



Onkologi

i sverige •

den oberoende
tidningen för
svensk cancervård

Nya rön kring
HER2-testning
och behandling

Cancermetabolismen
ännu ett mysterium

Tumörassocierade
makrofagers roll

Fördel temozolomid för
äldre med glioblastom

1



Varför används inte pengarna?

Så här i slutet av året när uppsummeringar ska göras och slutsatser ska dras kan man konstatera att läkemedelskostnaderna varit ett ständigt återkommande ämne. I år kanske mer än på många år. En anledning är att vi nu är inne i en period där resultaten av många års forskning och utveckling har nått fram till nya läkemedel som introduceras på marknaden. Detta påverkar förstås utgiftssidan i budgeten på den enskilda kliniken.

På ett övergripande plan minskar kostnaderna för läkemedel, räknat som andel av hälso- och sjukvårdens övriga kostnader. Detta beror på att läkemedelskostnaderna varit relativt stabila medan de totala sjukvårdskostnaderna ökat. Under hela 2000-talet har landstingen haft ett överskott av det erhållna statsbidraget jämfört med de faktiska kostnaderna inom läkemedelsförmånen. Och det överskottet täcker även kostnadsökningen inom slutenvården. Det är inga småsummor vi talar om. Under de senast 10 åren har bidraget överstigit kostnaderna med drygt 9 miljarder. Men detta överskott har inte använts till läkemedel!

Det är naturligtvis positivt att det finns tillräcklig finansiering för läkemedel men man kan fråga sig varför landstingen inte använder pengarna till det de är avsedda för? I stället används bristande finansiering ofta som en förklaring till varför patienter inte kan erbjudas vård med nya läkemedel.

Det drabbar både den enskilde individen som kanske inte får det nya läkemedlet men också den enskilde läkaren som ska förklara beslutet för patienten. Man skulle önska att de regionala cancercentrumen hade en möjlighet att påverka sina respektive landsting så att en större del av statsbidraget faktiskt gick till läkemedel.

Vad säger tomten om det?

Jag och övriga på redaktionen vill passa på och önska en skön jul- och nyårshelg och en givande läsning!

Patrik Gustavsson
Chefredaktör

Vill du ha Onkologi i Sverige elektroniskt?

Vi utvecklar nu en läsplatteanpassad tidning för dig som vill kunna läsa OIS på t ex iPad. Tidpunkten för lansering är inte bestämd. För att ta del av denna möjlighet mejla oss på: redaktionen@pharma-industry.se Skriv Onkologi i Sverige i ämnesraden så lägger vi in dig som prenumerant.

redaktionsråd



Sören Lehmann
Överläkare, Docent
Hematologiskt Centrum
Karolinska Universitets-
sjukhuset, Huddinge



Arne Östman
Professor
Cancer Centrum Karolinska
Inst. för onkologi-patologi
Karolinska Institutet



Mikael Johansson
Överläkare, Universitetslektor
Cancercentrum, Onkologi
Norrlands Universitets-
sjukhus



Elisabet Lidbrink
Överläkare
Radiumhemmet
Karolinska Universitets-
sjukhuset

Ansvarig utgivare: Patrik Gustavsson
Vd: Niclas Ahlberg
Grafisk form: Nina Roegind
Redigering: Lars Ringberg
Tryck/Repro: Trydells Tryckeri, Laholm
Papper inlaga: Artic Silk 115 g
Papper omslag: Artic Silk 200 g.
Annonspolicy: Förutom begärda placeringar
placeras annonserna slumpvis.
Adress: Tyra Lundgrens väg 6,
134 40 Gustavsberg,
Telefon 08-570 10 520
e-mail: ois@pharma-industry.se
Hemsida: www.onkologiisverige.se

Onkologi i Sverige kommer ut med sex nummer per år och publiceras av det oberoende förlaget Pharma Industry Publishing AB. Vi har ingen koppling till något annat företag eller organisation inom vare sig privat näringsliv eller offentlig sektor. Citera oss gärna, men ange källan – Onkologi i Sverige. Innehållet i artiklarna överensstämmer inte nödvändigtvis med redaktionens åsikter.
ISSN1653-1582© Pharma Industry Publishing AB 2005



Onkologi i Sverige är TS-kontrollerad
Upplaga 9200 exemplar

2

44

38

56

22

50

26

Hjärntumör

Fördel temozolomid för äldre med glioblastom **14**
Annika Malmström

Neuroonkologiska brännpunkter vid EFNS **22**
Anja Smits

Bröstcancer

Nya rön kring HER2-testning och behandling **26**
Johan Lundberg

Digital patologi gör preparat tillgängliga i nätverk **56**
Birgitta Wallberg och Judith Bjöhle

Livsstil ställer bröstcancerexperter inför nya utmaningar **68**
Helene Wallskär

Forskning

Cancermetabolismen ännu ett mysterium **38**
Roland Nilsson

Tumörassocierade makrofagers roll i tumörprogression **44**
Charlotte Rolny

Exosomer transporterar RNA mellan celler **50**
Hadi Valadi

Redaktörens rader **3**

Redaktionsråd **4**

Notiser **8**

Vill du ha Onkologi i Sverige elektroniskt?
Se sid 12



3

Årets Yngre Forskare: Testar beprövad medicin mot bröstcancer



Cancerforskaren **Signe Borgquist**, Skånes universitetssjukhus och Medicinska fakultetens vid Lunds universitet, får priset Årets Yngre Forskare för sina lovande studier om hur statiner kan bidra till att bekämpa bröstcancer.

Signe Borgquist har i sin forskning använt blodfett-sänkande statiner som normalt används för att förebygga hjärtkärlsjukdomar. Med statiner hämmas enzymet HMG-CoA-reduktas. Signe Borgquists forskarlag är först med att visa att enzymet uttrycks i bröstcancerceller och att det spelar en central roll för utvecklingen av bröstcancer.

– Mellan diagnos och operation öppnar sig ett fönster på ungefär två veckor då vi kan ge statinbehandlingen. Vi kan på så sätt undersöka tumören före och efter behandling. Av vad vi sett hittills ser det mycket lovande ut, berättar hon. (Källa: Region Skåne) I nästa utgåva av OiS skriver Signe Borgquist en artikel baserat på studierna. (Reds anm)

Genetiska förändringar identifierar leukemipatienter med sämre prognos

Kronisk lymfatisk leukemi (KLL) är en sjukdom med mycket varierande prognos. Vissa patienter blir mycket sjukare än andra. Forskare från Uppsala universitet presenterar nu nya resultat som tyder på att mutationer i två specifika gener skulle kunna användas för att avgöra vilka behandlingar som passar bäst för enskilda patienter.

Kronisk lymfatisk leukemi är den vanligaste leukemiformen hos vuxna. Det är en sjukdom med varierande förlopp där vissa patienter kan leva länge med sin sjukdom medan andra försämras snabbt, även med behandling. För att kunna bedöma prognosen för individuella patienter delas sjukdomen in i undergrupper som bland annat bygger på närvaron eller avsaknaden av olika genetiska förändringar.

Richard Rosenquist, professor vid institutionen för immunologi, genetik och patologi, och hans medarbetare visar i den nya studien att mutationer i två specifika gener kan användas som markörer för KLL med sämre prognos. De undersökte material från 360 KLL-patienter och såg att det fanns ett starkt samband mellan närvaron av mutationerna och både en kortare tid tills man behövde börja behandla sjukdomen och en kortare överlevnadstid.

– Våra resultat tyder på att dessa mutationer kan läggas till de genetiska förändringar som används för att identifiera patienter med särskilt dålig prognos. Efter ytterligare studier, baserat på ett större patientmaterial, skulle analyser för att hitta dessa mutationer kunna införas i kliniken, säger Richard Rosenquist. (Källa: Uppsala universitet)

Aktiv bevakning kan minska lidandet för prostatacancersjuka

Med hjälp av aktiv monitorering skulle många män med prostatacancer kunna avstå strålning och operation, och på så sätt slippa biverkningar i form av inkontinens och impotens. En studie med 968 män visar att många prostatacancersjuka skulle kunna avstå behandling och slippa biverkningar, om de i stället underkastade sig så kallad aktiv monitorering. Studien är en delstudie i den stora screeningstudie för prostatacancer som sedan 1995 pågår i Göteborg under ledning av **Jonas Hugosson** vid Sahlgrenska akademien.

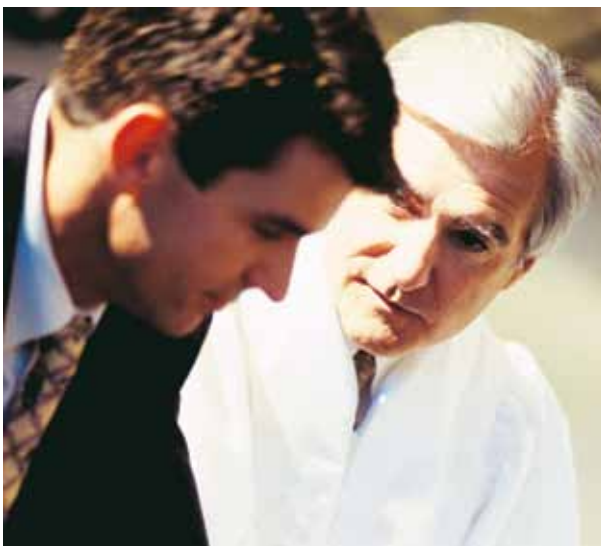
– Med aktiv monitorering menas att man med regelbundna kontroller av PSA och vävnadsprovtagning av prostatan följer cancertumörens utveckling. Visar tumören tecken på att växa eller bli mer aggressiv kan man gå vidare med operation eller strålning. Många män kan helt slippa eller i alla fall skjuta fram de biverkningar som den botande behandlingen kan ge, säger **Rebecka Arnsrud Godtman**, som är doktorand hos Jonas Hugosson.

Av de 968 prostatacancersjuka männen i studien valde omkring hälften (46 procent) aktiv monitorering som behandlingsstrategi. Majoriteten av männen hade tumörer av lågrisktyp, men det fanns även män med mellan- eller högrisktumörer.

Resultaten visar att av de 440 männen som fick aktiv monitorering avled 60, men bara en av dem till följd av prostatacancer. Ingen av de män som hade lågrisktumörer utvecklade spridd prostatacancer eller avled till följd av sin cancer. 63 procent av männen i studien stod kvar under aktiv monitorering under hela uppföljningstiden (upp till 15 år).

37 procent av de som fick aktiv monitorering avbröt denna för att genomgå behandling (operation, strålning eller hormonbehandling), sedan monitoreringen upptäckte att tumören växte. Bara fyra män avbröt den aktiva monitoreringen med hänvisning till att de upplevde den som orosfylld.

För män med mellan- eller högrisktumörer var aktiv monitorering mer riskfyllt. Män med mellan- eller högrisktumörer löpte en fyra gånger högre risk att utveckla en obotbar cancer och/eller avlida till följd av sin cancer, jämfört med de män som hade lågrisktumörer. (Källa: Sahlgrenska akademien)



4

Kontaktsjuksköterskor delar på årets Lungcancerstipendium

Kontaktsjuksköterskorna **Maria Rahl** på lungkliniken vid Södra Älvsborgs sjukhus i Borås och **Margareta Wickman** på patienthotellet Björken i Umeå delar på årets Lungcancerstipendium för sitt arbete med cancerpatienter och deras anhöriga.



Juryn skriver i sin motivering för Maria Rahl:

"Patienter och anhöriga berömmar ständigt Maria för hennes goda bemötande och beskriver hur de känner sig trygga och hjälpta av hennes engagemang. Maria har med enkla medel, ett gott bemötande och ett helhjärtat engagemang gjort livet bättre för dem som drabbats av lungcancer i Borås med omnejd."

Maria Rahl träffar patienter med lungcancer under cytostatikabehandlingen och följer dem sedan under hela behandlingen. Kontaktsjuksköterskor fungerar som samordnare och stöd.

– Många känner en trygghet i att ha en fast person som följer dem hela tiden. De slipper att berätta sin historia om igen, vi vet vilka de är och var de befinner sig i sjukdomen, konstaterar Maria Rahl.



Juryn skriver i sin motivering för Margareta Wickman:

"Margareta Wickman är en hängiven kontaktsjuksköterska med stort kunnande och erfarenhet. Hon visar empati, respekt och förståelse för den livskris som patienter och deras anhöriga hamnat i och hon möter var och en av dem i deras unika situation."

– Det finns en stor skuld kopplat till lungcancer och att vara eller ha varit rökare, men vi skuldbelägger ingen. Nu är det som det är och vi fokuserar i stället på det positiva som finns i dag tack vare nya bra behandlingar, säger Margareta Wickman, som tillhör onkologiska kliniken vid Norrlands universitetssjukhus, Umeå.

Lungcancerstipendiet delas ut för att bland annat uppmärksamma insatser som har gjort livet bättre för de som drabbas av lungcancer. Priset på 50 000 kronor delas mellan de båda och ska användas för fortbildning inom lungcancer. Stipendiet delas ut i samarbete mellan Lungcancerförbundet Stödet och läkemedelsföretaget Roche. (Källa: Roche)

Över 400 miljoner till svensk cancerforskning

Cancerfonden avsätter för första gången mer än 400 miljoner till svensk cancerforskningen. Det är en ökning med nio miljoner sedan föregående år.

Den 6 november tog Cancerfondens forskningsnämnd beslut om vilka forskningsprojekt och forskare som får anslag år 2013. Nästa år går närmare 129 miljoner kronor till nya forskningsprojekt men merparten av forskningsprojektet löper över tre år.

I år ökar forskningsmedel till translationell forskning från 22 till 29 procent, viktig forskning som överbryggar mellan grundforskning och klinisk forskning. Forskningsmedlen för 2013 fördelas som följer:

53,7 procent till grundforskning – forskning som har betydelse för cancerens grundläggande mekanismer, 28,8 procent till translationell forskning, 7,9 procent till klinisk forskning – forskning på patienter, 3,42 procent till vårdforskning – forskning om bland annat prevention, vård och rehabilitering och 6,1 procent till epidemiologisk forskning – forskning kring sjukdomsorsaker och riskfaktorer

– Nivån på cancerforskningen i Sverige är hög och vi ser många spännande framsteg. Till exempel har ett forskarteam på KI nu kunnat avlägsna en slags genetisk strömbrytare för en starkt cancerassocierad gen. Förhoppningen är att man i framtiden ska kunna hjälpa personer med förhöjd risk för till exempel tarm- och prostatacancer med hjälp av denna kunskap. Vi är stolta över att ha bidragit med finansiering till denna forskning, säger **Bengt Westermark**. (Källa: Cancerfonden)

Ny upptäckt hejdar tillväxt av leukemiceller

Leukemi, blodcancer, yttrar sig i en ohämmad tillväxt av vita blodkroppar på bekostnad av bland annat röda blodkroppar. Forskare vid Linköpings universitet, under ledning av professor **Anders Rosén**, har studerat kronisk lymfatisk leukemi (KLL) och har upptäckt en ny möjlighet att blockera tillväxten och därmed på sikt hejda cancerutvecklingen.

I en artikel i tidskriften "Antioxidant and Redox Signaling" beskriver de en hittills okänd mekanism som reglerar signalmolekylen TNF, vilken normalt bidrar till celldöd men vid KLL i stället stimulerar tillväxten av leukemiceller. TNF verkar genom att binda till två olika receptorer som är flexibla till sin tredimensionella biokemiska arkitektur.

Forskargruppen upptäckte att TNF-receptorerna på cellytan har två enzym, som i vanliga fall fungerar som antioxidant, tätt bundna till sig. Det visade sig att dessa två enzym förekom i stor mängd på leukemiceller, men endast i väldigt låg nivå hos normala celler. Genom att sätta in substanser som blockerar enzymaktiviteten gick det att stoppa den ökande tillväxten av sjuka celler.

Fynden kan få en framtida betydelse för hur man designar ny behandling av leukemi och andra sjukliga tillstånd som beror på en förhöjd utsöndring av TNF. (Källa: Linköpings universitet)

5



Tillägg av bevacizumab vid svår hjärntumör förbättrar överlevnad

Risken att ett glioblastom försämras eller leder till dödsfall minskar med 36 procent om Avastin (bevacizumab) läggs till dagens standardbehandling i form av strål- och cellgiftsbehandling jämfört med strål- och cellgiftsbehandling tillsammans med placebo. Avastin är den första moderna anti-kroppsbehandlingen som i en stor fas III-studie visar en tydlig förbättring som tillägg till dagens standardbehandling. Detta innebär ett stort framsteg i forskningen för en svårt sjuk patientgrupp.

Resultaten kommer från fas III-studien Avaglio som nyligen presenterades på Society for Neuro-Oncology i Washington.

Patienterna som behandlats med Avastin i tillägg till dagens standardbehandling uppvisade en förlängd progressionsfri överlevnad (den tid patienten lever utan att tumören växer) på 4,4 månader jämfört med kontrollgruppen. När en hjärntumör växer sker vanligen en försämring av patientens symtom vilket exempelvis kan yttra sig i form av huvudvärk, problem med motoriken eller talet beroende på var i hjärnan tumören sitter. Att förlänga den progressionsfria överlevnaden har därför stor betydelse för patientens välbefinnande.

– Patienter som diagnostiseras med glioblastom har i dag få behandlingsalternativ och forskning för att utveckla nya terapimöjligheter för denna patientgrupp är av yttersta vikt, säger **Linda Ihrlund**, medicinsk terapiområdeschef, Roche.

– Avagliostudien är den första fas III-studien som nått sitt primära effektmått vid nydiagnostiserade glioblastom sedan 2005, då dagens standardbehandling etablerades. Särskilt viktigt är att man visat att den signifikant förlängda progressionsfria överlevnaden är kopplad till att patienterna under denna tid i högre grad kan bibehålla sin livskvalitet och förmåga att klara av vardagslivet.

De preliminära resultaten för total överlevnad (OS), studiens andra primära effektmått, uppnådde inte statistisk signifikans i denna analys. Studien har ännu inte uppnått tillräckligt många fall för en slutlig utvärdering, dessa data förväntas komma under 2013. (Källa: Roche)

Hur mycket kostar en anhörig?

Många anhöriga vårdar själva sina närstående vilket ger en minskad kostnad för samhället. Om professionell vård- och omsorgspersonal skulle ha utfört stöd och vård i stället hade kostnaden varit drygt 260 000 kronor per patient under ett år. Att vårda kan samtidigt vara en börda och belasta anhöriga. Sjukligheten ökade hos de anhöriga ett år efter cancerdiagnosen i jämförelse med ett år innan. Detta visar **Catarina Sjölander** i en doktorsavhandling vid Hälsohögskolan i Jönköping.

I Jönköpings län insjuknar varje år cirka 200 personer med cancer i lunga eller övre magtarmkanalen. Många av dessa patienter har en nära anhörig som vårdar dem och alltmer av vården och den medicinska behandlingen sker i patientens hem. Det övergripande syftet med Catarina Sjölanders avhandling var att undersöka konsekvenserna av att vara anhörig till personer med cancer i lunga eller övre magtarmkanalen. De anhörigas hälsa, hälsorelaterade livskvalitet, vårdkonsumtion och tillhörande kostnader undersöktes.

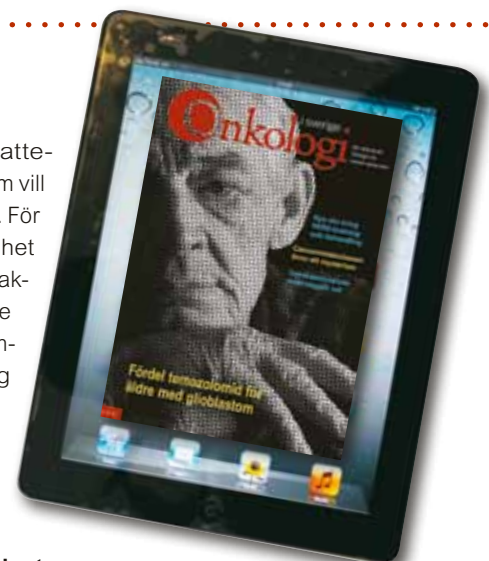
Att leva tillsammans med en person med cancer innebär både en fysisk och mental påfrestning i vardagen och anhöriga som ger vård till personer med cancer försöker hantera sin svåra situation på olika sätt.

– Anhöriga bör erbjudas stöd i ett tidigt skede efter cancerdiagnosen för att minska deras psykiska och fysiska lidande. De anhöriga tar ledigt eller ändrar arbetstider och planerar för att underlätta vardagen som kretsar runt sjukdomen. De anhöriga vill finnas tillgängliga när som helst på dygnet, säger Catarina Sjölander.

Trots strategier för att hantera situationen utvecklar anhöriga en ökad risk för sjuklighet med ökad vårdkonsumtion som följd. Ett år efter cancerdiagnosen ökade antalet läkarbesök liksom antalet muskuloskeletala och psykiska diagnoser. (Källa: Hälsohögskolan Jönköping)

Vill du ha Onkologi i Sverige elektroniskt?

Vi utvecklar nu en läsplatteanpassad tidning för dig som vill kunna läsa OIS på t ex iPad. För att ta del av denna möjlighet ber vi dig mejla oss på: redaktionen@pharma-industry.se Skriv Onkologi i Sverige i ämnesraden så lägger vi in dig som prenumerant.



redaktionen@pharma-industry.se

6



NORDISKA HJÄRNTUMÖRGRUPPEN

Fördel temozolomid för äldre med glioblastom



"Temozolomid är ett alternativ till strålbehandling hos äldre med glioblastom."

"För första gången visades att MGMT-metyleringsstatus kan användas som en prediktiv markör för terapival hos äldre med glioblastom."

Allt fler äldre diagnostiseras med glioblastom. Samtidigt har tydliga behandlingsrekommendationer saknats. Nu har en studie i den nordiska samarbetsgruppen NCBSG:s regi funnit en fördel för temozolomid gentemot strålbehandling. Gruppen har också för första gången visat att MGMT-metyleringsstatus kan användas som en prediktiv markör för terapival hos äldre med glioblastom. Här presenterar överläkare **Annika Malmström**, Linköping de senaste studieresultaten.

Till följd av det ökande antalet äldre har intresset för geriatrisk onkologi och därmed också studierna som inriktar sig på denna patientgrupp ökat under senaste decenniet.

År 2000 påbörjades en studie för patienter 60 år eller äldre som diagnostiserats med glioblastom¹. Vid den tiden var det vanligt att inte behandla denna patientgrupp alls, eller att ge en kort fraktionerad strålbehandling, på grund av förväntad kort överlevnad. Få erhöll den tidens standardbehandling, sex veckors strålning till 60 Gy.

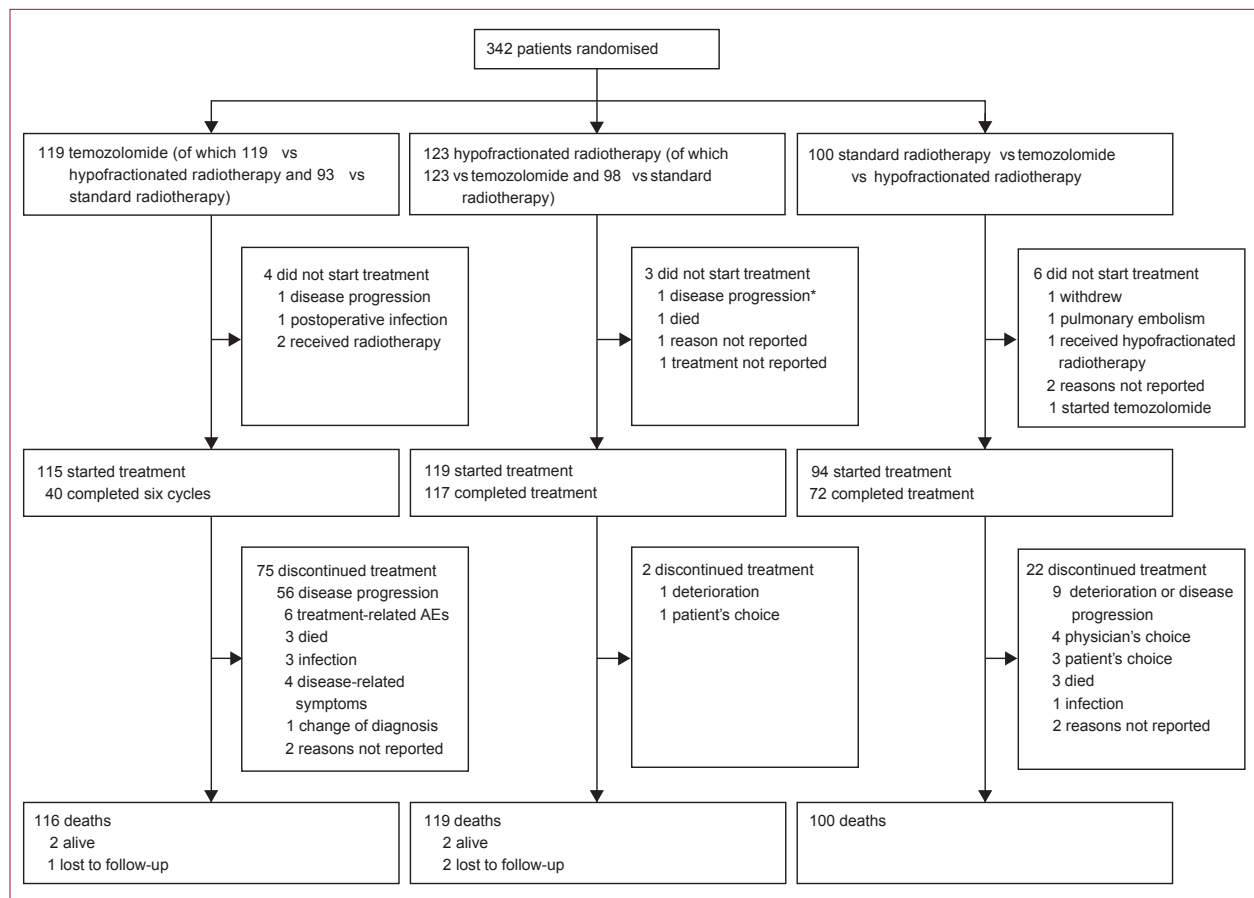
I slutet av 90-talet hade ett nytt cytostatikum kommit i bruk vid recidiv av gliom, temozolomid (TMZ), en alkylare som är besläktad med dakarbazin (DTIC), men som passerar blod-hjärnbarriären. Den hade även fördelen att biverkningarna generellt sett var milda.

NY NORDISK STUDIE

Då ingen randomiserad studie hade utforskat bästa behandling för de äldre med glioblastom initierade den nordiska hjärntumörgruppen NCBSG (nordic clinical brain tumour study group) en studie som randomiserade patienterna mellan standard 60 Gy (RT60) på sex veckor (2 Gy fraktioner x 30) jämfört med hypofraktionerad strålbehandling 34 Gy (RT34) på två veckor (3,4 Gy fraktioner x 10) jämfört med TMZ upp till sex cykler i standard dosering 200 mg/kvadratmeter dag 1–5 var 28:de dag.

Eftersom vissa center aldrig erbjöd standard strålning till äldre patienter, tilläts dessa att enbart randomisera mellan TMZ och RT34. Efterhand anslöt sig även länder utanför Norden, så att center från sammanlagt sju europeiska länder samarbetade kring studien (Sverige, Norge, Danmark, Österrike, Frankrike, Schweiz, Turkiet).

PATIENTFLÖDE NORDISKA HJÄRNTUMÖRGRUPPENS STUDIE



Figur 1. Studiedesign med flödesschema. Förklaringar: AE = oönskad händelse; *Fick temozolomid

Primär effektvariabel var överlevnad, sekundära var livskvalitet och säkerhet.

Inklusionskriterier var PAD-verifierad glioblastom och ålder 60 år eller äldre (från och med rapporteringen av studien med konkomitant och adjuvant temozolomid och strålbehandling 2004 uteslöts patienter yngre än 65 år som bedömdes kunna tolerera kombinationsbehandling)². Även PS 0–2 krävdes, förutom för patienter som enbart på grund av neurologisk deficit bedömdes som PS 3, som också kunde inkluderas.

När studien stängde sommaren 2009 hade sammanlagt 342 patienter inkluderats, varav 291 randomiserade mellan alla tre behandlingsalternativen (RT60 n=100, RT34 n=98, TMZ n=93). Dessa patienter utgör kohorten för jämförelsen mot RT60. För jämförelsen RT34 mot TMZ inkluderades även de som randomiserats enbart mellan dessa två armar (51 patienter + 191 av de 291 som randomiserades mellan tre armar = 242 patienter) (figur 1).

Prognostiska faktorer var jämnt fördelade, förutom att de patienter som randomiserats mellan två armar enbart i snitt var tre år äldre än övriga patienter. Cirka en tredjedel av patienterna hade biopsrats, övriga hade genomgått resektion, antingen partiell eller radikal. För patientkaraktistika se även tabell 1.

Eftergranskning av tumörerna kunde göras i flertalet fall och bekräftade diagnosen glioblastom hos 97 procent av dessa.

FÖRDEL FÖR TEMOZOLOMID

För jämförelsen mellan alla tre behandlingsarmarna visade överlevnadsanalysen en signifikant fördel för TMZ jämfört med standard strålbehandling (median överlevnad 8,3 jämfört med 6,0 månader; HR 0,70; p=0,01), men ingen signifikant skillnad mellan de båda stråldoserna RT34 och RT60 (median överlevnad 7,5 månader för RT34; HR 0,85; p=0,24) (figur 2a). Vid jämförelsen mellan TMZ och RT34 inkluderande patienterna från den tvåarmade randomiseringen (n=242), fann man ingen säker skillnad i överlevnad (8,4 månader jämfört med 7,4; HR 0,82; p=0,12).

När man delade upp patienterna i åldersgrupper 60–70 år eller över 70 år, visade det sig att överlevnaden för den yngre gruppen var lika mellan de tre behandlingsarmarna (figur 2b).

Däremot för de äldre blev nu även RT34 signifikant bättre än RT60 (HR för TMZ jämfört med RT60 0,35; p<0,0001; HR för RT34 jämfört med RT60 0,59; p=0,02) (figur 2c).

Generellt påvisades förväntade bieffekter för hjärntumörpatienter, oberoende av behandlingsarm, som trötthet, epilepsi och tromboembolisk sjukdom. Specifikt för TMZ var

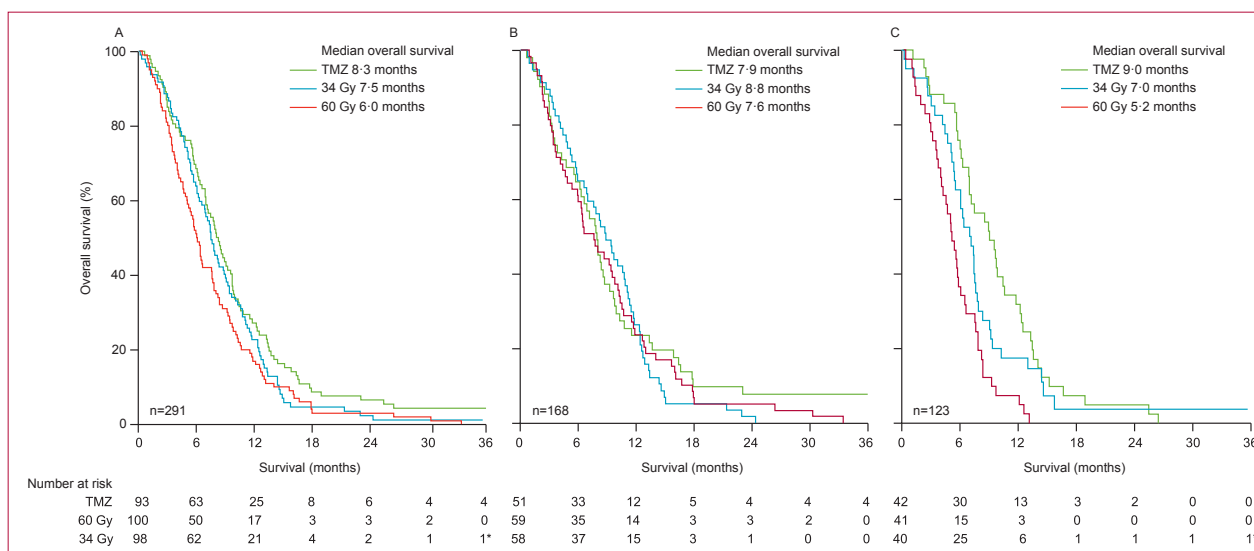
PATIENTKARAKTERISTIKA NORDISKA HJÄRNTUMÖRGRUPPENS STUDIE

	Temozolomide (n=93)			Hypofractionated radiotherapy (n=98)			Standard radiotherapy (n=100)		
	All	60–70 years (n=51)	>70 years (n=42)	All	60–70 years (n=58)	>70 years (n=40)	All	60–70 years (n=59)	>70 years (n=41)
Sex									
Male	55 (59%)	32 (63%)	23 (55%)	50 (51%)	28 (48%)	22 (55%)	68 (68%)	39 (66%)	29 (71%)
Female	38 (41%)	19 (37%)	19 (45%)	48 (49%)	30 (52%)	18 (45%)	32 (32%)	20 (34%)	12 (29%)
WHO performance score									
0–1	73 (78%)	40 (78%)	33 (79%)	78 (80%)	48 (83%)	30 (75%)	72 (72%)	42 (71%)	30 (73%)
2–3*	20 (22%)	11 (22%)	9 (21%)	20 (20%)	10 (17%)	10 (25%)	28 (28%)	17 (29%)	11 (27%)
Surgery type									
Biopsy	24 (26%)	10 (20%)	14 (33%)	26 (27%)	13 (22%)	13 (33%)	27 (27%)	12 (20%)	15 (37%)
Resection (partial or complete)	69 (74%)	41 (80%)	28 (67%)	72 (73%)	45 (78%)	27 (67%)	73 (73%)	47 (80%)	26 (63%)
Taking steroids at baseline									
Yes	47 (51%)	24 (47%)	23 (55%)	50 (51%)	27 (47%)	23 (57%)	56 (56%)	32 (54%)	24 (59%)
No	32 (34%)	17 (33%)	15 (36%)	37 (38%)	24 (41%)	13 (33%)	30 (30%)	18 (31%)	12 (29%)
Not reported	14 (15%)	10 (20%)	4 (9%)	11 (11%)	7 (12%)	4 (10%)	14 (14%)	9 (15%)	5 (12%)
Median (range) time from surgery† to start of treatment (days)	26 (11–78)	26 (12–78)	27 (11–60)	40 (14–105)	41 (14–73)	38 (20–105)	46 (14–119)	46 (17–96)	46 (14–119)

*Seven were deemed to have a score of 3 because of neurological deficits. †Where no date of surgery was reported it was substituted with date of diagnosis.

Tabell 1. Basdata och tid till behandling för patienter randomiserade mellan alla tre armarna och uppdelat efter behandling och ålder (n=291).

TOTAL ÖVERLEVNAD NORDISKA HJÄRNTUMÖRGRUPPENS STUDIE



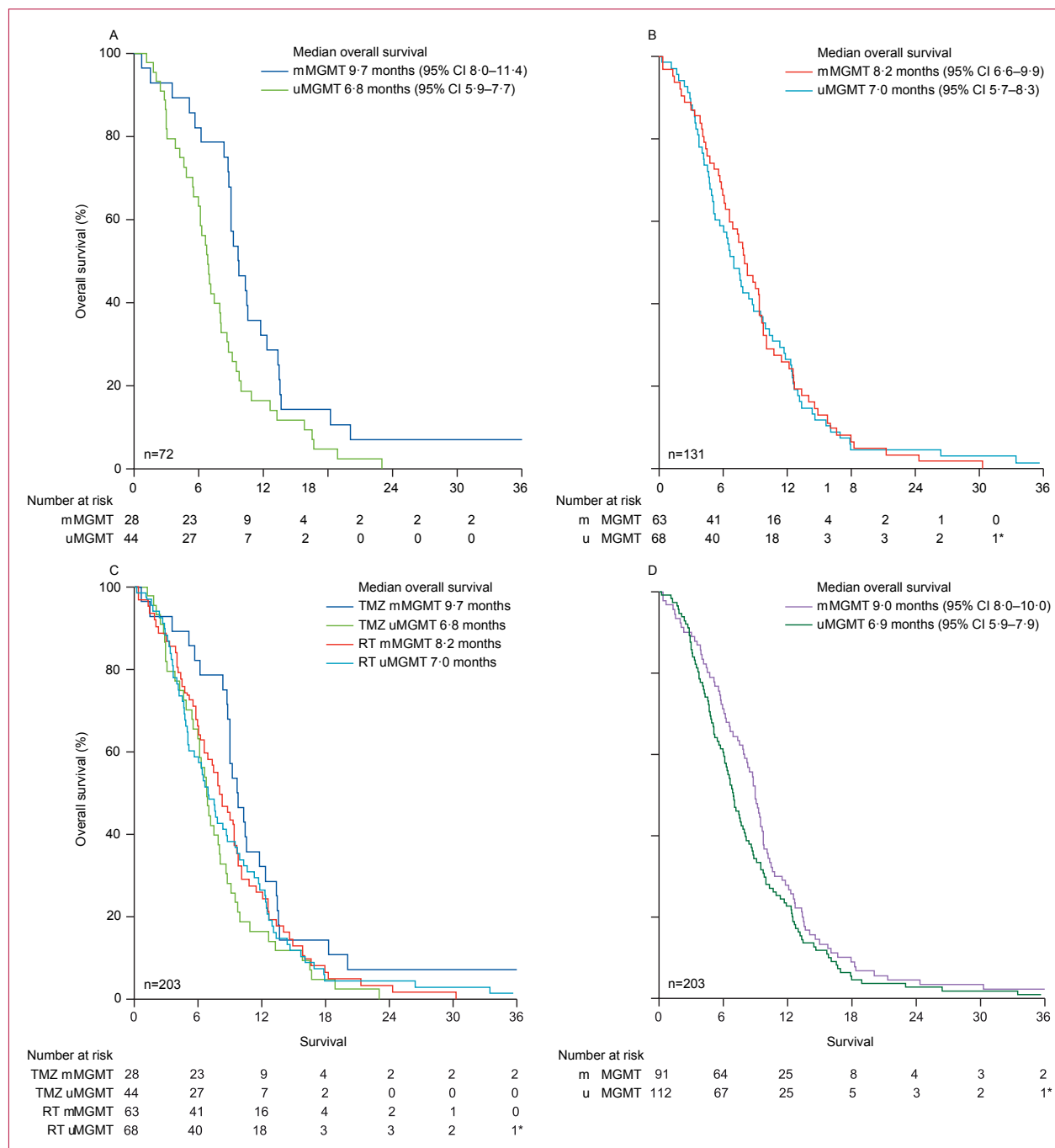
Figur 2. Kaplan-Meier analys av total överlevnad hos patienter randomiserade mellan de tre armarna (n=291)

Förklaringar: A = Alla patienter; B = patienter 60–70 år; C = patienter äldre än 70 år; TMZ = temozolomid; 34 Gy = hypofraktionerad strålbehandling; 60 Gy = standard strålbehandling; *patient som följdes i 35 månader, därefter censurerad.

hematologisk toxicitet och illamående. En patient avled av en neutropen sepsis, men även en patient i RT60 avled av infektion under högdos steroidbehandling. Ytterligare en patient avled postoperativt efter kirurgi för en GI-blödning under grad 2 trombocytopeni i TMZ armen.

MGMT är en DNA-reparationsgen. Om dess promotor är hypermetylerad inaktiveras genen och någon DNA-reparation kommer inte att ske. Tidigare studier med framförallt kombinationsbehandling TMZ och strålning har talat för att tillägget av behandling med alkylare leder till ökad effekt.

TOTAL ÖVERLEVNAD EFTER METYLERINGSSTATUS AV MGMT-PROMOTOR



Figur 3. Kaplan-Meier analys av total överlevnad hos patienter som testats för MGMT-promotorns metyleringsstatus. Hypofraktionerad och standard strålbehandling i gemensam analys.

Förklaringar: A = mMGMT jämfört med uMGMT i temozolomidgruppen; B = mMGMT jämfört med uMGMT hos den kombinerade strålbehandlingsgruppen; C = Jämförelse mellan A och B; D = Jämförelse mellan mMGMT och uMGMT oavsett behandling; mMGMT = metylerad MGMT-promotor; uMGMT = ometylerad MGMT-promotor; TMZ = temozolomid; RT = strålbehandling OS = total överlevnad; *patient som uteslöts vid 35 månader;

Detta skulle bero på att tumörceller som skadats av TMZ inte repareras utan går i apoptos. Är *MGMT*-genen däremot aktiv, repareras DNA-skadorna och tumörcellen är på detta sätt resistent mot behandlingen.

I vår studie kunde metyleringsstatus av *MGMT*-promotorn fastställas i 203 fall, och den var hypermetylerad i 91 och icke-metylerad i 112 av tumörerna. Då effekten av metyle-

ningsstatus borde vara beroende av behandlingsmodalitet, jämförde vi TMZ-behandlade patienter mot strålbehandlade, oberoende av given fraktionering.

Vi fann då att patienter med hypermetylerade tumörer som fick TMZ hade den bästa överlevnaden. Sämst verkade det gå för de med icke-metylerade tumörer som erhållit TMZ, även om denna grupp inte statistiskt skiljde sig från strålpatienterna

(median överlevnad 9,7 jämfört med 6,8 månader; HR 0,56; $p=0,02$). För de som strålbehandlades verkade inte metyleringsstatus vara av betydelse (HR 0,97; $p=0,81$) (figur 3a-d).

LIVSKVALITETEN SÄRSKILT VIKTIG

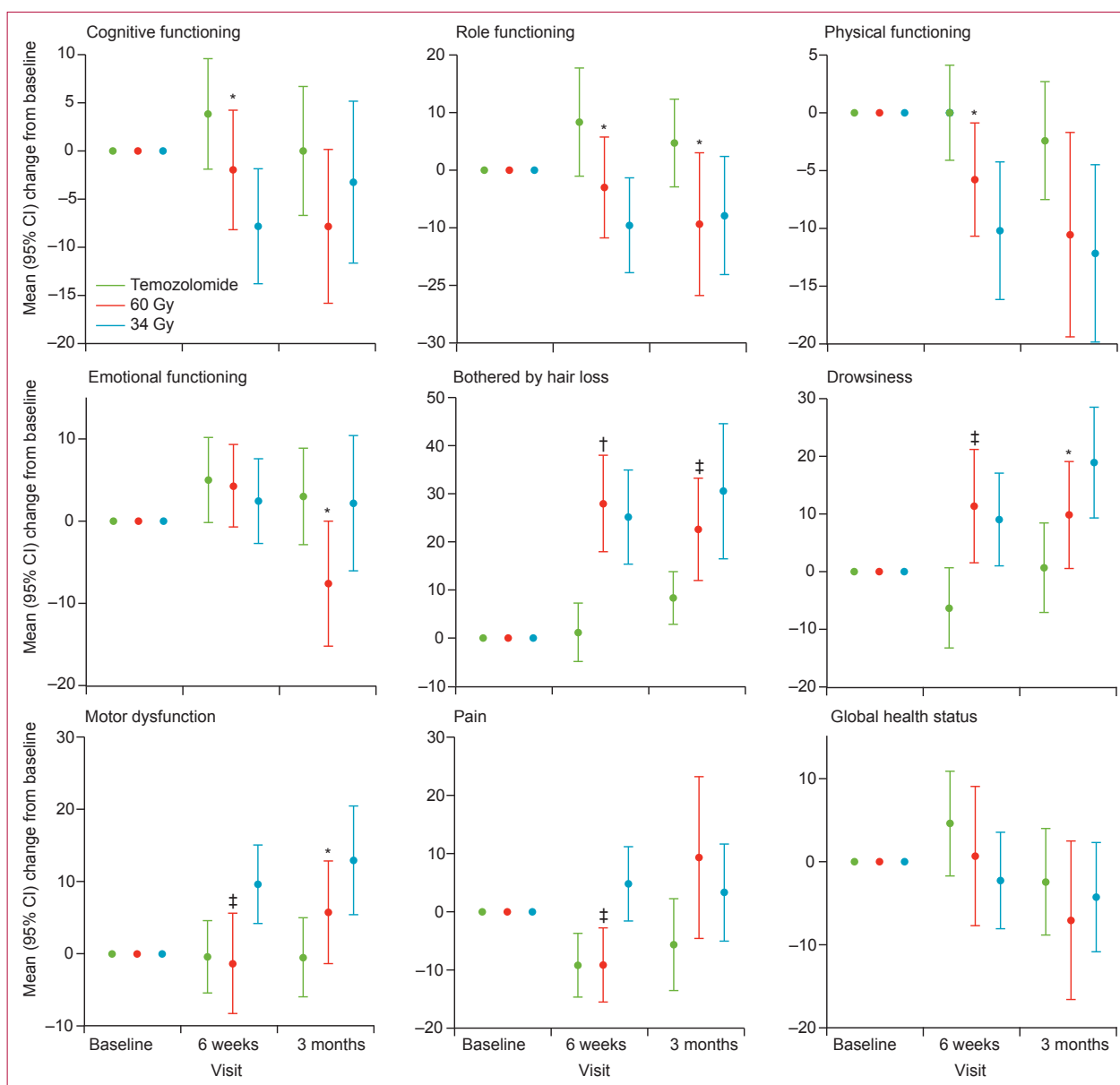
För denna äldre patientgrupp med glioblastom och därför förväntad begränsad överlevnad kommer livskvaliteten under den återstående livstiden att vara speciellt viktig. Detta var därför en viktig fråga för studien. För undersökning av livskvalitet användes EORTC:s QLQ-30 med hjärntumörmodulen. Ett basvärde kunde samlas in från 83 procent av patienterna, medan det vid uppföljningen efter sex veckors behandling bara var 59 procent som besvarade frågorna. Vid tre månader hade andelen sjunkit ytterligare till 44 procent. Trots detta kunde intressanta skillnader påvisas mellan behand-

lingsarmarna, där TMZ generellt ledde till bäst livskvalitet när man tittade på enskilda domäner. Rapporterad övergripande livskvalitet däremot skilde sig inte åt mellan grupperna. Figur 4 redovisar domäner där signifikanta skillnader uppstod mellan grupperna under behandlingstiden.

Medan vår studie pågick publicerades data från ytterligare två randomiserade studier på äldre glioblastom patienter. Den första från Kanada jämförde konventionell strålbehandling 60 Gy mot 40 Gy givet på tre veckor. Denna kunde inte påvisa någon skillnad i överlevnad mellan behandlingsarmarna³.

En fransk studie jämförde 50 Gy i 28 fraktioner mot bästa understödande vård (best supportive care). Studien avbröts sedan en interimanalys påvisat en statistiskt signifikant tre månaders överlevnadsskillnad till förmån för strålbehandling (median överlevnad 4 månader mot 7 månader)⁴.

LIVSKVALITETSANALYS NORDISKA HJÄRNTUMÖRGRUPPENS STUDIE



Figur 4. Livskvalitetsanalys av övergripande hälsostatus, funktionsskalor och symtomskalor där skillnaderna mellan behandlingsgrupperna blev signifikanta, jämfört med utgångsvärdena. Frågorna besvarades av 284 patienter vid studiens början, 192 vid 6 veckor och 132 vid tre månader. Förklaringar: TMZ = temozolomid; 34 Gy = hypofraktionerad strålbehandling; 60 Gy = standard strålbehandling; * $p<0,05$; † $<0,001$; ‡ $<0,01$.

Samtidigt med den nordiska studien har tyskarna genomfört en snarlik studie för äldre med glioblastom kallad NOA-08. I denna randomiserades patienter över 65 år mellan standard strålbehandling till 60 Gy eller TMZ dag 1–7 i en 14 dagars cykel¹. I denna studie samlades även data in på progressionsfri överlevnad. Studien hade som målsättning att visa att singel TMZ inte var sämre än standard strålbehandling, vilket man också lyckades visa. Detta trots betydande problem med toxicitet med den valda cytostatikaregimen.

Vad man också fann var en tydlig och statistiskt säkerställd skillnad mellan progressionsfri överlevnad mellan de fyra olika grupperna TMZ-behandlad och metylerad *MGMT*, TMZ-behandlad och icke-metylerad *MGMT*, samt strålbehandlade med metylerad *MGMT* och strålbehandlade med icke-metylerad *MGMT*. Skillnaderna minskade när man titrade på total överlevnad liksom i vår studie, sannolikt beroende på att en del patienter hade korsat över till alternativ behandling.

SLUTSATSER

De nordiska och tyska äldrestudierna fastslog att TMZ är ett alternativ till strålbehandling hos äldre med glioblastom. Vår studie visade dessutom att konventionell strålbehandling under sex veckor är sämre än hypofraktionerad strålbehandling under två veckor för de äldsta (över 70 år).

För första gången visades också att *MGMT*-metyleringsstatus kan användas som en prediktiv markör för terapival hos denna patientgrupp, så att de med hypermetylerat *MGMT* kan erbjudas TMZ medan de som saknar detta bör rekommenderas strålbehandling.

På EANO:s (europeiska neuro-onkologigruppen) konferens i september rekommenderades att man ska införa undersökning av *MGMT*-status i tumörerna hos de äldre med glioblastom för att underlätta terapirekommendationen.

En pågående internationell studie som jämför strålbehandling 40 Gy given under tre veckor med samma strålning med konkomitant och adjuvant TMZ hos patienter över 65 år med glioblastom kommer att bidra med kunskap avseende effekter och bieffekter av denna intensifierade behandling i denna åldersgrupp⁶. Även här kommer *MGMT*-metyleringsstatus att undersökas.

Framöver torde en studie på äldre med glioblastom att behöva fokusera på att jämföra TMZ ensamt mot TMZ tillsammans med strålbehandling för de med tumörer med hypermetylerat *MGMT*.

REFERENSER

1. Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, Stupp R, Frappaz D, Schultz H, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *The lancet oncology*. 2012; 13(9): 916-26.
2. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2005; 352(10): 987-96.
3. Roa W, Brasher PM, Bauman G, Anthes M, Bruera E, Chan A, et al. Abbreviated course of radiation therapy in older patients with glioblastoma multiforme: a prospective randomized clinical trial. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004; 22(9): 1583-8.
4. Keime-Guibert F, Chinot O, Taillandier L, Cartalat-Carel S, Frenay M, Kantor G, et al. Radiotherapy for glioblastoma in the elderly. *The New England journal of medicine*. 2007; 356(15): 1527-35.
5. Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *The lancet oncology*. 2012; 13(7): 707-15.
6. Laperriere N, Weller M, Stupp R, Perry JR, Brandes AA, Wick W, et al. Optimal management of elderly patients with glioblastoma. *Cancer treatment reviews*. 2012.



ANNIKA MALMSTRÖM, ÖVERLÄKARE, LINKÖPINGS AVANCERADE HEMSJUKVÅRD
ANNIKA.MALMSTROM@LIO.SE



7



**”Epilepsi är ett vanligt
symtom hos patienter
med hjärntumörer, både
tidigt under sjukdoms-
förloppet och i senare
fas.”**

16:e EFNS-kongressen, Stockholm 8–11 september 2012

NEUROONKOLOGISKA brännpunkter vid EFNS

Den europeiska sammanslutningen av neurologföreningar, EFNS, genomförde i september en internationell kongress i Älvsjömassan, Stockholm. EFNS byggs upp av 25 vetenskapliga paneler för de neurologiska diagnoserna. Här refererar professor **Anja Smits**, Institutionen för neurovetenskap Neurologi vid Akademiska sjukhuset, Uppsala från den neuroonkologiska temaserien under en av dagarna, där hon själv föreläste om epilepsi och hjärntumörer.

Intresset för EFNS-kongressen i Stockholm var mycket stort med 5 400 registrerade deltagare. Från Sverige deltog mer än 300 personer, varför den svenska gruppen var bland de fem största nationsgrupperna med Tyskland i spetsen. Att mötet inte bara är en europeisk angelägenhet, utan en internationell händelse som tilldragit sig globalt intresse, visas av att det var deltagare från 105 länder!

EPILEPSI OCH HJÄRNTUMÖRER

- På tisdagen gavs temaserien "Hot-Spots in Neuro-Oncology", där undertecknad höll en föreläsning med titeln "Epilepsi och hjärntumörer". Epilepsi är ett vanligt symtom hos patienter med hjärntumörer, både tidigt under sjukdomsförloppet och i senare fas. Risken att få anfall är korrelerad till tumörens lokalisering och tillväxt. Tumörer som är kortikalt belägna i frontal- och eller temporalloben är förknippade med största anfallsrisken. Anfallsrisken är störst hos patienter med långsamt växande tumörer. Epileptiska anfall förekommer till exempel hos 70–90 procent av alla patienter med lågmalignt gliom (gliom med malignitetsgrad II enligt WHO klassifikation) som debutsymtom men hos endast 30–40 procent av patienter med högmaligna gliom (grad III och IV).

God anfallskontroll med antiepileptika (AED) uppnås hos knappt 50 procent av alla patienter med lågmalignt gliom före operation. God anfallskontroll före operation hos dessa patienter är förknippad med längre överlevnad. Av alla pa-

tienter som fortsätter att ha anfall trots optimal AED-behandling blir upp till hälften anfallsfria efter tumörresektion.

Gynnsamma prognostiska faktorer för anfallsfrihet efter operation är kort duration av anfall (under 1 år) och stor resektion, alltså i likhet med övriga epilepsi-kirurgipatienter. Anfallsstarten hos patienter med lågmalignt gliom tros ligga i direkt anslutning till tumören, den peritumoral cortex, men oftast inte i själva tumörcellerna.

Det saknas randomiserade kontrollerade studier om vilka AED som är mest effektiva för patienter med tumörrelaterad epilepsi. Ett antal mindre studier där man jämfört de nya andra generationens AED med gamla preparat (som karbamazepin och fenantoin) talar för att flera nya AED är lika effektiva och ger mindre biverkningar. Framförallt uppvisar nya AED mindre interaktioner med andra läkemedel (såsom cytostatika och kortison) och ger färre negativa biverkningar på kognitionen.

För patienter med lågmaligna gliom och terapieresistenta anfall efter operation kan man överväga cytostatikabehandling i syfte att förbättra anfallssituationen. Det finns några studier som talar för gynnsam effekt av cytostatika (temozolomid men även kombinationen prokarbazin, CCNU och vinkristin – PCV) på anfallskontroll hos dessa patienter. Även strålbehandling har visat sig kunna medföra en förbättrad anfallssituation hos lågmaligna gliom.

DIAGNOSTISKA FALLGROPAR

• Professor **Riccardo Soffietti**, Institutionen för neurologi, Turins universitet, Italien, presenterade under titeln "Diagnostiska fallgröpar och neuroradiologins roll" flera patientfall där det funnits differentialdiagnostiska svårigheter, som hjärnabscess, glioblastom, CNS-lymfom, neuro-Behçet, aggressiv MS med stora kontrastuppladdande lesioner, metastaser med hög blödningsbenägenhet som misstolkats som hemorragisk stroke (malignt melanom, njurcancer) och gliomatosis cerebri.

En ovanlig men viktig sjukdom som man måste känna till är intravaskulärt lymfom som i typiska fall ger multipla högsignalerande vitsubstansförändringar på FLAIR och som inte behöver ha den typiska lokaliseringen som övriga CNS-lymfom i närheten av ventriklarna.

Kliniskt uppvisar patienterna i regel en progredierande demens men det kan också finnas mer specifika symtom som fluktuerande psykiska symtom och trötthet. Systemengagemang utanför CNS leder ofta till symtom som feber, hudutslag, hosta, och gör det lättare att misstänka lymfomsjukdom. Histopatologiskt finns det en typisk infiltration av (B-cell) lymfocyter i hjärnans små blodkärl hos patienter med intravaskulärt lymfom utan några tecken till extravaskulär spridning.

Modern och mer aggressiv behandling av glioblastom har lett till nya differentialdiagnostiska problem:

Pseudoprogress

Syftar på förekomsten av ökad kontrastuppladdning på CT/MRI på grund av nyttillkommen blodhjärnbarriärskada efter strålbehandling plus konkomittant temozolomid och efterföljande adjuvant temozolomidbehandling hos patienter med glioblastom. Denna pseudoprogress finns hos 20–30 procent av alla patienter och kan uppträda redan cirka en månad efter avslutad strålbehandling. Toxiciteten av strålbehandlingen i kombination med temozolomid tycks ligga bakom blodhjärnbarriärskadan, som i regel är övergående och inte motiverar att avbryta temozolomidbehandlingen. Patienterna måste dock följas noggrant och vid fortsatt försämring måste tumörprogress misstänkas.

Pseudorespons

Syftar på bilden av radiologisk regress hos patienter med högmalignt gliom efter behandling med bevacizumab, en angiogeneshämmare. I själva verket kan det hos vissa patienter endast röra sig om en antiödemeffekt av bevacizumab utan någon säker tumörregress. Bevacizumab har förutom en hämmande effekt på nybildning av blodkärl i tumören också en stark reducerande effekt på tumörsakad ödem, precis som kortikosteroider. Bevacizumab är registrerad i USA för behandling av glioblastom med tumörrecidiv efter strålbehandling och temozolomid. Det pågår för närvarande fas III-studier av bevacizumab för patienter med nydiagnostiserat glioblastom.

BIOMARKÖRER VID MALIGN GLIOM

• Professor **Micael Weller**, Institutionen för neurologi, Zürich universitetssjukhus, Schweiz föreläste under rubriken "Nya behandlingsmöjligheter för maligna gliom". Moleky-

lära biomarkörer för terapikänslighet och för prognos har fått en tydlig roll i diagnostik och behandling av hjärntumörer. Några exempel är:

Metylering av MGMT-promotor. MGMT är ett DNA-reparationsenzym och metyleringen av genpromotor i tumörcellerna är förknippad med bättre respons på temozolomid (genen inaktiveras genom metylering och förhindrar därmed tumörcellerna att reparera den DNA-skada som uppstår efter temozolomidbehandling).

Förlust av kromosom 1p/ kromosom 19q (LOH 1p/19q). Förekommer främst hos oligodendrogliom och är en markör för prognos och för terapikänslighet. Patienter med oligodendrogliom som är LOH 1p/19q-positiva svarar bättre på kemoterapi och har längre överlevnad. Denna analys görs nu på de flesta neuropatologiska laboratorier i Sverige.

IDH1- och IDH2-mutationer. Dessa förekommer nästan uteslutande i lågmaligna gliom och i så kallade sekundära högmaligna (som har omvandlats från lågmaligna gliom till högmaligna gliom), och kan därmed ge viktig diagnostisk information.

Behandlingen av patienter med glioblastom, den mest aggressiva formen av högmaligna gliom, består av strålbehandling med samtidig temozolomid (75 mg/kvadratmeter) efterföljd av enbart temozolomid (150–200 mg/kvadratmeter och dag under 5 dagar varje månad under sammanlagt 6 månader). Denna behandling kan medföra en betydande toxicitet, framförallt för äldre patienter. Ett antal studier har publicerats där man studerat alternativa behandlingsformer för patienter med glioblastom.

I en nordisk studie med Annika Malmström, Linköping, som huvudförfattare har patienter i åldern sextio år eller äldre randomiserats enligt: strålbehandling (RT) i standarddos 60 Gy (6 veckor), strålbehandling i dos 34 Gy fördelad över 10 fraktioner (2 veckor), och endast temozolomid i sex kurer. Överlevnaden skilde sig inte mellan de tre grupperna, men för patienter över 70 år var både strålbehandling i dos 34 Gy och endast temozolomid bättre än standardbehandling (se artikel sid 14).

Metylering av MGMT-promotor var en signifikant prediktor för respons på temozolomid, vilket talar för att denna analys är vägledande för att välja rätt behandling för äldre patienter med glioblastom (alltså temozolomid för patienter över 70 år med metylerad MGMT promotor, kort strålbehandling motsvarande 34Gy i 10 fraktioner för patienter över 70 år med icke-metylerad MGMT-promotor).

PARANEOPLASTISKA SYNDROM

• Professor **Wolfgang Grisold**, Institutionen för neurologi, Kaiser-Franz-Josef-sjukhuset, Wien, Österrike, höll en presentation under rubriken "Diagnostik av paraneoplastiska syndrom".

Limbisk encefalit är en klassisk form av paraneoplastiskt syndrom som man nu vet kan orsakas av olika autoantikroppar. Klassiska onkoneuronala antikroppar som Hu, Yo, Ri är riktade mot intracellulära antigen. Under senare år har man

även identifierat antikroppar hos patienter med encefalit som är riktade mot ytantigen som NMDA, AMPA och GABA(B)-receptor.

Ett flertal olika syndrom med en blandning av neurologiska, psykiatriska och generella symtom har beskrivits hos dessa patienter, där vissa men långt ifrån alla har en tumörsjukdom. Bland annat nämndes nattlig hypoventilation som ett svårdiagnostiserat symtom som förekommer hos patienter med anti-NMDA-receptorencefalit.

Den 16:e EFNS-kongressen i Stockholm var den hittills största men också den sista i nuvarande form. En omorganisation av det internationella neurologisamarbetet planeras eftersom området växer. EFNS kommer att slås ihop med den mindre organisationen ENS (European neurological society) och bilda EAN – European academy of neurology.

"Molekylära biomarkörer för terapikänslighet och för prognos har fått en tydlig roll i diagnostik och behandling av hjärntumörer."

ANJA SMITS, PROFESSOR, INSTITUTIONEN FÖR NEUROVETENSKAP NEUROLOGI, AKADEMISKA SJUKHUSET, UPPSALA
ANJA.SMITS@NEURO.UU.SE



Vectibix®
(panitumumab)

Behandling av spridd kolorektalcancer:
**I KOMBINATION MED KEMOTERAPI
I FÖRSTA OCH ANDRA LINJEN
OCH SOM MONOTERAPI***

*** Vectibix® (panitumumab) R, EF**

Indikation: Vectibix är indicerat som behandling av patienter med metastaserande kolorektalcancer (mCRC) med vildtyp KRAS:

- i första linjens behandling i kombination med FOLFOX.
- i andra linjens behandling i kombination med FOLFIRI för patienter som har fått fluoropyrimidinbaserad kemoterapi (exklusive irinotekan) som första linjens behandling.
- som monoterapi efter behandlingssvikt med kemoterapiregimer innehållande fluoropyrimidin, oxaliplatin och irinotekan.

Koncentrat till infusionsvätska, lösning 20mg/ml. Injektionsflaska.

Datum för översyn av produktresumén: 06/2012.

För fullständig information vid förskrivning, produktresumé och aktuella priser, se www.fass.se, ATC-kod L01XC08

PMO-SWE-AMG-465-2012- November-P

AMGEN®

Oncology

Gustav III:s Boulevard 54, 169 27 Solna, 08-695 11 00
www.amgen.se

5:E HER2 STATE OF THE
ART-SYMPOSIUM, 24 OKTOBER 2012

NYA RÖN KRING HER2-TESTNING OCH BEHANDLING

I slutet av oktober samlades ett 80-tal forskare och kliniker från hela Norden för det femte nordiska HER2 State of the Art-symposiet på Nordic Light Hotel i Stockholm. Under dagen presenterade forskare från hela världen nya rön kring behandling, testning och biologi vid HER2-positiv bröstcancer, bland annat hur kombinationsbehandlingar kan optimera behandling och ett nytt sätt att administrera trastuzumab.

HER2 State of the Art är ett årligt återkommande symposium där forskare och kliniskt verksamma onkologer, patologer och kirurger träffas för att uppdatera sig på nyheter inom området. Dagen delades in i två delar där förmiddagen ägnades åt framsteg inom grundforskningen och eftermiddagens föreläsare beskrev nya rön inom den kliniska behandlingen av patienter med en HER2-positiv diagnos.

- Dagen inleddes av **Mitch Dowsett**, professor i biokemisk endokrinologi verksam vid Royal Marsden Hospital i London, som beskrev kunskapsläget kring resistens vid HER2-positiv sjukdom. En sökning på PubMed med termen "trastuzumab resistance" ger drygt 700 träffar och fler än 250 reviews. Det borde därmed finnas goda kunskaper på området, men Mitch Dowsett påpekade att flertalet studier var utförda i mus- eller råttmodeller och att det fortfarande var oklart hur mycket av detta som hade klinisk relevans.

HER2-receptorn ingår i familjen EGFR (epidermal tillväxtfaktorreceptor) och hittills har tre systerreceptorer identifierats (HER1-4). Deras funktion är att binda olika ligander på cellytan och därmed stimulera tillväxt av cellen och hämma celldöd. Samtliga HER-receptorer kan heterodimerisera med varandra och därmed skapa en intracellulär signal. HER2 skiljer sig från de andra genom att den saknar en känd ligand och att den vid ett överytryck kan homodimerisera. Detta självstimulerande beteende är en viktig del i dess cancerframkallande förmåga.

Mitch Dowsett ville besvara ett antal frågor kring om och hur HER2:s beteende i en viss tumör påverkade effekten av den HER2-riktade antikroppen trastuzumab (Herceptin). I en studie som publicerats i *Journal of Clinical Oncology* 2009 visade han att varken patientens FISH-kvot eller antal kopior av HER2-genen påverkar prognos eller resultat av Herceptin-behandling.



Mitch Dowsett



HER2
- STATE
OF
THE
ART



Anikó Kovács

– Men antikroppen binder ju till receptorn, inte till dess gen, påpekade Mitch Dowsett och visade en studie av Zabaglo som visade att intensiteten vid immunhistokemisk färgning för HER2 inte heller påverkade prognos eller resultat av trastuzumab.

Orsakerna till att vissa celler utvecklar resistens mot trastuzumab finns i receptorns funktion och signalvägar. Mitch Dowsett visade att trastuzumab har en dubbel verkan. Dels binder den till en receptor och hämmar genom sin position att den dimeriserar och orsakar en intracellulär signal, dels kan immunceller binda till antikroppens tunga kedja och aktivera ett cytotoxiskt immunsvaret mot cellen. Det finns flera föreslagna resistensmekanismer men Mitch Dowsett valde att fokusera på aktivering av PI3K-vägen och det cytoplasmatiske p95 HER2-fragmentet.

KOMBINATION MINSKAR RESISTENS

Det har visat sig att HER2 är beroende av signalmolekylen PI3K för att kunna ge upphov till en tillväxtsignal inuti cellen. Denna väg är dock muterad i cirka 30 procent av de HER2-positiva tumörerna, vilket minskar effekten av läkemedel som hämmar HER2. Mitch Dow-

sett beskrev olika vägar för att hantera en PI3K-inducerad trastuzumabresistens. I en studie hade man kombinerat trastuzumab med mTOR-hämmaren everolimus och sett att 15 procent av 47 patienter delvis svarat på behandlingen. mTOR är ett signalsteg nedströms om PI3K i aktiveringsvägen. I en annan studie hade man använt PI3K-hämmaren BKM120 i tillägg till trastuzumab och resultatet visade att fler än hälften av patienterna fick en stabil sjukdom eller partiell respons.

Receptorfragmentet p95 HER2 är två olika typer av intracellulära fragment av HER2 som kan skapa signaler i celler men som saknar den ytliga (extracellulära) del där trastuzumab binder in. Det har i flera studier visats att höga nivåer av p95 ger en sämre prognos för patienten. Det finns tyrosinkinashämmare som kan binda till p95 HER2, dock är höga p95 HER2-nivåer ändå associerade med en försämrad prognos även med sådan behandling.

- Avslutningsvis redovisade Mitch Dowsett resultat från NeoSphere-studien. I denna har man randomiserat bröstcancerpatienter till att få olika kombinationer av trastuzumab, den nya antikroppen

pertuzumab och mitoshämmaren docetaxel som neoadjuvant terapi. Resultatet av studien visade att patienter som fick en kombination av alla tre läkemedlen erhöll fulla svar i signifikant fler fall jämfört med de som enbart fick någon kombination med två av läkemedlen. Sammanfattningsvis ville Mitch Dowsett förmedla att graden av HER2-överuttryck inte är associerad med försämrat svar på trastuzumab, att det finns flera föreslagna resistensmekanismer men att deras kliniska betydelse är oklar och att de nya HER2-behandlingarna kräver förbättrade analyser av biomarkörer för att kunna avgöra den bästa behandlingen.

NY HER2-METOD UTVÄRDERAD

- Anikó Kovács vid patologen på Sahlgrenska universitetssjukhuset i Göteborg presenterade de senaste kunskaperna från HER2 0/1+-studien. När en patient utreds för bröstcancer har identifiering av en överuttryckt HER2-receptor kommit att bli standard. Detta har tidigare gjorts på immunhistokemisk (IHC) väg och med en teknik kallad FISH (fluorescence in situ hybridization). Resultaten av undersökningarna har sedan varit vägledande i valet av behandling då läkemedel mot HER2 bara är effektiva om ett överuttryck sker.

Det har i flera studier visat sig att den inledande IHC-metoden givit falskt negativa svar i några procent av fallen och att det kan finnas skäl att utvärdera samtliga preparat med FISH-teknik. FISH-metoden har dock haft ett par tekniska nackdelar som gjort att man velat söka efter ett bättre alternativ. Metoden kräver särskilda mikroskop, personalen behöver vara välutbildad och de resulterande proverna bleknar snabbt varpå en ny bedömning av svaret blir omöjlig.

För att råda bot på flera av dessa problem har en ny metod, SISH (silver in situ hybridization) utvecklats som är helt automatiserad och snabb och som kan avläsas i konventionella mikroskop med resultat som kan utvärderas på nytt och med en hög samstämmighet med FISH-metoden.

I den aktuella HER2 0/1+-studien, berättar Anikó Kovács, har man genomfört en retrospektiv studie på 300 preparat som tidigare testats med HercepTest. 100 olika preparat har studerats i Lund, Göteborg och Örebro där hälften varit

IHC 0 och andra hälften IHC 1. Preparaten har sedan återanalyserats med SISH-metoden och resultaten har jämförts med tidigare utlåtanden.

Resultatet hittills i studien är att man inte fann någon amplifikation med SISH jämfört med HercepTest. Även om resultatet inte är så upplyftande så påpekade Anikó Kovács att studien ändå gett deltagarna möjlighet att få mängdträning på SISH-metoden och därmed kunnat byta från FISH.

TRANSHERNATA-STUDIEN

- HERNATA-studien var en fas III-studie som jämförde effekten av två olika läkemedel i kombination med trastuzumab för behandling av HER2-positiv metastaserad bröstcancer. **Anne-Vibeke Laenkholm** från Rigshospitalet i Köpenhamn berättade om den pågående TransHERNATA-studien där biologiskt material från HERNATA analyseras för att kunna identifiera undergrupper av HER2-positivitet och möjliga riktningar för framtida terapiutveckling.

För två år sedan startades TransHernata och man började med att samla in biologiskt material från patienterna som ingått i HERNATA. Anne-Vibeke Laenkholm förklarade att studien pågår på fyra olika center i Sverige och Danmark med den danska samverkansgruppen för bröstcancer som sammanhållande institution. Varje center har sin del av studien och genomför olika gen- och proteinuttrycksstudier. Sammanlagt studeras 217 tumörutsnitt och den analys Anne-Vibeke Laenkholm uppehöll sig mest vid var förekomsten av PI3K-mutation.

PI3K är en av de viktigaste mekanismerna bakom trastuzumabresistens och genom att studera hur vanlig denna är kan man få en bättre bild av problemet. Genen som kodar för PI3K muteras vanligen på exon 9 och exon 20 så det är dessa man analyserat med pyrosekvensering. Studien pågår fortfarande och alla delar är inte färdiganalyserade. Arbetet med att sammanställa resultaten väntar också på att färdigställas. Anne-Vibeke Laenkholm berättade att man hittills har hittat PI3K-mutationer hos var femte patient.

ATT TESTA FÖR HER2

- **Giuseppe Viale**, chef för patologiavdelningen vid the European Institute of

Anne-Vibeke
Laenkholm



Giuseppe Viale

Oncology, är en erfaren patolog och en stark röst för att utveckla de patologiska metoderna. Hans föreläsning skulle handla om nya rön inom HER2-diagnostik men kom även att handla om patologens roll i framtidens kliniska studier.

Inledningsvis beskrev Giuseppe Viale utmaningarna för patologer involverade i klinisk forskning. Det finns ett behov av att utveckla nya behandlingar och vässa de som redan är tillgängliga, men flera faktorer minskar möjligheterna att bedriva forskning. Den ekonomiska krisen har strypt tillgången på forskningsmedel, det finns en ovilja att riskera lovande substansers rykte i allt för fokuserade studier och individanpassade studier riktade till små patientgrupper kräver ofta mycket resurser. Dessa hämmande faktorer ställer också nya krav på patologerna som deltar i studier och lägger en större vikt vid deras arbete.

Giuseppe Viale tog upp det faktum att nya läkemedel blir allt mer specialiserade och att det ställer höga krav på studiepopulationen. Patologens uppgift blir då att säkerställa att rätt patienter inkluderas i studien, dels så att patienter som troligen inte drar fördel av behandlingen exkluderas och dels för att undvika att en stark signal i en viss grupp späds ut i sammanräkningen. Varje center, argumenterar han, bör ha en särskilt tilldelad patolog som utöver provanalyser även kan vara delaktig i designen och genomförandet av studien.

En frågeställning som diskuterats de senaste åren är behovet och värdet av centraliserade analyser. Giuseppe Viale pekar på att analysmetoderna för HER2-status beror på bedömningar av den enskilda patologen och att gränserna kan skilja mellan olika laboratorier. För att undvika att patienter som inte lämpar sig för en HER2-positiv eller HER2-negativ studie ändå inkluderas behöver man ha en hög säkerhet i diagnostiken. Centraliserad testning skapar förutsättningar för standardisering och reproducerbarhet i HER2-bedömningar och man bör se på det som en sorts extern kvalitetskontroll.

Centraliserad testning kräver dock ett samförstånd mellan de lokala laboratorierna och det centrala laboratoriet.

– Ibland känns det som att den lokala patologen tänker att ”den här biten

”En retrospektiv analys av NEAT-studien visade att polysomi i kromosom 17 var den starkaste prediktiva faktorn för antracyclineffekt.”

gillar jag inte, så den får resa till det centrala labbet”, berättade Giuseppe Viale och påpekade att man bör ge det centrala laboratoriet samma omsorg i urval och preparering som man ger sig själv.

Även de centrala laboratorierna måste arbeta för att upprätthålla kvaliteten på sitt arbete. Vid HER2-tester måste man använda kliniskt validerade metoder och utföra såväl immunhistokemi som in situ hybridisering på preparaten. Det är också viktigt att man informerar alla deltagande enheter om gällande protokoll, återrapportera resultaten inom rimlig tid och finnas tillgänglig för frågor och funderingar från de lokala patologerna.

– Brister i samstämmighet mellan lokala och centrala laboratorier är ett av livets faktum, konstaterade Giuseppe Viale men betonade att det inte ska ses som en fråga om kompetens. Skillnader i tolkning är välkänt mellan labb och beror i hög grad på systematiska begränsningar i de använda teknikerna. Till exempel varierar resultaten beroende på vilka antaganden och gränser som används och det finns även problem med polysomi och genetisk heterogenitet.

TILLÄGG TILL TRASTUZUMAB

• Giuseppe Viale är engagerad i APHINITY-studien som jämfört effekten av pertuzumab i tillägg till trastuzumab och kemoterapi. I studien har man genomfört central granskning av HER2-status av patienter på 640 olika center i 43 länder. Det har varit en logistisk utmaning, inte minst för de kinesiska deltagarna eftersom landet förbjöd all export av preparat. Av 2 560 deltagare var 2 200 lämpade att delta och 267 av de föreslagna patienterna exkluderades på grund av HER2-negativitet vid central testning. Att testerna skiljde sig i

knappt 11 procent av fallen är högt, men en klar förbättring mot tidigare multicenterstudier över flera länder då man legat på uppåt 16 procent.

– Vad är då en HER2-positiv sjukdom, frågade Giuseppe Viale retoriskt.

Han visade en lista på de olika gränsvärden som finns för positivitet. Vid immunhistokemisk analys sätts gränsen antingen vid minst 10 procent immunreaktiva (3+) celler eller vid 30 procent. För in situ hybridiseringsteknikerna finns fem olika kriterier och man mäter antingen kvoten, genkopiorna eller antalet amplifierade celler.

Han förklarar svårigheterna med att ge exemplet på ett prov med 15 procent immunreaktiva celler och en negativ FISH. Är denna patient aktuell för behandling med trastuzumab? Ja, svarar Giuseppe Viale på sin egen fråga, i varje fall enligt de europeiska och amerikanska läkemedelsmyndigheterna EMA och FDA och enligt behandlingsrekommendationerna för läkemedlet eftersom det är fler än 10 procent immunreaktiva celler.

Det finns fler utmaningar vid HER2-bedömning. Heterogena tumörer, där endast vissa cellgrupper uttrycker HER2 återfinns i cirka 30 procent av fallen. Det är även en utmaning att välja rätt område för att bedöma förekomsten av HER2-positiva celler. Om bara delar av ett utsnitt innehåller infärgade celler kommer valet av de fält man studerar att påverka om patienten bedöms som negativ eller positiv.

Genetisk heterogenitet är ett nytt område som kan skapa kontroverser. I dag är 10 procent immunreaktiva celler gränsvärdet för positivt IHC-resultat, men överuttryck och genamplifiering går hand i hand, så frågan är varför minst 50 procent inte är ett mer lämpligt värde, funderar Giuseppe Viale.

Hans eget förslag, som han påpekar fortfarande är minoritetens åsikt, är att bedöma både med IHC- och ISH-metoder på individuella celler, att rapportera resultatet som andelen amplifierade celler och att ge ett positivt utlåtande om fler än 10 procent av cellerna visar överuttryck eller amplifiering.

Giuseppe Viales sammanfattade det han gått igenom i tre punkter.

För det första är en korrekt bedömning av patienternas HER2-status avgörande för utfallet i studier på skräddarsydda läkemedel. För det andra måste en ökad precision och reproducerbarhet ha högsta prioritet i den fortsatta utvecklingen av metoderna. För det tredje kräver de två föregående behoven fortlöpande utbildning av utövarna och troligen att flera antaganden och dogmer inom området omprövas.

GRÄNSDISKUSSION KRING HER2

- Förmiddagens presentationer koncentrerade sig på biologi och testning vid HER2-positiv sjukdom. Som avrundning innan lunch hölls ett diskussionsforum med förmiddagens föreläsare på scenen och frågor från publiken. Diskussionen kom främst att handla om gränsvärden för en HER2-positiv sjukdom och värdet av att analysera extremvärden i olika studiepopulationer.

Giuseppe Viale resonerade kring gränsvärdet 10 procent immunreaktiva celler, som innebär att en patient med 9 procent immunreaktiva celler är HER2-negativ och en patient med 11 procent är HER2-positiv med stora skillnader i den terapi patienten erbjuds. Han undrade om det fanns anledning att utveckla diagnostiken och bedömningsgrunderna, inte minst mot bakgrund av de osäkerheter i utlåtandet som han redogjort för tidigare under dagen.

Mitch Dowsett höll med om att gränsvärden ger upphov till problem och berättade att han genomför en studie där man gör en djupare analys av patienter som graderas 1+ och 2+ för att se om det finns någon subgrupp som kan dra nytta av behandling med trastuzumab.

– Vi var kanske förhastade i att sätta 3+ som en hård brytpunkt i indikationen för trastuzumab, sa Mitch Dowsett, det borde göras en "window study" på 1+ och 2+-patienter.

Kathy Pritchard



"Medelvärden är det traditionella sättet att rapportera resultat från studier men finns det inte skäl att även studera extremvärden?"

*Professor Jonas Bergh,
Karolinska universitetssjukhuset*

JAKTEN PÅ EN BIOMARKÖR

- Kathy Pritchard, forskare vid Sunnybrook Research Centre i Toronto, diskuterade behovet av en biomarkör som kan förutsäga effekten av behandling med antracykliner. Det har under senare år funnits flera möjliga kandidater men också flera utmaningar på vägen.

NCIC-MA5-studien som presenterades 2009 jämförde en kombinationsbehandling av cyklofosamid och 5-fluorouracil tillsammans med metotrexat eller antracyklinpreparatet Epirubicin. Resultaten visade en viss ökad sjukdomsfri överlevnad och total överlevnad med antracyklinbehandlingen.

Vid en retrospektiv analys såg man att den stora ökningen i överlevnad fanns hos patienter med HER2-positiv sjukdom. Man antog därför att HER2-status kunde användas som prediktiv faktor för antracyklinbehandling. En metaanalys av tio studier i New England Journal of Medicine 2006 såg ett liknande resultat, men tyvärr hade de ingående studierna för dålig statistisk kvalitet för att kunna besvara frågan.

Forskning har också skett på topoisomeras 2 (TOP2A), ett enzym som kan klippa dubbelsträngat DNA och hjälper till att bevara genomets stabilitet. Enzy-



Per-Eystein Lønning

met spelar en viktig roll i antracyklins tumörhämmande verkan. TOP2A-genen ligger på 17q-kromosomen, nära HER2-genen. En retrospektiv analys av materialet från MA5-studien visade att förändringar i TOP2A-genen var kraftigt kopplade till ökad respons på antracykliner och borde således vara en prediktiv faktor.

Men trots en god teoretisk underbyggnad för TOP2A-förändringar och antracyklinvar är studieresultaten, både avseende genamplifikation och proteinöveruttryck, svaga och ger ett lågt prediktivt värde. Resultaten för HER2-status som prediktiv faktor är mer robusta och tillgången till HER2-diagnostik är mer utbredd. Kathy Pritchard konstaterade att TOP2A kan vara en bättre prediktiv faktor än HER2, men att mer data och bättre tester behöver se dagens ljus innan det kan bli bekräftas och användas i kliniken.

Kathy Pritchard deltog i en metaanalys med individuella patientdata från fem studier på adjuvant kombinationsbehandling med antracykliner eller metotrexat. HER2- och TOP2A-status analyserades med FISH och man tittade på

händelsefri överlevnad och total överlevnad. Resultaten från studien, publicerade i Lancet 2011, visade att både HER2 och TOP2A låg på gränsen till att vara prediktiva variabler och att man inte bör begränsa antracyklinbehandling enbart till HER2- eller TOP2A-positiva patienter.

– Jakten på en bra biomarkör har fortsatt, berättade Kathy Pritchard, och polysomi av kromosom 17 har seglat upp som en intressant kandidat. En retrospektiv analys av den brittiska NE-AT-studien visade att polysomi i kromosom 17 var den starkaste prediktiva faktorn för antracyklineffekt. Samtidigt visade den att varken HER2 eller TOP2A var signifikant prediktiva markörer.

Kathy Pritchard redovisade avslutningsvis preliminära resultat från en pågående metaanalys av fyra studier med centraliserad datahantering och analys av individuella patientdata. Resultatet av den multivariata analysen som hon visade verkar bekräfta resultaten av NE-AT-studien och placerar polysomi av kromosom 17 som den hittills bästa prediktiva markören för framgångsrik antracyklinbehandling. De slutgiltiga analy-

serna kvarstår och Kathy Pritchard förklarade att hon även vill försöka skapa en biokemisk förklaring till fenomenet.

MTOR-HÄMNING INTRESSANT TILLÄGG

• Professor Per-Eystein Lønning vid Universitetet i Bergen beskrev kunskapsläget kring användande av mTOR-hämmare vid ER-positiv sjukdom. Han fokuserade på de kliniska aspekterna av mTOR-hämmare men inledde med en orientering kring receptorn och hämmarens funktioner.

Proteinkinaset mTOR (mammalian target of rapamycin) är ett av stegen i PI3K-Akt-signalvägen för tillväxtstimulering. Det är involverat i många olika cancertyper och spelar en samordnande roll mellan PI3K-Akt och flera funktioner nedströms i signalvägarna.

Per-Eystein Lønning sammanfattade de senaste årens forskning kring aktiverande mutationer i PI3K och Akt vid bröstcancer. Aktiverande mutationer i PI3K och Akt är prognostiskt negativa faktorer vid bröstcancer och har en additiv effekt när de uppträder tillsammans. Även förlorad funktion i PTEN-genen, som reglerar signalen mellan PI3K och Akt, är en prognostiskt negativ faktor.

Den ökade kunskapen om mutationer i PI3K-Akt-signalvägen har gjort mTOR till ett intressant mål för designade läkemedel. Tanken är att en hämning av mTOR kan hjälpa till att motverka den ökade signaleringen uppströms i kedjan. Per-Eystein Lønning valde att beskriva erfarenheterna av everolimus då det är den mTOR-hämmare som har starkast evidens i hormonreceptorpositiv bröstcancer.

I fas I-studier har man visat att everolimus har en halveringstid på omkring 30 timmar, vilket talar för en daglig dosering. I fas II-studien visade man att mTOR-hämning i monoterapi kunde hålla sjukdomen stabil i vissa fall. Per-Eystein Lønning redovisade också resultat från en studie i Journal of Clinical Oncology tidigare i år som visade att patienter som erhölet everolimus i tillägg till tamoxifen efter tidigare svikt på en aromatashämmare fick en förlängd tid till progress jämfört med patienter som enbart behandlades med tamoxifen.

Per-Eystein Lønning undrade därefter om everolimus kunde reversera endokrin

8

resistens i patienter. Han pekade på tre olika studier där patienter som tidigare sviktat på trastuzumab fick fortsatt HER2-hämning med tillägg av everolimus. I samtliga studier visade sig tillägg av mTOR-hämning ge ett förbättrat förlopp.

– Tittar man mot framtiden är resultaten hittills fascinerande, konstaterade Per-Eystein Lønning, men de är bara början. mTOR uppträder i två olika komplex (mTORC1/2) med skilda biologiska funktioner. Everolimus hämmar mTORC1 men även det andra komplexet har funktioner som kan vara intressanta att påverka, bland annat en positiv feedback till Akt. Studier pågår på en ny substans, PP242, som har en hämmande verkan på båda komplexen.

– Akt-signalvägen är inte den enda vägen för tyrosinkinassignalering, påpekade Per-Eystein Lønning och frågade sig om de andra vägarna kan hjälpa till eller till och med kompensera vid en mTOR-hämning.

– Det man i dag vet om funktionen hos mTOR och de resultat som hittills publicerats visar att det är en viktig signalväg och att det kan hjälpa till att reversera endokrin resistens, sammanfattade Per-Eystein Lønning. Det finns fortfarande mycket kvar att utreda, bland annat om mTOR-hämning verkligen innebär en minskad endokrin resistens eller om det rör sig om en tilläggseffekt. Han stakade även ut en väg framåt där djupare studier av mTORC2 och MAP/MEK-signalvägen är intressanta områden att utforska.

MEDELVÄRDE ELLER EXTREMVÄRDE?

• Efter Per-Eystein Lønnings föredrag antrade de övriga föredragshållarna scenen för en paneldiskussion med frågor från publiken. Moderatoren Jonas Bergh inledde diskussionen med en reflektion kring de etablerade studie- och rapporteringsmetodernas användbarhet i en verklighet med allt fler individanpassade behandlingar.

– Medelvärden är det traditionella sättet att rapportera resultat från studier, konstaterade Jonas Bergh, men finns det inte skäl att även studera extremvärden för att identifiera subgrupper som kan dra fördel av en terapi?

Kathy Pritchard instämde i det synsättet och berättade att statistikern i

hennes forskningsgrupp var en stark förspråkare för att alltid titta längs kontinuerliga variabler i stället för att fokusera på beräknade medelvärden. Per-Eystein Lønning stämde också in i det synsättet och påpekade att extremvärden kan ge värdefull kunskap om molekylära särdrag som kan ge uppslag för ny forskning.

Mitch Dowsett var intresserad av biverkningsprofilen för mTOR-hämmare. Per-Eystein Lønning beskrev i sitt svar att det finns flera biverkningar och att stomatit var den absolut vanligaste.

– Använt adjuvant kommer det att finnas patienter som avbryter behandlingen men hittar man rätt patientgrupp kan det ändå vara värt att studera, sade Per-Eystein Lønning. Kathy Pritchard kompletterade med att everolimus har toxiska effekter vilket gör att följsamheten kan bli sämre vid neoadjuvant behandling jämfört med vid behandling av metastaserad sjukdom.

ANTIKROPP GUIDAR TILL MÅLET

• Cytotoxiska läkemedel har ofta mycket god effekt på tumörer men ger upphov till omfattande biverkningar när de utför sin verkan på friska celler. Mono-

klonala antikroppar är ofta betydligt mer specifika i sin verkan men har ibland en lägre effektivitet än cellgifterna. Tänk om man kunde kombinera cellgifternas goda effekt med antikroppens målsökande förmåga. **Minna Tanner**, docent i onkologi vid universitetssjukhuset i Tammerfors, berättade om arbetet med att utveckla ett sådant konjugerat läkemedel, T-DM1.

Det första konjugerade läkemedlet introducerades i början på 2000-talet. År 2010 togs det bort från marknaden då det visade sig orsaka mer skada än nytta för patienterna.

– I dag finns ett tiotal konjugerade preparat under utveckling, men påfallande lite forskning finns publicerad i medicinska tidskrifter, konstaterade Minna Tanner.

Konjugatet som undersökts består dels av anti-HER2-antikroppen trastuzumab och dels maytansinoid (DM1), en substans som stör mikrotubulis funktion vid celledelning. DM1 binder till samma ställe på mikrotubuli som taxaner.

Under 1970- och 1980-talen undersökte man DM1 som fristående preparat och kom fram till att den tolererade do-



Minna Tanner

9



Christian Jackisch

sen inte uppnådde terapeutisk effekt varpå utvecklingen av preparatet stannade av i mer än ett decennium. I slutet av 1990-talet började man dock undersöka om DM1 kunde bli användbart i konjugat med en antikropp.

När en antikropp binder till sin receptor på cellytan reagerar cellen med att försöka bryta ned antikropp-receptorkomplexet. Det sker genom endocytos, cellmembranet kring receptorn invaginerar och knoppas av inuti cellen. Därefter fylls hålrummet med nedbrytande ämnen och såväl receptor som antikropp bryts ned i sina beståndsdelar.

– Vi utnyttjar denna process till vår fördel, berättade Minna Tanner, genom att binda DM1 till trastuzumab behålls det inaktivt till dess att lysosomen bryter ned antikroppen. Det innebär att bara tumörceller som uttrycker HER2 utsätts för DM1:s verkan. På så sätt kan man använda mycket potenta läkemedel och ändå undvika många biverkningar.

– Utmaningen i utvecklingen av trastuzumab-DM1 (T-DM1) har varit att hitta en brygga mellan antikroppen och läkemedlet som håller ihop på färden genom kroppen men ändå släpper inuti lysosomen, förklarade Minna Tanner.

Genom valet av brygga och dess pla-

cering på trastuzumabproteinet har man lyckats utveckla ett läkemedel med dubbla verkningsmekanismer. Majoriteten av det administrerade läkemedlet stannar på cancercellens yta och utövar antikroppsberoende cytotoxiska effekter i samma grad som okonjugerat trastuzumab och signalhämmande effekter på HER2 samtidigt som en mindre del tas upp av cellen där DM1 utövar sin effekt.

– I prekliniska studier prövade vi att behandla mycket resistenta celler från JIMT-1-linjen med vårt konjugat och såg för första gången en antitumöreffekt i xenograft från denna linje, sa Minna Tanner.

Hon berättade sedan att den främsta tumörhämmande effekten var apoptos hos tumörcellerna men att denna linjes celler inte verkade nedreglera sitt HER2-uttryck. Minna Tanner beskrev också att P-glykoproteins pumpfunktion är en möjlig resistensmekanism mot T-DM1 men att den ännu inte påvisats.

T-DM1:S KLINISKA BETYDELSE

Efter att ha beskrivit den teoretiska och prekliniska bakgrunden till T-DM1 fortsatte Minna Tanner att berätta om dess kliniska betydelse. Två fas II-studier har genomförts på T-DM1 i andra

linjens behandling och i båda fallen visade patienterna på ett kliniskt betydelsefullt svar.

– Trots att patienterna hade fått omfattande behandlingar i föregående linje svarade 40–50 procent av dem på T-DM1-behandlingen, sa Minna Tanner, med en hanterbar biverkningsprofil där trombocytopeni var den vanligaste biverkningen.

I en annan fas II-studie har T-DM1 testats i första linjens behandling vid metastaserad bröstcancer. I TDM4450g-studien delades knappt 140 patienter in i att antingen få första linjens behandling med trastuzumab och docetaxel eller enbart T-DM1.

Vid ECCO-ESMO 2011 presenterades siffror på progressionsfri överlevnad där skillnaden mellan grupperna var fem månader, till T-DM1:s fördel. Siffror på total överlevnad är fortfarande inte klara. Förekomsten av biverkningar av grad 3 eller högre var också lägre i T-DM1-armen av studien.

– Framförallt var förekomsten av alla grader av håravfall bara fyra procent i T-DM1-armen jämfört med 67 procent hos de som fått trastuzumab och docetaxel, påpekade Minna Tanner.

Den största studien hittills är EMI-LIA-studien där knappt 1 000 deltagare behandlats med T-DM1 eller lapatinib och capecitabin i andra linjen efter svikt på trastuzumab och någon taxan.

– Studien designades för andra linjen men även patienter i senare linjer inkluderades, den enda begränsningen var att de skulle vara lapatinib- och capecitabinnaiva, sa Minna Tanner.

Resultaten från studien publicerades nyligen (Verma et al NEJM 2012) i år och visade att T-DM1 gav en signifikant skillnad i progressionsfri överlevnad och totalöverlevnad ($p < 0,001$), ett förbättrat behandlingsresultat i alla subgrupper och en bättre biverkningsprofil.

För att sammanfatta ställde Minna Tanner på nytt frågan om det äntligen var möjligt att komma ifrån cytotoxiska läkemedels skadliga biverkningar. Hon besvarade frågan med ett ja, men att det fortfarande behöver utredas hur dessa nya läkemedel ska användas och vilka patienter man bör rikta behandlingen till.

Avslutningsvis hänvisade hon till den pågående MARIANNE-studien där

man i tre armar prövar T-DM1 tillsammans med antikroppen pertuzumab, som hindrar HER2-dimerisering, mot trastuzumab och en taxan. Resultaten kommer troligen att presenteras sommaren 2013 och kan, beroende på resultaten, komma att ändra det kliniska arbetet med metastaserad bröstcancer.

TRASTUZUMAB SUBKUTANT?

• **Christian Jackisch**, professor i onkologi vid bröstcancercentret i Offenbach, Tyskland, rundade av dagen med att berätta om HannaH-studien där man prövat att administrera trastuzumab subkutant. Han inledde med att påpeka behovet av innovation och utveckling inom onkologin.

– Även med etablerade läkemedel finns ett behov av att utveckla metoderna för att förbättra patienternas livskvalitet och upplevelse av vården, sa Christian Jackisch.

När Herceptin (trastuzumab) introducerades förändrade det utsikterna för en grupp bröstcancerpatienter. Men läkemedlet ges intravenöst vilket medför olika problem.

– Patienter som behandlas i 5–10 år kommer att ha varierande önskemål under den tiden och de vill gärna behöva sitta i samma rum som patienter på kemoterapi, påpekade Christian Jackisch, det är också påfrestande att nästan permanent behöva bära på en intravenös infart. Därför började man undersöka om det är möjligt att utveckla trastuzumab för subkutan administration.

Det finns redan många läkemedel som ges subkutant. Insulin, heparin och tillväxthormon är bara några av de vanligaste exemplen. Kan man ge trastuzumab subkutant skulle det föra med sig flera fördelar jämfört med den intravenösa behandlingen. En subkutan injektion tar mindre än fem minuter att administrera, jämfört med de 60–90 minuter som dagens metod kräver. Man behöver utnyttja färre dagbäddar, personalresurser kan frigöras och patienter på monoterapi kan få en behagligare behandling med högre följsamhet.

Processen för att ta fram en subkutan form av trastuzumab delades in i två steg, berättade Christian Jackisch. Först

behövde man hitta rätt administrerad dos för att erhålla en tillräcklig plasmakonzentration över tid och sedan behövde man utvärdera metodens säkerhet och tolerabilitet. År 2008 inleddes en fas I-studie som publicerades tidigare i år där man gav subkutana och intravenösa injektioner av trastuzumab till friska försökspersoner och HER2-positiva patienter.

FARMAKOKINETIKEN FUNGERADE

Först påvisade man att farmakokinetiken, läkemedlets väg och hastighet genom kroppen, var likvärdig för båda försöksgrupperna. Därefter såg man att en subkutan dos trastuzumab på 8 mg/kg gav en liknande biotillgänglighet och tid då nivån i blodet låg över gränsvärdet som en intravenös dos på 6 mg/kg. Detta visade att det är möjligt att administrera trastuzumab under huden och ändå få läkemedlet att nå blodet och därefter tumören. Man kunde också visa att subkutan injicering inte uppenbart förvärrade biverkningarna.

Ett problem när man ger större doser vätska under huden är att patienten får en upphöjning runt injektionsstället. Detta upplevs både som misspyrdande och opraktiskt för patienterna.

– Genom att tillsätta en rekombinant version av ett ämne som temporärt bryter ned hudens oelastiska hyaluronfibrer gör man huden mer permeabel och får plats med mer vätska utan någon efterföljande upphöjning, berättade Christian Jackisch.

– Vår målsättning har, förutom att bevisa effekt vid subkutan injektion, varit att hitta en fast dos som fungerar för alla patienter. I augusti i år presenterades resultaten i fas III-studien HannaH där man jämfört trastuzumab subkutant och intravenöst. Christian Jackisch var huvudprövare för studien och berättade om upplägget.

– Vi började med en neoadjuvant behandling där patienterna randomiserades till antingen intravenös eller subkutan behandling. Därefter opererades patienterna och fortsatte att få trastuzumab i monoterapi med samma metod som tidigare.

Resultaten från studien visar att en subkutan injektion med en fast dos på 600 mg inte skiljer i effekt, biverkningar eller andra parametrar jämfört med en intravenös administration.

– Vi förväntade oss inte att se någon skillnad och så blev det, konstaterade Christian Jackisch.

SUBKUTAN VAR SNABBARE

Den stora skillnaden mellan metoderna var tidsåtgången. Den första dosen intravenös trastuzumab (8 mg/kg) tog i genomsnitt 90 minuter att genomföra och de efterföljande doserna (6 mg/kg) tog i snitt 43 minuter, att jämföra med medeltiden tre minuter per subkutan injektion.

– Två ytterligare studier pågår för tillfället, berättade Christian Jackisch, där man vidareutvecklar kunskapen från HannaH-studien. Dels vill vi undersöka om patienterna föredrar den subkutana injektionen och dels vill vi utvärdera om det är möjligt att patienterna, efter att ha fått utbildning, kan självmedicinera och därmed bli mer fria under sin behandling.

Flera studier undersöker för närvarande behandling med subkutant trastuzumab vid HER2-positiv bröstcancer. En av dessa är PrefHer, en internationell studie som startade i augusti 2011 och där 400 kvinnor med tidig HER2-positiv bröstcancer ingår. Fyra svenska onkologiska kliniker deltar: Gävle, Sundsvall, Jönköping och Eskilstuna.

Studien syftar till att utvärdera vilken behandling patienterna föredrar och studerar även vilka fördelar vården upplever med de olika beredningsformerna. Resultat från studien kommer sannolikt att presenteras under senare delen av 2012.

Med anledning av de positiva resultaten från HannaH-studien startas inom kort även en annan studie med subkutant trastuzumab, SafeHer, i vilken svenska patienter kommer att delta. Syftet är att vidare studera säkerheten med subkutant trastuzumab.

JOHAN LUNDBERG, MEDICINSK SKRIBENT





*”En cell som förbereder
celldelning måste dubblera
sin massa och skapa kopior
av alla makromolekyler,
organeller och andra
cellstrukturer.”*

Cancermetabolismen

Cancer cellens metabolism är trots mängder av studier fortfarande ett mysterium, till stor del eftersom det är svårt att mäta metabolism på cellnivå. Trots detta är många cancerläkemedel utvecklade för att hämma cancer cellens metabolism. I dag ger den snabba utvecklingen av masspektrometrimetoder helt nya möjligheter att studera cancer metabolism i stor skala, och de första studierna med sådan teknik har påvisat att tidigare utforskade grenar av metabolismen är viktiga för cancer celler, skriver här **Roland Nilsson**, som forskar inom cellulär metabolism vid Karolinska institutet.

Celldelning är en fundamental process i cancer. En cell som förbereder celldelning måste dubblera sin massa och skapa kopior av alla makromolekyler, organeller och andra cellstrukturer. Detta konststycke möjliggörs av cellens ämnesomsättning – metabolismen.

Den nya biomassan måste syntetiseras från näringsämnen som socker och aminosyror (anabolism), men samtidigt behöver cellen stora mängder energi för att genomföra syntesen och för att rent fysiskt dela på sig, vilket innebär att nedbrytning (katabolism) av näringsämnen för att utvinna energi

också måste öka. Dessa komplicerade processer utförs av myriader av enzymer, vars aktiviteter kontrolleras av invecklade signalsystem för att säkerställa att alla reaktioner sker i rätt tid och i lagom mängd. I en typisk cancer cell genomförs allt detta, och en ny cell bildas, på ungefär ett dygn.

Att tumörers ämnesomsättning avviker från normal vävnad har länge varit känt och har intresserat forskare under lång tid, men under de senaste åren har fältet hamnat i fokus av flera skäl. Mutationer i enzymer har uppträcks i bland annat gliom och astrocytom¹, vilket tyder på att förändringar i me-

ännu ett mysterium

tabolismen inte bara är en sidoeffekt av maligna förändringar, utan faktiskt kan orsaka cancer. Dessutom står det nu klart att flera av de klassiska onkogenerna signalerar till enzymer för att styra cellens metabolism.

En viktig faktor är också att enzymer är "lätta måltavlor". Nästan hälften av alla godkända läkemedel verkar genom ett enzym², och hämning av enzym ger ofta effekter då det är svårt för cellen att kringgå en blockerad enzymatisk reaktion. Jag kommer i denna artikel att försöka ge en översikt över cancermetabolismen som forskningsfält och sammanfatta den spännande forskning som pågår i dag.

GLUKOSMETABOLISM

Att tumörer har förändringar i metabolismen påvisades av Otto Warburg redan på 1920-talet³. Warburg fann att tumörvävnad spjälkade socker och bildade mjölksyrasaltet laktat i stora mängder jämfört med biopsier från normal vävnad. Detta fynd var oväntat, eftersom spjälkning av socker (glykolys) endast ger en liten mängd energi per förbrukad sockermolekyl i jämförelse med oxidation i mitokondrien (cellandning) och

ansågs ske i celler endast som en sista utväg under syrebrist.

Warburg drog därför slutsatsen att cancerceller måste ha skadade mitokondrier, och hävdade att detta måste vara den grundläggande orsaken bakom cancer. I dag vet vi att detta inte stämmer. Cancerceller har fullt dugliga mitokondrier⁴ och även normala celler som genomgår celledelning (proliferativa celler) uppvisar kraftig glykolys. Trots decennier av intensiv forskning är orsaken bakom cancercellers glykolys, den så kallade "Warburgeffekten", ännu inte klarlagd och intensiv forskning pågår ännu i dag.

Däremot har cancercellers snabba sockerupptag utnyttjats i diagnostiktekniken FDG-PET, där en sockeranalogs (fluorodeoxyglukos) ansamlas i tumörvävnad och kan avbildas med positronemissionstomografi. På läkemedelssidan prövades hämmare av enzym i glykolysen redan på 1950-talet, och har studerats utförligt sedan dess. I stort sett har dessa ämnen inte gett god effekt som monoterapi, men prekliniska studier tyder nu på att de kan vara av intresse i kombinationsterapi⁵.

Vid första anblick kan det tyckas omöjligt att hämma en så fundamental process som glukosmetabolism utan allvar-

liga biverkningar i kroppen. Enzymer förekommer dock ofta i olika så kallade isoformer, kodade av separata gener eller bildade från RNA-splitsning, och intressant nog uppvisar cancerceller typiskt isoformer som vanligen endast återfinns i embryonala celler⁴.

Om hämmare som är specifika för sådana "embryonala" enzym kan utvecklas vore detta ett viktigt steg. En annan möjlighet är att syrebrist i tumörer (hypoxi) orsakad av dålig vaskularisering kan tänkas göra tumörer beroende av glykolys i högre grad, och därmed mer sårbara.

NUKLEOTIDER OCH DNA

Bildande av deoxynukleotider för replikering av DNA är till skillnad mot glukosmetabolism en process som enbart sker i celldelning. Följaktligen har syntesvägar som leder till de nukleotider som ingår i DNA genomskatts grundligt efter möjliga mål-molekyler för cancerbehandling.

Folsyraanalogen metotrexat prövades på cancerpatienter redan på 1940-talet⁶. Detta ämne hindrar cellen från att nyttja folsyra för nukleotidsyntes, men folsyra har också andra uppgifter i cellen och folsyraanaloger kan således ha sideeffekter på en rad celltyper.

Direkta hämmare av enzymer i DNA-syntesen som 5-fluorouracil och capecitabin (mot tymidylatsyntas) och gemcitabin (mot ribonukleotidreduktas) är däremot, teoretiskt sett, specifika för celler som genomgår celldelning. Men detta hindrar förstås inte biverkningar i vävnader där celldelning normalt sker (benmärg, mage-tarm-kanalen, hårsäckar).

Nya studier som hämmar enzym längre "uppströms" i nukleotidsyntesen har visat effekt på cancerceller⁷, men det är ännu oklart om dessa kan ge bättre specificitet *in vivo*.

METABOLISMENS SIGNALVÄGAR

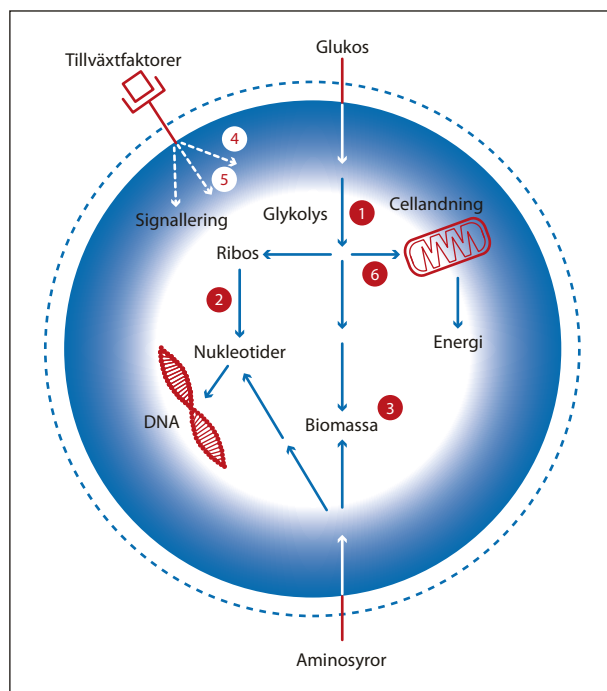
Av stort intresse för cancermetabolism är också de signalsystem som kontrollerar enzymernas aktivitet. Människans celler, liksom alla djurceller, skiljer sig från encelliga organismer i att tillgänglig näring inte tas upp automatiskt från omgivningen. Normala kroppsceller måste få signaler från omgivningen för att tillåta näringsupptag och metabolism.

Insulin är förstås en välkänd sådan signal, men många så kallade tillväxtfaktorer har också effekt på näringsupptag. Detta är ett sätt för kroppen att hushålla med näringsämnen och se till att resurser fördelas på rätt sätt.

I cancerceller har ofta dessa mekanismer satts ur spel. Mutationer i proteiner som sköter signaleringen kan "kortslua" systemet och ge cellen signaler som tillåter näringsupptag och metabolism även då tillväxtfaktorer saknas, och därmed orsaka celltillväxt och celldelning. Flera av de "klassiska" onkogenerna, som PI3-kinaset, *ras* och *c-myc* påverkar metabolismen på detta sätt, genom att kontrollera en rad enzymer. Man kan betrakta metabolismen som den "verkställande avdelning" som utför instruktioner från dessa proteiner för att sätta igång celldelningsprocessen i cancer.

En stor mängd studier har kartlagt dessa signalsystem och har prövat olika sätt att blockera dem. Ett exempel är proteinet mTOR, som kontrollerar aminosyrametabolism, proteinsyntes och därmed celltillväxt. Cancerläkemedlet temsirolimus är utvecklat för att blockera mTOR.

CANCERCELLENS METABOLISM SOM MÅL FÖR LÄKEMEDEL



Figur 1. Ovan, schematisk översikt över viktiga delar i cancercellens metabolism. Glukos och aminosyror är de viktigaste näringsämnena som omvandlas till DNA, biomassa (nya celler) och energi. Tillväxtfaktorer driver denna process genom olika signalproteiner. Alla dessa processer angrips av en rad olika cancerläkemedel: tabellen till höger visar några exempel, deras mål-molekyl och prövningsfas

"Att bättre definiera cancerspecifika enzym är således en viktig uppgift för framtida forskning inom cancer-metabolism."

Effekter på tumörutveckling har också observerats med ämnen som ursprungligen testats mot metabola sjukdomar: diabetesläkemedlet metformin aktiverar signalproteinet AMPK vilket bromsar syntes av biomassa och studier av diabetespatienter som behandlas med metformin har funnit lägre incidens av cancer⁸.

Värt att nämna är också proteinet HIF (hypoxiinducerbar faktor) som signalerar för att anpassa cellens metabolism i syrefattiga omgivningar, som dåligt vaskulariserade tumörer. HIF i sin tur blockeras naturligt av tumörsuppressorn VHL (von Hippel-Lindau-proteinet). Flera ämnen som hämmar HIF genomgår nu kliniska prövningar (figur 1).

FRÅN LABORATORIET TILL KLINIKEN

Många studier av cancermetabolism görs i cellodlingar och det finns goda skäl att vara försiktig med tolkningar av ti-

Ämne / läkemedel	Målmolekyl	Prövningsfas	Nr, figur
2-deoxyglukos	Hexoskinas	I - II	1
Lonidamin	Hexoskinas	III	1
TLN-232	Pyruvatkinas	Preklinisk	1
5-fluorouracil	Tymidylatsyntas	Godkänt läkemedel	2
Capecetabine (Xeloda)	Tymidylatsyntas	Godkänt läkemedel	2
Gemcitabine (Gemzar)	Ribonukleotidsyntas	Godkänt läkemedel	2
Temsirolimus	mTOR	Godkänt läkemedel	3
Ridaforolimus	mTOR	III	3
Metformin	AMP-beroende kinas (AMPK)	Godkänt läkemedel	3
GSK837149A	fettsyrasyntas (FAS)	Preklinisk	3
PX-478	Hypoxiinducerad faktor (HIF)	I	4
PX-866	fosfoinositol-3-kinas (PI3K)	II	5
Dikloracetat	pyruvatdehydrogenaskinas (PDK)	I-II	6

diga resultat från laboratoriet. Cancerceller odlas oftast i näringslösningar (medium) med 2–5 gånger högre näringshalt (framförallt sockerhalt) än fysiologiska nivåer, eftersom ny näring inte kan tillföras kontinuerligt, så att en tillräckligt stor "matsäck" krävs från början.

Av samma skäl når laboratoriekulturer snabbt höga halter av restprodukter som laktat, som i kroppsvävnad skulle bort-

föras av cirkulationen. Dessutom är cellodlingen förstås helt olik en tumör till form och funktion: cancerceller odlas vanligen som monolager, vilket ger alla celler generös kontakt med mediet, och vidare är syrehalten i mediet hög.

Denna miljö ger en snabb celltillväxt. En typisk cellodling dubblar sin massa på ett dygn in vitro, vilket är cirka fem gånger snabbare än tumörtillväxt i musmodeller. Cellodling

XGEVA®s effekt och säkerhet har utvärderats i jämförande studier med Zometa® (zoledronsyra) ¹⁻³

Resultat:

- Tiden till en första *och* efterföljande skelettrelaterade händelser var signifikant längre hos patienterna som behandlades med XGEVA®, jämfört med Zometa® ¹⁻³
- XGEVA® administreras som en subkutan injektion var 4:e vecka. Ingen dosjustering krävs för patienter med nedsatt njurfunktion¹

XGEVA®(denosumab) R_x F 120 mg injektionsvätska, lösning. ATC kod: M05BX04

Indikation: Förebyggande av skelettrelaterade händelser (patologisk fraktur, strålbehandling av skelettet, ryggmärgskompression eller skelettkirurgi) hos vuxna med skelettmetastaser från solida tumörer. För fullständig information vid förskrivning och produktresumé se www.fass.se. Datum för godkännande av produktresumén; augusti 2012

AMGEN

Oncology

Gustav III:s Boulevard 54
169 27 Solna, 08-695 11 00

Referenser:

1. XGEVA® Produktresumé, Amgen augusti 2012, www.fass.se
2. Stopeck AT, et al. J Clin Oncol. 2010;28:5132–5139.
3. Fizazi K, et al. Lancet. 2011;377:813–822.

DMO-SWE-AMG-427-2012- October-P

XGEVA®
(denosumab)

in vitro är alltså knappast en realistisk modell av en tumör. Å andra sidan är det svårt att mäta metabolism i tumörer, och vi vet mycket lite om hur den verkliga situationen ser ut. För att komma vidare behövs en väl avvägd kombination av laboratorieförsök, musmodeller och patientstudier.

Warburgs tidigare observationer gjordes i tunna snitt av tumörer som studerades i laboratoriet³, en teknik som sällan används i dag men som kanske förtjänar att återintroduceras som ett mellansteg mellan cellodling och djur- och patientstudier.

En mycket viktig faktor för att kunna gå från laboratoriefynd till kliniken är förstås att klarlägga hur specifikt ett enzym är för just cancerceller, jämfört med andra kroppsceller. Brist på specificitet orsakar biverkningar som i sin tur förhindrar att en dos tillräcklig för att utplåna cancerceller kan ges. Sökandet efter ämnen som specifikt bromsar cancercellers tillväxt, med så liten påverkan på normala celler som möjligt, är naturligtvis centralt i cancerforskning, och ändå saknar många studier normala celler som kontroller.

En orsak är att det inte är så enkelt att finna en lämplig "normal" cell att jämföra mot. I cellkulturstudier används ofta någon form av icke-malign celltyp (som inte bildar tumörer), men dessa är sällan primära normala celler, utan ofta någon sorts cellinje. I ett stort antal studier av tumörer har kringliggande normal vävnad använts för jämförelser, men denna vävnad är ofta inte proliferativ, och de proteiner som upptäcks i sådana studier är ofta inblandade i celldelning generellt.

Att bättre definiera cancerspecifika enzym är således en viktigt uppgift för framtida forskning inom cancermetabolism. Vi har i dag unika möjligheter att klara av denna uppgift, då studier med storskaliga mättekniker som introducerats under de senaste decenniet har byggt upp enorma mängder data över cellinjer, musmodeller och tumörer. Systematiska jämförande studier av dessa data kan ge ledtrådar till en ny generation av målmolekyler med bättre cancerspecificitet.

"Trots många år av studier är cancercellens metabolism fortfarande ett mysterium."

FRAMTIDSUTSIKTER

Trots många år av studier är cancercellens metabolism fortfarande ett mysterium. Ett skäl till detta är att metabolism är mycket svårt att mäta. För att verkligen förstå cellens ämnesomsättning som helhet måste vi kunna mäta aktivitet hos de hundratals enzymer som tillsammans möjliggör biosyntes och celldelning.

Detta har hittills varit mycket svårt, men på senare år har vi sett en fantastisk utveckling inom mätinstrument, främst så kallad masspektrometri, som nu ger oss helt nya möjligheter att studera cancermetabolism i stor skala. Där vi tidigare har varit begränsade till att studera ett enzym i taget kommer vi snart att kunna se hur ett stort antal enzymer samverkar i cancerceller.

De första studierna med tidiga versioner av denna nya teknik har påvisat att tidigare utforskade grenar av metabolismen är viktiga för cancerceller. Bland annat pekar ett antal nya studier på att aminosyror som serin och glycin är centrala för att möjliggöra cancercellväxt, och pågående forskning söker nu finna de specifika enzym som ligger bakom effekten⁹.

Dessa tekniska landvinningar kommer i framtiden att ge oss nya möjligheter att finna enzym som är mer specifika för cancerceller jämfört med normala celler och på längre sikt, förhoppningsvis, en ny generation cancerläkemedel.

REFERENSER

1. Yan, H. et al., 2009. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *New England Journal of Medicine*, 360, pp.765–773.
2. Hopkins, A.L. & Groom, C.R., 2002. The druggable genome. *Nature Reviews Drug discovery*, 1(9), pp.727–30.
3. Warburg, O., 1924. Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Naturwissenschaften*, 12(50), pp.1131–1137.
4. Weinhouse, S., 1972. Glycolysis, respiration, and anomalous gene expression in experimental hepatomas: G.H.A. Clowes memorial lecture. *Cancer research*, 32(10), pp.2007–16.
5. Maschek, G. et al., 2004. 2-deoxy-D-glucose increases the efficacy of adriamycin and paclitaxel in human osteosarcoma and non-small cell lung cancers in vivo. *Cancer research*, 64(1), pp.31–34.
6. Farber, S. et al., 1948. Temporary remissions in acute leukemia in children produced by folic acid antagonist, 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin). *New England Journal of Medicine*, 238(23), pp.787–793.
7. Zhang, S. et al., 2007. Gene silencing of TKTL1 by RNAi inhibits cell proliferation in human hepatoma cells. *Cancer letters*, 253(1), pp.108–14.
8. Jiralspong, S. et al., 2009. Metformin and pathologic complete responses to neoadjuvant chemotherapy in diabetic patients with breast cancer. *Journal of clinical oncology*, 27(20), pp.3297–302.
9. Jain, M & Nilsson R. et al., 2012. Metabolite Profiling Identifies a Key Role for Glycine in Rapid Cancer Cell Proliferation. *Science*, 336(6084), pp.1040–1044.

ROLAND NILSSON, FORSKARASSISTENT, CENTRUM FÖR MOLEKYLÄR MEDICIN, KAROLINSKA INSTITUTET, SOLNA
ROLAND.NILSSON@KI.SE

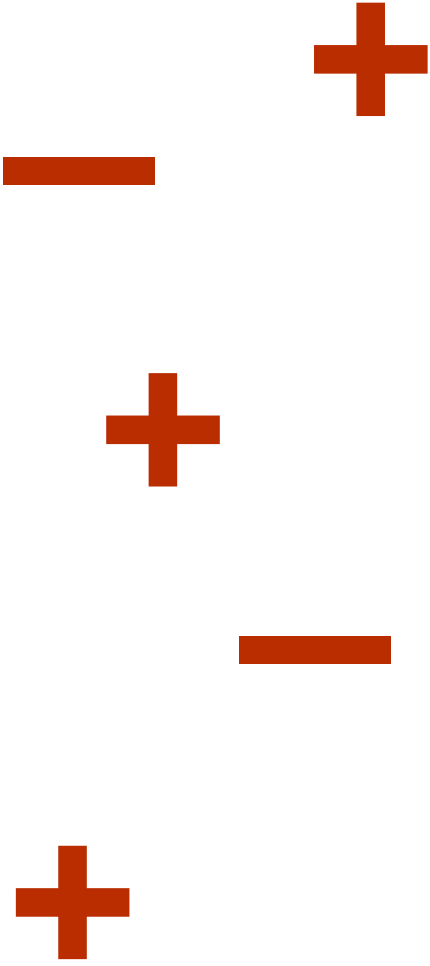


10



**TUMÖRASSOCIERADE
MAKROFAGERS ROLL**

Cancerassocierad inflammation korrelerar starkt till ökad tumörtillväxt och metastasering. Detta beror främst på proangiogena tumörassocierade makrofager, så kallade TAMs, som påverkar onormal kärlnybildning och hämmar immunceller som normalt är toxiska för tumörceller. Proinflammatoriska makrofager hämmar däremot tumörtillväxt genom att aktivera immunceller. Att minska förekomsten av proangiogena TAMs till förmån för proinflammatoriska makrofager kan därför vara en ny potentiell behandlingsstrategi, skriver här docent **Charlotte Rolny**, Karolinska institutet, Stockholm, vars forskargrupp studerar kommunikation mellan leukocyter och tumörceller.



Vi är främst intresserade av inflammationsmedierad tumörtillväxt och metastatisk spridning.

Vårt huvudsakliga fokus är kommunikationen mellan olika grupper av leukocyter (T-celler, NK-celler och makrofager) och tumörceller. Bland annat studerar vi regleringen av kärlfunktionalitet genom att polarisera immuncellerna från en proangiogen till en angiostatisk fenotyp, vilket kan leda till hämning av metastaser. Vi studerar också hur hämningen av TAMs kan leda till en ökad aktivering av NK-celler och T-celler.

Vårt forskningsprogram sträcker sig från traditionell tumörimmunologi till tumörangiogenes och tumörutveckling och metastatisk spridning. Målet är att identifiera nya mekanismer som styr metastasering i olika experimentella bröstcancermodeller och lokal invasion i gliommodeller. Mekanismerna kommer sedan att verifieras i patientmaterial, så att vi kan identifiera nya strategier för att hämma spridning av tumörceller.

INDUKTION AV ANGIOGENESEN

Tumörkärler är oftast dysfunktionella, permeabla och inadekvat perfuserade vilket resulterar i ojämn syresättning

och hypoxi. Hypoxiinducerade tumörceller producerar proangiogena tillväxtfaktorer och cytokiner som stimulerar nya kärl att bildas från redan existerande, som VEGF (vascular endothelial factor), TNF- α (tumor necrosis factor), IL-8 (interleukin-8) och bFGF (fibroblast growth factor), det vill säga tumörangiogenes.

För att tumören ska kunna växa mer än en kvadratmillimeter krävs tumörangiogenes. Denna upptäckt ledde till en omfattande sökning av molekyler som hämmar tumörkärltillväxt. Det har visat sig att även om denna strategi ger önskad effekt i början av en behandlingskur, det vill säga en minskning av tumören, ger de flesta antiangiogena behandlingar sekundära bieffekter.

Förlängd behandling med de antiangiogena behandlingar som finns tillgängliga i dag leder exempelvis till kärlregression, vilket snarare leder till minskad än ökad tumörperfusion och, under vissa omständigheter, även kan gynna tumorspridning¹. Uppluckring av endotelcellsväggen leder till att tumörcellerna lätt tar sig igenom tumörkärlsväggen, och de kan därmed sprida sig till andra organ (metastasera).

I TUMÖRPROGRESSION

Det betyder att antiangiogen behandling visserligen leder till att tumören blir mindre men att man samtidigt får oönskade biverkningar som leder till ökad metastasering. Förutom att antiangiogena behandlingar riktade mot VEGF inducerar metastasering ger denna behandling sällan hållbar tumörrespons, varken i försök på möss eller behandling av patienter.

Resistens mot anti-VEGF-terapi har kopplats till aktivering av VEGF-oberoende signalvägar inklusive FGF, PDGF (platelet-derived growth factor) och angioptiner².

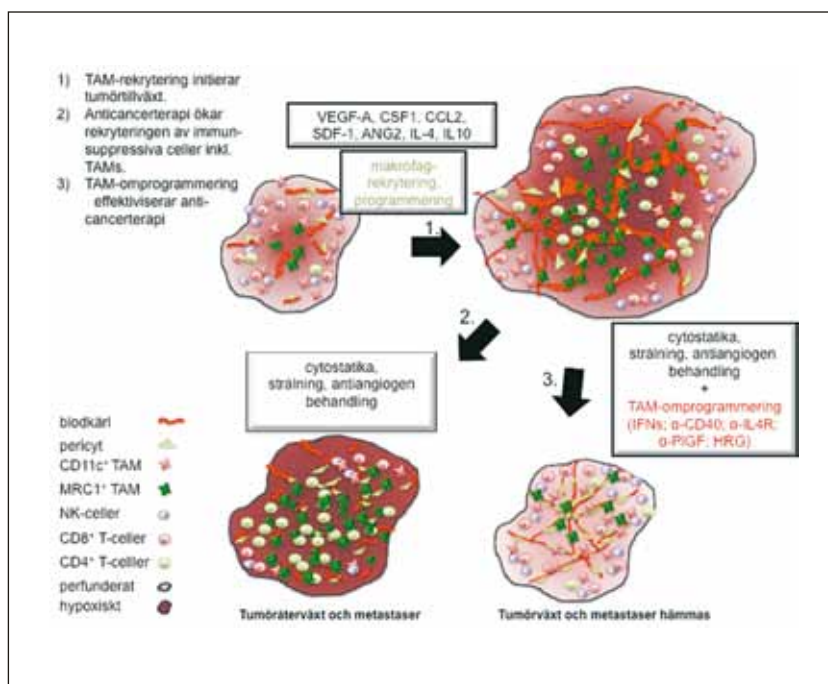
Dessa proangiogena faktorer kan övervinna eller kringgå effekterna av antiangiogen terapi och provocera VEGF-oberoende tumörvaskularisering. Det har därför blivit viktigt att kunna hitta nya strategier som normaliserar kärlen, tätar endotelcellsbarriären, ökar blodflödet och som leder till att anticancerterapi når ut till hela tumören och därmed kan hämma tumörtillväxt och metastasering effektivt.

TUMÖRASSOCIERADE MAKROFAGER

Neoplastiska celler producerar förhöjda nivåer av cytokiner som exempelvis CCL2 (chemokine CC motif ligand 2), CSF-1 (colony stimulating factor 1), SDF-1 (stromal-derived factor-1) och tillväxtfaktorn ANG2 (angiopoietin 2). Dessa faktorer rekryterar monocytter från det lokala kärlsystemet, som sedan differentieras ut till makrofager i tumören och således kallas tumörassocierade makrofager (TAMs) (figur 1). Makrofagerna migrerar främst till hypoxiska områden där de börjar uttrycka VEGF, som i sin tur attraherar fler TAMs. Det resulterar i "the angiogenic switch" som gör det möjligt för tumören att bli mer än ett par kvadratmillimeter. Denna tidiga rekrytering av makrofager till neoplastiska celler kan liknas vid en akut vävnadsskada.

Om leukocyterna som rekryteras till tumören inte kan utrota den tidiga neoplastiska tumören etableras ett tillstånd som speglar en kronisk inflammation. Det finns starka bevis för att cancerassocierad inflammation kan kopplas till ökad tumörtillväxt och metastasering. Makrofager infiltrerar de flesta cancerformer och ackumuleras i dåligt vaskulariserade och nekrotiska områden

INFLAMMATIONSMEDIERAD TUMÖRTILLVÄXT I MUSMODELLER



Figur 1. Schematisk bild som sammanfattar forskning runt inflammationsmedierad tumörtillväxt i musmodeller det senaste decenniet.

1. Rekryteringen av makrofager till tumören. Dessa initierar tumörangiogenes, tumörtillväxt och metastasering.

2. Konventionell anticancerterapi leder ofta till att tumören minskar men samtidigt blir mer "patologisk" med ökad hypoxi, nekros, rekrytering av M2-makrofager och T-regulatoriska celler. Tumören blir resistent mot anticancerbehandlingen, vilket leder till tumöråterväxt och ökad metastasering.

3. Konventionell anticancerterapi tillsammans med immunterapi leder till en Th1-respons som normaliserar mikromiljön, vilket leder till att tumören befinner sig ett vilande tillstånd där tumören inte växer och metastaserar.

"Det finns starka bevis för att cancerassocierad inflammation kan kopplas till ökad tumörtillväxt och metastasering."

men återfinns även runt blodkärlen. Vid exempelvis bröstcancer kan makrofager representera mer än 50 procent av tumörmassan².

Hypoxin i dåligt vaskulariserade områden inducerar makrofager att producera angiogenesmodulerande enzymer och inhibitorer, som reglerar nedbrytning av den extracellulära matrisen, inklusive matrismetalloproteinaser (MMP), uPA (plasmin, urokinasemimetyp plasminogenaktivator) och uPA-receptorn. Relevansen av MMP-9 visas i en

transgen musmodell för livmoderhalscancer, där hämning av MMP-9 i makrofager blockerade frisättningen av VEGF och därigenom hämmade angiogenes och tumörtillväxt.

En annan angiogen faktor som produceras av TAMs, uPA, bidrar till att den extracellulära matrisen som krävs för att initiera vaskulär invasion bryts ned. uPA och dess receptor uppregleras vid bröstcancer och korrelerar till hög kärldensitet och dålig prognos i bröstcancerkoorter³.

MAKROFAGER OCH METASTASERING

Antalet TAMs korrelerar med ökad metastatisk spridning i lymfkörtlarna och/eller bildandet av mer avlägsna metastaser vid exempelvis bröstcancer, vilket implicerar makrofager i tumörcellsinvasivitet. Makrofager finns ofta där det finns tecken på tumörcellsinvasivitet och där basalmembranet har brutits ner.

Denna upptäckt ledde till antagandet att makrofager främjar migrationen av tumörceller ut från den primära tumören genom basalmembranet. Det vill säga makrofagerna skapar en proinvasiv mikromiljö som ökar tillgången till kärl- och lymfsystemet för tumörcellerna, och ökar därmed deras metastaserande kapacitet.

I en experimentell brösttumörmodell, MMTV-PyMT transgena möss, i vilken uttrycket av onkogenen drivs av en promotor för musbrösttumörvirus, har man funnit att om man blockerar makrofagrekryteringsgenen CSF-1 hämmar man tumörangiogenes och metastasering till lunga.

Det motsatta är också sant, det vill säga om man överuttrycker CSF-1 accelereras tumörutveckling och malign progression genom att öka makrofagrekryteringen. Detta beror dels på att tumörcellernas produktion av CSF-1 stimulerar makrofager att migrera och att producera epidermal tillväxtfaktor (EGF), som i sin tur aktiverar migration i tumörcellerna att intravasera blodkärlen och ta sig ut i cirkulationen. Blockering av antingen EGF eller CSF-1-signalering resulterar i hämning av migrerande monocyter och tumörceller. Vilket kanske skulle kunna förklara varför imatinib har varit så framgångsrik i HER2-positiv bröstcancer⁴.

De proangiogena egenskaper som TAMs innehar kan hjälpa till att förklara korrelationen mellan antalet TAMs och dålig prognos av många tumörtyper. Men det finns också fall där antalet makrofager korrelerar till att bra prognos. Man kan nu förklara dessa motstridiga data med att det inte bara är antalet makrofager som är viktiga för tumörprogression men att makrofagfenotypen det vill säga de protumoral eller antitumoral egenskaperna spelar roll.

Exempelvis har vi och andra visat att genom att polarisera makrofager från en protumoral fenotyp till en antitumör fe-

notyp kan både tumörtillväxt och metastasering hämmas^{5,6}.

M2- ELLER M1-MAKROFAGER

TAMs klassificeras som makrofager av den alternativt aktiverade fenotypen (MRC1-positiva makrofager – M2-makrofager enligt paradigmet). Klassiskt aktiverade makrofager däremot begränsar tumörtillväxt (CD11c-positiva makrofager – M1-makrofager enligt paradigmet).

Inflammatoriska monocyter rekryteras normalt i ett tidigt skede av inflammation och tros ge upphov till M1-makrofager medan residenta monocyter rekryteras i ett senare skede och tros ge upphov till proangiogena M2-makrofager. När makrofagerna rekryteras i ett tidigt skede polariseras makrofagerna till M2-makrofager av tumörderiverade faktorer inklusive IL4 (figur 1)³.

Makrofager kan uppvisa direkt cytotoxicitet mot tumörceller genom att producera cytotoxiska molekyler, som tumörnekrosfaktor-alfa (TNF- α), och kväveoxid samt genom att stimulera lymfocytrespons via presentationen av tumörassocierade antigener och produktion av interleukin-12 (IL12).

Makrofager från friska vävnader är kapabla att presentera tumörassocierade antigener, lysera tumörceller och stimulera antitumörfunktioner hos T-celler och NK-celler. I tumörens mikromiljö saknar de flesta makrofager dessa aktiviteter på grund av att de är polariserade till M2-makrofager (figur 1).

M1-makrofager aktiveras normalt som svar på mikrobiella produkter eller interferon- γ -produktion, och betraktas som potenta effektorceller som dödar mikroorganismer och tumörceller genom sin höga produktion av kväveoxid. Dessutom främjar M1-makrofager differentiering av naiva CD4-positiva T-celler till antitumoral Th1-effektorceller och Th17-celler. M1-makrofager producerar även stora mängder proinflammatoriska cytokiner (interleukiner), som IL-12 och IL-23 och fungerar som antigenpresenterande celler för att aktivera cytotoxiska CD8-positiva T-celler².

De alternativt polariserade M2-makrofagerna aktiveras av IL-4, IL-10 och/eller IL-13. M2-makrofager stimulerar differentiering av naiva CD4-positiva Th1-celler till Th2-celler/T-regulatoriska

celler som är immunsuppressiva och hämmar aktivering av cytotoxiska CD8-positiva T-celler och NK-celler. M2-makrofager utsöndrar också kemokiner och enzymer som påverkar funktionen av antigenpresenterande celler, som B-celler och dendritiska celler. Exempelvis hindrar IL-10-produktionen från M2-makrofager utmognad av dendritiska celler och förhindrar produktion av den proinflammatoriska cytokinen IL-12, som stimulerar både proliferation och cytotoxiciteten av T-celler och NK-celler³.

M2-makrofagers proangiogena egenskaper beror till viss del på att de utsöndrar tillväxtfaktorer och metalloproteaser. Även om monocyter allmänt betraktas ge upphov till blivande TAMs är det ännu inte klart vilken av de två huvudsakliga cirkulerande (inflammatoriska) monocytterna eller residenta (proangiogena) monocytterna som utgör den viktigaste källan till TAMs hos möss.

LEUKOCYTER BIDRAR TILL RESISTENS

Tumörceller påverkar inte endast immunförsvaret genom polariserande makrofager in situ, utan man har också visat att rekryteringen av cirkulerande proangiogena leukocyter med protumoral egenskaper bidrar till resistens av klassisk antiangiogen terapi. Således är det fortfarande oklart i vilken utsträckning M1/M2-polarisering sker in situ eller genom rekrytering av olika hematopoetiska subpopulationer.

Exempelvis har man visat att proangiogena monocyter som betecknas TEMs (Tie2 expressing monocytes) rekryteras specifikt till tumören och inte till tumörfria organ och kan identifieras genom en uppsättning ytmarkörer (LYVE1, Tie2, MRC1, CD163, TLR4 som skiljer dem från TAMs). Möss med tumörer där TEMs har depleterats uppvisar upp till 80 procent reduktion i tumörangiogenes och tumörtillväxt^{6,7}. Man har därtill visat att det är ANG2 som specifikt rekryterar TEMs till tumören.

Polarisering av protumoral M2-makrofager till en antitumoral fenotyp (M1), representerar sålunda en attraktiv antitumoral strategi. I detta avseende kunde vi nyligen identifiera nya funktioner för PlGF (placental growth factor) i tumörtillväxt. Behandling av tre olika tumörtyper – bröstcancer, pankreas-

cer och fibrosarkom – med HRG (histidine-rich glycoprotein) hämmar PlGF-uttryck specifikt i monocytter.

Nedreglering av intrakrina nivåer av PlGF polariserade makrofager från en M2-makrofag till en M1-fenotyp. Polarisering av makrofagerna ledde inte bara till aktivering av NK-celler, cytotoxiska T-celler och dendritiska celler, vilket resulterade i restriktion av tumörtillväxt.

Men dessa M1-makrofager visade sig också vara angiostatiska och de normaliserade tumörvaskulaturen (figur 2), vilket ökade effektiviteten att leverera kemoterapi till tumören vid suboptimala/icke toxiska nivåer. Således erhöles en ny koppling mellan makrofagpolarisering och kärlfunktionalitet⁷.

MAKROFAGER SOM BIOMARKÖRER

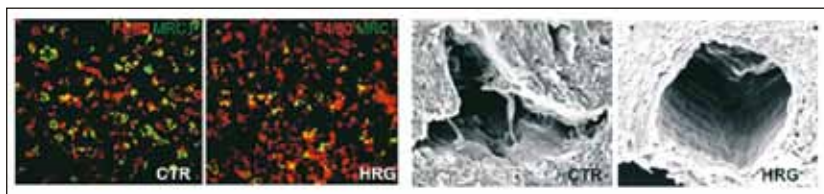
Makrofagers komplexa funktioner i humancancer har fortfarande inte blivit fastställda. Man vet med stor säkerhet att antalet makrofager i human cancer oftast korrelerar med dålig prognos i tumörtyper som Hodgkins lymfom, bröst-, sköldkörtel- och levercancer².

Men det motsatta är visat för andra cancerformer som till exempel i lung-, prostata- och koloncancer. Detta kan bero på att den specifika tumörtyper kan påverka makrofager och andra leukocyter att bli mer eller mindre protumoral. Till exempel har man nyligen visat att ett högt antal makrofager som uttrycker M1-markören Nos2 korrelerar till bättre prognos i koloncancer⁸.

I bröstcancer har man fastställt att makrofagmarkören CD68 (ett endosomalt glykoprotein) är den bästa prediktiva biomarkören för riskstratifiering och överlevnad för bröstcancer⁴. Upptäckten att antalet makrofager ofta korrelerar med kärldensitet, antyder att dessa celler utövar direkt proangiogena funktioner även i humana tumörer. Men man måste komma ihåg att CD68 inte bara uttrycks på makrofager utan också på fibroblaster⁹. Det är därför viktigt att färga även för CD163 som uttrycks på M2-makrofager och Nos2 som uttrycks på M1-makrofager⁸.

Man har nyligen i en stor kohort av bröstcancerpatienter identifierat en "leukocytSignatur" som kan förutsäga patientens sannolikhet att svara framgångsrikt på cytotoxisk kemoterapi. Denna studie undersökte CD68-positiva

HRG POLARISERAR TAMS FRÅN EN M2-FENOTYP TILL EN M1-FENOTYP



Figur 2. Det vänstra bildparet visar färgning av pankreascancer för F4/80 (totalmängden makrofager, röd) och MRC1 (M2-makrofager, grön). Infärgningen avslöjar att tumörer som behandlats med HRG (histidine-rich glycoprotein) uppvisar färre M2-makrofager jämfört med kontrollen. Det högra grå bildparet visar elektronmikroskopi i pankreascancer. Onormalt tumörkärl i kontrolltumören och normaliserade kärl i tumör som har blivit behandlad med HRG.

”Makrofagerna skapar en proinvasiv mikromiljö som ökar tillgången till kärl- och lymfsystemet för tumörcellerna.”

makrofager liksom cytotoxiska T-lymfocyter och CD4-positiva T-celler i tumörer och fann att kombinationen av ett högt antal CD68-positiva makrofager/CD4-positiva T-celler och ett lågt antal cytotoxiska T-lymfocyter identifierar en population patienter med hög risk för att utveckla metastaser.

Det omvända är också sant, det vill säga patienter med få CD68-positiva makrofager/CD4-positiva T-celler och högt antal av cytotoxiska T-lymfocyter ger en gynnsammare prognos^{4,10}. Man har visat liknande resultat i kolorektalcancer det vill säga en intratumoral Th1-respons leder till bättre överlevnad¹¹.

MAKROFAGER I ANTICANCERTERAPI

Under det senaste decenniet har man kunnat visa att strålning och cytostatika ökar benmärgsderiverade celler att rekryteras till tumören i såväl experimentella som i humana tumörer. Experimentella glioblastom som har genomgått strålning uppvisar exempelvis en ökad rekrytering av benmärgsceller som är CD11b-positiva (myeloida celler).

75 procent av dessa benmärgsceller uttryckte den makrofagspecifika markören F4/80 och 50 procent av dessa celler uttryckte den TEM-specifika markören, Tie2. Blockering av TAM- och TEM-rekryteringsfaktorn SDF1 hämmade rekrytering av benmärgsceller till de bestrålade tumörerna. Hämmningen av benmärgsceller ledde till att tumören inte

revaskulariserade och återhämtade sig lika snabbt som icke behandlade tumörer.

Förvånande nog var anti-SDF1-behandlingen effektivare än anti-VEGF-behandlingen. Vissa cytostatika har liknande effekt på makrofagrekryteringen till tumören som strålning och antiangiogen behandling har. Man har bland annat visat att bröstcancer i möss som har behandlats med paklitaxel ökar rekrytering av TEMs och TAMS till tumörområdet.

Liknande fynd har hittats i patienter med Hodgkins lymfom, det vill säga högt antal makrofager korrelerar till förkortad progressionsfri överlevnad och resistens mot konventionella anticancerbehandlingar¹².

Överraskande nog har också motsatsen visats i en kohort av bröstcancerpatienter som har blivit behandlade med neoadjuvant cytostatika. Dessa patienter uppvisar en hög intratumoral CD8/CD4-kvot jämfört med patienter som bara har fått ett kirurgiskt ingrepp. Cytostatikan polariserade alltså i detta fall immunförsvaret mot en Th1-antitumoral respons⁹.

Flera strategier som använder sig av makrofagrekrytering till tumören exploateras nu för att framställa nya läkemedel. En hypotes som forskare arbetar efter är att använda TAMS för genterapi. Rekryteringen av TAMS till hypoxiska områden i tumörer och det faktum att

makrofager inte hyser maligna mutationer, och därmed är mycket mindre benägna att utveckla resistens, gör dem till ett bra mål för riktad genterapi mot annars i stort sett oåtkomliga områden av tumörer.

Idealiskt skulle detta nya tillvägagångssätt göras genom att isolera autologa monocytter från en given patient, differentierade till makrofager ex vivo, transfekterad med en hypoxiaktiverad terapeutisk gen för att sedan ges tillbaka till patienten. De transfekterade makrofagerna kan sedan tas upp från blodet till den primära tumören (och eventuella sekundära tumörer på andra ställen i kroppen) och ansamlas i hypoxiska tumörområden, där de skulle uttrycka den terapeutiska genen¹³.

EN LOVANDE STRATEGI

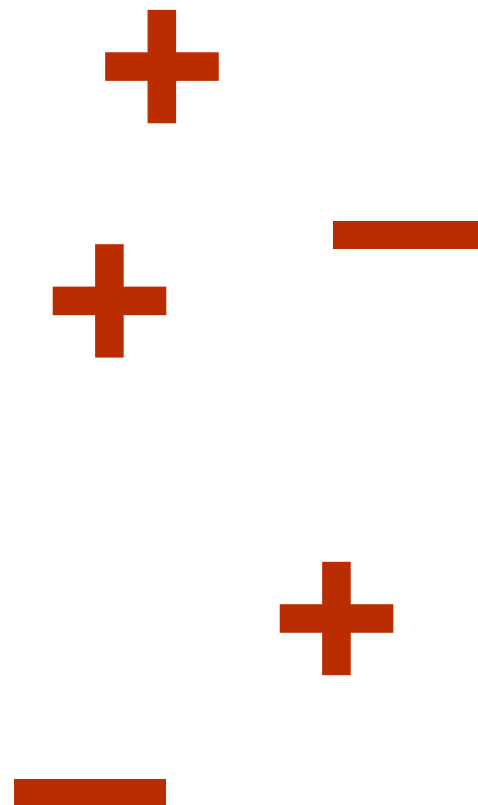
Andra attraktiva strategier är bland annat hämning av monocytrekrytering till tumören, utrotning av makrofager som har ansamlats i tumören, neutralisering av viktiga molekyler som utsöndras av TAMs och förebyggande och/eller omorientering av M2-makrofager till en M1-makrofagfenotyp.

En studie från KI visade nyligen att 600 mg aspirin per dag i 25 månader skyddar mot att utveckla kolorektalcancer. En av anledningarna är troligen att aspirin verkar som ett skydd mot kronisk inflammation, vilken påverkar tumörutveckling positivt¹⁴.

Sammantaget tyder dessa studier på att anticancerterapi riktad mot TAMs representerar en lovande strategi för att hämma överdriven och dysfunktionell angiogenes i tumörer och att förbättra överlevnaden för cancerpatienter genom att sensibilisera tumörer för att framgångsrikt svara på standard cancerbehandlingar. Men det behövs naturligtvis fler kliniska studier där man utvärderar TAMs roll i human cancer både som prognostiska och prediktiva markörer samt som en ny terapeutiskt strategi.

REFERENSER

1. Ebos, J. M. et al. Accelerated metastasis after short-term treatment with a potent inhibitor of tumor angiogenesis. *Cancer Cell* 15, 232-239 (2009).
2. Squadrito, M. L. & De Palma, M. Macrophage regulation of tumor angiogenesis: implications for cancer therapy. *Molecular aspects of medicine* 32, 123-145 (2011).
3. Ruffell, B., Affara, N. I. & Coussens, L. M. Differential macrophage programming in the tumor microenvironment. *Trends in immunology* 33, 119-126 (2012).
4. DeNardo, D. G. et al. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer discovery* 1, 54-67 (2011).
5. Rolny, C. et al. HRG inhibits tumor growth and metastasis by inducing macrophage polarization and vessel normalization through downregulation of PlGF. *Cancer Cell* 19 (2011).
6. De Palma, M. et al. Tumor-targeted interferon-alpha delivery by Tie2-expressing monocytes inhibits tumor growth and metastasis. *Cancer Cell* 14, 299-311, (2008).
7. Pucci, F. et al. A distinguishing gene signature shared by tumor-infiltrating Tie2-expressing monocytes (TEMs), blood «resident» monocytes and embryonic macrophages suggests common functions and developmental relationships. *Blood*, (2009).
8. Edin, S. et al. The distribution of macrophages with a m1 or m2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer. *PLoS One* 7, (2012).
9. Ruffell, B. et al. Leukocyte composition of human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109, 2796-2801 (2012).
10. Rody, A. et al. A clinically relevant gene signature in triple negative and basal-like breast cancer. *Breast cancer research : BCR* 13, R97, (2011).
11. Camus, M. et al. Coordination of intratumoral immune reaction and human colorectal cancer recurrence. *Cancer Res* 69, 2685-2693 (2009).
12. Steidl, C. et al. Tumor-associated macrophages and survival in classic Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 362, 875-885 (2010).
13. Caraglia, M. et al. Tumour-specific uptake of anti-cancer drugs: the future is here. *Current drug metabolism* 13, 4-21 (2012).
14. Burn, J. et al. Long-term effect of aspirin on cancer risk in carriers of hereditary colorectal cancer: an analysis from the CAPP2 randomised controlled trial. *Lancet* 378, 2081-2087 (2011).



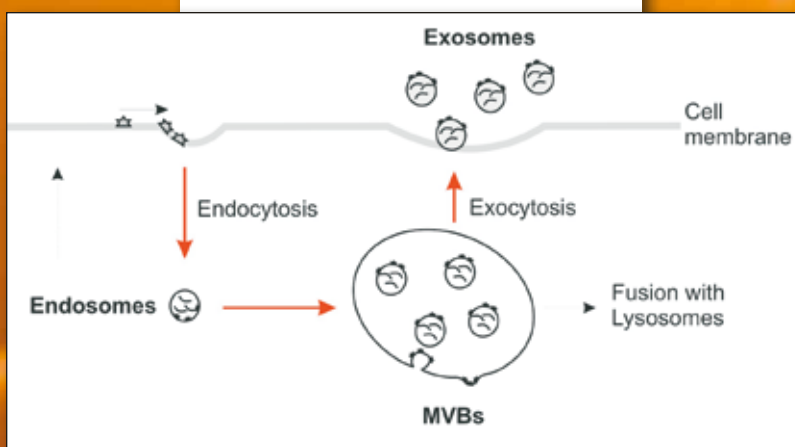
CHARLOTTE ROLNY, DOCENT, INSTITUTIONEN FÖR ONKOLOGI-PATOLOGI, KAROLINSKA INSTITUTET, STOCKHOLM
CHARLOTTE.ROLNY@KI.SE

De flesta celltyper kan kommunicera med varandra genom att frisätta exosomer, små vesiklar som innehåller RNA. Forskning visar att exosomvesiklar från människa också kan användas som gentransportmedel (vektor) i terapeutiskt syfte, exempelvis för att påverka uttrycket av ett protein i en cancercell. Cellbiologen **Hadi Valadi** vid Göteborgs universitet, som forskar inom exosomer, presenterar här sitt forskningsområde.

I människokroppen sker kommunikation mellan celler (cellsignaler) på flera olika sätt. Exosomer är en relativt nyupptäckt struktur som också deltar i denna process. Exosomer är ytterst små vesiklar (50–100 nm) som kan frisättas av de flesta celltyper, som B-celler, T-celler, dendritiska celler och tumörceller. De förekommer naturligt i kroppsvätskor som blod, saliv och urin.

Exosomproduktionen startar när protein i cellmembranet bildar tidiga endosomer och sedan formar intracellulära vesiklar, vanligen kallade multi vesicular bodies, MVBs (figur 1). Dessa MVBs kan därefter antingen brytas ned av lysosomer eller smälta samman med plasmamembranet, och utsöndra sitt innehåll i den extracellulära miljön i form av exosomer. Därigenom kan celler leverera intracellulära molekyler till den extracellulära miljön och i förlängningen kommunicera med andra celler.

EXOSOMPRODUKTION I CELLEN



Figur 1. En schematisk representation av exosomproduktion: Protein i cellmembranet bildar tidiga endosomer, som sedan formar intracellulära vesiklar, MVBs. Dessa bryts antingen ned av lysosomer eller smälter samman med plasmamembranet, och utsöndrar sitt innehåll i den extracellulära miljön i form av exosomer.

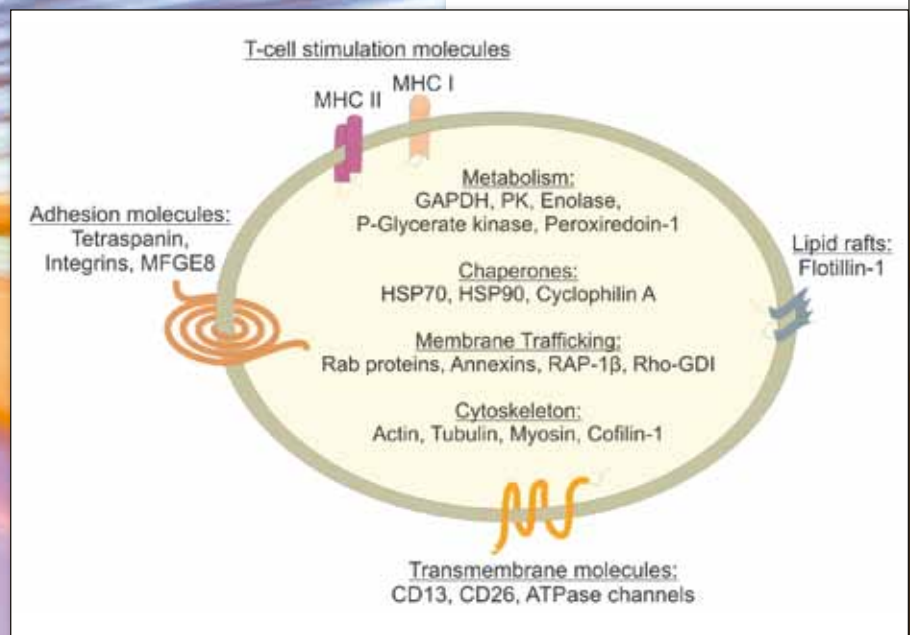
Exosomernas proteininnehåll beror till stor del på deras cellulära ursprung. Exempel på proteiner som kan återfinnas i exosomer är adhesionsmolekyler (tetraspaniner, lactadherin och intergriner), proteiner involverade i membrantransport (annexiner och Rab-proteiner), cytoskelettprotein (aktin och tubulin),

Exosomer transporterar RNA mellan celler

proteiner involverade i MVB-bildning (Alix, Tsg101 och clathrin), chaperoner (Hsp70 och Hsp90), proteiner involverade i signaltransduktion (proteinkinaser, 14-3-3 och heterotrimeriska G-proteiner) och vissa cytoplasmatiske enzymer (GAPDH, peroxidaser och pyruvatkinaser).

Antigenpresenterande celler utsöndrar exosomer som innehåller antigenpresenterande molekyler, som MHC och co-stimulatory molekyler (figur 2). Exosomer från tumörceller, så kallade tumörexosomer, innehåller tumörspecifika antigen och vissa immunsuppressiva proteiner som FasL, TRAIL eller TGF- β som härstammar från modercellerna (tumörcellerna).

PROTEINER SOM KAN FINNAS I EXOSOMER



Figur 2. En schematisk representation av proteiner som kan återfinnas i exosomvesiklar. Förklaringar: MHC = major histocompatibility complex; MFGE8 = milk fat globule-EGF factor 8 protein; CD13 = alanyl (membran) aminopeptidas; CD26 = dipeptidylpeptidas 4; P-glycerate kinase = phosphoglycerate kinase; HSP70 = heat shock 70kDa protein; HSP90 = heat shock 90kDa protein; RAP-1 β = Ras-related protein-1 β ; Rho-GDI = Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha.

EXOSOMBASERADE CANCERVACCIN

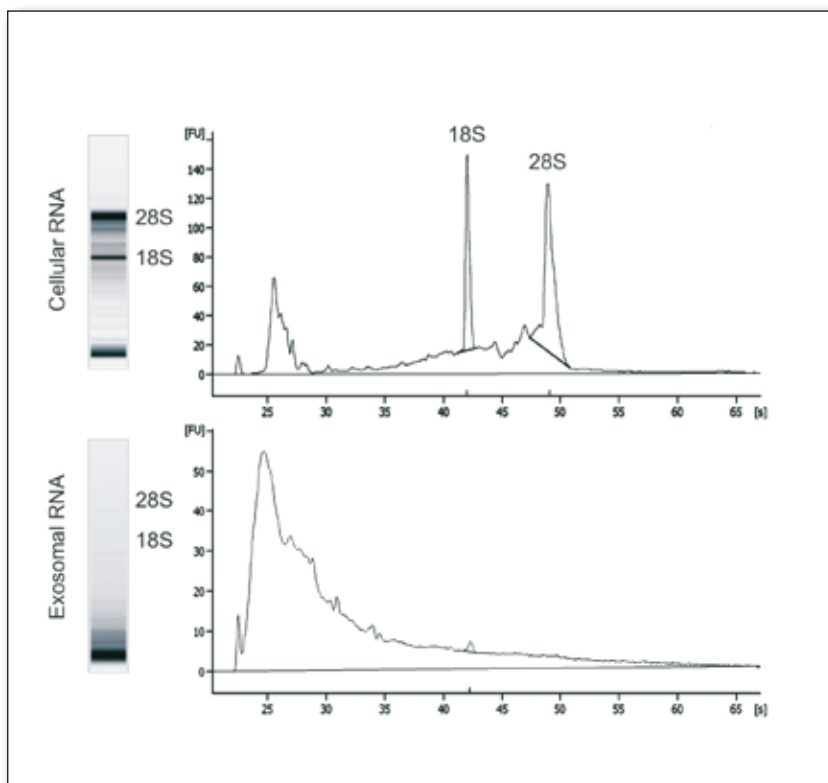
Exosomer från tumörceller innehåller en högre halt av tumörantigen som Melan-A², Silv³, carcinoembryoniskt antigen (CEA)⁴ och mesotelin⁵ än deras moder-celler. I och med att de flesta tumörceller utsöndrar exosomer som innehåller tumörantigen har förhoppningar väckts om att kunna utveckla ett exosombaserat cancertvaccin.

Det finns redan ett lovande cancertvaccinprojekt i vilket exosomer används⁶. I vaccinationsprojektet tillförs dendritiska celler (DC) med exosomer som bär på tumörantigener. Detta resulterar i att tumörantigener överförs till dendritiska celler som i sin tur kan inducera CD8-positiva T-celler in vivo hos möss. I ett liknande mänskligt ex vivo modellsystem har dendritiska celler som tillförts exosomer från maligna utgjutningar kunnat presentera antigenen från tumörexosomer för cytotoxiska T-lymfocyter (CTL). På det sättet kan man framkalla specifik CD8-positiv CTL-respons mot autologa tumörceller hos patienter med maligna gliom.

”Celler kan leverera intracellulära molekyler till den extracellulära miljön och i förlängningen kommunicera med andra celler.”

Man har också undersökt möjligheten att höja antitumörimmunitet hos patienter, direkt (utan att använda DCs), med hjälp av tumörexosomer. Det har rapporterats att dessa exosomer kunde inducera antitumörsvär när exosomproducerande celler är modifierade för att uttrycka proinflammatoriska cytokiner som IL-18, IL-12 och IL-2, eller när dessa celler utsätts för olika typer av stress. Till exempel utsöndrar lymfomceller, som utsätts för värmechock exosomer med en förhöjd nivå av MHC (MHC I och II – major histocompatibility complex) och costimulerande molekyler.

JÄMFÖRELSE CELLULÄRT OCH EXOSOMALT RNA



Figur 3. En jämförelse mellan cellulärt och exosomalt RNA. Exosomvesiklar saknar nästan alla typer av rRNA (ribosomalt RNA; 18S- och 28S-rRNA), men innehåller en stor mängd korta RNA. Toppar som inträffar vid ett lägre s-värde indikerar närvaro av små RNA i provet. Förklaringar: vertikal axel (FU) = mängd RNA (absorberade fluorescens); horisontell axel (s) = tid (sekunder).

Dessa exosomer kan i sin tur inducera antitumörimmunitet medierad av T-celler. En annan studie har visat att exosomer från cancerceller som utsatts för värmechock, innehåller förhöjda nivåer av Hsp70 och inducerar Th1-immunsvar, vilket är en MHC-oberoende antitumörimmunitet, både in vitro och in vivo hos möss. Vidare finns det också rapporter att genetiskt modifierade tumörexosomer som försetts med membranbunden Hsp70 kan stimulera Th1 och CTL-antitumörimmunitet mer effektivt jämfört med exosomer som kommer från värmechockbehandlade tumörceller⁷.

Dessa lovande resultat från olika djurförsök har lett fram till flera kliniska prövningar som befinner sig i fas I. I de flesta fall används tumörexosomer direkt eller i samband med dendritiska celler som cancertvaccin⁶.

IMMUNSUPPRESSIVA EXOSOMER

Cancerceller påverkar generellt mikromiljön och funktionen hos immunsystemet via cell-till-cell-kontakt och genom frigörande av suppressiva faktorer. Tumörcellerna producerar exosomer och man har lyckats identifiera olika typer av immunsuppressiva effekter hos dessa tumörexosomer. Dessa exosomer kan direkt hämma aktiviteten hos effektor-T-celler. Vissa tumörcellinjer kan producera exosomer som bär på ligander såsom FasL och TRAIL, vilka kan utlösa apoptos (inducerad celledöd) hos aktiverade T-celler.

I själva verket tyder mycket på att tumörexosomer som cirkulerar i blod och befinner sig i maligna utgjutningar är förknippade med sjukdomens olika stadier och utvecklingen av cancerceller (progression av cancer). Det är fortfarande inte helt klarlagt huruvida produktionen av exosomer från tumörceller är fördelaktig eller skadlig för tumörceller-

nas överlevnad in vivo men ett flertal studier på senare tid har lagt fram starka bevis att tumörexosomer förhindrar kroppens antitumörimmunsvär och främjar tumörbildning.

Förutom att tumörexosomer verkar hjälpa tumörceller att överleva den så kallade immunologiska övervakningen (immunosurveillance), kan dessa vesiklar också vara till stöd för tumörinvasion och metastasering (tumor invasion and metastasis). Genom att stimulera angiogenes och remodulera stromaceller, kan exosomer från tumörceller skapa en lämplig mikromiljö för metastasering på avstånd från modertumören.

Proteomikanalyser av exosomer som härstammar från malignt mesoteliom har visat förekomst av starka angiogena faktorer som kan öka den vaskulära utvecklingen i närheten av tumören. I samband med dessa observationer, rapporterades det att möss som förbehandlades med melanomexosomer har ökad melanommetastasering i lungan¹.

NÄRVARO AV RNA I EXOSOMER

Med hjälp av en ny metod lyckades vi år 2007 identifiera cirka 170 olika proteiner från exosomer⁸. Vi upptäckte att en del av de exosomala proteinerna var associerade med RNA. Vår hypotes var att dessa vesiklar innehåller någon typ av genetiskt material. Extraktion av både RNA och DNA från exosomer visade att dessa vesiklar saknade alla typer av DNA-molekyler, medan vi lyckades identifiera en väsentlig mängd RNA i exosomerna⁸ (figur 3). En närmare analys av RNA-molekylerna visade att exosomalt RNA nästan fullständigt saknade alla typer av ribosomalt RNA (rRNA; 18S- och 28S-rRNA), men innehöll en stor mängd korta RNA-molekyler och budbärar-RNA (mRNA).

Vi använde oss av Affymetrix DNA microarray för att identifiera mRNA-innehållet i exosomerna. Resultaten visade att exosomer bär på cirka 4 000 olika mRNA, vilket var ungefär 20 procent av det totala mRNA som identifierades i deras moderceller. Genprofilanalys visade väsentliga skillnader i nivån av mRNA-transkript mellan exosomalt RNA och deras moderceller.

Intressant nog upptäckte vi 270 gen-transkript som var unika i exosomerna. Uttrycket av dessa mRNA kunde inte

detekteras i deras moderceller. En nätverksbaserad analys visade att dessa exosomala transkript var involverade i cellutveckling, proteinsyntes, RNA posttranskriptionell modifikation, cellsignaler och cancer.

För att undersöka funktionaliteten hos det exosomala mRNA:et, isolerade vi total-RNA från exosomer, transkriberade detta till proteiner in vitro och separerade proteinerna via 2D-PAGE. Resultatet visade att exosomer bär på intakt och funktionellt mRNA som kan ge upphov till proteinproduktion i närvaro av ett funktionellt proteinmaskineri⁸.

Eftersom en stor mängd av det exosomala RNA:et består av korta RNA-molekyler, undersökte vi närvaron av mikroRNA (miRNA) i exosomerna med hjälp av en microRNA chip array (miRCURY LNA Array; www.exiqon.com). Resultaten visade att exosomer bär på cirka 140 olika miRNA⁸ – nya resultat visar att exosomer innehåller upp till 500 olika miRNA.

En mycket intressant iakttagelse var upptäckten att uttrycket av miRNA i exosomer skilde sig från det miRNA som identifierades i deras moderceller. Dessa resultat indikerar att visst RNA produceras i celler för att lokaliseras specifikt till exosomer.

EXOSOMER TRANSPORTERAR RNA

I och med att exosomer från en cell kan tas upp av andra celler, blev vår hypotes att celler använder dessa vesiklar för att skicka genetiska signaler (RNA) till varandra. För att undersöka huruvida exosomer kan överföra RNA till en annan cell, odlade vi exosomproducerande celler i närvaro av radioaktiv ³H-uridin⁸. Det innebär att allt nyproducerat RNA blir radioaktivt inmärkt. Exosomer med radioaktivt RNA isolerades, överfördes till olika mottagarceller, varefter överföringen av RNA från exosomer till mottagarceller undersöktes med hjälp av scintillationsräkning. Resultaten visade att exosomer är kapabla att överföra RNA från donatorceller till mottagarceller.

Det finns också idéer om att använda exosomvesiklar som vektor (bärare) vid genterapi. Genterapi har kapacitet att angripa orsaken till genetiska sjukdomar snarare än symtomen. Trots löftet om RNA-interferens (RNAi) och dess potentiella användning inom genterapi, ex-

empelvis för användning vid cancerterapi, måste flera tekniska hinder först övervinnas. Det stora hindret av RNAi-baserad terapi är att överföra främmande nukleinsyror över cellens plasmamembran. En framgångsrik genterapi behöver en säker och effektiv vektor för att överföra främmande RNA/DNA-molekyler in i målceller in vivo.

Två typer av vektorer (viral och icke-viral vektorer) används redan i stor utsträckning inom genterapi. En online-sökning (december 2011) av National Institutes of Health databas (<http://clinicaltrials.gov/ct2/home>), som ger tillgång till information om kliniska prövningar i USA visar att majoriteten av de 262 pågående kliniska prövningar inom genterapi utnyttjar viral vektorer och ett fåtal liposomer som vektor.

Emellertid har dessa olika vektorer (virus och liposomer) inte varit så effektiva för behandling av sjukdomar delvis på grund av att de riskerar att aktivera patientens immunförsvar och delvis på grund av att det inte kunnat riktas mot en specifik celltyp, som exempelvis tumörcellerna. Risken med viral vektorer accentuerades då en 18-årig patient avled när hon behandlades med en adenovirusvektor för att korrigera partiell OTC-brist (ornithine transcarbamylase)⁹.

Eftersom exosomer från människa på ett naturligt sätt kan överföra genetiskt material (RNA) till celler, resonerade vi att dessa nanovesiklar kan vara en lämplig vektor för genterapi, för att överföra terapeutiskt RNA eller DNA till målceller som cancerceller. Det är sannolikt mer fördelaktigt att använda exosomer från patientens egna celler som bärare av terapeutiskt genetiskt material till celler.

ELEKTROPORERING EN BRA METOD

I vårt senaste arbete med exosomer försökte vi införa främmande genetiskt material (siRNA, short interference RNA) i exosomvesiklar som härstammade från humant blod och två humana cellinjer¹⁰. Dessa modifierade vesiklar skulle fungera som vektorer för att transportera siRNA:et till målceller från humant blod. Två olika strategier, elektroporering och kemisk transfektion, användes för att överföra det exogena siRNA:et in i mänskliga exosomer.

Våra resultat visade att elektroporering är en lämplig metod för att intro-

ducera främmande genetiskt material (siRNA) i exosomer. Vi optimerade metoden med avseende på volt, kapacitans och koncentrationerna av siRNA och exosomer.

Efter att ha identifierat de optimala parametrarna för överföring av siRNA till exosomer, fördes olika siRNA in i exosomer från människa (exempelvis exosomer från humant blod)¹⁰. Dessa exosomer blandades senare med blodceller (PBMC) och transporten av siRNA:et från exosomer till blodcellerna undersöktes med hjälp av FACS, konfokalmikroskopi och northern blot.

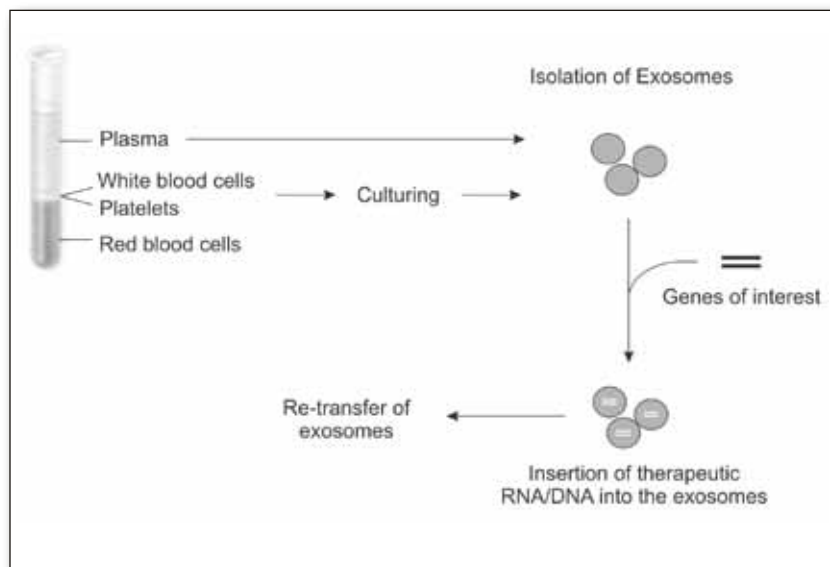
Våra resultat visade att exosomer från människa kan användas som vektor för överföring av siRNA till monocyter och lymfocyter. siRNA:et som överfördes till blodceller via exosomer kunde lokaliseras i cytoplasman hos mottagarcellerna. Mest anmärkningsvärt var emellertid att det siRNA som överförts till cellerna via exosomer var funktionellt och orsakade post-transkriptionell genreglering i mottagarcellerna.

Vi har lyckats hämma produktionen av MAPK1 (mitogen activated protein kinase 1) hos monocyter och lymfocyter genom att överföra siRNA till dessa celler med hjälp av exosomer från humant blod¹⁰. Dessa data tyder på att humana exosomer kan användas som ett gentransportmedel (vektor) för att förse celler (exempelvis cancerceller) med heterologa nukleinsyror som terapeutiska siRNA (figur 4).

EXOSOMINNEHÅLL SOM BIOMARKÖRER

Då RNA- och proteininnehållet i exosomer till stor del beror på deras cellulära ursprung finns redan flera studier som undersöker möjligheten att använda dessa molekyler som biomarkörer för att följa sjukdomstillstånd och behandlingseffekter hos olika patienter. Dessa vesiklar kan lätt isoleras från olika kroppsvätskor (blod, urin, saliv och bröstmjölk) och deras RNA och protein kan vara en ovärderlig skatt för diagnostik av svår-detekterade sjukdomar.

EXOSOMER SOM GENTRANSPORTMEDEL



Figur 4. Exosomvesiklar från människa kan användas som gentransportmedel (vektor) för att förse celler (exempelvis cancerceller) med heterologa nukleinsyror som terapeutiska siRNA. Överföring av siRNA till celler resulterar i sänkta nivåer av ett specifikt målprotein och har ofta hämmande effekter på den signalväg som målproteinet är involverat i.

REFERENSER

1. Yang, C. and Robbins, P.D. (2011) The roles of tumor-derived exosomes in cancer pathogenesis. *Clinical & developmental immunology*, 2011, 842849.
2. Andre, F., Scharzt, N.E., Movassagh, M., Flament, C., Pautier, P., Morice, P., Pomel, C., Lhomme, C., Escudier, B., Le Chevalier, T. et al. (2002) Malignant effusions and immunogenic tumour-derived exosomes. *Lancet*, 360, 295-305.
3. Wolfers, J., Lozier, A., Raposo, G., Regnault, A., Thery, C., Masurier, C., Flament, C., Pouzieux, S., Faure, F., Tursz, T. et al. (2001) Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat Med*, 7, 297-303.
4. Dai, S., Wan, T., Wang, B., Zhou, X., Xiu, F., Chen, T., Wu, Y. and Cao, X. (2005) More efficient induction of HLA-A*0201-restricted and carcinoembryonic antigen (CEA)-specific CTL response by immunization with exosomes prepared from heat-stressed CEA-positive tumor cells. *Clin Cancer Res*, 11, 7554-7563.
5. Clayton, A., Mitchell, J.P., Court, J., Mason, M.D. and Tabi, Z. (2007) Human tumor-derived exosomes selectively impair lymphocyte responses to interleukin-2. *Cancer Res*, 67, 7458-7466.
6. Zeelenberg, I.S., Ostrowski, M., Krumeich, S., Bobrie, A., Jancic, C., Boissonnas, A., Delcayre, A., Le Pecq, J.B., Combadiere, B., Amigorena, S. et al. (2008) Targeting tumor antigens to secreted membrane vesicles in vivo induces efficient antitumor immune responses. *Cancer Res*, 68, 1228-1235.
7. Filipazzi, P., Burdek, M., Villa, A., Rivoltini, L. and Huber, V. (2012) Recent advances on the role of tumor exosomes in immunosuppression and disease progression. *Semin Cancer Biol*, 22, 342-349.
8. Valadi, H., Ekstrom, K., Bossios, A., Sjostrand, M., Lee, J.J. and Lotvall, J.O. (2007) Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol*, 9, 654-659.
9. Lehrman, S. (1999) Virus treatment questioned after gene therapy death. *Nature*, 401, 517-518.
10. Wahlgren, J., Karlson Tde, L., Brisslert, M., Vaziri Sani, F., Telemo, E., Sunnerhagen, P. and Valadi, H. (2012) Plasma exosomes can deliver exogenous short interfering RNA to monocytes and lymphocytes. *Nucleic Acids Res*, 40, e130.

HADI VALADI, FILOSOFIE DOKTOR, AVDELNINGEN FÖR REUMATOLOGI OCH INFLAMMATIONSFORSKNING, GÖTEBORGS UNIVERSITET, GÖTEBORG, HADI.VALADI@GU.SE



11

6: E STATE OF THE ART-SYMPOSIET



State of the Art-symposiet för bröstcancer, dag 1

DIGITAL PATOLOGI GÖR PREPARATEN TILLGÄNGLIGA I NÄTVERK

Det sjätte nationella State of the Art-symposiet om bröstcancer lockade 450 deltagare från hela Sverige. Deltagarna fick bland annat en genomgång av digital patologi som erbjuder möjlighet att lämna mikroskopet för bildskärmen samtidigt som preparaten blir tillgängliga över nätverk. Här presenterar överläkare **Birgitta Wallberg** och bitr överläkare **Judith Bjöhle**, Radiumhemmet, Karolinska universitetssjukhuset, symposiets första dag.

State of the Art-symposiet för bröstcancer arrangerades i år av Svenska bröstcancergruppen, SweBCG, tillsammans med Linköpings universitetssjukhus. Det var det sjätte mötet i ordningen och lockade över 450 deltagare från hela Sverige. SweBCG driver nationella bröstcancerstudier och deltar i internationella bröstcancerstudier. Gruppens kanske viktigaste uppgift är att utarbeta och ständigt uppdatera det nationella vårdprogrammet för bröstcancer.

Värdar för mötet var professor **Charlotta Dabrosin** och docent **Lars-Gunnar Arnesson** från Linköping tillsammans med SweBCG:s ordförande professor **Jonas Bergh**, Stockholm.

Mötet inleddes med en översiktsföreläsning under rubriken "35 års erfarenhet av mammografiscreening, en ny era i diagnostik och behandling av bröstcancer" av professor emeritus **Laszlo Tabar**. Han presenterade data från 29 års uppföljning i W-E studien (från Kopparbergs- och Östergötlands län), som var först ut med mammografiscreening i Sverige.

De tre följande föreläsningarna handlade om multimodalitetsdiagnostik av bröstsjukdomar.

RAPPORT FRÅN KVA-GRUPPNA

• **Dorte Grabau**, patolog och överläkare vid Skånes universitetssjukhus i Lund, redogjorde för KVA-grupperna (Kvalitets- och standardiseringskommittéer) inom Svensk förening för patologi. Grupperna utarbetar KVA-dokument för olika organ, bland annat för bröstpatologi, med syfte att säkerställa att bröstcancerpatienter får lika bra bröstpatologi och analys av biomarkörer i Ystad som i Luleå.

I Nationella cancerstrategin 2009 underströk man patientperspektivet vilket innebar att bröstpatologen ska säkerställa kvalitet av morfologi och biomarkörer som underlag för terapibeslut, delta i multidisciplinära konferenser och underlätta kommunikation mellan specialiteterna genom att standardisera remisser och svar.

Alla bröstcancrar är olika och unika och det är patologens uppgift att klassificera dem på olika sätt, att se gemen-

samma morfologiska drag (duktal, lobulär och andra) för histologisk klassificering och gradering (Elston-Ellis grad I, II eller III).

Biomarkörer i rutindiagnostiken är immunhistokemisk färgning för östrogen- och progesteronreceptorn (ER och PR), antigenet HER2 och proliferationsmarkören Ki-67. Baserat på dessa biomarkörer görs en klassificering i molekylär subtyp: luminal A, luminal B, luminal B HER2-amplifierad, HER2-amplifierad och trippelnegativ.

Grundat på patologens besked om radikalitet, lymfkörtelstatus, tumörstorlek, histopatologisk typ och grad samt resultat på biomarkörer fattas terapibeslut vid multidisciplinär konferens. Det är oerhört viktigt att analyserna håller hög och likvärdig kvalitet i hela landet för att varje bröstcancerpatient ska få samma behandling oavsett var hon bor i landet. Förutsättningarna finns om alla följer KVA-dokumentet.

DIGITAL PATOLOGI

• **Sten Thorstensson**, patolog och överläkare från Universitetssjukhuset i Lin-

köping, berättade om digital patologi vilket innebär att mikroskopibilden skannas in för att sedan granskas på bildskärm i stället för i mikroskopet. Bilderna blir också tillgängliga i digitala nätverk vilket gör det möjligt att granska preparat på distans. Långt från operationssalen kan man exempelvis granska fryssnitt av sentinel node. Sten Thorstensson har själv en arbetsstation i hemmet i Kalmar och kan granska preparat åt Linköping därifrån.

Kalmar var 1999 först i världen med det som kom att bli "Kalmarkonceptet" och som nu är driftsatt sedan 2008. I dag finns högvolumskannrar förutom i sydöstra regionen (Kalmar, Jönköping, Linköping), även i region Skåne, Västra Götalandsregionen, i Gävleborg, Umeå och Uppsala. Blekinge står näst på tur. Konceptet har mötts av ett stort internationellt intresse och man har haft studiebesök från Norge, Italien, Holland, Kina och Kanada.

Digital patologi är inte minst ur ergonomisk synvinkel en fördel för den som granskar preparatet. En av Sten Thorstenssons bilder visade en patolog sitta bekvämt tillbakalutad med en kopp kaffe samtidigt som han granskade bilden på datorns bildskärm genom att dra cursorn över skärmen. Jämför det med att sitta böjd över ett mikroskop och granska bilden i olika förstoringar genom att byta objektiv. Mätningen av marginaler, tumörstorlek, infiltrationsdjup blir enklare digitalt.

Metoden kommer att spara patologernas nackar, axlar och handleder från förslitningsskador och förhoppningsvis göra det lättare att rekrytera patologer. Man sparar också mycket arbete genom att man slipper plocka preparatglas in och ut ur skåp, packa glas upp och ner i väskor och bära med till konferenser. Framtidens konferenser sker utan glas.

Samarbete i digitala nätverk underlättar utbildning, konsultationer och kvalitetssäkring. Man kan lätt lägga upp veckans ST-fall till olika kliniker.



Det finns även nackdelar med digital patologi. Den ger stora datamängder som skapar lagringsproblem. Det går inte att fokusera igenom preparatet. Att skanna in preparaten i multipla fokalplan ökar skanningstiden, datavolymer och därmed kostnaden.

Svårast nu är att förbättra laboratoriernas precision, det kommer att kräva en stor insats.

Inskanning av preparat sker i glasskannrar dygnet runt i en automatiserad process. Mindre än en procent behöver skannas manuellt. Inskannade preparat blir direkt tillgängliga på servern för alla patologer inklusive "distanspatologer". 130 000 glas är nu inskannade. I Linköping finns två högvolumskannrar och en tredje är på gång.

Vid bröstcancer används digital pato-



logi för alla analyser – för tumörstorlek, marginaler, lymfkörtlar, ER, PR, proliferation (Ki-67) och HER2.

I år har ett konsortium av landstingen i Östergötland, Kalmar, Jönköping och Gävleborg samt CMIV i Linköping (Center of Medical Image Science and Visualisation), Sectra och Sverea i konkurrens vunnit ett Vinnovaprojekt omfattande 18 miljoner kronor med titeln:

”Optimerade flöden och IT-verktyg för digital patologi”. Det handlar om ett helhetsgrepp på digital patologi. Projektet ska vara klart inom två år. Det finns förhoppningar om att digital patologi kan bli en svensk exportprodukt.

• **Mårten Fernö**, professor i experimentell onkologi, Skånes universitetssjukhus i Lund, redogjorde för det viktiga arbete

som bedrivs av SweQA-bröstcancer (Swedish quality assurance) som bildades för fyra år sedan med hjälp av ett generöst bidrag från BRO. Syftet är att säkerställa hög kvalitet och god reproducerbarhet i analyserna av de prognostiska och behandlingsprediktiva faktorerna (ER, PR, Ki-67 och HER2) på alla patologavdelningar runt om i landet. Analysresultaten är avgörande för bröstcancerpatienten



ternas medicinska behandling (se vidare artikel i OiS 5/12). Efter lunch följde föreläsningar om kirurgisk och medicinsk behandling vid bröstcancer.

NÄR BEHÖVS AXILLUTRYMNING

• Behöver patienter med mikrometastaser i sentinel node (SN) genomgå axillutrymning? Denna fråga är högaktuell och oerhört viktig för våra bröstcancerpatienter då axillutrymning ökar risken för lymfödem och övrig armmorbidity. **Lisa Rydén**, docent och överläkare i kirurgi, Skånes universitetssjukhus i Lund, och **Lars-Gunnar Arnesson**, docent och överläkare i kirurgi, Universitetssjukhuset i Linköping, gav en översikt av publicerade studier, presenterade data från ett patientmaterial från Lund och från ett utdrag ur INCA-registret (informationsnätverk för cancervården).

Submikrometastas (isolerade tumörceller) föreligger vid storlek upp till 0,2 mm/200 celler, mikrometastas om metastasen är mellan 0,3 mm och 2 mm och makrometastas om metastasen är större än 2 mm. Submikrometastas klassificeras som N0 men både mikrometastas och makrometastas som N1. Förbättrad diagnostik av SN har medfört en stadiemigration vilket redovisats i en dansk studie av Tvedskov m.fl.

I ett patientmaterial på drygt 24 000 patienter fördelade på två tidsperioder, åren 1993–1996 respektive 2005–2008, ökade andelen patienter med mikrometastaser från 5,1 till 9,0 procent efter att SN infördes som rutiningrepp på 2000-talet. Flera studier visar att förekomsten av mikrometastaser har prognostisk betydelse och att adjuvant behandling ger signifikant bättre sjuk-

domsfri överlevnad även vid mikrometastaser. I en italiensk studie av Galimberti m.fl. var risken att utveckla enbart axillrecidiv 1,6 procent, enbart lokalrecidiv 2,6 procent och både axill- och lokalrecidiv 0,5 procent som första händelse om man avstod från axillutrymning.

Hur vanligt är det att man i Sverige hittar ytterligare metastaser vid axillutrymning om det finns mikrometastaser i SN?

I INCA fanns 33 314 bröstcancrar registrerade från 2008 till maj 2012. 69 procent hade genomgått SN. Nästan 25 procent av dem (5 694 patienter) hade metastaser i SN varav 6 procent var mikrometastaser. Majoriteten av patienterna som hade mikrometastas i SN hade enbart en och hos dessa fann man ytterligare metastaser vid axillutrymning hos

21 procent av patienterna. Om det däremot fanns en makrometastas i SN var risken att hitta flera metastaser vid axillutrymning mycket större, 38 procent. Med ökat antal mikro- eller makrometastaser i SN ökar risken för att hitta flera metastaser vid axillutrymning.

I ett annat patientmaterial med 2 500 patienter som opererats med SN från 2003 till 2010 fann man att fyra procent hade mikrometastaser och att 22 procent av dessa hade ytterligare metastaser vid axillutrymning. Vare sig tumörstorlek, histopatologisk grad eller typ korrelerar med ökad risk för ytterligare metastasering men däremot gav antalet mikrometastaser och lymfovaskulär invasion signifikant ökad risk att hitta fler metastaser vid axillutrymning.

Ett patientmaterial från Lund presenterades. Under åren 2001–2011 opererades 1 428 patienter med SN. 757 av dessa hade screeningupptäckta cancrar och 701 kliniskt upptäckta. Bland de screeningupptäckta hade åtta procent mikrometastaser i axillen och bland de kliniskt upptäckta 12 procent. Alla genomgick kompletterande axillutrymning och hos de med en mikrometastas fann man ytterligare metastas hos 5 procent av screeningpatienterna men vid kliniskt upptäckta ytterligare metastas hos 24 procent.

Fortsatt strategi? Frågan är om man skulle kunna låta bli att göra kompletterande axillutrymning för vissa patienter, de med små screeningupptäckta tumörer? Standardbehandling i dag är kompletterande axillutrymning. Planering pågår för en svensk randomiserad studie. Man räknar med att 1 800 patienter opereras med SN per år och då tar det cirka tre år att inkludera tillräckligt med patienter och vi har resultat om 5–10 år.

ONKOPLASTIKKIRURGI

• **Catharina Eriksen**, med dr och överläkare i kirurgi, S:t Görans sjukhus och Södersjukhuset i Stockholm, inledde

med att definiera begreppet onkoplastik som innebär att man kombinerar onkologisk bröstkirurgi med rekonstruktiv bröstkirurgisk teknik. Hon poängterade att onkologisk säkerhet måste ha högsta prioritet oavsett vilken typ av kirurgi som kommer ifråga men även att ett estetiskt bra resultat är av största vikt inte minst för patientens självkänsla.

När, hur och av vem? Bröstrekonstruktion kan ske primärt vid bröstcanceroperation eller sekundärt. Implantat eller autolog vävnad kan användas och den kan utföras av bröst/plastik/onkoplastikkirurger.

Onkologisk säkerhet? I ett Stockholmsmaterial, Eriksen m.fl. med 300 primärt rekonstruerade patienter har man jämfört med icke-rekonstruerade kontroller såväl vad gäller tid till start av olika adjuvanta behandlingar, komplikationer, patientens första återfall (lokalt, regionalt eller fjärrmetastaser) och överlevnad. Det var ingen signifikant skillnad i något avseende och slutsatsen blev att det är lika säkert att rekonstruera primärt som att enbart mastektomera. Det finns ett flertal studier som visat samma resultat. Flera studier har visat att strålbehandling postoperativt efter primär rekonstruktion innebär stor risk för kapselkontraktur, varierande frekvens mellan 30–80 procent.

Den onkologiska säkerheten vid sekundär rekonstruktion med egen vävnad är mindre studerad och mera osäker. I en studie med 125 patienter och 185 kontrollpatienter av Isen m.fl. fann man efter 12 års uppföljning en signifikant ökad risk för återfall. Det poängterades att fler studier behövs.

Föreläsarens slutsats var att alla kvinnor som genomgår mastektomi och saknar kontraindikationer ska erbjudas primär rekonstruktion. Som kontraindikationer angavs lokalt avancerad cancer, mental instabilitet och osäkerhet gällande ingreppet hos patienten. Övervikt, diabetes och rökning omnämndes som relativa kontraindikationer och slutligen

lämnades ett frågetecken gällande ålder och postoperativ strålbehandling.

Hur ser det ut i landet? Under de tre senaste åren har knappt 20 procent i Stockholm genomgått primär rekonstruktion och om man tittar på genomsnittet för hela Sverige är det bara drygt fem procent. Hur ska man då möjliggöra att fler kvinnor kan erbjudas primär rekonstruktion? Föreläsaren såg en möjlighet i att fler bröstkirurger genomgår sidoutbildning i onkoplastik för att bli ackrediterade i onkoplastik vilket skulle innebära att fler kvinnor kan erbjudas primär rekonstruktion och andra typer av onkoplastiska ingrepp.

BEHANDLING AV LYMFÖDEM

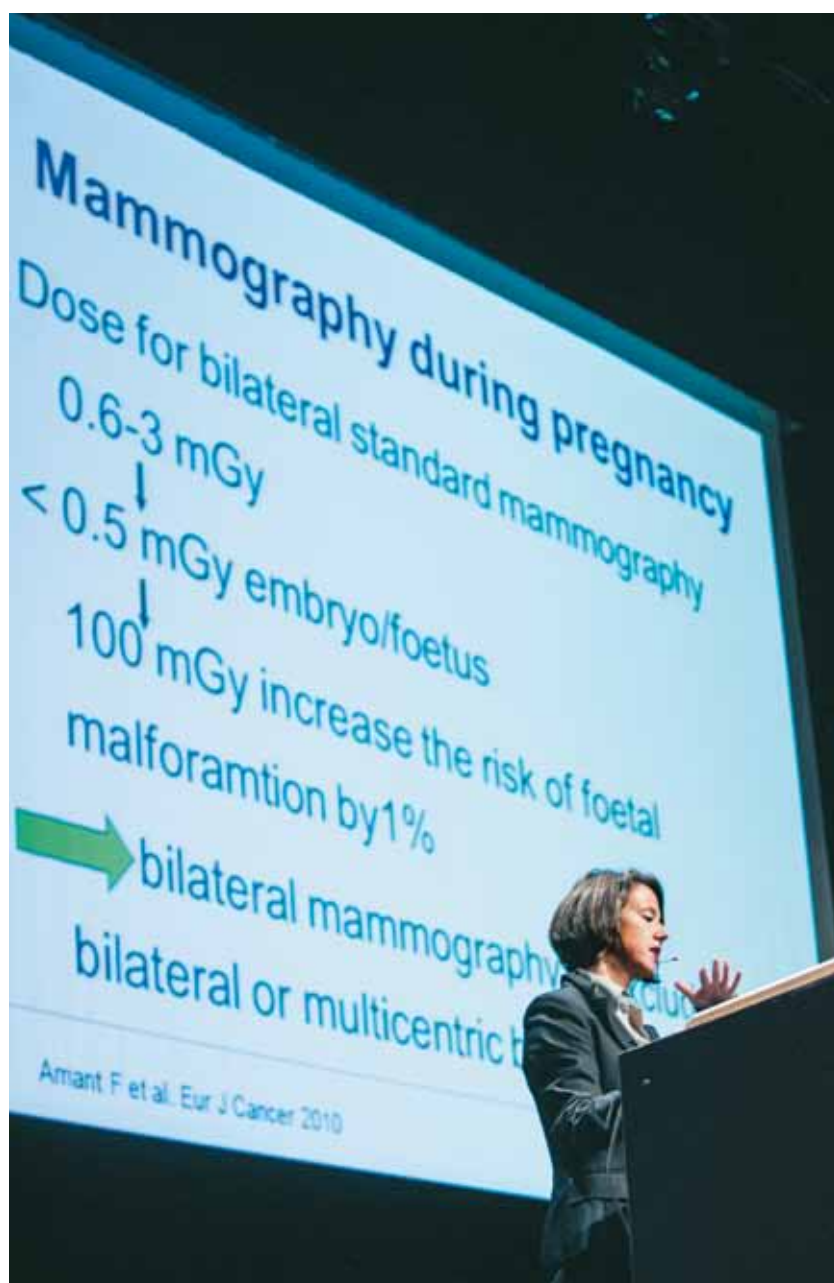
Nästa punkt på dagordningen var behandling av lymfödem. **Karin Johansson**, sjukgymnast och doktor i medicinsk vetenskap, Skånes universitetssjukhus, Lund gick igenom konservativ behandling av lymfödem och **Håkan Brorsson** plastikkirurg och docent, Skånes universitetssjukhus, Lund, berättade om kirurgisk behandling.

• Karin Johansson visade en bild på tre patienter med ödematösa armar från olika decennier. Patienten från 70-talet hade ett mycket kraftigt armödem och patienten från 90-talet hade en arm som var dubbelt så tjock som den andra armen. På patienten från 2010-talet syntes ödemet knappt.

Diagnosen ställs i dag genom volymmätning och mätning av omkretsen var fjärde centimeter. Båda armarna ska mätas och man räknar ut ödemet i ml och procent. Definitionen på lymfödem är konsistensökning i den subkutana vävnaden och mer än fem procent volymdifferens mellan armarna. Om det blir en grop i vävnaden när man trycker hårt med tummen på den svullna armen kallas det pittingödem, vilket är vanligt vid lymfödem.

Enligt en undersökning i Stockholm 2007 ger inte SN och strålbehandling av





Sibylle Loibl

brösten något lymfödem i armen. Axillutrymning och strålbehandling av bröstet ger lymfödem hos 20 procent. Men vid axillutrymning och strålbehandling av axillen ökar risken för lymfödem till mellan 35 och 40 procent. Siffran har varit oförändrad under 2000-talet.

Även risken för bröstödem ökar av strålbehandling. Enligt en studie i Lund hade 38 procent av patienterna ökad vätska i vävnaden före strålbehandling, vilket ökade till 50 procent efter strålbehandling.

Med tidig diagnos och behandling kan ödem efter axillkirurgi och strålbehandling mot axillen stabiliseras på en låg nivå. Utan behandling ökar ödemet med åren. Armödem behandlas konservativt i Sverige med kompressionsstrumpa, bandagering, manuellt lymfdränage och lymfpulsator.

Slutsatsen från Karin Johansson var att kompressionsstrumpa ska användas vid behov, vilket innebär vid symtom! Övervikt ger ökad risk för lymfödem och lymfödem minskar vid viktminskning.

- Håkan Brorsson fortsatte med att berätta om kirurgisk behandling med fettsugning av lymfödem. Det som sugts ut är till 90–100 procent fett!

Håkan Brorsson visade bilder på många armar före och efter behandling med fettsugning från en studie med 120 patienter. I medeltal sög man ut 1,6 liter. Ingen ytterligare försämring sågs efter fettsugning. Viktigt att använda kompressionsstrumpor vid symtom. Patienter ska följas med täta intervaller och få nya strumpor vid behov men också instrueras att tvätta strumporna ofta för att de ska hålla sin storlek och form.

Håkan Brorssons slutsats var att patienter med pittingödem ska behandlas konservativt. Om ödemet ändå ökar bör patienterna behandlas med fettsugning. I avsaknad av pittingödem är det fett som är problemet och då måste fettvävnaden bort.

NEOADJUVANT BÄTTRE ÄN ADJUVANT?

- Professor Sibylle Loibl, tyska bröstcancergruppen och universitetet i Frankfurt föreläste om neoadjuvant kemoterapi vid bröstcancer. Hon konstaterade att komplett histopatologisk remission har ökat under åren vilket betyder att behandlingarna har blivit effektivare.

Studier med sammanlagt 9 000 patienter visar att resultaten framför allt är bra för kvinnor under 40 år. Av kvinnor under 40 år med trippelnegativ bröst-

6: E STATE OF THE ART-SYMPOSIET





Jonas Bergh och ordf i BRO Elisabeth Nordström-Bergsten

”Digital patologi är inte minst ur ergonomisk synvinkel en fördel för den som granskar preparatet.”

cancer uppnåddes komplett remission i nästan 60 procent av fallen. Kvinnor med trippelnegativ bröstcancer ska ha mycket behandling enligt Sibylle Loibl. Trippelnegativ bröstcancer innebär avsaknad av ER, PR och HER2.

Andelen patienter som opereras med bröstbevarande kirurgi efter neoadjuvant behandling har inte ökat och är 60–65 procent. Studier visar också bra resultat av neoadjuvant behandling till kvinnor

med HER2-positiv bröstcancer och då med en kombination av kemoterapi och trastuzumab. Dubbel blockad av HER2 med ytterligare en antikroppsbehandling har visat sig vara ännu bättre.

Om utvärdering visar respons efter sex till 12 veckors behandling rekommenderade Sibylle Loibl att man fortsätter till 18 veckors behandling. Respons mäts kliniskt och med ultraljud. Patienter ska efter neoadjuvant behandling genomgå axillutrymning. Sentinel node biopsi är inte tillräckligt.

Alla ER- och PR-positiva ska få endokrin behandling och alla HER2-positiva ska fortsätta med trastuzumab i ett år. En tysk studie har visat bra effekt av bevacizumab i jämförelse mellan fyra kurer epirubicin + cyklofosamid + fyra kurer docetaxel med och utan bevacizumab. Särskilt trippelnegativa hade effekt av tillägg med bevacizumab.

MEDICINSK ADJUVANT BEHANDLING

• **Jonas Bergh**, professor och överläkare i onkologi, Karolinska universitetssjukhuset, Solna, gick igenom studier av medicinsk adjuvant behandling. Inledningsvis visade han att bröstcancerincidensen i Sverige fortsätter att öka varje år, 7 917 nya fall 2010, och att mortaliteten minskar, cirka 1 400 patienter senast men här finns en tendens till att den ökar igen. Samma mönster såg man vid nationella jämförelser där Sverige fortfarande är ledande vad gäller femårsöverlevnad men andra länder som Australien, Kanada, Norge och Danmark håller på att komma ifatt. Beror det på att jämförbara länder satsar mer på nya mediciner och organisation än vad Sverige gör? Frågan ställdes av föreläsaren.

Endokrin behandling

Tamoxifen är fortfarande hörnstenen vid behandling av ER-positiv sjukdom, ungefär 10 procent absolut vinst efter 15 år. Aromatashämmare, AI, reducerar absoluta risken med ytterligare fyra procent, men så här långt ingen signifikant överlevnadsvinst med AI jämfört med tamoxifen. Hur länge ska man ge endokrin behandling? Enligt MA-17-studien innebär det en viss vinst med att ge fem år letrozol efter fem år tamoxifen.

Resultat från ATLAS-studien, fem års tamoxifenbehandling jämfört med tio års tamoxifenbehandling kommer att presenteras i San Antonio nu i december 2012 och om man tolkar Jonas Bergh kommer resultaten att tala för att tio år är bättre än fem år. Standard i dag är fem års behandling.

Kemoterapi

När det gäller effekt av kemoterapi poängterades att studierna visar att alla har en likvärdig relativ behandlingseffekt oavsett ålder, stadium, histologisk grad och hormonreceptorstatus. Men när det gäller absolut risk beror den på prognos. Taxaninnehållande kemoterapi är bättre,

”Kvinnor som genomgår mastektomi och saknar kontra-indikationer ska erbjudas primär rekonstruktion.”

möjligen med undantag för regimer som innehåller höga antracyklindoser.

HER2-terapi

Vid HER2-positiv sjukdom är fortfarande trastuzumab i kombination med kemoterapi ”the drug of choice”. Lapatinib kombinerat med kemoterapi ger signifikant sämre behandlingsresultat. Den optimala behandlingens längden med trastuzumab är fortfarande inte helt klar men den vedertagna rekommendationen är ett år. Tillsammans med kemoterapi ger det ytterligare riskreduktion för död i bröstcancer med 25 procent.

Slutligen sammanfattade Jonas Bergh behandlingsrekommendationerna:

- Liten tumör, ER-positiv PR-positiv, lågt Ki-67 (luminal A, låg risk): *endokrin terapi*
- ER-positiv, PR-positiv med lymfkörtelmetastaser (luminal A, hög risk): *kemoterapi och endokrin terapi*
- ER och PR lägre nivåer, högt Ki-67 (luminal B): *kemoterapi och endokrin terapi*

- ER-negativ, PR-negativ och HER2-negativ (trippelnegativ): *kemoterapi*
- HER2-positiv (HER2-gruppen): *kemoterapi och trastuzumab*

NATIONELLA KVALITETSREGISTER-DATA

• Kerstin Sandelin, överläkare i kirurgi och docent, Karolinska universitetssjukhuset i Stockholm, redogjorde för nationella kvalitetsregisterdata. Målet är bättre kvalitet av vården för varje patient med bröstcancer. INCA (informationsnätverk för cancervården), RCC (regionalt cancercentrum) och SKL (Statens kommuner och landsting) arbetar alla tre mot samma mål. INCA har ersatt cancerregistret. SKL stöder INCA med 2,7 miljoner årligen.

Bröstcancerprocessen ska beskrivas från diagnos till behandling. Mellan 2008 och 2011 registrerades 31 853 patienter i INCA (www.cancercentrum.se). Täckningsgraden är nästan 100 procent tack vare en lång tradition av registrering i Sverige.

Registret består av fyra delar:

1. nyanmälda (från diagnos till behandlingsbeslut),
2. genomförd adjuvant behandling,
3. uppföljning med registrering av lokala, regionala återfall och fjärrmetastaser,
4. rekonstruktiv kirurgi/onkoplastik.

Årsrapporter ges ut, den fjärde är på väg bli publicerad. Man ser en positiv utveckling med stora likheter mellan regioner.

Andelen patienter som diskuteras vid multidisciplinär preoperativ konferens

ökar, i Stockholm-Gotlandregionen i stort sett alla patienter. För postoperativ konferens är andelen högre än för preoperativ konferens.

Bröstcancer opererades 2011 vid 51 sjukhus i Sverige. År 2008 var det 59 sjukhus och man vet att siffran kommer att fortsätta sjunka. Mer än 80 procent av alla bröstcanceroperationer görs med sentinel node-teknik (SN). Kliniker som inte kan göra SN har slutat operera bröstcancer.

Ett mål är att 60 procent av alla ska opereras med bröstbevarande kirurgi. Siffran för hela riket är nu 56 procent. På 90-talet var siffran högre, cirka 70 procent. Andelen minskar även internationellt, men man vet inte varför. Tumörstorlekens medianvärde är oförändrat 17 mm sedan många år.

I Stockholm-Gotlandregionen görs många fler primära rekonstruktioner än i andra regioner.

Ledtider från operation till svar på PAD är ofta för långa vilket uppmärksammas av Cancerfonden. Behövs reoperation blir tiden än längre. ”Det är beklagligt och en förändring krävs”, påpekade Kerstin Sandelin.

Planerad strålbehandling efter bröstbevarande kirurgi har ökat till 89 procent år 2011 från 85 procent 2008. Planerad kemoterapi varierar mellan 47 och 78 procent och där ligger Stockholm-Gotland högst.

Rapporteringen av postoperativ adjuvant behandling har nyligen kommit igång och varierar mycket, mellan 16 och 95 procent.

BIRGITTA WALLBERG, ÖVERLÄKARE, RADIUMHEMMET, KAROLINSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET, SOLNA, BIRGITTA.WALLBERG@KAROLINSKA.SE

JUDITH BJÖHLE, BITR. ÖVERLÄKARE, RADIUMHEMMET, KAROLINSKA UNIVERSITETSSJUKHUSET, SOLNA, JUDITH.BJOHLE@KAROLINSKA.SE

12

State of the Art-symposiet för bröstcancer, dag 2

LIVSSTIL STÄLLER BRÖSTCANCEREXPERTER INFÖR NYA UTMANINGAR

Behandling av gravida kvinnor som får bröstcancer och möjligheten för bröstcancersjuka att bli gravida efter sjukdomen. Det är några av de intressanta aspekter på bröstcancer där ändrade livsstilsmonster nu ställer vården och forskningen inför nya utmaningar. Frågorna togs upp under den andra dagen av det svenska State of the Art-symposiet i Linköping. Samtidigt blev det välbesökta mötet också en livlig arena för den högaktuella diskussionen om cancerpatienters tillgång till nya läkemedel.

Ett område där kunskapen utvecklats snabbt på senare år är diagnostik och behandling av bröstcancer hos gravida kvinnor. Professor Sibylle Loibl vid det tyska forskningsinstitutet German Breast Group är en av de ledande forskarna på området. Hon leder bland annat stora registerstudier som skapar vetenskapligt underlag för vården av gravida patienter med bröstcancer.

– Sammanfattningsvis bör gravida kvinnor med bröstcancer behandlas så likt icke gravida patienter som möjligt, sade Sibylle Loibl i sin presentation.

Hon konstaterade att bröstcancervården nu möter allt fler patienter som är gravida, vilket till stor del beror på att kvinnor i dag väntar till högre ålder med att försöka få barn. Samtidigt tillhör de gravida patienterna på grund av sin ändå relativt sett låga ålder en grupp med förhöjd återfallsrisk.

Sibylle Loibl framhöll att det kan finnas en risk att bröstcancerdiagnosen fördröjs om kvinnan är gravid. Det kan finnas flera orsaker till detta – symtom kan



feltolkas som graviditetstecken och ofta finns en tvekan att göra mammografi eftersom man är rädd att skada fostret. När det gäller denna tvekan visar dock forskningen att den är obefogad.

– Mammografi kan göras på samma sätt på gravida som hos andra kvinnor. Det finns inga tecken på att detta ger några ökade risker för fostret, sade Sibylle Loibl.

Hon och hennes medarbetare publicerade i augusti 2012 en artikel i Lancet Oncology som visar att kemoterapi under graviditeten inte heller ökar komplikationsrisken för barnet. Forskarna studerade över 400 europeiska bröstcancerpatienter och deras barn. Nästan hälften av kvinnorna fick kemoterapi under graviditeten. Den enda säkerställda skillnaden mellan barn som exponerats för kemoterapi och övriga barn var en något lägre födelsevikt.

– Vi vet att barnen föds något mindre, men jag tvivlar på att det har någon klinisk betydelse, sade Sibylle Loibl.

Riktlinjer för behandling av bröstcancer under graviditet har tagits fram av bland annat det tyska nätverk där professor Loibl ingår, Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie, med webbsidan www.ago-online.de. Sammanfattningsvis säger dessa riktlinjer att kirurgi kan göras på samma sätt som hos icke gravida patienter. Kemoterapi kan ges efter den första trimestern och ska då ges enligt samma indikationer som för andra yngre bröstcancerpatienter. Trastuzumab, hormonbehandling eller strålbehandling rekommenderas för närvarande inte under graviditet.

Sibylle Loibl hoppas att den framväxande kunskapen nu kommer att förbättra vården av gravida med bröstcancer.

”Mammografi kan göras på samma sätt på gravida som hos andra kvinnor. Det finns inga tecken på att detta ger några ökade risker för fostret.”

*Professor Sibylle Loibl,
Tyskland*







Outi Hovatta

– Forskningsresultaten visar att det är fullt möjligt att behandla bröstcancer hos gravida. Det är inte nödvändigt att avbryta graviditeten eller att sätta igång förlossningen för tidigt för att kunna behandla kvinnan. För att minimera riskerna för barnet är det viktigaste att prioritera en fullgången graviditet.

FERTILITETSBEVARANDE ÅTGÄRDER

Yngre bröstcancerpatienter som inte nått menopaus var i fokus även när **Outi Hovatta**, professor i obstetrik och gyne-

kologi vid Karolinska institutet, gjorde sin presentation. Den handlade om fertilitetsbevarande åtgärder för kvinnor som behandlas för bröstcancer.

Eftersom allt fler kvinnor väntar till efter 30–35 års ålder med att försöka bli gravida finns ett ökande antal kvinnor som drabbas av bröstcancer innan de fått de barn de vill ha.

Framför allt cytostatikabehandling skadar fertiliteten eftersom substanserna förstör äggstocksfolliklar som kan mogna till ägg. Även radioterapi har nega-

tiva effekter på fertiliteten. Efter 30 års ålder minskar ovariernas reserv av folliklar snabbt och kvinnor i dessa åldrar är särskilt sårbara för cancerbehandlingens skadliga effekter på fruktsamheten. Även yngre kvinnor kan dock ha nytta av fertilitetsbevarande åtgärder, framhöll Outi Hovatta:

– Alla premenopausala kvinnor med bröstcancer bör erbjudas rådgivning om fertilitetsbevarande åtgärder.

De försök som gjorts att under cancerbehandling skydda äggstocksfolliklarna med olika läkemedelssubstanser har hittills inte varit så framgångsrika. En mer lovande substans, kallad AS101, är dock under utveckling och kan, enligt Outi Hovatta, möjligen bli ett bra alternativ i framtiden.

Dagens fertilitetsbevarande åtgärder bygger alla på nedfrysning av ägg eller äggstocksvävnad. Den nya nedfrysningssmetoden vitrifiering gör att både ägg och vävnad kan sparas mycket länge utan att kvaliteten försämras. Vid vitrifiering sker nedfrysningen mycket snabbt med hjälp av flytande kväve i 196 minusgrader. Problemet med iskristaller i fryspreparaten har undanröjts.

– Vitrifierad, upptinad vävnad skiljer sig inte från färsk. Med vitrifiering åldras äggen och äggstocksvävnaden inte – det är en revolution för nedfrysningstekniken! sade Outi Hovatta.

– Genom att med denna teknik spara befruktade eller obefruktade ägg eller äggstocksvävnad, kan man hjälpa kvinnan att öka sina chanser till en framtida graviditet.

METASTASERAD BRÖSTCANCER

När docent **Johan Ahlgren**, överläkare och verksamhetschef inom onkologin i Gävle, intog podiet, var ämnet de patienter som får återfall. Han började med att konstatera att trots att inciden- sen av bröstcancer ökar och nu ligger på omkring 8 000 nya fall om året i Sverige, går mortaliteten sakta nedåt.

6: E STATE OF THE ART-SYMPOSIET





Johan Ahlgren

– Vi har all rätt att vara optimistiska. Många patienter lever med hjälp av modern behandling under lång tid med metastaserad bröstcancer.

Johan Ahlgren konstaterade att det finns en stor spännvidd. Det finns patienter som lever i årtal och bibehåller en god livskvalitet och för andra går det betydligt sämre. År 2010 avled 1 395 personer i Sverige av bröstcancer. De patienter som så småningom avlider gör det på grund av fjärrmetastaser som vanligen drabbar skelett, benmärg, lungor, lever och/eller hjärnan. I en systematisk översikt (Kiely BE et al, JCO February 1, 2011 vol. 29 no. 4 456-463) av randomiserade studier fann forskarna en genomsnittlig överlevnadstid på knappt två år efter diagnosen metastaserad bröstcancer.

– Det finns i dag goda skäl att betrakta spridd bröstcancer mer som en

kronisk sjukdom, sade Johan Ahlgren.

Han slog fast att de två viktigaste målsättningarna vid behandling av spridd bröstcancer är att förlänga livet och att upprätthålla/förbättra livskvaliteten.

– En tredje målsättning är att uppnå tumörkrympning, något som vi tidigare varit mycket upptagna av, inte minst i studier av cytostatikaeffekter. Erfarenhet och senare forskning visar dock att detta sannolikt är mindre relevant. Man kan förlänga överlevnaden och få bra livskvalitet trots att tumören inte krymper så mycket, det viktigaste är att metastaser hålls i schack, sade han.

När det gäller utredningen vid återfall i bröstcancer, underströk Johan Ahlgren vikten av att göra biopsier i samtliga fall där det är möjligt och rimligt. Dels därför att det som tolkas som en dottertumör i själva verket kan vara en

ny primärtumör, som givetvis kräver en annan behandling. Dels för att bröstcancer kan förändras med tiden:

– I uppmot en tredjedel av de fall då biopsier tas, hittar man ett annat marköruttryck i metastaser än i primärtumören. Detta kan vara relevant för behandlingsvalet.

FINNS INGEN "KOKBOK"

Hormonpositiv HER2-negativ metastaserad bröstcancer behandlas med endokrin behandling och cytostatika. Det finns, förklarade Johan Ahlgren, inga fördelar med att ge dem samtidigt utan de bör ges i sekvens. Man bör normalt börja med endokrin behandling, med aromatashämmare som förstahandsval och tamoxifen som andrahandsval. Här pekade Johan Ahlgren också på de nya lovande möjligheterna att efter terapivikt med aromatashämmare behandla



spridd hormonpositiv bröstcancer med mTOR-hämmaren everolimus i kombination med exemestan. Därefter finns andra alternativ som kan prövas efter en individualiserad bedömning.

Även när man på grund av behandlingsresistens vill växla över till cytostatika, måste valet av läkemedel bygga på en analys av patientens individuella förutsättningar.

– Det finns ingen kokbok för detta, sade Johan Ahlgren, som också framhöll att det ofta kan vara värt att vid terapivikt pröva nya behandlingar ett flertal gånger. Även tredje, fjärde och femte linjens behandling kan ge stor nytta för enskilda patienter.

För patienter med HER2-positiv metastaserad bröstcancer ska HER2-blockerande läkemedel ingå i behandlingen så länge nyttan överväger eventuella biverkningar. Det nationella vårdprogrammet rekommenderar taxaner i kombination med trastuzumab. Andra läkemedel som kan vara till nytta för vissa av dessa patienter är lapatinib, pertuzumab och det nya TDM-1.

Beträffande den viktiga palliativa behandlingen framhöll Johan Ahlgren bland annat att möjligheterna till symptomlindring med hjälp av kirurgi ibland glöms bort.

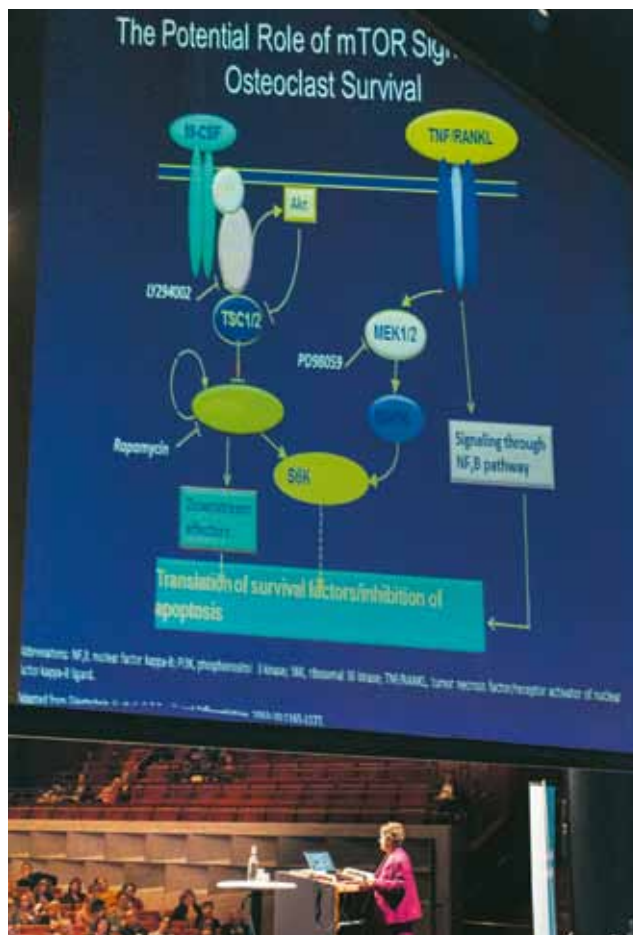
– Det är otroligt viktigt att man inte är defaitistisk. Patienter med metastaserad bröstcancer kan leva under lång tid och det är självklart att patienten exempelvis ska kunna få en ny höftled.

SÖKANDE EFTER PÅLITLIGA MARKÖRER

Professor Kathleen Pritchard från University of Toronto i Kanada gav sin lägesbild av läkemedelsutvecklingen när det gäller bröstcancer. Hon fokuserade på senare decenniers strävanden efter att skraddarsy en behandling för varje patient – och på frågan om hur realistisk denna ambition är. Hennes svar var hoppfullt:



Kathleen Pritchard



– Att individualisera cancerbehandling är komplicerat och kan verka kostsamt, men det är den rätta vägen att gå och vi är på väg åt rätt håll!

– Vi måste vi lära oss mer om både möjligheterna och begränsningarna hos nya målriktade läkemedel, sade den internationellt framstående bröstcancerforskaren Kathleen Pritchard.

Möjligheterna till skräddarsydd behandling är beroende av tillgången till tillförlitliga responsprediktiva markörer och på en del områden är det längre kvar att gå än på andra, framhöll Kathleen Pritchard.

– Många av mina patienter förväntar sig att jag ska kunna erbjuda ett test som visar vilken cytostatikabehandling

som passar just henne, men jag tvingas göra dem besvikna, sade hon.

Kathleen Pritchard beskrev det mödosamma sökandet efter pålitliga markörer inom bröstcancerterapi. Hon konstaterade att medan östrogenreceptorn och HER2 visat sig kunna ge viktig prediktiv information, har andra markörer inte levt upp till de förväntningar som forskarna hade på dem. Var kritisk och tro inte på nya markörer förän de har testats ordentligt, var hennes budskap. En liknande hållning är också viktig att ha till de nya målriktade läkemedel som lanseras.

– Målriktade läkemedel kan möjliggöra en ökad individualisering av behandlingen. Vi måste akta oss för förhas-

tade slutsatser om nyttan av ett nytt läkemedel innan det har testats i fas III-studier och mål-molekylen är tydligt definierad. Och även om mål-molekylen är idealisk – är läkemedlet tillräckligt bra?

– Det saknas tydliga kriterier för hur god effekt ett läkemedel ska uppvisa för att man ska börja använda det kliniskt. Borde vi inte leta efter läkemedel som hämmar det sjukdomskopplade målproteinet med minst 95 procent?

LOVANDE MTOR-HÄMMARE

En ny grupp av målriktade läkemedel mot bröstcancer som Kathleen Pritchard lyfte fram som ytterst lovande är mTOR-hämmarna. mTOR-hämmaren Afinitor (everolimus) har tidigare i år godkänts





Zakaria Einbeigi

inom EU och i USA för behandling i kombination med exemestan av metastaserad, hormonpositiv, HER2-negativ bröstcancer hos postmenopausala patienter efter att sjukdomen förvärrats under behandling med aromatashämmare. Afinitor är den första mTOR-hämmare som godkänts för behandling av bröstcancer.

Kathleen Pritchard är en av dem som leder fas III-studien BOLERO-2 (breast cancer trials of oral everolimus) vars resultat starkt bidragit till dessa godkännanden. I BOLERO-2 ingick 724 patienter. Den grupp som fick Afinitor i kombination med exemestan levde mer än dubbelt så lång tid utan att sjukdomen förvärrades som de som fick exemestan och placebo. Mediantiden utan förvärrad sjukdom var 7,8 månader i Afinitorgruppen och 3,2 månader i placebogruppen.

– De nya terapier som kommit på senare år har ofta inte riktats mot hormonpositiv sjukdom, trots att det utgör åttio procent av all bröstcancer. Därför är det extra uppmuntrande att det nu kommer ett läkemedel för denna stora patientgrupp.

Den vanligaste biverkningen i BOLERO 2-studiens Afinitorgrupp var stomatit. Fatigue, förhöjd glukoshalt och

icke infektiös pneumoni var andra vanliga sideffekter.

– Vi behöver lära oss mer om hur vi ska använda läkemedlet för att begränsa sideffekterna så mycket som möjligt, sade Kathleen Pritchard.

"BESLUTSFATTARNA MÅSTE BLI TYDLIGARE"

En rad cancerspecialister är kritiska mot att svenska patienter i dag inte får tillgång till nya cancermediciner. Det hotar även den svenska forskningen och möjligheter för patienter att få delta i kliniska studier. En av dessa kritiker är bröstcancerspecialisten Jonas Bergh, professor vid Radiumhemmet, Karolinska universitetssjukhuset, och ordförande i Svenska bröstcancergruppen. Jonas Bergh var en av de ansvariga för symposiet i Linköping och han uttryckte i en kommentar till Kathleen Pritchards föredrag en stark oro över cancervårdens utveckling.

– För mig är det obegripligt att vi i Sverige ligger någonstans i mitten av de europeiska länderna när det gäller att använda nya viktiga cancermediciner. Det kommer att få konsekvenser för vården om det fortsätter på det sättet. Det

är viktigt att vi som profession uttrycker våra åsikter om detta, sade han.

– Det är också viktigt att beslutsfattarna, om de bestämmer sig för att inte använda nya mediciner, informerar allmänheten på ett tydligt sätt. Det kan inte vara professionens uppgift att kommunicera dessa beslut.

Jonas Bergh har nyligen tilldelats 2012 års utmärkelse från Bröstcancerförningarnas riksorganisation, BRO.

– Det här är det finaste pris jag har fått under hela mitt yrkesliv. Det finns inget som kan konkurrera med ett erkännande från patienternas egen organisation, säger Jonas Bergh.

Han får utmärkelsen för sina insatser för bröstcancerpatienter. I motiveringen betonas bredden i Jonas Berghs engagemang: "... alltifrån forskargärning till behandling och bemötande av enskilda patienter till att driva frågor om bröstcancerbehandling med beslutsfattare på alla nivåer".

NATIONELLA VÅRDPROGRAMMET FÖR STRÅLBEHANDLING

En annan av alla aktuella frågor som belystes vid State of the Art-mötet var vilka patienter som bör få postoperativ radioterapi. Zakaria Einbeigi, överläkare och sektionschef vid Jubileumskliniken, Sahlgrenska universitetssjukhuset i Göteborg, gick igenom de nuvarande rekommendationerna i det nationella vårdprogrammet för strålbehandling vid bröstcancer.

För patienter med spridning till fyra lymfkörtlar eller fler rekommenderas postoperativ strålbehandling oavsett operationsmetod och tumörstorlek. För patienter utan någon konstaterad lymfkörtelspridning alls ser rekommendationerna ut så här:

- Efter bröstbevarande kirurgi rekommenderas postoperativ strålbehandling av hela bröstet. Är patienten 40 år eller yngre kan man lägga till en så kallad boostbehandling mot tumörområdet.



- Efter mastektomi rekommenderas postoperativ strålbehandling mot bröstkorgsväggen om tumörstorleken överstiger fem cm. Vid mindre tumörer rekommenderas inte strålbehandling.

Hur man ska behandla patienter med spridning till 1–3 lymfkörtlar är en fråga som expertgruppen bakom vårdprogrammet ännu inte är helt enig om.

– Det är alltid viktigt att göra risknyttabedömningar. Ibland hamnar man i gränsområden där man har olika åsikter, sade Zakaria Einbeigi.

De formuleringar som Svenska Bröstcancergruppen enats kring i vårdprogrammet när det gäller patienter med 1–3 positiva lymfkörtlar är följande:

- Efter bröstbevarande kirurgi rekommenderas lokal strålbehandling. Är patienten 40 år eller yngre kan man lägga till en boostbehandling. Det

kan vara aktuellt med lokoregional strålbehandling om något av dessa kriterier är uppfyllda:

- 2–3 positiva körtlar eller en lymfkörtelratio (andel positiva av de undersökta) på minst 20 procent
- Histologisk tumörgrad III, grad II om hög KI-67.
- Patienten är 40 år eller yngre.
- Det finns vaskulär invasion.

- Efter mastektomi rekommenderas strålbehandling regionalt och mot bröstkorgsväggen om tumören är större än fem cm. Är tumören mindre än fem cm rekommenderas inte strålbehandling, utom då något av riskkriterierna ovan (a–d) är uppfyllda. I så fall rekommenderas regional strålbehandling efter mastektomi även om tumören är mindre.

När det gäller så kallad hypofraktionering – färre behandlingar under kortare

tid, men med högre dos per tillfälle – har forskningen hittills inte visat på några skillnader jämfört med standardbehandling när det gäller återfallsrisk, överlevnad eller biverkningsfrekvens. En begränsning är dock att studierna inte pågått tillräckligt länge för att kunna fånga upp alla sena biverkningar.

– Av det skälet rekommenderar vi för närvarande att hypofraktionering erbjuds som alternativ till standardbehandling enbart till kvinnor över 50 år, sade Zakaria Einbeigi.

Accelererad radioterapi har ännu inte kunnat studeras tillräckligt för att kunna föreslås som standardbehandling utan rekommenderas i vårdprogrammet än så länge bara inom ramen för forskning och utveckling.

Det pågår diskussioner om en grupp patienter som är över 60 år och har hormonpositiv, HER2-negativ bröstcancer samt vissa andra kännetecken som sammantaget ger en låg återfallsrisk. Bör man selektera sådana lågriskpatienter och hos dem avstå från postoperativ strålbehandling?

– Beträffande den frågan har vi ännu inte kommit fram till någon rekommendation. Vi avvaktar vidare forskningsresultat, sade Zakaria Einbeigi.

En annan omdiskuterad fråga gäller väntetiderna mellan kirurgi och strålbehandling. Zakaria Einbeigi förklarade att det inte finns några randomiserade studier som kan ge medicinska motiv för korta väntetider.

– Men det finns ju en patientspekt och vi har sagt att för patienter som inte ska ha kemoterapi så är det rimligt att få komma igång med strålbehandlingen inom sex veckor efter operationen.

HELENE WALLSKÄR, MEDICINJOURNALIST
FOTO: BOSSE JOHANSSON



13

sista sidan

14