

Predikce léčebné odpovědi k cílené terapii trastuzumabem u patientek s karcinomem prsu.

Svoboda M., Grell P., Fabian P., Šimíčková M., Palácová M., Hanzelková Z., Petráková K., Dzierchciarková M., Hajdúch M., Vyzula R.

Masarykův onkologický ústav, Brno

Fakultní nemocnice, Olomouc

Úvod

Trastuzumab je humanizovaná monoklonální protilátka proti extracelulární doméně receptoru Her-2/neu (dále jen HER-2), jehož nadměrná exprese (HER-2+) je detekována přibližně u 15-30% karcinomů prsu, které se vyznačují agresivním biologickým chováním [1,2]. Trastuzumab je v současnosti jedinou látkou použitelnou k cílené terapii těchto karcinomů v adjuvantní i paliativní léčbě. V kombinaci s chemoterapií prokazatelně významně zvyšuje léčebnou odpověď, prodlužuje čas do progresu/relapsu onemocnění i celkové přežití patientek [3]. Na straně druhé výsledky klinických studií rovněž ukázaly, že existuje i opačná strana mince, a to v podobě primární a sekundární rezistence nádorového onemocnění k trastuzumabu, která se týká více než poloviny takto léčených patientek [4]. Cílem naší studie bylo identifikovat molekulární prediktory ve vztahu ke vzniku rezistence k cílené terapii trastuzumabem.

Metodika

V souboru patientek s metastatickým HER-2 pozitivním (IHC stanovená exprese HER-2 receptoru na 3+ nebo FISH metodou prokázaná amplifikace Her-2/neu genu) karcinomem prsu jsme realizovali dva základní typy analýz. V prvním případě (86

BIOLOGICKÁ LÉČBA NÁDORŮ

pacientek) jsme studovali vztah sérové koncentrace extracelulární domény Her-2 receptoru (S-HER-2) k základním klinickým a biologickým charakteristikám nádorového onemocnění. Stanovení S-HER-2 bylo provedeno vždy před první aplikací trastuzumabu a dále v období jeho podávání, a to 60 až 90, 90 až 130 dnů a dále á 2 až 3 měsíce, až do progresse choroby. Podobně jsme detekovali sérovou koncentraci tří dalších markerů: extracelulární domény receptorů Her-3 a IGF-1R, ligandu IGF-1 a standardních nádorových markerů CA 15-3 a CEA. Druhý typ analýzy byl zaměřen na vlastnosti primárních tumorů, v jejichž vzorcích (76 pacientek), uchovaných v parafinových blocích po fixaci formalínem, jsme imunohistochemicky vyšetřovali expresi a případně i aktivitu vybraných molekulárních markerů, souvisejících se signální drahou HER-2 receptoru a s mechanismy vzniku primární nebo sekundární rezistence k trastuzumabu. Jednalo se o proteiny: aktivovanou formu HER-2 receptoru p-HER-2-1221 a p-HER-2-1248, Akt kinasu 1 a 2 a její aktivované formy p-Akt-473 a p-Akt-308, S6K kinasu a její aktivovanou formu p-S6K-235/236, mTOR a jeho aktivovanou formu p-mTOR-2448, GSK3beta a aktivovanou formu p-GSK3beta-9, a dále proteiny PTEN a Mucin-4. U každého ze studovaných markerů jsme analyzovali, zda ovlivňuje efektivitu cílené léčby charakterizovanou parametrem TTP – časem do progresse onemocnění/time to progression. P-hodnoty statistické významnosti byly založeny na Gehan-Wilcoxonově testu nebo Chi-kvadrátovém testu a pouze P-hodnoty $\leq 0,05$ byly považovány za signifikantní. Ke stanovení TTP byla použita Kaplan-Meierova metoda a statistická závislost byla stanovena na základě logrank testu.

Výsledky

Analýzovaný soubor tvořilo celkem 112 pacientek (28 až 77 let, medián 54 let), které byly v období mezi dubnem 2000 až lednem 2007 léčené paliativní protinádorovou terapií založenou na aplikaci trastuzumabu. Tato léčba probíhala nejčastěji v kombinaci s taxany (83% pacientek), pouze 5% pacientek bylo léčeno monoterapií trastuzumabem. U více než poloviny případů (53%) se jednalo o použití trastuzumabu v první linii paliativní léčby. První a druhá linie pak představovaly 88 % všech režimů. Do 8. 1. 2008 zprogreďovalo celkem 97 pacientek (86,6%) a v důsledku progresse choroby zemřelo 78 pacientek (69,6%). Jedna pacientka zemřela na atypickou pneumonii v době leukopenie. Medián času do progresse onemocnění byl 287 dnů, rozmezí 29 až 1543 dnů. Medián celkového přežití pacientek od doby zahájení léčby trastuzumabem do doby úmrtí na progresi onemocnění byl 612 dnů, rozmezí 40 až 2079 dnů. Metastatické postižení CNS bylo v průběhu terapie trastuzumabem zaznamenáno nově u 31 pacientek (27,7%). Ve 22 případech bylo metastatické postižení CNS součástí první progresse onemocnění při léčbě trastuzumabem, ve zbývajících 9 případech bylo zjištěno až při druhé progresi onemocnění, přičemž první progresse byla extrakraniální a v léčbě trastuzumabem bylo pokračováno [5].

Analýza sérových markerů prokázala, že S-HER-2 je nejčastěji detekovaný elevovaný nádorový marker v séru pacientek s metastatickým HER-2+ karcinomem prsu (6). Koncentrace S-HER-2 překračující diskriminační hodnotu 15 $\mu\text{g/l}$ byla zjištěna u 60 z 86 testovaných pacientek, tj. 70%. Pro srovnání, pozitivita CEA a CA15-3 markeru byla zjištěna u 47% a 59% pacientek. Koncentrace S-HER-2 vyšší než 25,2 $\mu\text{g/l}$ (medián měřených hodnot) před zahájením léčby predikovala horší prognózu (medián TTP 366 vs 251 dnů, $p=0,0045$, Hazard Ratio 0,509, CI 95% 0,296-0,800). Na základě vývoje sérových koncentrací S-HER-2 v průběhu léčby trastuzumabem bylo možné odlišit 4 různé typy dynamiky S-HER-2. Typ dynamiky predikoval prognózu vývoje onemocnění, a to jak ve smyslu dosažené odpovědi na terapii s trastuzumabem, tak i času do progresse onemocnění. Pokles sérové koncentrace S-HER-2 pod diskriminační mez v době mezi 90. až 130. dnem léčby predikoval lepší prognózu (medián TTP 366 vs 201 dnů, $p=0,0003$, Hazard Ratio 0,3501, CI 95% 0,0758-0,4702). Zajímavým se stal výsledek sledování dynamiky markerů ve skupině pacientek, jejichž onemocnění zprogreďovalo v CNS v době, kdy extrakraniálně bylo úspěšně kontrolováno podávanou léčbou. Zjistili jsme, že u těchto pacientek docházelo ze sledovaných markerů nejčastěji k elevaci S-HER-2 ($p=0,0036$). Elevace S-HER-2 byla nejčastěji detekovatelným markerem v době před/nebo při zjištění progresse choroby (bez závislosti na jejím místě) ($p=0,021/p=0,0149$). Dalším zajímavým zjištěním bylo, že pacientky, které pokračovaly v léčbě trastuzumabem i přes progresi onemocnění (za současné změny režimu chemoterapie), měly stejnou prognózu bez ohledu na koncentraci S-HER-2 v době progresse choroby, ve srovnání s pacientkami, u kterých po progresi pokračovala systémová léčba bez trastuzumabu. Ve druhé skupině byla zvýšená koncentrace S-HER-2 spjata s kratším EFS (event free survival), který byl definován jako 2. progresse choroby nebo úmrtí pacientky (medián EFS 219 vs 113 dnů, $p=0,022$, Hazard Ratio 0,407, CI 95% 0,124 – 0,853). Analýza sérových koncentrací Her-3, IGF-1R a ligandu IGF-1 neprokázala na daném klinickém modelu prediktivní význam.

Z molekulárních markerů analyzovaných pomocí imunohistochemického vyšetření jsme zjistili, že pacientky s karcinomy, které měly vysokou expresi Akt-2 kinasu se současnou přítomností aktivované p-Akt-473 kinasu v buněčném jádře, měly lepší prognózu, než ostatní (medián TTP 399 vs 233 dnů, $p=0,0017$, Hazard Ratio 2,094, CI 95% 1,12 – 3,49). Pokud byla za stejných okolností v jádře detekována společně s p-Akt-473 i p-Akt-308 byla pozitivní prediktivní hodnota vyšší (medián TTP 637 vs 233 dnů, $p=0,0036$, Hazard Ratio 2,79, CI 95% 1,33 – 4,41). Kromě Akt kinasu jsme, z dosud zpracovaných výsledků, potvrdili prediktivní význam i u S6K kinasu. Pacientky s karcinomy s expresí aktivované formy S6K kinasu měly horší prognózu (medián TTP 215 vs 488 dnů, $p < 0,02$) ve srovnání s pacientkami s tumory bez prokázané exprese aktivované S6K kinasu. Rozdíl mezi pozitivní predikcí v případě Akt kinasu a negativní predikcí S6K kinasu je vysvětlitelný skutečností, že k aktivaci S6K kinasu dochází i dalšími buněčnými pochody souvisejícími s metabolismem buňky, a to zejména přísunem energetických nutrientů, a tedy bez závislosti na aktivitě HER-2 receptoru a Akt kinasu. Důsledek aktivované S6K kinasu je však podobný jako v případě Akt kinasu [7,8].

BIOLOGICKÁ LÉČBA NÁDORŮ**Závěr**

Zásadní úlohu v indikaci a aplikaci receptor-cílené terapie představuje v současnosti průkaz cílové struktury v nádorových buňkách a do budoucna vyhodnocení molekulárních prediktivních markerů rezistence. Naše výsledky prokazují význam sledování sérové koncentrace extracelulární domény HER-2 receptoru, aktivity a kompartmentalizace Akt kinasy a aktivity S6K kinasy pro predikci odpovědi HER-2+ karcinomu prsu na paliativní protinádorovou léčbu s trastuzumabem.

Literatura

1. Slamon D.J. et al. Human breast cancer: Correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 1987;235:177-82.
2. Fabian P. et al. Incidence Her-2 amplifikace u mammárního karcinomu a její korelace s klinicko-patologickými parametry. Sestava 500 konsekutivních mammárních karcinomů MOŮ. Abstrakt 098 in XXX. Brněnské onkologické dny a XX. Konference pro sestry a laboranty, Brno. 11.-13. Květen 2006
3. Svoboda M. Monoklonální protilátky v onkologii. In *11. kongres nemocničních lékárníků*. Brno. Sekce nemocničních lékárníků ČFS, 2007. s.1-1.
4. Nahta R. et al. Mechanisms of disease: understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol.* 2006;3(5):269-80.
5. Svoboda M. et al. Brain metastases in breast cancer: a retrospective cohort study of 187 patients and prognostic markers determination. *Breast Cancer Research and Treatment*, Nizozemí : Springer, 106, Suppl, od s. S253, 1 s.
6. Grell P. et al. Serum HER-2/neu: a tumor marker for monitoring response to treatment of metastatic breast cancer with trastuzumab. Abstrakt XXX. 19th meeting of European Association For Cancer Research, Budapešť. 1.-4. června 2006.
7. Svoboda M. et al. Significance of Akt activation and compartmentalization for prediction of outcome in Her-2 positive breast cancer patients treated with trastuzumab. Abstrakt 4022. San Antonio Breast Cancer Symposium, San Antonio. 13.-16. prosince 2007.
8. Yakes F.M. et al. Herceptin-induced inhibition of phosphatidylinositol-3 kinase and Akt is required for antibody-mediated effects on p27, cyclin D1, and antitumor action. *Cancer Res.* 2002 Jul 15;62(14):4132-41.

Poděkování

Práce byla podpořena grantovým projektem IGA MZ ČR NR/8335-3.