

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

og disse patienters recidivrisiko blev reduceret med 50% af antracyclinholdigt kemoterapi i forhold til anden kombinationskemoterapi. Det forventes derfor, at FISH-testning for *TOP2A* relativt hurtigt vil vinde indpas i klinikken, og at denne farmakodiagnostiske test vil blive udført på linje med de tilsvarende test for hormonreceptorer og HER2.

TOP2A er altså hovedsageligt en prædiktiv markør, men ser man på den prognostiske værdi af genændringen, var den i DBCG-studiet, ud over at være en prædiktiv markør, også en uafhængig prognostisk variabel for recidiv og død.

Stadieinddeling og risikostratificering inden for brystkræft er p.t. ikke optimal. Efterhånden som nye biologiske – og dyre – behandlinger dukker frem, er behovet for markører, med hvilke man kan forudsige prognosen og prædikerer behandlingen til den enkelte patient, efterspurgt, og feltet er derfor genstand for intensiv udforskning.

Korrespondance: Ann Sægaard Knoop, Onkologisk Afdeling R, Odense Universitetshospital, DK-5000 Odense C. E-mail: knoop@dadlnet.dk

Antaget: 12. marts 2007
Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Fitzgibbon PL, Page DL, Weaver D et al. Prognostic factors in breast cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med 2000;124:966-78.
2. www.dbcg.dk / marts 2007.
3. Liberman L. Pathologic analysis of sentinel lymph nodes in breast carcinoma. Cancer 2000;88:971-7.
4. Abner AL, Collins L, Peiro G et al. Correlation of tumor size and axillary lymph node involvement with prognosis in patients with T1 breast carcinoma. Cancer 1998;83:2502-8.
5. Elston CW, Ellis IO. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. Histopathology 1991;19:403-10.
6. Kroman N, Jensen MB, Wohlfahrt J et al. Factors influencing the effect of age on prognosis in breast cancer: population based study. BMJ 2000;320:474-9.
7. Rhodes A, Jasani B, Balaton AJ et al. Frequency of oestrogen and progesterone receptor positivity by immunohistochemical analysis in 7016 breast carcinomas: correlation with patient age, assay sensitivity, threshold value, and mammographic screening. J Clin Pathol 2000;53:688-96.
8. Williams C, Brunskill S, Altman DG et al. Cost-effectiveness of using prognostic information to select women with breast cancer for adjuvant systemic therapy. Health Technology Assessment 2006;10:1-204.
9. Baselga J, Perez EA, Pienkowski T et al. Adjuvant trastuzumab: a milestone in the treatment of HER-2-positive early breast cancer. Oncologist 2006;11:4-12.
10. Knoop AS, Knudsen H, Balslev E. Retrospective analysis of topoisomerase IIa amplifications and deletions as predictive markers in primary breast cancer patients randomly assigned to cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil or cyclophosphamide, epirubicin, and fluorouracil: Danish Breast Cancer Cooperative Group. J Clin Oncol 2005;23:7483-90.

Integration af nye og fremtidige biologiske markører i behandling af cancer mammae

Ph.d.-studerende Sidse Ørnbjerg Würtz,
cand.scient. Katrine Lütken Henriksen, dr. scient. Anne Lykkesfeldt, professor Julio Celis & professor Nils Åge Brünner

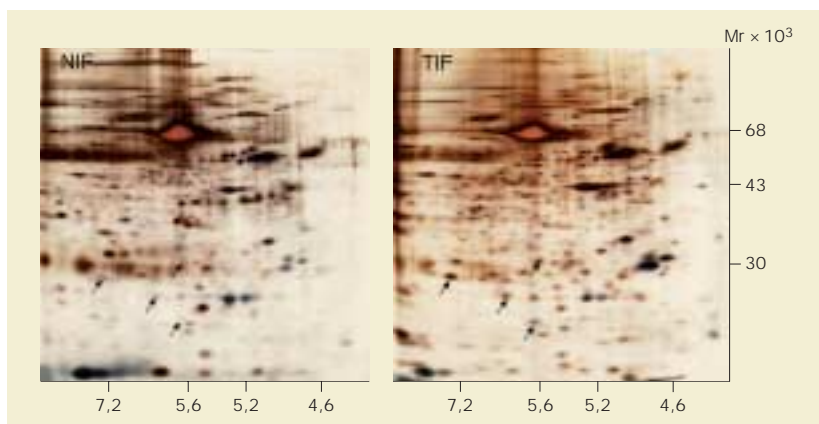
Københavns Universitet, Det Biovidenskabelige Fakultet for Fødevarer, Veterinærmedicin og Naturressourcer, Institut for Veterinær Patobiologi, Afdelingen for Biomedicin, og Kræftens Bekæmpelse, Institut for Biologisk Kræftforskning, Afdelingen for Brystkræft

Generelt kan en tumormarkør defineres som et værktøj til hjælp i den kliniske beslutningsproces for den enkelte patient. Lidt mere specifikt kan en tumormarkør defineres som et molekyle, en proces eller en substans, som ændres kvalitativt eller kvantitativt ved tilstedeværelse af en præmalign eller malign lidelse. Denne ændring kan initieres af tumorcellerne eller af det omkringliggende stroma og vil kunne måles med en analytisk metode. En tumormarkør kan være DNA, mRNA, et protein eller en biologisk proces, og den analytiske platform kan således være af forskelligt format, rangerende fra komplekse gen-*arrays* til immunhistokemiske test.

Tumormarkører inddeles ofte efter deres anvendelse. En detektionsmarkør anvendes til at detektere malign sygdom hos det enkelte individ med. Vi benævner detektionsmarkører som screeningsmarkører, hvis de kan bruges til at detektere malign sygdom i store asymptomatiske populationer med. Optimale screeningsmarkører skal være vævsspecifikke og skal kunne måles i et let tilgængeligt medium f.eks. blod. Analysemetoden skal være simpel og billig, og markøren skal ikke påvirkes af andre sygdomme end netop den cancer, der screenes for. Desværre findes der i dag ikke sådanne markører til cancer mammae, og nye detektions/-screeningsmarkører bør således opspores. En prognostisk markør skal bruges i vurderingen af den enkelte patients risiko for sygdomstilbagefald og efterfølgende død af cancersygdommen uden anden behandling end det primære kirurgiske indgreb. Markøren bruges således til at vurdere, om den enkelte patient skal tilbydes adjuverende behandling i tillæg til den initiale operation eller ej. De prognostiske markører, der anvendes i dag, er desværre ikke tilstrækkelig præcise til stratificering af patienter med cancer mammae, og nye skal derfor findes. Med en prædiktiv markør kan man forudsige sandsynligheden for, at en patient har gavn af en specifik

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Figur 1. Gelbaseret proteomanalyse af normal interstitiel væske (NIF) og tumorinterstitiel væske (TIF). Pilene viser nogle af de proteiner, der er opreguleret i TIF.



behandling. Vi kan således anvende prædiktive markører til at tilbyde patienten netop den behandling, der har størst chance for effekt. Som med de prognostiske markører er de nuværende prædiktive markører ikke tilstrækkelige, og nye molekyler, hvormed man kan forudsige effekten af specifikke former for kemo-, hormon- og radioterapi, skal findes. Monitoreringsmarkører giver information om sygdomstilbagefald på et så tidligt tidspunkt, at der kan initieres effektiv behandling. Der har gennem årene været foreslået forskellige monitoreringsmarkører til cancer mammae-patienter, men ingen af dem har fundet anvendelse i rutinebehandlingen, og sådanne skal derfor findes.

Der forskes i øjeblikket betydeligt i udviklingen af nye markører til brug i behandlingen af cancer mammae. I denne statusartikel beskrives de vigtigste tiltag på området.

Tidlig detektion

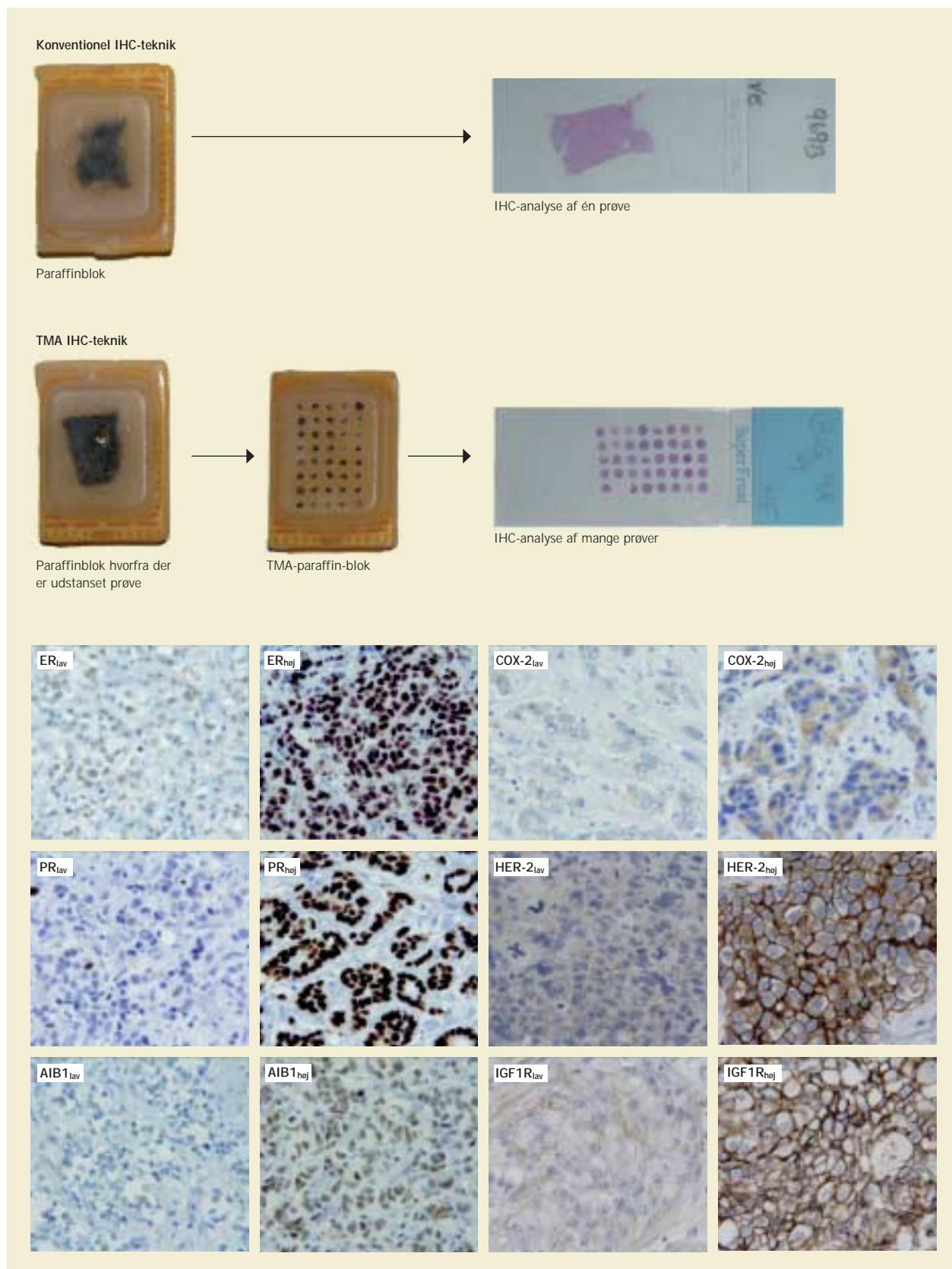
Tidlig detektion af sygdommen er en afgørende faktor for prognosen for patienter med cancer mammae; jo tidligere sygdommen diagnosticeres, jo større chance for overlevelse. På nuværende tidspunkt er mammografi det eneste værktøj til tidlig detektion, men det ville være ønskeligt at råde over metoder med bedre sensitivitet og specificitet. Et alternativ eller supplement til mammografi er såkaldte detektions- eller screeningsmarkører. En måde at bruge sådanne markører sammen med kliniske informationer på kunne være at udvikle en matematisk model, som inddrager de forskellige informationer i en beregning af risikoen for tilstedeværelse af cancer mammae hos den enkelte kvinde. For kvinder, der har en høj risiko, kan der derefter initieres et intensivt opfølgingsprogram.

Et bredt panel af serumtumormarkører er blevet beskrevet for cancer mammae (som f.eks. CA 15-3, karcinoembryonalt antigen og human epidermal vækstfaktorreceptor (HER)-2), men på grund af manglende sensitivitet og specificitet er ingen af disse markører anvendelige som detektions- eller screeningsmarkører [1]. Dette kan hænge sammen med, at cancer mammae er en meget heterogen sygdom, og derfor vil

en kombination af markører frem for en enkelt markør højst sandsynligt være en mere pålidelig metode til tidlig detektion og screening. De nyeste tiltag er derfor koncentreret om blod-baserede teknologier, hvor der kan laves molekulære signaturer til opsporing af kvinder med tidlige stadier af cancer mammae. Disse tiltag omfatter teknologier til opsporing af cancerspecifikke genetiske profiler, genmetyleringsprofiler og proteinprofiler [2-4].

Proteinprofiler er et forskningsområde i hastig udvikling. Gelbaserede og *highthroughput proteomics*-teknologier, inklusive todimensionel gelelektroforese, en- og todimensionel flydende kromatografi og proteom-mikro-arrays sammen med massespektrometri er i øjeblikket de vigtigste redskaber i eftersøgningen af nye markører. Hidtil er der anvendt strategier i forsøget på at finde markører for tidlig opsporing af cancer mammae: den ene er baseret på en sammenlignende analyse af proteomet i de omgivende væsker, og den anden er baseret på en tilsvarende analyse af tumurvævet. Den første strategi lider af den mangel, at markørerne ofte kun er til stede i meget små mængder i blodet og som følge heraf måske er vanskelige at opdage. Tumurvævet kan på den anden side indeholde markørerne i relativt større mængder, men det er ikke en simpel opgave at finde dem, der i den sidste ende vil forekomme i blodet. På trods af disse begrænsninger er det imidlertid lykkedes ved hjælp af *surface-enhanced-laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry* (SELDI-TOF-MS) at finde en serumproteinsignatur i brystkræft, med hvilken man kan adskille patienter med brystkræft og patienter med godartede lidelser med en sensitivitet på 76-93% og en specificitet på 90-93% [4]. Disse resultater skal imidlertid valideres i prospektive studier, før de er klar til klinisk rutineanvendelse. I Dansk Center for Translationel Brystkræftforskning analyserer vi den interstitielle væske, som bader såvel det normale væv som tumorens mikroomgivelser [5] (Figur 1). Denne væske indeholder hundredvis af proteiner, enten secereret, udskilt af membranblærer eller frigivet på grund af celledød. Nogle af disse proteiner kan i sidste ende nå blodet og vil her være tilgængelige for analyse.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL



Figur 2. Her ses princippet i fremstilling af en *tissue micro array* (TMA)-blok og immunfarvninger (IHC) af udvalgte biologiske markører fra prøver med hhv. lav og høj markørmængde. Følgende markører er vist: østrogenreceptoren (ER), progesteronreceptoren (PR), amplificeret i brystkræft 1 (AIB1), cyclooxygenase 2 (COX-2), human epidermal vækstoffaktorreceptor 2 (HER-2) og insulinlignende vækstoffaktorreceptor 1 (IGF1R).

Faktaboks

Der er stadig mange udestående problemer i forbindelse med behandling af patienter med cancer mammae. I denne statusartikel beskrives anvendelsen af biomarkører, dels til tidlig opsporing af cancer mammae, og dels som hjælp ved kliniske beslutninger om behandling af cancer mammae.

Prognostiske markører

Med de prognostiske markører, der anvendes i dag, bliver kun 17% af cancer mammae-patienterne klassificeret som lavrisikopatienter, der ikke forventes at have behov for adjuverende behandling efter den primære operation. Vi ved imidlertid, at der blandt de resterende 83%, der klassificeres som tilhørende højrisikogruppen, findes et betydeligt antal patienter, som er helbredt ved den primære operation. Desværre er der på nuværende tidspunkt ingen markører, hvormed man med sikkerhed kan fravælge denne gruppe af patienter, hvorfor de stadig tilbydes unødvendig tillægsbehandling. Ligeledes er der en mindre del af lavrisikopatienterne, som får metastaser. Der arbejdes derfor i øjeblikket på at finde nye prognostiske markørprofiler til en mere sikker opsporing af høj- og lavrisikopatienter. Det hidtil største fremskridt er set ved anvendelse af genspressionsprofiler. Det er således med anvendelse af en 70-genprofil lykkedes at forudsige sygdomsforløbet bedre end ved anvendelse af de traditionelle markører [6]. En stor internationalt klinisk valideringsundersøgelse, Microarray for Node negative Disease may Avoid ChemoTherapy (MINDACT), af denne genprofil er netop startet. I et dansk studie har man for nylig anvendt genspressionsprofilering til at opspore en lille gruppe lavrisikopatienter, som får metastaser [7].

Inden for prognostiske proteinmarkører har urokinase-type-plasminogen-aktivator (uPA) og plasminogen-aktivatorinhibitor I (PAI-I) været testet i en stor prospektiv klinisk undersøgelse, og det blev påvist, at disse to proteiner kan anvendes til yderligere prognostisk stratifikation af såvel lav- som højrisikopatienter [8].

Prædiktive markører

De eneste prædiktive markører til anvendelse ved cancer mammae i dag er HER-2 til selektion af patienter, der vil have gavn af det terapeutiske antistof trastuzumab, og østrogenreceptor (ER)-målinger, som anvendes til at selekttere patienter til endokrin behandling med. Dog er det ikke alle ER-positive patienter, der har gavn af endokrin behandling, og nye markører skal derfor findes. For nylig er proteinet TIMP-1 blevet foreslået som ny markør for kemoterapiresistens [9]. Dette protein beskytter cancercellerne mod kemoterapiinduceret apoptose, og højt tumorindhold af proteinet er associeret med manglende objektivt respons på behandling. I dag er tendensen dog, at mere end en markør er nødvendig, og markør-

profiler bliver i øjeblikket afprøvet i forhold til prædiktation af respons på specifik behandling.

Til udvælgelse af, hvilke kendte proteiner der kan anvendes i markørprofiler, er *tissue micro array* (TMA)-teknikken et stort fremskridt. En TMA fremstilles ved i samme paraffinblok at indstøbe et stort antal små udstansninger fra forskellige tumorer. Tumorernes mængde af udvalgte markører kan herefter måles immunhistokemisk eller med fluorescens in situ-hybridisering på snit fra TMA-blokken (**Figur 2**), hvor fordelingen er det lille forbrug af tumormateriale, ensartet måling på et stort antal tumorer og et lavt forbrug af reagenser. På TMA-snit kan der tillige udføres en semikvantitativ bestemmelse af udvalgte markører, hvis mængde kan spille en afgørende rolle [10]. Foruden markørprofiler kan en fremtidig måde til forudsigelse af et godt/dårligt respons på behandling være brugen af *pharmacogenomics*. Patienter reagerer meget forskelligt på medicinsk behandling, bl.a. fordi lægemidler aktiveres og omsættes forskelligt afhængigt af genotypen. Der findes f.eks. en polymorfi i genet, der koder for CYP2D6, og patienter med genotypen CYP2D6*4/*4 har i forhold til patienter med genotypen CYP2D6*6/*6 dårligere respons på behandling med antiøstroget tamoxifen.

Monitorering

Der er som tidligere nævnt ingen monitoreringsmarkør i klinisk rutineanvendelse. Da metastaser fra cancer mammae ofte finder vej til knoglerne, har det været foreslået at anvende knogledbrydningsprodukter som monitoreringsmarkører. En mere direkte metode er monitorering af proteiner, der dannes og udskilles af tumorcellerne. For at en monitoreringsmarkør skal kunne blive accepteret til klinisk anvendelse, kræves en prospektiv klinisk validering af markørens værdi dels til at detektere sygdomstilbagefald, og dels til at påvise, at denne tidlige detektion har kliniske implikationer.

Konklusion

Der foregår i øjeblikket en intens forskning for at udvikle nye markører til hjælp ved behandlingen af cancer mammae. Hvis dette lykkes, vil cancer mammae kunne opdages tidligere, overbehandling vil kunne minimeres, og en individuel behandling vil kunne udvælges. Monitoreringsmarkører vil muliggøre hurtigere indsats, når der udvikles resistens mod en given behandling. For at nå disse mål er der behov for et aktivt samarbejde mellem grundforskere og klinikere. Det skal dog understreges, at ingen markør bør finde vej til klinisk rutineanvendelse, uden først at have vist sin værdi i veldimensionerede prospektive kliniske undersøgelser.

Korrespondance: Nils Åge Brüner, Afdelingen for Biomedicin, Institut for Veterinær Patobiologi, Det Biomedicinske Fakultet, Københavns Universitet, Ridebanevej 9, DK-1870 Frederiksberg C. E-mail: nbr@life.ku.dk

Antaget: 14. maj 2007
Interessekonflikter: Ingen angivet

VIDENSKAB OG PRAKSIS | AKADEMISKE AFHANDLINGER

Litteratur

- Duffy MJ. Serum tumor markers in breast cancer: are they of clinical value? Clin Chem 2006;52:345-51.
- Sharma P, Sahni NS, Tibshirani R et al. Early detection of breast cancer based on gene-expression patterns in peripheral blood cells. Breast Cancer Res 2005;7:34-44.
- Lewis CM, Cler LR, Bu DW et al. Promotor hypermethylation in benign breast epithelium in relation to predicted breast cancer risk. Clin Cancer Res 2005;11:166-72.
- Bertucci F, Birnbaum D, Goncalves A. Proteomics of breast cancer principles and potential clinical applications. Mol Cell Proteomics 2006;5:1772-86.
- Celis JE, Gromov P, Cabezon T et al. Proteomic characterization of the interstitial fluid perfusing the breast tumor microenvironment: a novel resource for biomarker and therapeutic target discovery. Mol Cell Proteomics 2004;3:327-44.
- Van de Vijver MJ, He YD, van't Veer LJ et al. A gene-expression signature as a predictor of survival in breast cancer. N Engl J Med 2002;347:1999-2009.
- Thomassen M, Tan Q, Eiriksdottir F et al. Prediction of metastasis from low-malignant breast cancer by gene expression profiling. Int J Cancer 2007;120:1070-5.
- Look MP, van Putten WL, Duffy MJ et al. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=Abstract-Plus&list_uids=11792750&query_hl=5&itool=pubmed_docsum Pooled analysis of prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor PAI-1 in 8377 breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 2002;94:116-28.
- Schrohl AS, Meijer-van Gelder ME, Holten-Andersen MN et al. Primary tumor levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 are predictive of resistance to chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. Clin Cancer Res 2006;12:7054-8.
- Henriksen KL, Rasmussen BB, Lykkesfeldt AE et al. Semi-quantitative scoring of potentially predictive markers for endocrine treatment of breast cancer: a comparison between whole sections and tissue microarrays. J Clin Pathol 2007; 60:397-404.

> AKADEMISKE AFHANDLINGER

Læge Marlene Briciet Lauritsen:

Autism

Aspects of the aetiology

Disputats



Forf.s adresse: Stjærvej 114, Stjær, DK-8464 Galten.
E-mail: mbl@dadlnet.dk
Forsvaret finder sted den 28. september 2007, kl. 14.00, Auditorium 424, Anatomisk Institut, Aarhus Universitet.
Opponent: Per Hove Thomsen og Karen Brandum-Nielsen.

Læge Ian Lærø:

Human brain mapping under increasing cognitive complexity using regional cerebral blood flow measurements and positron emission tomography
Disputats

Forf.s adresse: PET & Cyklotron enheden, Afsnit 3982, Diagnostisk Center, Rigshospitalet, Blegdamsvej 9, DK-2100 København Ø.
E-mail: ilaw@pet.rh.dk
Forsvaret fandt sted den 31. august 2007.
Opponent: Albert Gjedde og Martin Lauritzen.
Afhandlingen kan erhverves ved henvendelse til forfatteren på ilaw@pet.rh.dk

Læge Bettina Storgaard Nedergaard:

Quantitative analyses of the in situ cellular immune response in cervical squamous cell carcinoma
Ph.d.-afhandling

Forf.s adresse: Onkologisk Afdeling, Aalborg Sygehus, Hobrovej 18-22, DK-9100 Aalborg.
E-mail: b.nedergaard@rn.dk
Forsvaret finder sted den 14. september 2007, kl. 14.00, Auditoriet, Aalborg Sygehus Syd, Hobrovej 18-22, Aalborg.
Bedømmere: Lotte Nedergaard Thomsen, Ole Mogensen og Erik Søgaard Andersen.
Vejledere: Morten Ladekarl, Jens Randel Nyengaard og Karsten Nielsen.

Læge Camilla Kronborg:

Pathogenesis and prediction of preeclampsia
Ph.d.-afhandling

Forf.s adresse: Grenåvej 130, DK-8240 Risskov.
E-mail: Camilla_kronborg@hotmail.com
Forsvaret fandt sted den 31. august 2007.
Bedømmere: Alexander Smáráson, Island, og Thomas Hviid.
Vejledere: Ulla Breth Knudsen, lektor Pia Møller Martensen og Thomas Ledet.

Find referater af denne uges akademiske afhandlinger på www.ugeskriftet.dk under >Seneste nummer >Akademiske afhandlinger