

Farmakogenetik og skræddersyet medicinsk behandling

Professor Finn Cilius Nielsen & professor Niels Borregaard

Rigshospitalet, Klinisk Biokemisk Afdeling og
Hæmatologisk Afdeling

Farmakogenetik har i vidt omfang været synonymt med undersøgelser af genetiske variationers betydning for omsætningen af lægemidler eller toksiske stoffer fra vores omgivelser. I takt med den øgede forståelse af den molekylære baggrund for flere og flere sygdomme, herunder ikke mindst kræftsygdommene, har begrebet udvidet sig til at favne, hvorledes viden om sygdomsfremkaldende mutationer kan bruges til at målrette patientbehandlingen. Med udgangspunkt i onkologien fokuseres der i denne statusartikel på eksempler på og muligheder for skræddersyet medicin.

Molekylærmedicin

Diagnostikken af mange sygdomme undergår i øjeblikket en revision, så den i stigende omfang beror på fund af tilgrundliggende molekylære abnormiteter snarere end morfologiske eller radiologiske kriterier eller serumanalyser. Denne udvikling har tre fordele. Dels bliver de diagnostiske kriterier entydige, dels kan sygdommene undergrupperes i henhold til deres forskellige biologi. Ligeledes bliver det muligt at rette behandlingen mod den kausale mekanisme, således at den bliver mere effektiv med færre bivirkninger. Udviklingen er tilvejebragt af molekylærbiologiske metoder, med hvilke man på kort tid kan analysere tusindvis af proteiner og meddelerribonukleinsyre (mRNA) samt bioinformatik. Samtidig har den farmaceutiske industri været effektiv til at udvikle en række nye specifikke farmaka. Denne udvikling er et fint eksempel på den symbiose mellem grundforskning, klinik og



Figur 1. Strukturen af ABL-kinase med imatinib bundet til det katalytiske område af proteinet. Illustrationen er fremstillet med Cn3D-software (National Center for Biotechnology Information, Molecular Modelling Database) og baseret på data fra [10].

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

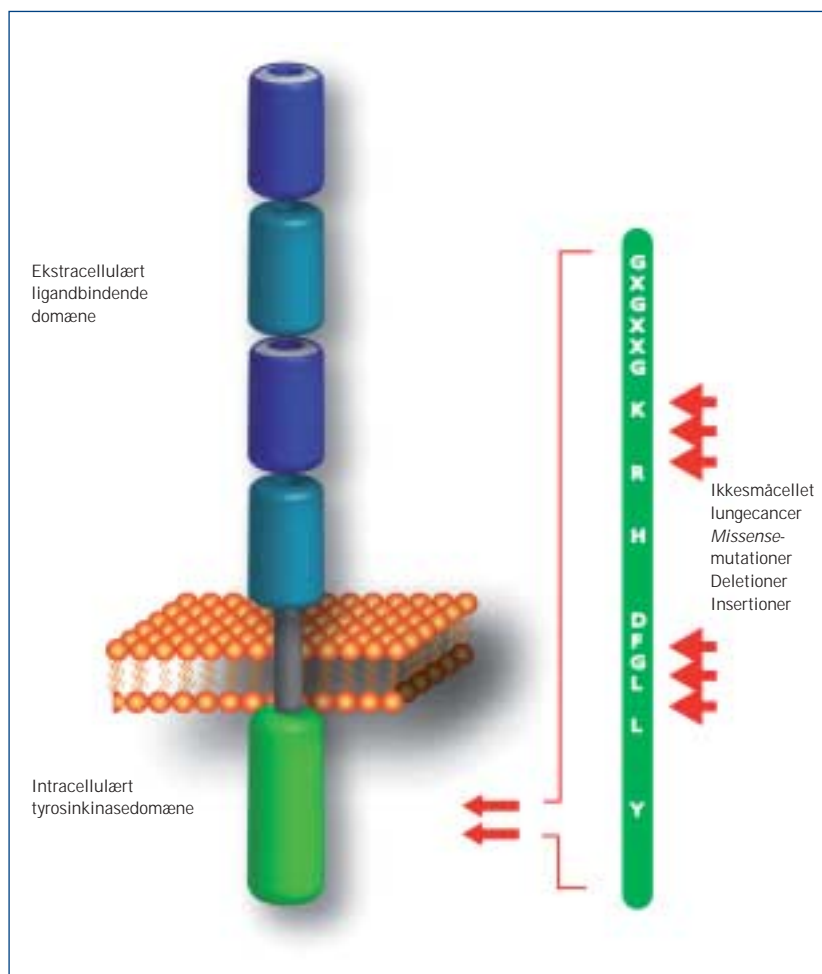
industri, der er nødvendig for at bringe os hurtigt fremad i retning mod nye og bedre behandlinger.

Maligne hæmatologiske lidelser

Selv om målrettede behandlinger nu anvendes ved flere solide kræftformer, findes de klareste og mest illustrative eksempler stadig inden for de maligne hæmatologiske sygdomme. Kronisk myeloid leukæmi (CML) blev oprindeligt defineret ved den karakteristiske splenomegali, leukocytose og umodne myeloide celler i blodet. I 1960 fandt man, at et af kromosomerne i CML-cellerne var forkortet, og 13 år senere fastslog man, at der var tale om en translokation, hvor en (stor) del af kromosom 22 bytter plads med en (mindre) del af kromosom ni. Translokationen fusionerer protoonkogenet og proteinkinase ABL med den såkaldte *break cluster region* eller BCR og medfører udtryk af et BCR-ABL-fusionsprotein. BCR-ABL-kinasen er konstitutivt aktiv og transformerer de myeloide celler. Screening for potentielle hæmmere af ABL-tyrosinkinase førte til introduktionen af det første eksempel på en kausalt målrettet kræftbehandling - imatinib [1] (**Figur 1**). Daglig peroral indtagelse af imatinib er påfaldende bivirkningsfri og fører hurtigt til normalisering af de kliniske fund.

Imatinib hæmmer også KIT- og PDGFA-receptorkinaserne, og stoffet blev hurtigt introduceret som den hidtil eneste effektive behandling af KIT- og PDGFA-receptorpositive gastrointestinalle stromale tumorer (GIST). På grund af mutationer i det ATP-bindende område i BCR-ABL-proteinet bliver nogle patienter resistente over for imatinib. Nye anden- og tredjegerations tyrosinkinasehæmmere er oftest effektive i disse situationer.

Fundet af BCR-ABL's essentielle betydning ved CML, der sammen med polycytæmia vera, essentiel trombocytose og myelofibrose udgør de kronisk myeloproliferative sygdomme, foranledigede en redefinition af sygdommene. Man skelner nu mellem *BCR-ABL-Ph-positive kronisk myeloproliferative*, dvs. kronisk myeloid leukæmi, og *Ph-negative kronisk myeloproliferative sygdomme*, som ikke har effekt af behandling med imatinib og beslægtede farmaka. Man har siden søgt efter den molekylære baggrund for de øvrige kronisk myeloproliferative sygdomme, og i 2005 opdagede man, at mere end 90% af patienterne med klinisk polycytæmia vera har en valin617-phenylalanin-mutation i vækstfaktor-receptorkinase Janus 2. Hæmmere af JAK2v617f er på vej, og i lighed med CML kan dette kan betyde en af-



Figur 2. Schematisk fremstilling af EGFR-strukturen og positionen af muterede aminosyrer i tyrosinasedomænet ved ikkesmåcellet lungecancer. Tyrosinasedomænet strækker fra aminosyre 718-964 og kodes af exon 18-24 i *EGFR*. Kinase er sammensat af et GXGXXG-motiv ved position 719, og det ATP-bindende område omfatter K745. DFG-motivet og den essentielle Tyrosin 869 er desuden vist. Gefitinib- og erlotinib-følsomme tumorer er ofte muteret i G719, L747-A750, R776, L858.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

gørende forbedring af behandlingsmulighederne for disse sygdomme [2].

Solide tumorer

I modsætning til de hæmatologiske og mange pædiatriske cancere er sporadiske solide tumorer ofte karakteriseret ved multiple og variable kromosomændringer. Så selv om vi morfologisk og klinisk karakteriserer en tumor på en entydig måde, er der en stor underliggende heterogenitet, og ikke alle tumorer responderer på en given kemoterapi eller forløber som forventet.

Brystkræftområdet har på mange måder drevet udviklingen inden for målrettet behandling af solide tumorer. Det stod tidligt klart at α -østrogenreceptorer i tumorcellerne havde en vis betydning for prognosen, samt at patienter med α -receptorpositive tumorer havde gavn af antiøstroget tamoxifen. Tamoxifen repræsenterer således en af de første målrettede cancerbehandlinger. I 1980'erne blev fokus rettet mod nyopdagede vækstfaktorer og deres receptorer, ikke mindst den epidermale vækstfaktorreceptor (*EGFR*). *EGFR* er i familie med *HER2*-, *HER3*- og *HER4*-tyrosinkinase-receptorerne, og både *EGFR*- og *HER2*-generne er amplificerede i 20-30% af alle brystcancer. Receptorerne er transformerende,

og deres ekspression er forbundet med en dårlig prognose. De var derfor attraktive mål for en specifik behandling for brystkræft. De første humaniserede monoklonale antistoffer, der var rettet mod receptorerne, kom i 1990'erne.

Trastuzumab forlænger overlevelsen hos kvinder med metastaserende brystcancer og modvirker recidiv. Ved analyse af *HER2*-udtrykket i tumorerne kan man udpege patienter, som kan have gavn af behandlingen. Man har samtidigt isoleret små molekyler, der hæmmer *EGFR*- og *HER2*-tyrosinkinaserne. Lapatinib tåles godt og har vist positive effekter hos kvinder med behandlingsrefraktære tumorer og hjernemetastaser. En række studier, hvor stoffet prøves i kombination med andre kemoterapeutika, er undervejs [3].

To *EGFR*-hæmmere gefitinib og erlotinib anvendes til behandling af ikkesmåcellet lungecancer (NSCLC) [4]. Omkring 10% af NSCLC-patienterne responderer positivt på stofferne, og tumorerne hos disse patienter udtrykker muterede og aktiverede *EGFR* (**Figur 2**) [5]. Tumor-DNA kan undersøges for amplifikation eller mutationer i *EGFR*, og man kan således udpege patienter, der måtte have gavn af *EGFR*-hæmmere. En række større kliniske studier er undervejs, hvor man parallelt med en vurdering af *EGFR*-hæmmernes effekt på overlevelse og andre kliniske variable søger at vurdere nytten af mutationsundersøgelser.

Hvis de falder positivt ud, vil molekylær testning blive en nødvendig del af NSCLC-udredningen.

Nye små hæmmere

Ovennævnte farmaka er blot de første af mange nye små hæmmere af signaltransduktion og proliferation i solide tumorer (**Tablet 1**). Angrebepunkterne strækker sig fra inhibering af membranreceptor-tyrosinkinaser og intracellulære signalmolekyler til faktorer med betydning for cellens proteinnedbrydning og kromatinstruktur samt DNA-metylering.

Nogle af de stoffer, der er længst fremme i klinisk sammenhæng, er vatalanib og sutinib. Vatalanib hæmmer primært VEGF-receptor-tyrosinkinasen, mens sunitinib hæmmer flere forskellige kinaser heriblandt VEGF-, PDGF- og KIT-receptorerne. Stofferne inhiberer tumorvækst både direkte og indirekte via en hæmning af angiogenesis. IGF1-receptor (IGF1R)-signaleringen er også opreguleret i mange forskellige tumorformer og kan mediere resistens ved behandling med *EGFR*-hæmmer. Flere IGF1R-hæmmere er på vej, og enkelte er i præklinisk afprøvning. *Mammalian target of rapamycin* (mTOR)-signalvejen ligger nedenstrøms for IGF1R og kan hæmmes med stofferne everolimus og temsirolimus. Begge stoffer har vist gavnlige effekter i fase 2- og fase 3-studier. Også intracellulære signalmolekyler har afgørende betydning for tumorvækst. Onkogenet RAS, der er aktivt i mange forskellige kræftformer, hæmmes af farnesyltransferase-inhibitorer. Af andre små molekyler kan nævnes histondeacetylase-hæmmerne, som påvirker kromatinstrukturen og DNA-metyltransferasehæmmerne. To af disse (azacitidine og

Faktaboks

Cancerellers maligne fænotype skyldes ofte en autonom høj aktivitet af intracellulære signaler, som opretholder celledeling og hæmmer modning af cellerne. Disse skyldes ofte mutationer, der direkte eller indirekte påvirker tyrosinkinaser, som er en gruppe proteiner, der overfører signaler fra cellens overflade til generne.

Specifikke hæmmere af tyrosinkinaser har revolutioneret behandlingen af flere kræftsygdomme.

Imatinib, der inhiberer abelsonkinasen og anvendes til behandling af kronisk myeloid leukæmi, var det første eksempel på en specifik hæmning af en til grundliggende molekylær forandring ved kræft.

Imatinib hæmmer også andre kinaser og er aktuelt den eneste effektive medicinske behandling af gastrointestinale stromale tumorer. Andre tyrosinkinasehæmmere har effekt ved lungecancer og ved renalcellecarcinom.

I andre tilfælde er DNA-metylering eller deacetylering af histoner med til at holde cancercellerne på et udifferentieret stade, hvor apoptosen er hæmmet. Små molekyler, der forårsager demetylering af DNA og hæmmer af histondeacetylase, har vist lovende resultater i kræftbehandlingen.

En detaljeret molekylær analyse af den enkelte tumor kan i fremtiden måske muliggøre et rationelt valg af specifikke hæmmere mod de regulerede signalveje, så behandlingen kan tilpasses den enkelte patient.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Tabel 1. Oversigt over nye små farmaka og deres kliniske status. Tabellen er adapteret fra [9].

Stofnavn	Handelsnavn	Målmolekyle	Klinisk status
<i>FDA godkendt</i>			
Anastrozole	Arimidex	ER	Godkendt til ER-positiv mammacancer
Bevacizumab	Avastin	VEGF	Godkendt til met. kolorektalcancer
Cetuximab	Erbitux	EGFR	Godkendt til hoved-hals-cancer
Erlotinib	Tarceva	EGFR	Godkendt til fremskreden ikkesmåcølllet lungecancer
Exemestane	Aromasin	ER	Godkendt til ER-positiv mammacancer
Geftinib	Iressa	EGFR	Godkendt til fremskreden lungecancer
Imatinib mesylate	Gleevec	BCR-ABL	Godkendt til kronisk myeloid leukæmi
Sorafenib	Nexavar	Raf, VEGF, KIT, FLT3	Godkendt til renalcellekarcinom
Tamoxifen	Nolvadex	ER	Godkendt til ER-positiv mammacancer
Trastuzumab	Herceptin	ERBB2	Godkendt til HER2-positiv mammacancer
<i>Klinisk afprøvning</i>			
AMN 107	Nilotinib	BCR-ABL, KIT, PDGFR	Fase II
Roscovitine		CDK (E2F)	Fase II
ABX-EGF	Panitumumab	EGFR	Fase II
GW-572016	Lapatinib	EGFR, ERBB2	Fase III
BMS-214662 (FTI)		Ras	Fase I/II
Tipifarnib (FTI)	Zarnastr	Ras	Fase I/II
Everolimus	Rad001	mTOR	Fase II
Temsirolimus	CCI-779	mTOR	Fase II
Ly294002		PI3K	Fase I/II
FTS		Ras	Fase I/II
BMS-384825	Dasatinib	Src, BCR-ABL, KIT	Fase III
ZD-6474		RET, VEGF	Fase II/III
SU11248	Sunitinib maleate	VEGF, RET, FLT3	Fase III
PTK787/zk	Vatalanib	VEGFR1, VEGFR2	Fase III

decitabine) er i anvendelse til behandling af myelodysplastisk syndrom.

Molekylær diagnostik og skræddersyet behandling

En af de store udfordringer ved brugen af den målrettede medicin er naturligvis at udvælge de patienter, der måtte have mest gavn af de nye farmaka. Diagnostikken bør derfor af-dække hvilken signalvej, der er dysreguleret i den enkelte tumor. For tumorer med få og entydige genetiske forandringer, som man ser det ved mange hæmatologiske og pædiatriske tumorer, er det forholdsvis ligetil at påvise den sygdomsfremkaldende mutation ved f.eks. fluorescens in situ-hybridisering- eller polymerasekædereaktionsbaserede analyser. Udfordringerne er som nævnt større for mange solide tumorer. De nye globale teknologier har dog også åbnet mulighed for en langt mere dybtgående karakteristik af tumorpatologien. *Microarray*-analyser blev for nylig anvendt til at identificere pertuberende signalveje og sandsynliggøre at et givent farmaka havde gavnlige effekt på tumorvæksten [6, 7].

Måske står vi kun ved begyndelsen, da såkaldt *deep* eller *next generation sequencing*-teknologi baner vejen for direkte sekventering af meget store dele af genomet. En sekventering af mere end 500 tyrosinkinaser fra 210 forskellige cancere har vist en overraskende stor mutationsheterogenitet imellem forskellige tumorer og påviste, at omkring 120 gener var afgørende for tumorvæksten [8]. Sekventeringsmetoden har den åbenlyse fordel, at den analyserer alle DNA-stykker individuelt, så selv om der kun er ganske få tumorceller i et vævsstykke, kan man påvise onkogene mutationer. Ligeledes er

kapaciteten så stor, at man principielt kan undersøge alle onko- eller tumorsuppressorgener på en gang.

Konklusion

Individualiseret og målrettet behandling forudsætter, at nye selektive farmaka går hånd i hånd med etableringen af nye teknologier til at karakterisere patienterne og deres sygdom på molekylært niveau. Selv om man mange steder er langt med etableringen af den nødvendige infrastruktur, er vi kun nået en del af vejen. Vi ser en fremtid, hvor dele af forskellige laboratoriebaserede specialer smelter sammen og udnytter molekylærbiologien til at understøtte de kliniske beslutninger. Vi håber også, at de nye molekylære, billedannede teknologier bliver en vigtig og integreret del af området. I den bedste af alle verdener ser vi et nært interaktivt samarbejde mellem den behandlingsansvarlige kliniker og de laboratorielæger, som udfører og udvikler den molekylært baserede diagnostik.

Korrespondance: Niels Borregaard, Hæmatologisk Afdeling, Rigshospitalet, DK-2100 København Ø. E-mail: borregaard@rh.regionh.dk

Antaget: 16. januar 2009
Interessekonflikter: Ingen

Litteratur

1. Druker B.J., STI571 (Gleevec) as a paradigm for cancer therapy. *Trends Mol Med* 2002;8:S14-8.
2. Tefferi A. Essential thrombocythemia, polycythemia vera and myelofibrosis: current management and the prospect of targeted therapy. *Am J Hematol* 2008;83:491-7.
3. Higgins MJ, Wolff AC. Therapeutic options in the management of metastatic breast cancer. *Oncology (Williston Park)* 2008;22:614-23 pg diskussion 623 samt 627-9.

4. Herbst RS, Fukuoka M, Baselga J. Gefitinib – a novel targeted approach to treating cancer. *Nat Rev Cancer* 2004;4:956-65.
5. Pao W, Miller VA. Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol* 2005;23:2556-68.
6. Bild AH, Yao G, Chang JT et al. Oncogenic pathway signatures in human cancers as a guide to targeted therapies. *Nature* 2006;439:353-7.
7. Potti A, Dressman HK, Bild A et al. Genomic signatures to guide the use of chemotherapeutics. *Nat Med* 2006;12:1294-300.
8. Greenman C, Stephens P, Smith R et al. Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature* 2007;446:153-8.
9. Bild AH, Potti A, Nevins JR. Linking oncogenic pathways with therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2006;6:735-41.
10. Cowan-Jacob SW, Fendrich G, Floersheimer A et al. Structural biology contributions to the discovery of drugs to treat chronic myelogenous leukaemia. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2007;63:80-93.

Fremtidige gennembrud inden for medicinsk behandling af aldersrelaterede sygdomme

Adjungeret professor Allan Vaag & forskningschef Jacob Sten Petersen

Steno Diabetes Center og Novo Nordisk A/S

Udgifter til medicin til aldersrelaterede sygdomme såsom type 2-diabetes (T2DM), hjerte-kar-sygdom og cancer udgør en stigende del af sundhedsudgifterne [1, 2], og der stilles stigende krav til nye lægemidlers effektivitet, sikkerhed og bivirkningsprofil. Denne negative spiral vil medføre en strammere prioritering af, hvilke medicinske behandlinger, der skal tilbydes i fremtiden. Samtidig med at levestandarden øges i de fleste lande, forbliver åreforkalkning en hovedårsag til for tidlig død med en stigende betydning i udviklingslande. Risikofaktorer for åreforkalkning inkluderer diabetes, hypertension og hyperlipidæmi, og dette konglomerat af risikofaktorer udgør definitionen på det »metaboliske syndrom« (MS). Klinisk er både MS, åreforkalkning og cancersygdomme, der er relateret til alder, hvorfor mange anvender samlebetegnelsen »de-

generative alderssygdomme«. Tidligt opståede sygdomme kan derfor betragtes som en accelereret aldringsprocess. Det er muligt, at der er fælles basale sygdomsmekanismer som f.eks. oxidative modifikationer af cellulære makromolekyler som lipider, proteiner og DNA, med forskellige fænotypiske udtryk.

Udgangspunktet for denne artikel er, at fremtidige medicinske landvindinger opnås vedrørende farmaka, som modvirker cellulære aldringsprocesser. Det formodes, at fremtidens medicinske interventioner initieres tidligere i tilværelsen blandt personer, der er i risiko for udvikling af aldersrelaterede sygdomme, hvorved grænsefladen mellem forebyggelse og behandling udviskes. Det er endvidere sandsynligt, at farmakologisk intervention i fremtiden i højere grad vil tage udgangspunkt i mekanismer, som indgår i eller interagerer med livsstilsintervention og forebyggelse såsom energibegrænset kost og fysisk aktivitet.

Med hensyn til biologiske mekanismer, som har betydning for aldring og udvikling af aldersrelaterede sygdomme, er de mest interessante forkortelse af telomere, DNA-metylering og andre epigenetiske modifikationer, inflammation, nedsat mitokondriefunktion og oxidativt stress.

Faktaboks

Fremtidens medicinske gennembrud inkluderer lægemidler, som påvirker aldringsprocesser.

Fremtidige medicinske indikationer vil i højere grad omfatte personer, der er i risiko for udvikling af sygdom.

Epigenetik, inflammation, telomerkortelse, sirtuiner og oxidativt stress er eksempler på mulige mål for fremtidige medicinske gennembrud inden for forebyggelsen af aldersrelaterede sygdomme.

Fremtidens medicinske behandling vil være individorienterede inden for og mellem eksisterende sygdomsklassifikationer.

Epigenetik

Epigenetik defineres som arvelige ændringer i genudtrykkelsesmønstre, som er opstået uden ændringer i DNA-sekvensen. Epigenetik dækker over forskellige molekulære mekanismer, hvoraf DNA-promoter- og -histonmetyleringer samt -histonacetyleringer er de bedst kendte [3, 4]. Promoterregionen er det stykke DNA, som styrer et bestemt gens udtrykkel- se, og histoner er de proteiner, som DNA er viklet om omkring. Mens metylering af DNA-promoterregioner generelt set hæmmer udtrykkelsen af gener, er der holdepunkter for, at acetylering af histoner kan øge udtrykkelsen af gener. Epigenetiske DNA- og histonmodifikationer udgør således i modsætning til den genomiske sekvens plastiske og modificerbare mekanismer af betydning for normal vækst, udvikling