AR-V7-Proteins im Kern ursächlich

sowohl die generelle Unabhängigkeit von jeglichem Androgenstimulus, als auch das Fehlen eines Therapieziels für effektive Antiandrogene (Abb. 1). Somit ist ein wichtiger Mechanismus sowohl für die primäre Resistenz gegenüber ARSI, als auch für die Kreuzresistenz zwischen Zytiga™ und Xtandi™ als Marker dargestellt. Ebenso erklärt sich so der fortgesetzte Therapieerfolg der Taxane trotz der Präsenz des AR-V7-Proteins, da deren Wirkung nicht durch das Auftreten von AR-V7 beeinträchtigt wird.

Der dritte bedeutende Assay wurde von Qu et al. in einer Studie an 81 mit

Abirateron und 51 mit Enzalutamid behandelten Patienten getestet [5]. In dieser Untersuchung wurden PSA-mRNA- und AR-V7-mRNA-Spiegel ohne aufwändige CTC-Isolation in der Fraktion der mononukleären Zellen nur aus dem peripheren Blut mittels digitaler PCR (ddPCR) gemessen, die zudem weniger anfällig für falsch-positive Ergebnisse ist. Die Expressionswerte im oberen Drittel wurden hierbei als „hohe“ AR-V7-Expression definiert (insgesamt ca. 33 % der Kohorte). Hierbei ging die hohe Expression von AR-V7-mRNA mit einer kürzeren Zeit bis zum Therapieversagen sowie niedrigerem Gesamtüberleben einher (je nach Therapielinie statistisch signifikant oder Trend). Die Kombination aus dem PSA-mRNA- und AR-V7-mRNA-Status erwies sich folglich als potenziell noch präziser für die Vorhersage der beiden klinischen Endpunkte unter der Therapie mit einem ARSI. Nach dem hier dargestellten Prinzip könnte allein durch RNA-Analysen der indirekte Rückschluss auf eine beteiligte Proteinfunktion gezogen werden, da die mRNA für das androgen-regulierte PSA nur über das tatsächliche Vorliegen eines soliden Transkriptionsfaktors (AR und/oder AR-V7) zustande kommen kann (Abb. 1).

Eine Reihe weiterer Testansätze wie z. B. Detektion von AR-V7-mRNA im Vollblut, AR-V7-mRNA in aus Blutplasma gewonnener exosomaler RNA sowie AR-V7-Protein im Patientengewebe wurden erst kürzlich beschrieben [6, 7]. Allerdings bestehen derzeit noch wesentliche Hürden, welche vor der klinischen Anwendung dieser Verfahren genommen werden müssen. Die wichtigste Limitation für alle Assays bleibt die retrospektive Korrelation des AR-V7-Status mit den onkologischen Endpunkten und die fehlende externe und v. a. prospektive Validierung. Die Studien haben zum Teil verschiedene klinische Endpunkte verwendet, wodurch der Vergleich der Ergebnisse untereinander nur schwer möglich ist. Des Weiteren nutzen die auf zirkulierenden Tumorzellen basierenden Verfahren verschiedene Plattformen zur Zelldetektion und „die“ optimale Technik für den klinischen Einsatz ist noch nicht definiert. Die Testmethoden ohne den aufwändigen Einsatz der schwer zu

## Zusammenfassung · Abstract

gewinnenden zirkulierenden Tumorzellen sind zwar technisch einfacher, werden jedoch durch die zunehmenden Berichte relativiert, dass entgegen der früheren Annahme AR-V7-mRNA nicht nur in malignen Prostatakarzinomzellen, sondern z. B. auch in normalen hämatopoetischen Zellen exprimiert wird, was potentiell die Aussage der Assays verfälschen könnte [8] und auf die oben genannten Proteinanalysen verweist. Um dieser „Falschpositivität“ Rechnung zu tragen, müssten die hämatopoetischen Zellen bzw. deren Bestandteile aus dem Biomaterial, an dem die Messung vorgenommen wird, eliminiert werden, was technisch kompliziert [8] und für die routinemäßige Anwendung kaum umsetzbar ist.

Ferner erschwert die Heterogenität des Prostatakarzinoms eine Vorhersage für das Ansprechen der betroffenen Patienten auf eine Therapie mit ARSI zu treffen, wenn einige zirkulierende Tumorzellen des gleichen Blutplasmas die AR-V7-Spleißvariante aufweisen und andere nicht [9]. Diese Heterogenität könnte zumindest eine von vielen möglichen Erklärungen dafür liefern, warum laut neuesten Berichten einige Patienten mit dem Nachweis von AR-V7-positiven zirkulierenden Tumorzellen doch auf ARSI ansprechen können [10, 11]. Darüber hinaus kann die AR-V7-Funktion zwar aktuelle Resistenzen gegen gerade angewandte Hormontherapien nachvollziehbar darstellen und somit auch auf Kreuzresistenzen verweisen [11], dieser Resistenzmechanismus ist jedoch in der Regel nicht permanent, er ist nicht genetisch manifestiert. So wird z. B. die Ansprechrate für Xtandi™ in Therapiesequenz nach Zytiga™ allein durch den zeitlichen Abstand beider Therapien wieder erhöht [12].

Aufgrund dieser Umstände dürfen therapeutische Empfehlungen, basierend auf einem AR-V7-Detektionstest, zum jetzigen Zeitpunkt noch mit äußerster Vorsicht ausgesprochen werden. Bevor dieser Biomarker tatsächlich den Eingang in die klinische Praxis finden kann, muss in erster Linie sein prädiktives Potenzial, gemessen an Verbesserung der Überlebensendpunkte je nach AR-V7-Status und dementsprechend durch-

Urologe DOI 10.1007/s00120-017-0461-x  
© Springer Medizin Verlag GmbH 2017

I. Tsauro · C. Becker · P. Thelen · F. C. Roos

## Spleißvariante AR-V7. Ist die Zeit reif für ihre routinemäßige Anwendung als prädiktiver Marker beim Prostatakarzinom?

### Zusammenfassung

Androgenrezeptorspleißvarianten weisen im Gegensatz zum normalen Androgenrezeptor keine funktionsfähige Ligandenbindungsdomäne auf und tragen damit zur Entwicklung eines metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinoms bei, das pharmakologisch nicht mehr durch Androgenrezeptorsignalinhibitoren, wie Abirateron oder Enzalutamid, therapierbar ist. Insbesondere die AR-V7 wurde kürzlich als potenzieller prädiktiver Biomarker für Patienten identifiziert, die eher von einer Chemotherapie mit Taxanen profitieren könnten. Viele Studien beschäftigen sich aktuell mit der Relevanz der AR-V7 und

beschreiben verschiedene Methoden zum Nachweis der AR-V7-Expression. Dabei ist der klinische Nutzen der AR-V7 zunächst noch mit Vorsicht zu bewerten. Mit diesem Kurzreview möchten die Autoren die aktuelle Evidenz rund um die AR-V7 beleuchten und mögliche Schlussfolgerungen für die Praxis diskutieren.

### Schlüsselwörter

Kastrationsresistentes Prostatakarzinom (CRPC) · Androgenrezeptorspleißvariante AR-V7 · Abiraterone · Enzalutamid · Bipolare Androgentherapie

## Splice variant AR-V7. Is it time for its routine use as a predictive marker in prostate cancer?

### Abstract

Androgen receptor splice variants (AR-Vs), if overexpressed, lack the ligand-binding domain conveying metastasized castration-resistant prostate cancer with a therapeutic resistance to androgen receptor signaling inhibitors. Particularly AR-V7 has recently been proposed as a potential predictive biomarker to identify patients who would probably benefit most from taxane-based cytotoxic treatment. Several assays to substantiate or quantify AR-V7 expression

have recently been proposed. However, their broad clinical value is still debatable. This contemporary update aims to shed light on the current evidence in the field and draw distinct practical conclusions.

### Keywords

Castration resistant prostate cancer (CRPC) · Androgen receptor splice variant AR-V7 · Abiraterone · Enzalutamide · Intermittent high-dose testosterone therapy

geführter Tumorthherapie, in prospektiven klinischen Studien demonstriert werden. Zukünftig wird sich herausstellen, welcher Test zum Nachweis der Spleißvarianten, ob mRNA oder Protein, in Kombination mit PSA-mRNA oder ohne, der zytoplasmatische oder nukleäre Nachweis der Spleißvarianten sich durchsetzen wird. Zumindest liefert der Nachweis der AR-V7-Spleißvariante den Klinikern ein Indiz für eine mögliche Resistenz der Patienten mit mCRPC auf eine Behandlung mit einem ARSI ([13]; **Abb. 1**). Gegenstand der aktuellen Forschung im Zusammenhang mit der AR-V7-Problematik sind Substanzen, die nicht den C-Terminus des Rezeptors, sondern den N-Terminus, welchen sowohl Androgenrezeptor als

auch AR-Spleißvarianten gemeinsam haben, binden können, wie EPI-506 [14]. Selbstverständlich stellt der N-Terminus des Androgenrezeptors nicht ein gleichwertig präzises Therapieziel wie die spezifische androgenbindende Domäne am C-Terminus dar. Darüber hinaus ist offenbar auch die therapeutische Elimination der AR-Spleißvarianten anstelle einer Inhibition möglich [15, 16]. Es bestehen also therapeutische Optionen, den nachgewiesenen Resistenzmechanismus zunächst wieder zu beseitigen, um dann wieder bewährte Hormontherapien fortzusetzen. Insbesondere im Rahmen der bipolaren Androgentherapie kann durch einen supraphysiologischen Testosteronspiegel (3- bis 8fache der Norm) nach einer Phase von Androgenentzug eine

Apoptose der Tumorzellen u. a. durch DNA-Strangbrüche induziert werden. Die Produktion der AR-Spleißvarianten wird herunterreguliert und die Aktivität des natürlichen Androgenrezeptors nimmt wieder überhand. Dieser Mechanismus führt zu einer Rückstellung der Resistenzmechanismen und macht eine Wiederanwendung von etablierten Hormontherapien möglich [17, 18]. Klinische Studien sollten zukünftig zeigen, ob mCRPC Patienten mit dem positiven Nachweis von AR-Spleißvarianten eine Reversibilität dieses Resistenzmechanismus unter bestimmten Behandlungsansätzen durch AR-V7-Diagnostik aufzeigen können, um so ein Wieder aufnehmen der am selben Patienten bereits erfolgreichen Hormontherapien zu ermöglichen.

### Korrespondenzadresse

#### C. Becker

Forschungskoordination, Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V.  
Uerdinger Straße 64, 40474 Düsseldorf,  
Deutschland  
cbecker@dgu.de

### Literatur

1. Antonarakis ES, Lu C, Wang H, Lubner B, Nakazawa M, Roeser JC et al (2014) AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med* 371:1028–1038
2. Antonarakis ES, Lu C, Lubner B, Wang H, Chen Y, Nakazawa M et al (2015) Androgen receptor splice variant 7 and efficacy of taxane chemotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *JAMA Oncol* 1:582–591
3. Scher HI, Graf RP, Schreiber NA, McLaughlin B, Lu D, Louw J et al (2016) Nuclear-specific AR-V7 protein localization is necessary to guide treatment selection in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol*. doi:10.1016/j.eururo.2016.11.024
4. Scher HI, Lu D, Schreiber NA, Louw J, Graf RP, Vargas HA et al (2016) Association of AR-V7 on circulating tumor cells as a treatment-specific Biomarker with outcomes and survival in castration-resistant prostate cancer. *JAMA Oncol* 2:1441–1449
5. Qu F, Xie W, Nakabayashi M, Zhang H, Jeong SH, Wang X et al (2017) Association of AR-V7 and prostate-specific antigen RNA levels in blood with efficacy of abiraterone acetate and enzalutamide treatment in men with prostate cancer. *Clin. Cancer Res* 23:726–734
6. Todenhöfer T, Azad A, Stewart C, Gao J, Eigl BJ, Gleave ME et al (2017) AR-V7 transcripts in whole blood RNA of patients with metastatic castration resistant prostate cancer correlate with response to abiraterone acetate. *J Urol* 197:135–142
7. Del Re M, Biasco E, Crucitta S, Derosa L, Rofi E, Orlandini C et al (2017) The detection of androgen receptor splice variant 7 in plasma-derived exosomal RNA strongly predicts resistance to hormonal therapy in metastatic prostate cancer patients. *Eur Urol* 71:680–687
8. Takeuchi T, Okuno Y, Hattori-Kato M, Zaitzu M, Mikami K (2016) Detection of AR-V7 mRNA in whole blood may not predict the effectiveness of novel endocrine drugs for castration-resistant prostate cancer. *Res Rep Urol* 8:21–25
9. Miyamoto DT, Zheng Y, Wittner BS, Lee RJ, Zhu H, Broderick KT et al (2015) RNA-Seq of single prostate CTCs implicates noncanonical Wnt signaling in antiandrogen resistance. *Science* 349:1351–1356
10. Bernemann C, Schnoeller TJ, Luedeke M, Steinestel K, Boegemann M, Schrader AJ et al (2017) Expression of AR-V7 in circulating tumour cells does not preclude response to next generation androgen deprivation therapy in patients with castration resistant prostate cancer. *Eur Urol* 71:1–3
11. Steinestel J, Luedeke M, Arndt A, Schnoeller TJ, Lennerz JK, Wurm C et al (2015) Detecting predictive androgen receptor modifications in circulating prostate cancer cells. *Oncotarget*. doi:10.18632/oncotarget.3925
12. Badrising SK, van der Noort V, van den Eertwegh AJ, Hamberg P, van Oort IM, van den Berg HP et al (2016) Prognostic parameters for response to enzalutamide after docetaxel and abiraterone treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer patients; a possible time relation. *Prostate* 76:32–40
13. Antonarakis ES, Lu C, Lubner B, Wang H, Chen Y, Zhu Y et al (2017) Clinical significance of androgen receptor splice variant-7 mRNA detection in circulating tumor cells of men with metastatic castration-resistant prostate cancer treated with first- and second-line abiraterone and enzalutamide. *J Clin Oncol*. doi:10.1200/JCO.2016.70.1961
14. Antonarakis ES, Chandhasin C, Osbourne E, Luo J, Sadar MD, Perabo F (2016) Targeting the N-terminal domain of the androgen receptor: a new approach for the treatment of advanced prostate cancer. *Oncologist* 21:1427–1435
15. Liu C, Armstrong C, Zhu Y, Lou W, Gao AC (2016) Niclosamide enhances abiraterone treatment via inhibition of androgen receptor variants in castration resistant prostate cancer. *Oncotarget* 7:32210–32220
16. Gehrig J, Kaulfuss S, Jarry H, Bremmer F, Stettner M, Burfeind P et al (2017) Prospects of estrogen receptor beta activation in the treatment of castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget*. doi:10.18632/oncotarget.16496
17. Schweizer MT, Antonarakis ES, Denmeade SR (2017) Bipolar androgen therapy: a paradoxical approach for the treatment of castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol*. doi:10.1016/j.eururo.2017.03.022
18. Schweizer MT, Wang H, Lubner B, Nadal R, Spitz A, Rosen DM et al (2016) Bipolar androgen therapy for men with androgen ablation naive prostate cancer: results from the Phase II BATMAN Study. *Prostate* 76:1218–1226