

Her2: Biologisk sladrehanke tager kampen op mod metastatisk brystkræft

Nye undersøgelser viser, at en blodprøvetest målrettet brystkræftframte kvinder både kan angive, om patienten responderer på den modtagne behandling, og om kræften er på vej tilbage.

Opdagelsen af Her2

Af overlæge, ph.d. // **Sven Tyge Langkjer**
Onkologisk afd., Århus Sygehus

Behandlingen af brystkræft er blevet tiltagende kompleks, i takt med at man igennem årene har opnået større viden. Ud over at brystkræften kan være påvirkelig af hormoner, ved man nu, at også vækstfaktorer spiller en rolle. Allerede i 1960 opdagede den amerikanske biokemiker, Stanley Cohen, Epidermal Growth Factor (EGF). Når Cohen injicerede ekstrakt fra musespytkirtler i nyfødte mus, så han, at musens udvikling accelererede. De åbnede øjnene hurtigere, fik hurtigere tænder osv. Cohen forklarede det med, at der i spyt-ekstraktet var en vækstfaktor, som han kaldte Epidermal Growth Factor (EGF). Han så, at væksten af epithelceller i hud og cornea blev stimuleret. Dette gav ham i øvrigt Nobel-prisen i 1986. Man fandt, at vækst-faktorer ikke stimulerer alle celler i kroppen, kun de celler, som har receptor for vækstfaktoren.

I 1983 finder Michael Waterfield, leder af Imperial Cancer Research Fond i London, det protein, som fungerer som EGF-receptor. En medarbejder, Axel Ullrich, en tysk biolog, kunne herefter isolere genet. Waterfield, Ullrich og en protein-eks-pert, Joseph Schlessinger, kunne nu i 1984 påvise, at vækstfaktorer ofte spiller en hovedrolle i udviklingen af kræft. Man fandt, at der var en hel familie af humane epidermale vækstfaktor-receptorer, også kendt som ErbB-familien af tyrosin kinase-receptorer. Ullrich, som var en mester i kloningsteknikker, kunne bestemme proteinerne, for hvilket genet kodede. Genet er kendt som Her2/neu-genet eller Erb2. Herefter kom en ny spiller på banen, nemlig Dennis Slamon fra UCLA, en medicinsk onkolog og doktor i cellebiologi. Han havde en samling af friske vævsprøver fra forskellige tumorer. Der blev indledt et samarbejde, hvor Slamon kunne konstatere, at Ullrichs Her2/neu matchede med DNA-ekstrakt fra visse bryst- og ovariecancerer. Ullrich og Slamon fandt, at onkogenet ikke var muteret, men at cellerne, som havde genet, producerede det korresponderende protein i rigtig store mængder, det fænomen, der kaldes overekspression. Yderligere forskning viste, at pro-

teinnet fandtes på celleoverfladen som en receptor. Man fandt receptoren på celler fra en række tumortyper, men også i ganske små mængder på raske celler. De maligne celler havde blot langt flere receptorer. Fx i nogle brystcancerer er antallet af receptorer pr. celler et par mio., mens antallet på de normale celler varierer mellem 50.000 og 100.000.

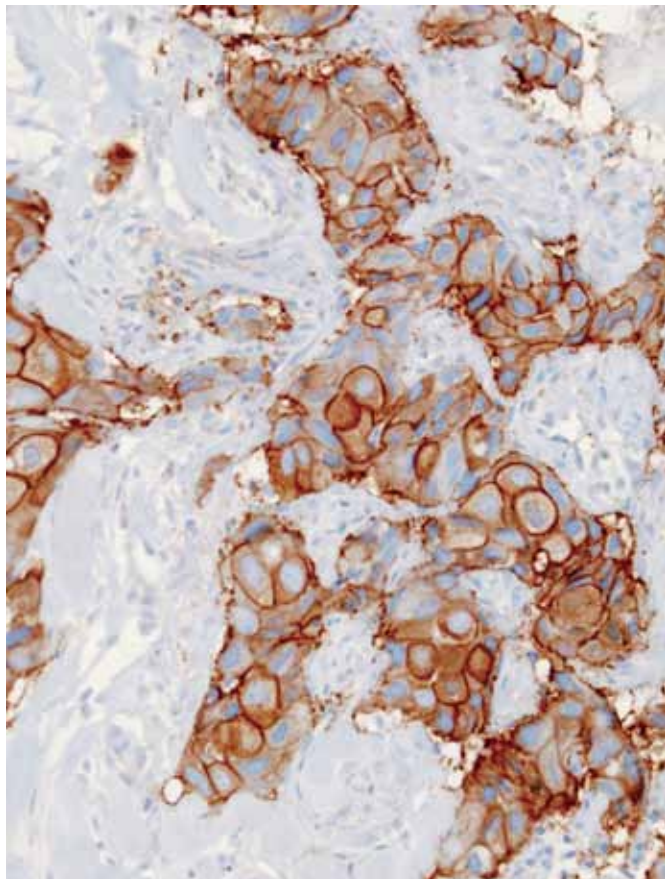
Man fandt sammen med William McGuire, en navnkundig forsker fra San Antonio, ved test af en række patient-tumorprøver med tilhørende sygehistorier, at såfremt tumorvævet udtrykte Her2-overekspression, så gik det patienten dårligt. Patienter havde således højere risiko for recidiv, metastaserne voksede hurtigere, og patienter havde kortere restlevetid (Slamon 1987). Ullrich fik nu kollegerne ved den immunologiske afdeling ved firmaet Genentech til at lave et monoklonealt antistof mod Her2/neu-antigenet. Når dette antistof blev tilsat vævskulturer af celler med overekspression af Her2/neu, holdt cellerne op med at gro og dele sig. Hermed var et nyt antistof født. Det humaniserede monoklonale antistof blev, vha. forskere fra Cambridge, sat i produktion som det, vi i dag kender som Herceptin eller Trastuzumab.

Prognostiske og prædiktive markører

En prognostisk markør kan identificere patienter med en specifik risiko for recidiv eller død. En forudsigelse af sygdommens natur-forløb, hvis patienten er ubehandlet. Man kan med en prognostisk markør skelne mellem grupper af patienter med forskellige risici for recidiv og dermed udvælge patienter til behandling eller ikke-behandling – uden at sige noget om, hvilken slags behandling der skal gives.

Med en prædiktiv markør kan man forudsige, om en patient med en given markør har gavn af en bestemt behandling. Flere af de markører, der bruges i klinikken i dag, er en blanding af prognostiske og prædiktive markører. Ved brystkræft er lymfeknudestatus i aksillen den vigtigste prognostiske faktor. Ved den primære brystoperation foretages også en vurdering af spredningen til aksillymfeknuderne. Tumorstorrelsen betyder noget, alder, østrogenreceptorstatus og endelig Her2-status spiller som ovenfor anført en stor rolle for den videre prognose. I 20-30 % af brystkræfttilfældene ses overekspression af human epidermal vækstfaktor-2 (Her2-positive), sædvanligvis betinget af amplifikation af genet, som koder for dannelsen af proteinet.

Om tumorcellerne er Her2-positive eller ej, undersøges verden over, standardiseret med en blanding af immunhistokemi (IHC) og fluorescens in situ-hybridisering (FISH). Viser tumorcellerne overekspression/amplifikation af protein og/eller gen,



Studier har vist, at hvis patienten udvikler et recidiv, kan det ofte påvises, at koncentrationen i serum af Her2 begynder at stige. Det sker undertiden, inden patienten har symptomer på recidiv, og inden det kan påvises ved en rutinescanning. Hvis høje koncentrationer af serum-Her2 under recidiv behandlingen falder, stemmer det overens med, at der også er god effekt af behandlingen.

regnes det normalt for at være en prognostisk markør for recidiv og død.

Her2 har også betydning som prædiktiv markør. Her2 positivitet prædikerer, at adjuverende behandling med antistoffet Trastuzumab, som jo er rettet mod receptoren, reducerer risikoen for recidiv med ca. 50 % og reducerer risikoen for død med ca. 30 %.

Blandt visse klinikere har der været et ønske om et redskab (en blodprøvemarkør) til effektivt at kunne påvise evt. tilbagefald af brystkræften tidligt og til hurtigere og bedre at kunne evaluere effekten af behandlingen.

Netop her kunne en måling af Her2-koncentrationen i serum måske være klinikeren en hjælp. Studier har vist, at hvis patienten udvikler et recidiv, kan man ofte påvise, at koncentrationen i serum af Her2 begynder at stige. Det sker undertiden, inden patienten har symptomer på recidiv, og inden man kan påvise dette ved en rutinescanning.

Hvis høje koncentrationer af serum Her2 under recidivbehandlingen falder, stemmer det overens med, at der også er god effekt af behandlingen. ▣

Måling af Her2

Af overlæge // **Ivan Brandslund**
Laboratoriecentret på Sygehus Lillebælt, Vejle

Proteinet Her2 kan måles både i væv og i blod. Ingen af blodets celler indeholder dog Her2-receptoren, men den ekstra cellulære del af receptoren ECD (Extra cellular domain) findes i en shedded form i plasma og serum. Vi har fundet fin overensstemmelse mellem koncentrationen af Her2 i cancervæv, målt med Elisa og immunkemilluminiscensteknik over for immunhistokemi, dog således at koncentrationsmålingen afspejler en stigende koncentration i forhold til, hvad der patologisk-anatomisk betegnes som IHC 0, 1, 2 og 3+. Normalt betragtes cancervæv som værende meget inhomogent med ujævn fordeling af kræftceller i det i øvrigt normale væv, hvorfor vi har udført ægte dobbeltbestemmelser med udtagning af væv flere steder i canceren for at undersøge dette. Ved de volumina, der udtages, hyppigst minimum 1 x 1 x 1 mm, ses denne inhomogenitet ikke at spille nogen rolle pga. de logaritmiske stigninger, der findes af Her2-receptoren, ved cancer. Det kunne se ud, som om vævskvantiteringen er mere følsom for øgede Her2-koncentrationer end immunhistokemi og fluorescens insituhybridisering, der fastslår, om der er genamplifikation, dvs. mere end 2 kopier af genet pr. celle, hvorfor undersøgelser er i gang med henblik på at følge ca. 450 patienter, hvor samtlige undersøgelser er lavet på alle disse. Der er ca. 50 patienter, som her viser øgede koncentrationer af Her2 i vævet, men uden at de klassificeres som amplifikationspositive med IHC og FISH.

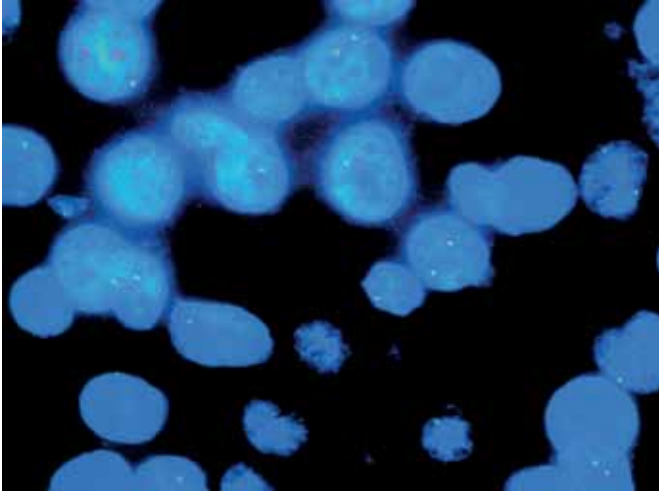
Målinger af Her2 i serum

For patologiske-anatomiske analyser gælder jo, at når canceren er fjernet, kan man ikke udføre flere analyser i efterforløbet på patienten, og det er derfor vigtigt at have metoder, der er lette og hurtigere udført direkte på blod for at kunne følge effekten af behandlingen.

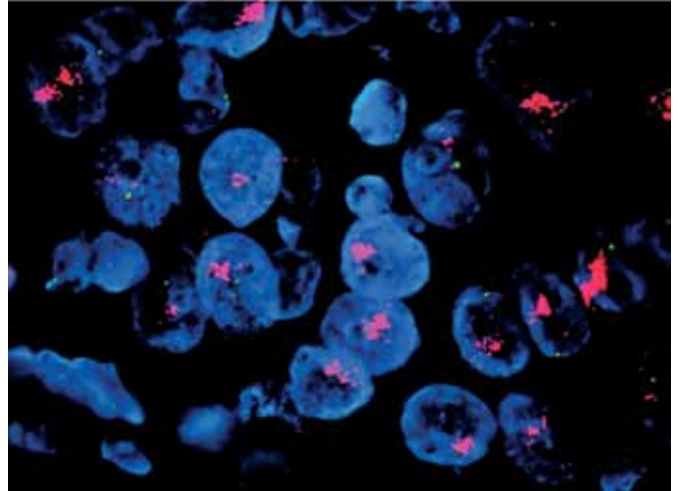
De traditionelle årsager til at bruge klinisk biokemiske analyser oversat til brugen i brystkræft er jo egentlig:

1. At kunne screene for tilstedeværelse af brystkræft
2. At monitorere effekten af kirurgi
3. At forudsige effekten af en given behandling og dermed kunne vælge den rette behandling
4. At justere behandlingsdosen eller varigheden i relation til serumværdier eller indikatorer i blodet generelt
5. At detektere effekten af denne behandling
6. At detektere bivirkninger af behandlingen.

For serum Her2 har det vist sig, at der ikke er nogen værdi i screening for cancer mammae, da antallet af positive patienter >



FISH farvning af normale celler. Kromosom 17 fremstår som grønne pletter.



FISH farvning af patologt væv, viser kromosom 17 samt adskillige røde områder svarende til amplifikationer af Her2 genet.

ter med øgede koncentrationer ud over det normale ved diagnostidspunktet er få procent. Selv patienter, som er amplifikationspositive med IHC og FISH, hvilket gælder ca. 25 % af patienterne, har sjældent forhøjede serumværdier i blodet på diagnose- og operationstidspunktet. Serum Her2 duer derfor heller ikke til at monitorere effekten af primær kirurgi eller dekttere effekten af behandling ved den indsatte 1.- gangs-behandling eller i relation til kirurgien. Behandlingen med Herceptin hviler således fortsat i det nydiagnosticerede forløbsammenhæng direkte på analysen for Her2-patoanatomisk.

Detektion af recidiv efter primær behandling

Vi har fulgt 862 patienter gennem op til 5 år efter primærbehandling med serum Her2-målinger ved de rutinemæssige fastlagte kliniske kontrolbesøg. Ud af de 862 udviklede 149 positiv serum Her2 (>15 µg/l), heraf var de 35 fra vævspositive patienter, 69 fra vævsnegative patienter, og 45 havde ukendt vævsstatus, idet de var opereret, før fastlæggelse af Her2-vævsstatus var rutine (se tabel side 17).

Af patienter med øget serum Her2 var de 25 af de 35 fra vævspositive patienter reelt med recidiv eller med tilbagefald i

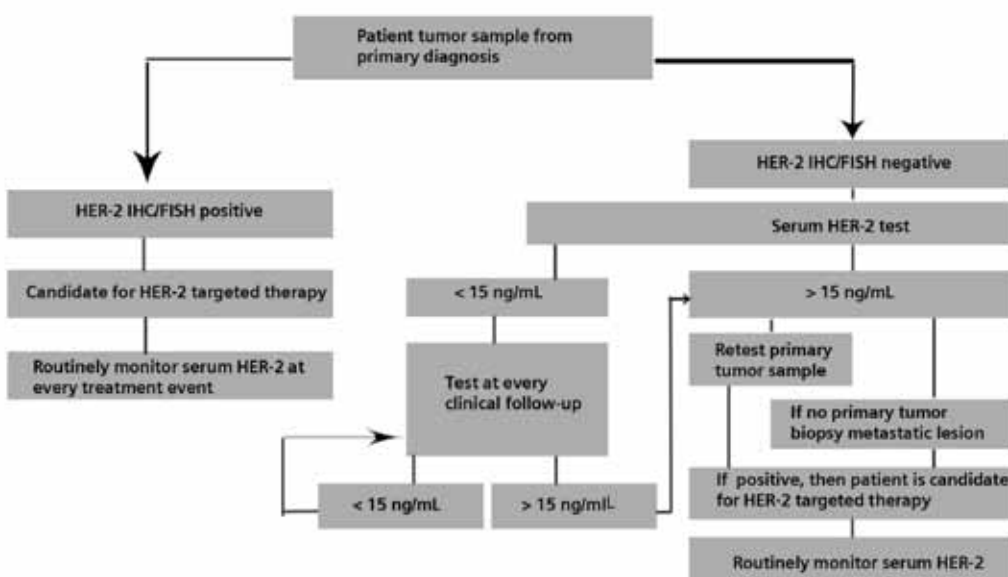
form af metastaser, mens 29 af 69 vævsnegative, men serumpositive, havde tilbagefald (se tabel). Disse forskelle er højstsignifikante. Omsat til prædiktive værdier er den positive prædiktive værdi i vævsnegative patienter af en serum Her2 over 15 µg/l 42 %. Øges cut off'en til 25 µg/l, er den prædiktive positive værdi 100 %. Tilsvarende i vævspositive patienter er den prædiktive positive værdi af resultater over 15 µg/l 71 %, mens en ændring af cut off'en til 32 µg/l giver en prædiktiv positiv værdi på 100 %.

På basis af disse undersøgelser har vi foreslået en algoritme som vist i figuren nederst. De patienter, der havde øget serum Her2 og igangsatte en behandling, viste uden undtagelse kraftige fald ned mod normalområdet ved klinisk effekt af behandlingen.

Monitorering af den enkelte patients værdi

Nogle af patienterne viste ikke værdier over normalområdet, men viste signifikant stigning i relation til deres egne udgangsværdier. Det er vigtigt at vide, at den biologiske og analytiske variation på serum Her2 under ca. 20 µg/l er ca. 7,5 %, hvorfor en ændring fra måling til måling skal overstige 2,77 x

PROPOSAL FOR SERUM HER2 TEST ALGORITHM





”Når canceren er fjernet, kan man ikke udføre flere analyser i efterforløbet på patienten, og derfor er det vigtigt at have metoder, der er lette og hurtigt udført direkte på blod for at kunne følge effekten af behandlingen.”

	TISSUE POSITIVE	TISSUE NEGATIVE	UNKNOWN TISSUE STATUS	TOTAL
Positive serum Her2	35	69	45	149
Negative serum Her2	171	368	174	713
	206	437	219	862

7,5 %, dvs. ca. 22 % for at der er statistisk signifikant forskel på 95 %-niveau, så vi ikke kun detekterer støj på målingen.

Der foreligger ikke umiddelbart undersøgelser, der har opgjort værdien af at måle en individuel stigning i forhold til en værdi over referenceintervallet.

Monitorering af effekt af behandling

Flere forfattere har vist, at patienter, som opnår mere end 20 % fald i deres serum Her2 i forhold til eget udgangspunkt, har en signifikant længere overlevelse end patienter med uændrede værdier eller et lille fald.

Monitorering af patienter under Herceptin-behandling

Ca. 50 patienter er under Herceptin-behandling blevet fulgt i op til 5 år med systematiske målinger af serum Her2. Hovedkonklusionen på disse er, som også andre forfattere har påvist, at klinisk effekt er tæt forbundet med et fald i serumværdien, og generelt kan man konkludere, at opnår man ikke et fald i serumværdien ned i referenceintervallet, er overlevelsen ringe. Patienter, der ikke får noget fald, eller endog stiger under behandlingen, har dårlig prognose mht. overlevelse.

Mulig værdi af serum Her2 under Herceptin-be-

handling

Et fald i serum Her2 varsler en god respons på den givne Herceptin-behandling i kombination med øvrigt givne stoffer og kan derfor tages som udtryk for en effekt af behandlingen. Et manglende fald eller en stigende værdi bør derimod straks føre til overvejelser om behandlingsresistens over for Herceptin, og andre stoffer, fx Lapatinib, bør overvejes taget i anvendelse. Kasuistisk har vi set flere responser på Lapatinib, som ikke fandtes over for Herceptin, men dette kræver validering i form af en kontrolleret undersøgelse.

Konklusion

Serum Her2 synes at være af værdi såvel i detektion af recidiv med en leadtime i forhold til standard image-teknologier på i gennemsnit 6 måneder (men op til 12 måneder). Desuden til monitorering af effekt af behandling med Herceptin i kombination med anden kemoterapi. Og sidst, men ikke mindst, som indikator for, hvorvidt patienten har behandlingsresistens over for Herceptin ■

ARTIKLERNE ER TIDLIGERE PUBLICERET I SIEMENS HEALTHCARE DIAGNOSTICS BLAD NEXTLEVEL

Referencer:

- 1 Clin Chem Lab Med 2009;47(9):1117-1123. Serum HER-2 concentrations for monitoring women with breast cancer in a routine oncology setting Patricia Diana Sørensen¹, Erike Hugger Jakobsen², Sven Tyge Langkjer², Susanne Bokmand³, Birthe Østergaard⁴, Dorte Aalund Olsen¹, Jonna Skov Madson¹ and Ivan Brandslund¹

1 Department of Clinical Biochemistry, Lillebaelt Hospital, Vejle Denmark, 2 Department of Oncology, Lillebaelt Hospital, Vejle Denmark, 3 The Mamma Center, Lillebaelt Hospital, Vejle Denmark, 4 Department of Clinical Pathology, Lillebaelt Hospital, Vejle Denmark. * Patricia.Diana.Soerensen@slb.regionsyddanmark.dk

2 Clin Chem Lab Med. 2007;45(2):177-82 HER-2 protein concentrations in bre-

ast cancer increase before immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization analysis turn positive.

Olsen DA, Østergaard B, Bokmand S, Wamberg PA, Jakobsen EH, Brandslund I. Department of Clinical Biochemistry, Vejle County Hospital, Vejle, Denmark. doaaol@vgs.vejleamt.dk

3 Clin Chem Lab Med. 2009;47(8):977-84 HER1-4 protein concentrations in

normal breast tissue from breast cancer patients are expressed by the same profile as in the malignant tissue.

Olsen DA, Østergaard B, Bokmand S, Wamberg PA, Jakobsen EH, Jakobsen A, Brandslund I. Department of Clinical Biochemistry, Vejle County Hospital, Vejle, Denmark. Dorte.Aalund@slb.regionsyddanmark.dk