

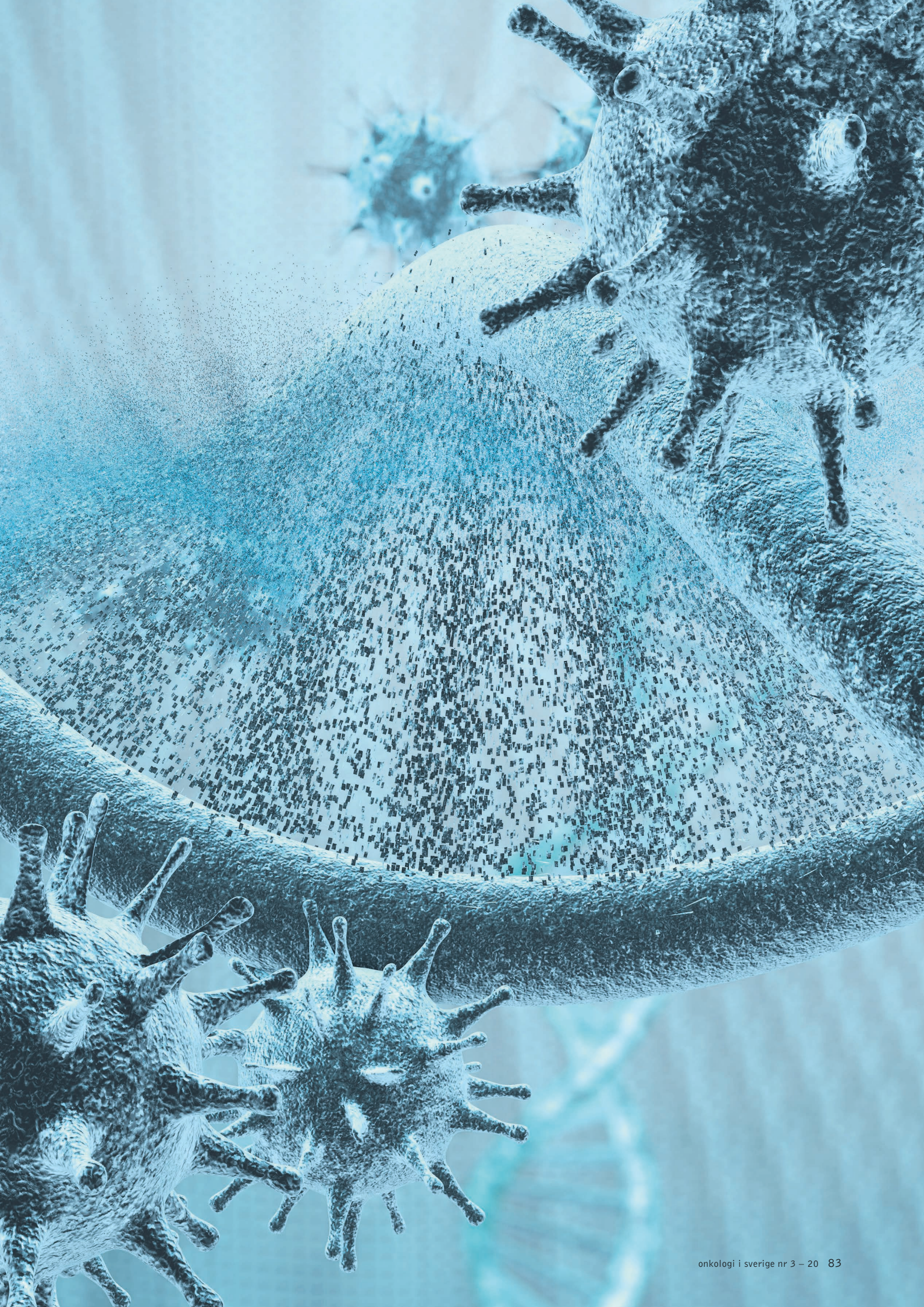
Risk för **spridd njurcancer** bedöms med **DNA-markör**

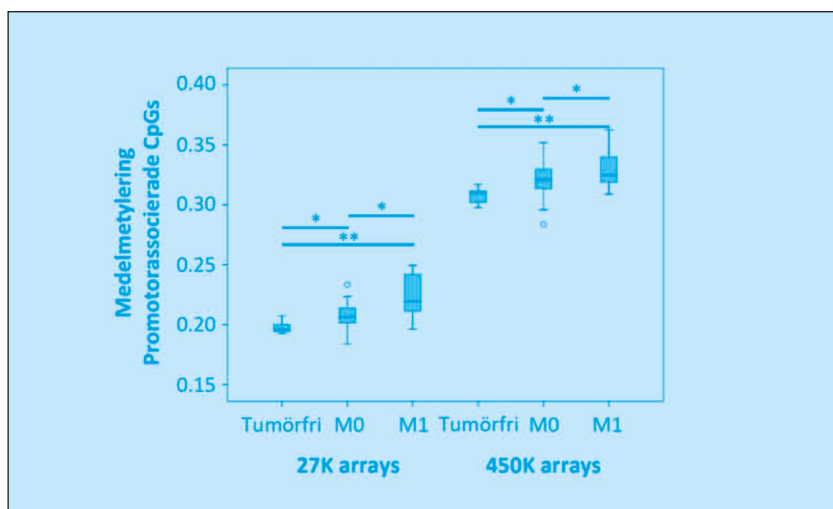
Det är möjligt att förutsäga risken för att njurcancer ska spridas utanför njuren genom att analysera skillnader i så kallad DNA-metylering i tumören vid diagnos. Det visar en ny avhandling som här sammanfattas av **Emma Andersson-Evelönn**, forskare vid Institutionen för medicinsk biovetenskap och Institutionen för kirurgisk och perioperativ vetenskap vid Umeå universitet.

Klarcellig njurcancer är den vanligaste formen av njurcancer och drabbar årligen cirka 1 000 personer i Sverige¹. Till riskfaktorerna för att utveckla njurcancer hör manligt kön, rökning, övervikt, hypertoni och kronisk njursjukdom². Den klassiska symtomtriaden associerad med njurcancer är hematuri, flanksmärta och en palpabel massa i buken för lokalen av njuren. Symtomgivande tumörer har blivit alltmer ovanliga när njurcancer ofta upptäcks accidentellt när patienter undersöks med datortomografi (DT), magnetkameraundersökning (MRT) eller ultraljud med annan frågeställning än njurcancer. Detta har lett till att andelen metastaserade tumörer vid diagnos har sjunkit till under 20 procent i Sverige. Är sjukdomen lokal vid diagnos är prognosen god med över 90-procentig femårsöverlevnad, men trots tidig upptäckt och icke-metasta-

serad sjukdom vid diagnos riskerar upp till 30 procent av patienterna att drabbas av tumörprogression. En utmaning är att identifiera dessa patienter för att ge dem de bästa förutsättningarna för god livskvalitet och förbättrad prognos.

Alla patienter behandlas efter det Nationella vårdprogrammet för njurcancer, det inkluderar partiell eller radikal nefrektomi och vid behov systemisk behandling vid tumörspridning. Partiell nefrektomi innebär att endast den drabbade delen av njuren avlägsnas, detta är möjligt om tumören är liten och används för att spara njurfunktion. Om det på DT är tecken till tumöröversväxt till binjure eller lymfkörtlar, eller om detta upptäcks vid operation, evakueras även dessa. Patienter som har metastaserad sjukdom vid diagnos gynnas ofta av att primärtumören evakueras och även i vissa fall me-





Figur 1.

tastaser. Utöver detta behandlas patienter med systemisk behandling med tyrosinkinashämmare, mTOR-hämmare och immunterapi¹. Ingen av de tilläggsbehandlingar som används till metastaserad sjukdom har visat sig gynna patienter med icke-metastaserad sjukdom och hög risk för tumörprogression.

vilket gynnar tumörtillväxt. Flera studier har identifierat metyleringsförändringar som del i tumörutvecklingen i flertalet cancertyper inklusive klarcellig njurcancer⁴, en svårighet är att reproducera resultatet från dessa studier i nya kohorter. En review av Joosten et al., (2019) sammanställde ett flertal av

DNA-metylering är en av de mest välstuderade epigenetiska förändringarna som styr genuttryck och spelar en viktig roll i vävnadsspecifikt genuttryck.

DNA-METYLERING – VIKTIG ROLL

DNA-metylering är en av de mest välstuderade epigenetiska förändringarna som styr genuttryck och spelar en viktig roll i vävnadsspecifikt genuttryck. Metyleringen sker främst på kvävebasen cytosin som är belägen bredvid ett guanin, ett så kallat CpG site (CpGs). Genom att förändra mönstret av DNA-metylering påverkas packningen av DNA och möjligheten för transkriptionsfaktorer att binda in och antingen aktivera eller inaktivera genexpression³.

Förändringar i DNA-metylering har visat sig spela en viktig roll i både tumörutveckling och progression genom att exempelvis inaktivera tumorsuppressorgener och aktivera onkogener

de publicerade biomarkörerna för klarcellig njurcancer och rekommendationen av den studien var att kombinera ett större antal gener och/eller CpGs för att prediktera prognos⁵.

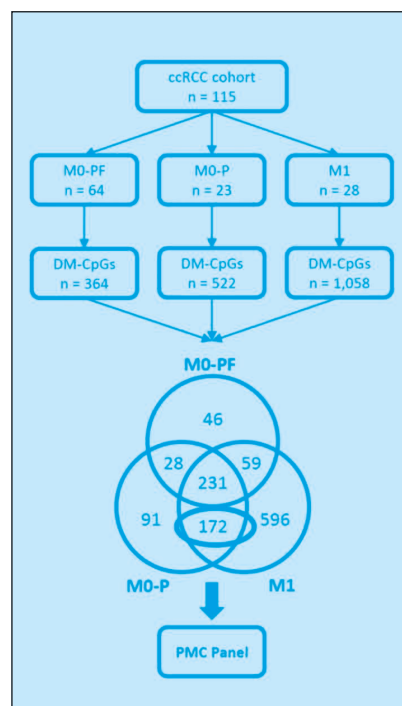
I vår studie har DNA-metylering analyserats med hjälp av metyleringsarrayer (HumanMeth27K Bead Arrays and HumanMethylation450K Bead-Chip Arrays från Illumina Inc., San Diego, USA) i två kohorter av patienter. De olika metyleringsarrayerna skiljer sig i fördelning av CpGs och distributionen över genomet och därför har vi valt att fokusera analysen på promotorassocierade CpGs. Vi har kunnat identifiera en korrelation mellan ökad grad av metylering och sämre prognos

med en signifikant stegvis ökning av metyleringsgrad från tumörfri vävnad, via icke-metastaserade tumörer till metastaserade tumörer som har den högsta metyleringsgraden (figur 1)^{6,7}. Hierarkisk klusteranalys kan användas för att klassificera tumörer efter likheter och skillnader i DNA-metylering, detta ledde till en uppdelning av prover i två distinkta grupper med skillnad i metyleringsgrad, tumörstorlek, fördelning av metastaserade och icke-metastaserade tumörer samt risken för tumörprogression.

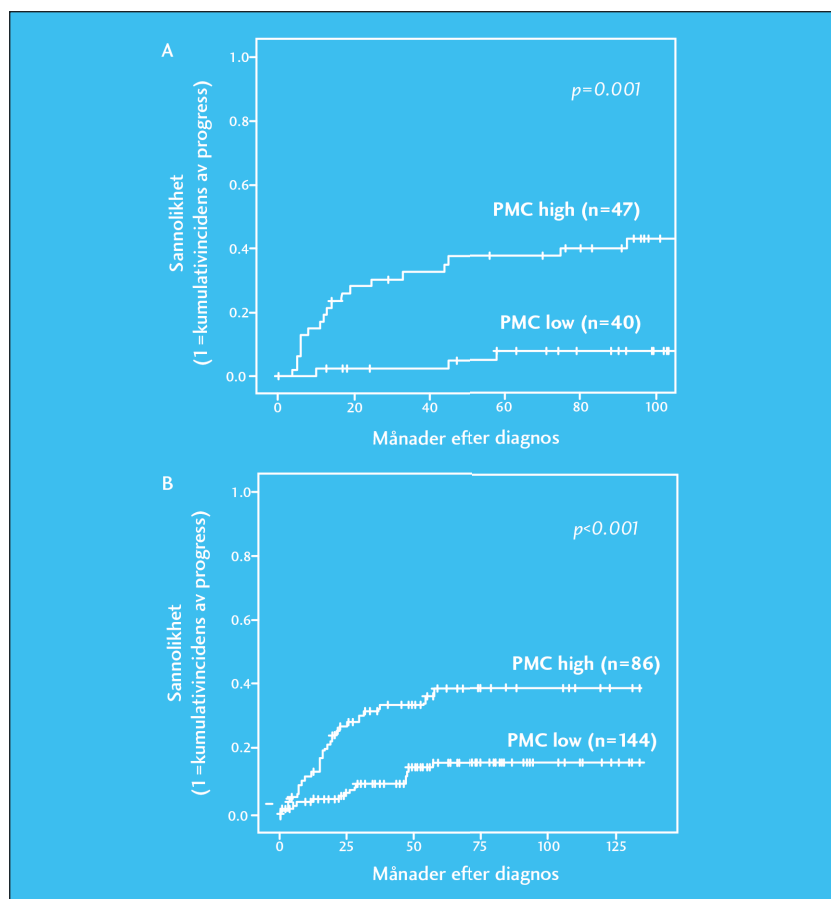
SÅ DELADES FALLEN UPP

115 tumörer som inkluderades i vår studie delades upp i icke-metastaserade tumörer utan progress (M0-PF), icke-metastaserade tumörer som får progress (M0-P) och metastaserade tumörer (M1). För varje grupp identifierades de CpG sites som hade en förändrad metylering mot normal vävnad i minst 70 procent av tumörerna. Likheter och skillnader i metylering identifierades med hjälp av ett Venn-diagram och de CpGs som var gemensamt förändrade i M0-P och M1 inkluderades i en 'Promoter Methylation Classifier' (PMC) panel (figur 2).

För de 172 CpGs som inkluderades i PMC-panelen beräknades ett medel-



Figur 2.



värde för varje patient och en cut-off med hjälp av en receiver operating characteristic (ROC) curve och ett Youden Index för att skilja mellan PMC high och PMC low. Icke-metastaserade tumörer klassificerades till PMC low eller PMC high i vår kohort samt i en publikt tillgänglig kohort, TCGA-KIRC. I båda kohorterna var det signifikant fler patienter med progress av sin tumörsjukdom i PMC high jämfört med PMC low (figur 3). PMC-panelen är även signifikant kliniskt relevant i en multivariat analys som inkluderar PMC status, TNM, morfologisk grad, ålder och kön⁷.

Pågående forskning visar att en kombination av metyleringsförändringar tillsammans med kliniska faktorer ytterligare kan förbättra prediktionen av huruvida en icke-metastaserad tumör vid diagnos kommer att få progress.

Även om man ser en koppling mellan högre nivåer av metylering och tu-

Figur 3.

Instruktionsfilmer inom ONKOLOGI

– för dig och dina patienter

Även som APP

Ett enda klick för rätt och säker läkemedelsanvändning

Beställ kostnadsfria påminnelsekort: info@medicininstruktioner.se

mörutveckling i klarcellig njurcancer är det inte aktuellt att behandla metastaserad sjukdom med demetylerare. 5-azacytidine och 5-aza-2-deoxycytidine är två demetylerare som framgångsrikt har introducerats i behandling av myelodysplastiskt syndrom och akut myeloisk leukemi (AML) men de har inte samma positiva inverkan på prognos vid behandling av solida tumörer⁸.

från Illumina Inc. för genetiska analyser. Metyleringsarrayer används idag för att diagnostisera CNS-tumörer som är svårbedömda histologisk¹¹, detta gör att implementering av andra diagnostiska paneler för andra tumörsjukdomar inte behöver vara omöjligt även om det krävs bioinformatisk kunskap för att sätta upp dessa metoder.

Sammanfattningsvis: genom att analysera DNA-metylering i klarcellig

4. Ricketts CJ, Hill VK, Linehan WM: Tumor-specific hypermethylation of epigenetic biomarkers, including SFRP1, predicts for poorer survival in patients from the TCGA Kidney Renal Clear Cell Carcinoma (KIRC) project. PLoS One 2014, 9(1):e85621.

5. Joosten SC, Deckers IA, Aarts MJ, Hoebe A, van Roermund JG, Smits KM, Melotte V, van Engeland M, Tjan-Heijnen VC: Prognostic DNA methylation markers for renal cell carcinoma: a systematic review. Epigenomics 2017, 9(9):1243-1257.

6. Evelönn EA, Degerman S, Kohn L, Landfors M, Ljungberg B, Roos G: DNA methylation status defines clinicopathological parameters including survival for patients with clear cell renal cell carcinoma (ccRCC). Tumour Biol 2016, 37(8):10219-10228.

7. Evelönn EA, Landfors M, Haider Z, Köhn L, Ljungberg B, Roos G, Degerman S: DNA methylation associates with survival in non-metastatic clear cell renal cell carcinoma. BMC Cancer 2019, 19(1):65.

8. Mehdiipour P, Murphy T, De Carvalho DD: The role of DNA-demethylating agents in cancer therapy. Pharmacol Ther 2019:107416.

9. Wei JH, Haddad A, Wu KJ, Zhao HW, Kapur P, Zhang ZL, Zhao LY, Chen ZH, Zhou YY, Zhou JC et al: A CpG-methylation-based assay to predict survival in clear cell renal cell carcinoma. Nat Commun 2015, 6:8699.

10. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, Math M, Larkin J, Endesfelder D, Gronroos E, Martinez P, Matthews N, Stewart A et al: Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. N Engl J Med 2012, 366(10):883-892.

11. Capper D, Jones DTW, Sill M, Hovestadt V, Schrimpf D, Sturm D, Koelsche C, Sahm F, Chavez L, Reuss DE et al: DNA methylation-based classification of central nervous system tumours. Nature 2018, 555:469.

// De patienter som klassificeras som hög risk för progress kan gagnas av att följas mer intensivt för att tidigt diagnostisera eventuella metastaser och i framtiden vara målgrupp för adjuvant behandling.

MÖJLIGT KALKYLERA RISK

Det som är intressant med vår studie är att istället för att fokusera på 'overall survival' har vi analyserat kumulativ incidens av progress. Vi har identifierat skillnader i metyleringsnivåer kopplade till tumörprogression och skapat en panel för att kalkylera risk för progress av icke-metastaserad sjukdom vid diagnos. Metyleringsmönster har analyserats på flera bitar från samma tumör och visar ett homogent metyleringsmönster vilket är en viktig faktor vid bedömning av risk för progress, att metyleringsmönster är stabilt inom tumören har även visats av Wei et al., (2015) medan genuttryck kan variera mer mellan olika positioner i tumören^{9,10}. Att DNA-metyleringen är mer stabil inom tumören än genuttryck indikerar att detta är en mer lämplig metod för att skapa en prognostisk panel.

Många sjukhus i Sverige, inklusive Norrlands Universitetssjukhus i Umeå, extraherar DNA och använder system

njurcancer i samband med diagnos/nefrektomi kan risken för tumörprogression av icke-metastaserad sjukdom bedömas. De patienter som klassificeras som hög risk för progress kan gagnas av att följas mer intensivt för att tidigt diagnostisera eventuella metastaser och i framtiden vara målgrupp för adjuvant behandling.

REFERENSER:

1. Regionalt Cancercentrum. Nationellt vårdprogram njurcancer. In.; 2019.

2. Scelo G, Larose TL: Epidemiology and Risk Factors for Kidney Cancer. J Clin Oncol 2018;Jco2018791905.

3. Robertson KD: DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. Oncogene 2002, 21(35):5361-5379.

EMMA ANDERSSON-EVELÖNN, FORSKARE VID INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK BIOVETENSKAP OCH INSTITUTIONEN FÖR KIRURGISK OCH PERIOPERATIV VETENSKAP VID UMEÅ UNIVERSITET, EMMA.ANDERSSON-EVELONN@UMU.SE

