

Význam nového prediktivního markeru Schlafen 11 u pacientek s karcinomem ovaria léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu – výsledky pilotní analýzy

The role of Schlafen 11 as a predictive biomarker in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy – results of the pilot analysis

Hausnerová J.¹, Ehrlichová L.², Ovesná P.³, Matulová K.¹, Chlubnová J.², Weinberger V.⁴, Bednaříková M.²

¹ Ústav patologie LF MU a FN Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, MU Brno

⁴ Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno

Souhrn

Východiska: Schlafen 11 (SLFN11) je nedávno objevený nukleární protein, který má podle dosud publikovaných dat potenciál stát se markerem umožňujícím predikovat odpověď na léčbu preparáty, jejichž terapeutickým cílem je poškození DNA. Zde prezentujeme výsledky pilotní analýzy imunohistochemické (IHC) exprese SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinomem (OC) léčených chemoterapií založenou na platinovém derivátu (P-CHT). **Materiál a metody:** Z klinické databáze pacientek léčených ve FN Brno pro OC v letech 2010–2021 byla identifikována kohorta celkem 61 pacientek léčených P-CHT v rámci primární systémové léčby. U všech pacientek byla na vzorcích tumoru odebraných před zahájením P-CHT provedena IHC analýza protilátkou SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA). Míra exprese SLFN11 v nádorových buňkách byla vyhodnocena jak podle H-skóre (celková hodnota = 1× slabá pozitivita + 2× střední pozitivita + 3× silná pozitivita), tak i celkovým procentuálním vyjádřením positivity jakékoli intenzity. **Výsledky:** Z celkového počtu 61 pacientek mělo celkem 30 pacientek P-rezistentní onemocnění, medián doby bez progresu onemocnění (platinum treatment free interval – TFIp) byl 5 měsíců, mezikvartilové rozpětí (interquartile range – IQR) bylo 2–10 a 31 pacientek mělo P-senzitivní onemocnění (TFIp 43 měsíce; IQR 26–81). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy i rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby. Exprese SLFN11 byla vyhodnocena celkem u 60 pacientek, u jedné pacientky s P-senzitivním onemocněním byl vzorek nehodnotitelný. V rámci celého souboru byla míra exprese SLFN11 nízká (H-skóre 10; 10% pozitivita). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl v H-skóre ani v celkové procentuální pozitivitě exprese SLFN11 mezi kohortami pacientek s P-senzitivním a P-rezistentním onemocněním. Podobně nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi expresí SLFN11 a hlavními prognostickými parametry (stadium v době diagnózy, objektivní odpověď po primární léčbě, TFIp, čas do úmrtí). **Závěr:** V rámci pilotní analýzy jsme při zvolené metodice neprokázali zásadní prediktivní ani prognostický význam imunohistochemického stanovení exprese markeru SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu.

Klíčová slova

karcinom ovaria – SLFN11 – prediktivní marker – imunohistochemie

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Markéta Bednaříková, Ph.D.
Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno
Jihlavská 20
625 00 Brno
e-mail: bednarikova.marketa@fnbrno.cz

Obdrženo/Submitted: 1. 8. 2023

Přijato/Accepted: 4. 10. 2023

doi: 10.48095/ccko2023S127

Summary

Background: Schlafen 11 (SLFN11), a recently discovered nuclear protein, has been identified as a promising biomarker capable to predict the response to DNA damage-inducing agents across various cancer types. In this article, we present the results of the pilot SLFN11 immunohistochemical (IHC) analyses in ovarian cancer (OC) patients treated with platinum-based chemotherapy (P-CHT). **Materials and methods:** The retrospective cohort of 61 ovarian cancer patients treated with primary P-CHT at University Hospital Brno in 2010–2021 was identified from the clinical database based on predefined criteria. The IHC analyses of SLFN11 expression were performed on tumor samples collected before P-CHT initiation using monoclonal antibody SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA). The slides were evaluated for SLFN11 expression in tumor cells by H-score (total score = 1× weak + 2× mean + 3× strong positivity) and as a percentage of positivity of any intensity. **Results:** From the whole cohort of 61 patients, a total of 30 patients had P-resistant disease with a median platinum-free interval (TFIp) of 5 months; the interquartile range (IQR) was 2–10 and 31 patients had P-sensitive disease with median TFIp 43 months (IQR 26–81). The stage at diagnosis, histological type, and extent of surgical cytoreduction were equally distributed in both cohorts. Except for one patient in the P-sensitive cohort, all tumor samples were evaluable for IHC SLFN11 analyses. SLFN11 expression was generally low in the entire cohort (H-score 10, 10% positivity). Neither statistically significant differences in SLFN11 expression between P-resistant and P-sensitive disease, nor the correlation with main prognostic factors (stage at diagnosis, objective response to primary treatment, TFIp, overall survival) were observed. **Conclusion:** With the methodology used in this pilot study, we failed to demonstrate any predictive or prognostic significance of the immunohistochemical SLFN11 evaluation in ovarian cancer patients treated with platinum-based chemotherapy.

Key words

ovarian cancer – SLFN11 – predictive marker – immunohistochemistry

Úvod

Přes rozšiřující se možnosti molekulárně cílené biologické léčby zůstává základem primární systémové léčby ovariálního karcinomu chemoterapie založená na kombinaci platinového derivátu a taxanu. Senzitivita, respektive rezistence k léčbě platinou patří navíc spolu se stadiem v době diagnózy a možnostmi kompletní chirurgické cytoredukce k základním prognostickým faktorům úspěšnosti primární léčby. Ačkoliv je známá asociace některých genetických alterací s rezistencí k chemoterapii založené na platinovém derivátu (P-CHT), dosud nebyl validován žádný prediktivní marker pro využití v klinické praxi. Senzitivita nebo rezistence k léčbě platinou je tak hodnocena až retrospektivně, a to na základě časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresu onemocnění (platinum-free interval – TFIp).

Schlafen 11 (SLFN11) je jaderný protein řadící se mezi DNA/RNA helikázy, jehož jednou z hlavních funkcí je indukce buněčné smrti v případě replikačního stresu navozeného poškozením DNA např. vlivem protinádorové léčby. Řada preklinických modelů i klinických studií z nedávné doby demonstrovala korelaci mezi mírou exprese SLFN11 a odpovědí na léčbu cytostatiky, jejichž terapeutickým cílem je poškození DNA (vč. platinových derivátů), a to napříč různými typy nádorů [1–7].

Dosud publikovaná data o potenciálním prediktivním významu SLFN11 u pacientek s ovariálním karcinodem léčených P-CHT nejsou jednoznačná, interpretace výsledků je navíc limitována malou velikostí hodnocených souborů a rozdílnou metodikou stanovování exprese SLFN11. Zatímco tři preklinické studie využívající pro hodnocení exprese SLFN11 metodiku založenou na polymerázové řetězové reakci prokazovaly celkem shodně jednoznačnou asociaci mezi expresí SLFN11 a celkovým přežitím u pacientek s karcinodem ovaria léčených P-CHT, výsledky dvou dosud publikovaných studií využívajících imunohistochemické stanovení byly rozporuplné. V jedné ze studií při imunohistochemickém hodnocení exprese SLFN11 pouze v nádorových buňkách ovariálního karcinomu nebyla prokázána statisticky významná korelace se senzitivitou k P-CHT, naopak ve druhé studii hodnotící expresi SLFN11 jak v buňkách karcinomu ovaria, tak i v okolních nenádorových buňkách byla nalezena významná asociace mezi hodnotou celkového H-skóre a senzitivitou k P-CHT [2,4,8–10].

Problémem pro potenciální využití v klinické praxi je tedy nepochybně také skutečnost, že zatím neexistuje jednotná metodika pro hodnocení imunohistochemické exprese SLFN11, a to jak ve smyslu typu protilátky, tak i způsobu hodnocení. V rámci grantového projektu,

jehož cílem je identifikace prediktivních biomarkerů na základě kombinovaného genomického a imunohistochemického profilování u pacientek s karcinodem ovaria léčených P-CHT, jsme se proto kromě jiného zaměřili na imunohistochemickou analýzu exprese SLFN11.

Materiál a metody

Na základě souhlasu Etické komise FN Brno byla z klinické databáze pacientek léčených ve FN Brno pro karcinom ovaria v letech 2010–2021 identifikována kohorta celkem 61 pacientek léčených P-CHT v rámci primární systémové léčby se srovnatelnými hlavními prognostickými parametry (histologický typ, stadium v době diagnózy, rozsah primární cytoredukce), lišící se pouze odpovědí na léčbu P-CHT. Kritéria pro platina-senzitivitu (PS) a platina-rezistenci (PR) byla stanovena klinicky, a to na základě TFIp (časového intervalu mezi datem poslední aplikace P-CHT a datem stanovení progresu onemocnění). Z archívu Ústavu patologie FN Brno byly následně vybrány reprezentativní vzorky tumoru odebrané pacientkám před zahájením systémové léčby, fixované formalinem a zalité v parafínu. Pro imunohistochemické analýzy byl použit manuální protokol podle Takashimy et al. s využitím protilátky SLFN11 (D-2), sc-515071 (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA) [11]. Míra exprese SLFN11 byla vyhodnocena v nádorových buňkách jednak podle H-skóre (celková hodnota = 1× slabá po-

Tab. 1. Charakteristiky pacientek dle odpovědi na primární léčbu.

	n	Celkem n = 61	P-rezistentní n = 30	P-senzitivní n = 31	p-hodnota ²
Věk (roky)	61	65 (55–71)	66 (61–72)	62 (50–68)	0,142
Histologie	61				> 0,999
HGSC		54 (88,5 %)	27 (90,0 %)	27 (87,1 %)	
non-HGSC		7 (11,5 %)	3 (10,0 %)	4 (12,9 %)	
Stadium	61				> 0,999
časná stadia (I + II)		2 (3,3 %)	1 (3,3 %)	1 (3,2 %)	
pozdní stadia (III + IV)		59 (96,7 %)	29 (96,7 %)	30 (96,8 %)	
Prognostická skupina v době dg dle stadia a rozsahu cytoredukce	61				0,8
časná stadia		2 (3,3 %)	1 (3,3 %)	1 (3,2 %)	
pozdní stadium s kompletní cytoredukcí		29 (47,5 %)	13 (43,3 %)	16 (51,6 %)	
pozdní stadium s makroskopickým reziduem nebo bez cytoredukce		30 (49,2 %)	16 (53,3 %)	14 (45,2 %)	
Počet cyklů P-based CHT v rámci primární léčby	61	6 (6–6)	6 (4,25–6)	6 (6–6)	0,024
Objektivní odpověď po 1. linii CHT	61				< 0,001
CR + PR		43 (70,5 %)	12 (40,0 %)	31 (100,0 %)	
SD + PD		18 (29,5 %)	18 (60,0 %)	0 (0,0 %)	
Doba bez progresu po primární léčbě (měsíce, bez cenzorování)	53	12 (5–40)	5 (2–10)	43 (26–81)	< 0,001
Čas do úmrtí (měsíce, bez cenzorování)	48	30 (12–83)	17 (6–28)	93 (52–138)	< 0,001

¹Medián (mezikvartilové rozpětí – IQR), n (%), ²Wilcoxonův „rank sum“ test, Fisherův exaktní test, CHT – chemoterapie, CR – kompletní odpověď, HGSC – high grade serózní karcinom, P – platina, PR – částečná odpověď, SD – stabilní onemocnění

Tab. 2. Imunohistochemické stanovení SLFN11 v nádorových buňkách u pacientek s ovariálním karcinodem léčených chemoterapií založenou na platinovém derivátu.

	n	Celkem, n = 61	P-rezistentní, n = 30	P-senzitivní, n = 31	p-hodnota ¹
H skóre	60				0,598
medián (IQR)		10 (0–30)	11 (0–34)	9 (0–25)	
průměr (SD)		27 (39)	33 (45)	21 (32)	
% pozitivita jakékoliv intenzity	60				0,598
medián (IQR)		10 (0–26)	10 (0–34)	9 (0–24)	
průměr (SD)		20 (27)	24 (30)	17 (24)	

¹Wilcoxonův „rank sum“ test, IQR – mezikvartilové rozpětí, P – platina, SD – směrodatná odchylka

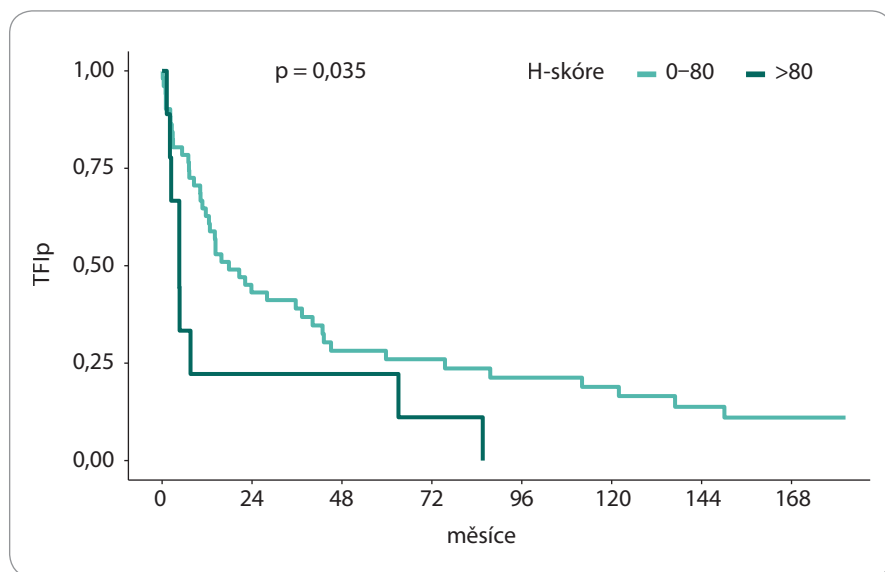
zitivita + 2× střední pozitivita + 3× silná pozitivita), tak i celkovým procentuálním vyjádřením pozitivitu nádorových buněk jakékoliv intenzity.

Výsledky

Z celkového počtu 61 pacientek mělo celkem 30 pacientek P-rezistentní one-

mocnění (medián TFIp 5 měsíců; IQR 2–10) a 31 pacientek mělo P-senzitivní onemocnění (TFIp 43 měsíce; IQR 26–81). V obou kohortách bylo rovnoměrné zastoupení pacientek podle histologického typu, stadia v době diagnózy i rozsahu cytoredukce v rámci primární léčby (tab. 1). Expres SLFN11 byla vy-

hodnocena celkem u 60 pacientek, u jedné pacientky s P-senzitivním onemocněním byl vzorek nehodnotitelný. V rámci celého souboru byla míra exprese SLFN11 nízká (H-skóre 10; 10% pozitivita). Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl exprese SLFN11 mezi kohortami pacientek s P-rezistentním



Graf 1. Závislost TFIp na čase.

TFIp – platinum treatment free interval

a P-senzitivním onemocněním hodnocený ať již pomocí H-skóre (medián H-skóre 11 (IQR 0–34), resp. 9 (IQR 0–25); p-hodnota 0,598) nebo celkovou procentuální pozitivitou nádorových buněk (medián pozitivita 10 (IQR 0–34), resp. 9 (IQR 0–24); p-hodnota 0,598) (tab. 2). Podobně nebyla prokázána statisticky významná souvislost mezi expresí SLFN11 v nádorových buňkách a hlavními prognostickými parametry (stadium v době diagnózy, objektivní odpověď po primární léčbě, TFIp, čas do úmrtí). Jako nejlepší cut-off H-skóre pro odlišení P-senzitivity a P-rezistence byla vyčíslena hodnota 80 (graf 1).

Závěr

Při zvolené metodice imunohistochemických analýz jsme v rámci pilotní studie neprokázali zásadní prediktivní ani prognostický význam stanovení exprese markeru SLFN11 v nádorových buňkách u pacientek s ovariálním karcinomem léčených chemoterapií založené na platinovém derivátu.

Dedikace

Projekt byl podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NU21-03-00306.

Literatura

1. Ballestrero A, Bedognetti D, Ferraioli D, et al. Report on the first SLFN11 monothematic workshop: from function

to role as a biomarker in cancer. *J Transl Med* 2017; 15(1): 1–99. doi: 10.1186/s12967-017-1296-3.

2. Shee K, Wells JD, Jiang A, Miller TW. Integrated pan-cancer gene expression and drug sensitivity analysis reveals SLFN11 mRNA as a solid tumor biomarker predictive of sensitivity to DNA-damaging chemotherapy. *Christie E, ed. PLoS ONE* 2019; 14(11): e0224267. doi: 10.1371/journal.pone.0224267.

3. Zhang B, Ramkumar K, Cardnell RJ et al. A wake-up call for cancer DNA damage: the role of Schlafen 11 (SLFN11) across multiple cancers. *Br J Cancer* 2021; 125(10): 1333–1340. doi: 10.1038/s41416-021-01476-w.

4. Zoppoli G, Regairaz M, Leo E, et al. Putative DNA/RNA helicase Schlafen-11 (SLFN11) sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109(37): 15030–15035. doi: 10.1073/pnas.1205943109.

5. Barretina J, Caponigro G, Stransky N et al. The Cancer Cell Line Encyclopedia enables predictive modelling of anticancer drug sensitivity. *Nature* 2012; 483(7391): 603–607. doi: 10.1038/nature11003.

6. Takashima T, Taniyama D, Sakamoto N, et al. Schlafen 11 predicts response to platinum-based chemotherapy in gastric cancers. *Br J Cancer* 2021; 125(1): 65–77. doi: 10.1038/s41416-021-01364-3.

7. Taniyama D, Sakamoto N, Takashima T et al. Prognostic impact of Schlafen 11 in bladder cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Cancer Sci* 2021; 113(2): 784–795. doi: 10.1111/cas.15207.

8. Nogales V, Reinhold WC, Varma S et al. Epigenetic inactivation of the putative DNA/RNA helicase SLFN11 in human cancer confers resistance to platinum drugs. *Oncotarget* 2016; 7(3): 3084–3097. doi: 10.18632/oncotarget.6413.

9. Winkler C, King M, Berthe J et al. SLFN11 captures cancer-immunity interactions associated with platinum sensitivity in high-grade serous ovarian cancer. *JCI Insight* 2021; 6(18): e146098. doi: 10.1172/jci.insight.146098.

10. Willis SE, Winkler C, Roudier MP et al. Retrospective analysis of Schlafen11 (SLFN11) to predict the outcomes to therapies affecting the DNA damage response. *Br J Cancer* 2021; 125(12): 1666–1676. doi: 10.1038/s41416-021-01560-1.

11. Takashima T, Sakamoto N, Murai J et al. Immunohistochemical analysis of SLFN11 expression uncovers potential non-responders to DNA-damaging agents overlooked by tissue RNA-seq. *Virchows Arch* 2021; 478(3): 569–579. doi: 10.1007/s00428-020-02840-6.