

Aktueller Stellenwert und zukünftige Entwicklungen

Multigentests beim Mammakarzinom

Jedes Jahr erkranken über 5000 Frauen in der Schweiz an einem Mammakarzinom in unterschiedlichem Stadium. Ohne adjuvante medikamentöse Therapie würde ungefähr jede dritte Frau nach der Ersterkrankung ein Rezidiv erleiden und an ihrer Erkrankung versterben. Welche Patientin nun ein höheres oder niedrigeres Rezidivrisiko hat, wurde bislang mittels klinisch-pathologischer Eigenschaften wie Alter, Tumorgrösse, Grading oder Nodal- und Hormonrezeptorstatus bestimmt. Diese Einschätzungen waren jedoch oft ungenau, und wir konnten das individuelle Risiko der einzelnen Patientin nicht genau vorher-sagen. Seit einiger Zeit stehen verschiedene Multigentests zur Verfügung. Sie bedeuten einen grossen Schritt vorwärts in der Risikobeurteilung, lassen jedoch auch (noch) keine Vorhersage darüber zu, wie die einzelne Patientin auf die Therapie anspricht.



Chaque année en Suisse, plus que 5000 femmes tombent malades d'un cancer du sein, tous stades confondus. Sans traitement postopératoire adjuvant, environ une femme sur trois récidiverait et mourrait de sa maladie. Jusqu'à présent, des facteurs pronostiques clinico-pathologiques (âge, taille de la tumeur, atteinte ganglionnaire, grade et présence ou non de récepteurs hormonaux) définissaient l'importance du risque de récurrence. Néanmoins, cette manière de définir le risque manque de précision et surtout ne permet pas pour un cas individuel de prévoir le risque individuel. Depuis quelque temps, plusieurs tests « multigéniques » sont apparus sur le marché. Ils représentent une grande avancée dans l'appréciation du risque de récurrence, mais ne permettent pas non plus (à l'heure actuelle) de prévoir pour chaque patiente sa probabilité de réponse individuelle à un traitement médicamenteux donné.

Einige dieser Einzelfaktoren wie Hormonrezeptorstatus und HER2-Expression des Tumorgewebes werden routinemässig bestimmt und haben bereits seit Langem Einfluss auf die Behandlung. Durch den Einsatz neuer Techniken, wie z.B. quantitativer Real-Time-PCR oder RNA-Microarrays, ist es in den letzten Jahren möglich geworden, individuelle molekulare Profile von Patientinnen zu erstellen und so die Über- oder Unterexpression tausender Gene in einem Experiment gleichzeitig zu untersuchen. Bestimmte Gruppen von Genen können in sogenannten Profilen dieser Microarrays ausgelesen werden und erlauben so die Bestimmung z.B. der Prognose einer Mammakarzinompatientin.

Welche Tests werden (in der Klinik) verwendet?

Mehrere solcher Multigen-Assays wurden in den letzten Jahren entwickelt und sind kommerziell erhältlich, wie unter anderem



PD Dr. med. Michael Knauer
PhD FEBS
St. Gallen

das 70-Genprofil, der 21-Gen-Recurrence-Score, der EndoPredict-Test und der PAM50-ROR-Score für die so genannten intrinsischen Subtypen des Mammakarzinoms. Diese Multigenprofile erlauben eine deutlich bessere Einteilung in Gruppen mit guter oder schlechter Prognose, wie beispielhaft in Abbildung 1 für 369 Patientinnen ohne adjuvante Therapie dargestellt (1). Diese prognostische Einschätzung ist nicht nur unabhängig von und genauer als die bislang bestimmten klinisch-pathologischen Parameter, sondern in bis zu einem Drittel der Fälle auch diskordant zu der klassischen Risikoeinteilung. Dies hat dazu geführt, dass an vielen Institutionen diese Tests bereits im Rahmen von klinischen Studien oder auch ausserhalb durchgeführt werden.

21-Gen-Recurrence-Score (Oncotype DX)

Der PCR-basierte Recurrence Score (RS) der Firma Genomic Health wurde aus 447 Tumormproben in den USA entwickelt und bei 668 mit Tamoxifen behandelten Patientinnen in einer prospektiven Studie später retrospektiv validiert. Er berechnet die Aktivität von 16 tumorspezifischen und 5 Referenzgenen aus formalinfixiertem Gewebe in einem kontinuierlichen Risikoscore von 0–100 und teilt die Patientinnen anhand derer in 3 unterschiedliche Risikokategorien (high risk: RS > 30, intermediate risk: RS 18–30, low risk: RS < 18) ein. Aus retrospektiven Analysen prospektiv randomisierter Studien konnte dieser Test auch bisher die beste Evidenz erbringen, da er nicht nur die Prognose einer Patientin vorhersagen kann, sondern auch im Sinne der Prädiktion das Ansprechen auf adjuvante Chemotherapie im allgemeinen. Die Gene, die in diesem Test bestimmt werden, wurden von den Entwicklern allerdings bewusst gewählt, so dass Gene aus den Clustern Proliferation, Östrogenrezeptor und HER2/neu eine entscheidende Rolle spielen und so z. B. HER2-positive Tumoren durch den Rechenalgorithmus immer in die Hochrisikokategorien eingestuft werden.

70-Genprofil (MammaPrint)

Das 70-Genprofil wurde aus archiviertem, eingefrorenem Tumormaterial von Patientinnen entwickelt, deren metastasenfreies Überleben schon bekannt war. Die 70 Gene, die am stärksten unterschiedlich exprimiert sind, bestimmen die Einteilung in nur 2 prognostische Gruppen, was die klinische Anwendbarkeit erleichtert. Anschlies-

send wurde der Test auch für die Anwendung an paraffinfixiertem Tumorgewebe entwickelt und in mehreren unabhängigen Patientengruppen validiert, allerdings zuerst wieder nur retrospektiv. Die erste echte prospektive Studie bei 427 Patientinnen (RASTER-Studie) mit inzwischen 5 Jahren Nachbeobachtung konnte die retrospektiven Daten dahingehend bestätigen, dass bei Patientinnen mit einem Niedrigrisiko-Genprofil, aber hohem klinisch eingeschätzten Risiko keine Einschränkung des onkologischen Outcome gesehen wurde, wenn auf eine adjuvante Therapie verzichtet worden war.

PAM50 Risk of Recurrence Score (Prosigna)

Der PAM50-Test ermittelt nicht nur die Prognose der Patientinnen in 3 Risikogruppen ähnlich dem Oncotype-DX-Score, sondern gibt auch Auskunft über die „intrinsischen Subtypen“ des Mammakarzinoms, die wir seit deren Beschreibung vor über 10 Jahren zur biologiebasierten Einteilung von Brustkrebs in verschiedene Untergruppen (Luminal A und B, basal-like, HER2-like, normal-like) verwenden. Diese können die Prognose einer einzelnen Patientin ebenfalls besser als klassische klinisch-pathologische Parameter vorhersagen. Die klinische Nützlichkeit zur Prognoseeinschätzung wurde retrospektiv in zwei grossen, prospektiv randomisierten Studien (ATAC, ABCSG-8) bei insgesamt 2500 Tumorproben bestätigt.

EndoPredict

Der Vorteil des PCR-basierten EndoPredict-Tests ist, dass er in jedem Pathologielabor mit der entsprechenden Ausstattung dezentral durchgeführt werden kann, ohne Gewebe in ein zentrales Firmenlabor schicken zu müssen. In zwei österreichischen Studien (ABCSG-6 und 8) konnte der Test einerseits zeigen, dass die Signatur aus 11 Genen die Prognose wiederum besser als klinisch-pathologische Parameter vorhersagen kann, dass aber andererseits die Kombination aus genomischen und klinischen Informationen wie quantitative Östrogenrezeptor-Expression und Proliferation mit Ki-67 die beste Prognoseeinschätzung erbrachte. Dieser Test konnte in den retrospektiven Untersuchungen eine grosse Gruppe von 64 % aller Patientinnen identifizieren, bei denen aufgrund der hervorragenden Langzeitprog-

nose (10 Jahre metastasenfreies Überleben >98 %) mit ausreichender Sicherheit auf eine adjuvante Chemotherapie verzichtet werden kann.

Derzeit werden die beiden zuerst genannten Multigen-Assays in prospektiv randomisierten Studien untersucht – das MammaPrint-Profil in der europäischen MINDACT-Studie und der Oncotype-DX-Test in der amerikanischen TAILORx-Studie, die in wenigen Jahren die benötigte Anzahl von 6500 bzw. 10 500 Patientinnen randomisiert haben. Bis aber Überlebensdaten dieser Studien erhältlich sind, werden noch knapp 2 Jahre vergehen, und wir behandelnde Ärzte müssen überlegen, wie wir in der Zwischenzeit mit diesen Techniken umgehen wollen, die zunehmend auch in der Routine eingesetzt werden. Die St.-Gallen-Konsensuskonferenz, die alle zwei Jahre Diagnose- und Behandlungsstandards für das Mammakarzinom definiert, hat diesem Umstand Rechnung getragen und den Einsatz von validierten Multigen-Assays für die Entscheidungsfindung über adjuvante Chemotherapie bereits seit 2009 empfohlen, wenn mit klinisch-pathologischen Parametern allein die Entscheidung für oder gegen Chemotherapie nicht eindeutig gefällt werden kann.

Multigen-Assays und Ansprechen auf Chemotherapie

Um für die individuelle Patientin nützlich zu sein, müssen Multigen-Assays jedoch nicht nur die Prognose möglichst exakt definieren können, sondern sollten idealerweise auch in der Lage sein, das Ansprechen auf eine geplante Therapie im Sinne eines prädiktiven Markers vorherzusagen. In der Praxis ergeben sich dadurch mehrere Schwierigkeiten – einerseits können individuelle Unterschiede bei der Metabolisierung von Medikamenten eine Rolle spielen, wie z.B. genetische Varianten des Cytochroms CYP2D6, das bei der Tamoxifen-Metabolisierung involviert ist. Andererseits ist auch nicht klar, wie akkurat ein Prädiktor in der jeweiligen klinischen Situation sein soll, wenn z.B. keine Alternativtherapien zur Verfügung stehen oder Nebenwirkungen von Therapien im palliativen Setting zunehmend wichtiger werden.

Wenn man Genexpressionsprofile in der adjuvanten Situation verwenden möchte, sollten diese einerseits zeigen, dass bei einem Niedrigrisikoprofil die Patientinnen nicht nur ein sehr gutes krebs-

ABB. 1

Verbesserte Risikoeinschätzung durch ein Multigen-Profil (rechts) vor allem für späteres Auftreten von Metastasen in der low risk Gruppe gegenüber herkömmlicher Risikostratifizierung mittels Guidelines – in diesem Fall St. Gallen 2009 (links)

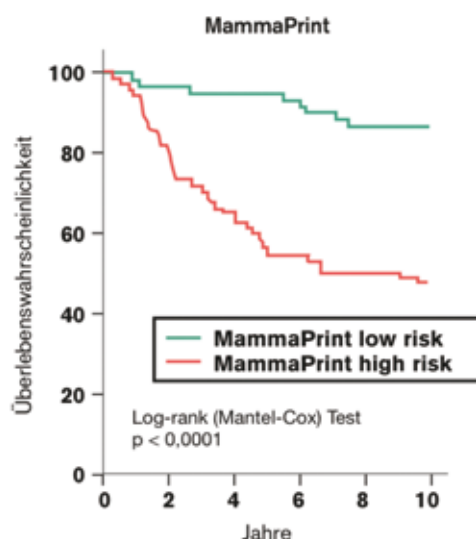
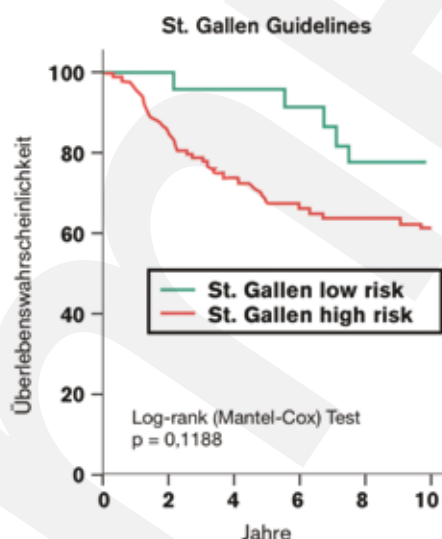
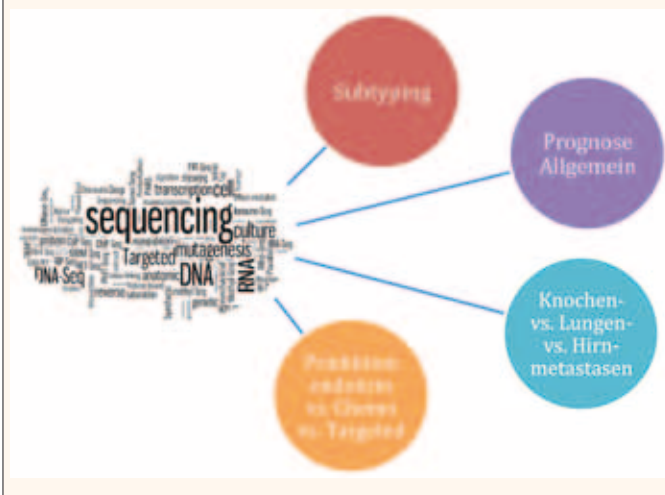


ABB. 2

Der „ideale“ Multigentest sollte alle Fragen in einem Experiment beantworten:

Welcher Subtyp liegt vor, wie ist die individuelle Prognose, wohin wird der Tumor metastasieren, und welches Medikament kann das verhindern?



spezifisches Überleben haben, sondern dass auch kein oder nur ein sehr geringer Benefit durch eine adjuvante Chemotherapie zu erwarten ist. Für diese Patientinnen könnte eine antihormonelle Behandlung die Therapie der Wahl darstellen. Demgegenüber sollte im Falle eines Hochrisikoprofils ein signifikanter Vorteil durch die zusätzliche Chemotherapie zu erwarten sein. Dies wurde für Oncotype DX und auch für den MammaPrint-Test bislang lediglich in grossen retrospektiven Studien gezeigt und definitive Aussagen über die Wertigkeit von Multigen-Assays im klinischen Alltag können sicher erst nach Präsentation der Ergebnisse der prospektiv randomisierten Studien getroffen werden. Eine echte Prädiktion, d. h. eine genaue Vorhersage über die Wirksamkeit eines spezifischen Medikaments bei einer individuellen Patientin, ist mit den derzeit verfügbaren Multigentests leider immer noch nicht möglich.

Zukünftige Entwicklungen

Einige dieser Multigentests waren lange nur bei frischem oder eingefrorenem Tumormaterial möglich – inzwischen funktionieren die meisten dieser Tests auch mit formalinfixiertem Gewebe, das an den pathologischen Instituten immer noch den Standard zur Gewebeaufbewahrung darstellt. Bereits jetzt können aus einem sogenannten „whole genome array“ mehrere verschiedene Profile aus einem einzigen Test ausgelesen werden: So können zum Beispiel gemeinsam mit dem 70-Genprofil zur Prognosebestimmung gleichzeitig auch die Expression von Östrogen- und Progesteronrezeptor und HER2/neu auf genomischer Ebene (Target-Print) und die vorher erwähnten intrinsischen Subtypen (BluePrint) bestimmt werden. Der ideale Multigentest, bei dem auch z.B. das Metastisierungsmuster und das Ansprechen auf verschiedenste Systemtherapien für die individuelle Patientin möglich sind, existiert aber derzeit noch nicht (Abb. 2). Das grösste Problem, das den Routineinsatz dieser patentierten Tests betrifft, stellen heutzutage die immer noch hohen Kosten von 1800–3200 Euro dar, was sehr viele Kliniker und Pathologen noch von einem breiteren Einsatz abhält.

Eine bislang nur wissenschaftliche Weiterentwicklung von Multigentests sind die verschiedenen Methoden des sogenann-

ten „next generation sequencing“ (NGS) zur massiven parallelen DNA-Sequenzierung. Mit diesen Techniken ist es heute möglich, das gesamte menschliche Genom mit über 3 Milliarden Basenpaaren innerhalb einiger Tage für einen Bruchteil der Kosten zu sequenzieren, wofür das Human Genome Project ab 1990 über 12 Jahre brauchte und an dem bis zu 1.000 Wissenschaftler in 40 Ländern arbeiteten. Beim NGS können das gesamte Tumorgenom wie auch Keimbahnmutationen parallel untersucht werden. Auf diese Weise wurden zum Beispiel neue Brustkrebsgene identifiziert und auch die „intratumorale Heterogenität“ kann besser erforscht werden. Bislang konnten diese NGS-Studien zeigen, dass es subklonale Mutationen in allen Tumoren gibt und dass bei allen Tumoren ein dominanter Zellklon auftritt, den ca. 50 % aller Tumorzellen gemeinsam haben. Wir erhoffen uns von diesen Techniken nicht nur ein besseres Verstehen der Erkrankung Brustkrebs, sondern vor allem auch die Entdeckung neuer Ansatzpunkte für die genom-basierte personalisierte Onkologie. So werden auch neue Moleküle wie microRNA oder RNA aus nichtkodierenden Sequenzen und Pseudogenen das Wissen um die molekularen Vorgänge in und um das Mammakarzinom auf eine neue Ebene führen. Doch auch wenn sich die Technik stetig weiterentwickelt, müssen wir uns bereits jetzt mit den Möglichkeiten und Grenzen auseinandersetzen, um auch aus heutiger Sicht die besten Entscheidungen für unsere Patientinnen treffen zu können.

PD Dr. med. Michael Knauer PhD FEBS

Leitender Arzt Brustchirurgie
Brustzentrum, Kantonsspital St. Gallen
9007 St. Gallen
michael.knauer@kssg.ch

Literatur:

1. Knauer M et al. St.-Gallen-Konsensuskonferenz 2009

Take-Home Message

- ◆ Multigentests ermöglichen eine besser reproduzierbare und adäquatere Prognoseeinschätzung beim Mammakarzinom als klinisch-pathologische Parameter
- ◆ Obwohl die Ergebnisse der prospektiv-randomisierten Studien noch ausstehen, werden sie von vielen Klinikern zunehmend eingesetzt, wenn eine Entscheidung für oder gegen eine adjuvante Chemotherapie nicht klar getroffen werden kann
- ◆ Trotzdem ist die eigentliche Prädiktion, welche Patientin von welchem Medikament profitiert, mit den derzeitigen Tests nicht möglich

Message à retenir

- ◆ Les tests multigéniques permettent de définir avec plus de reproductibilité et adéquation le pronostic pour la patiente atteinte de cancer du sein que les paramètres cliniques et pathologiques classiques
- ◆ Ils sont utilisés déjà dans de nombreux centres quoique les résultats d'études randomisées prospectives en cours soient encore attendus. Ils servent à décider pour ou contre une chimiothérapie adjuvante dans des situations ambiguës d'après les paramètres pronostiques classiques
- ◆ Malgré ces avantages, ces tests ne permettent pas (encore) de prévoir individuellement, quelle patiente profitera de quelle thérapie médicamenteuse