



Ny **biomarkör** kan
göra tamoxifenbehandling
mer träffsäker

En forskargrupp vid Institutionen för kliniska vetenskaper vid Lunds universitet har nyligen identifierat en biomarkör, AIB1, som kan förutspå effekt av adjuvant tamoxifen. Ett rön som de tilldelades utmärkelsen "Guldpillret" för 2013. När dessa data verifierats och markören kan börja användas kliniskt kan den grupp kvinnor som inte har nytta av tamoxifen också slippa en 5–10 år lång behandling med biverkningar. Samtidigt frigörs resurser som kan läggas där de gör bättre nytta. Här presenteras gruppens forskningsrön av PhD Sara Alkner, professor Mårten Fernö och docent Lisa Rydén.

Tidig diagnostik inom ramen för hälsokontroll och adjuvant behandling har medfört att prognosen för primär bröstcancer väsentligen förbättrats och femårsöverlevnaden är i dag närmare 90 procent. För att förhindra återfall hos några få kvinnor behandlas dock i dag många i onödan, eftersom de hade varit recidivfria även utan adjuvant terapi. Andra får recidiv trots given behandling och hade således varit bättre hjälpta av andra åtgärder. Hade vi på förhand kunnat säga vilken patient som har nytta av vilken typ av behandling hade vi kunnat spara mycket onödigt lidande, tid, pengar och i vissa fall även liv.

Studier av vilka faktorer som påverkar recidivrisk och nyttan av ett visst läkemedel är således viktiga för att bättre kunna anpassa behandling till den enskilda patientens behov. I vår forskning har vi undersökt en koaktivator till östrogenreceptorn, AIB1 (amplified in breast cancer 1), och funnit att tumöruttryck av denna verkar förutsäga vilken nytta patienten kommer att ha av adjuvant tamoxifen.

Vi kommer även undersöka om AIB1 eventuellt kan vara vägledande för vilka postmenopausala kvinnor som har störst nytta av tamoxifen gentemot aromatashämmare, något det i dag saknas en prediktiv markör för.

ENDOKRIN BEHANDLING MED TAMOXIFEN

Över 80 procent av de bröstcancrar som diagnostiseras i dag uttrycker östrogenreceptorn (ER) och är beroende av östrogen för sin proliferation och överlevnad. Östrogenets betydelse vid bröstcancer upptäcktes tidigt. Redan 1896 visades att ooforektomi hade en bra klinisk effekt mot lokalt avancerad premenopausal bröstcancer. I dag hämmas denna signalväg antingen genom att inhibera ER (tamoxifen) eller genom att produktionen av östrogen hämmas (aromatashämmare).

”Den stora utmaningen i dagens bröstcancer-vård är att veta vilken patient som kommer att ha nytta av vilken adjuvant behandling.”

Hos premenopausala kvinnor sker produktionen av östrogen huvudsakligen i äggstockarna, medan tillgängligt östrogen efter klimakteriet i stället tillverkas genom aromativering av androgener i lever, muskler och fettväv. Aromatashämmarna blockerar denna aromativering, men påverkar inte produktion av östrogen i ovarierna. Därför är aromatashämmare enbart effektiva för postmenopausala kvinnor medan tamoxifen kan användas både före och efter klimakteriet.

Stora metaanalyser inom EBCTCG (Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group) har visat att fem års adjuvant behandling med tamoxifen vid ER-positiv bröstcancer minskar den relativa recidivrisk med 50 procent, mortalitet med 30 procent och risken för kontralateral bröstcancer med 30–50 procent¹. Nya data från aTTom- och ATLAS-studierna visar även på nytta av en ytterligare förlängd behandlingstid och för många patienter kommer denna att ökas till tio år framöver.

Vid jämförelse mellan tamoxifen och aromatashämmare hos postmenopausala kvinnor har de senare visat sig vara något mer effektiva, med en absolut recidivminskning på cirka tre procent efter fem års behandling². I dag saknas dock prediktiva markörer för att avgöra vilka postmenopausala kvinnor med ER-positiva tumörer som kommer att ha nytta

TAMOXIFEN

Tamoxifen tillhör gruppen selektiva östrogenreceptormodulerare (SERM), vilket innebär att läkemedlet i vissa organ (exempelvis livmodern) har östrogenlika egenskaper, medan det i andra organ (exempelvis bröst) i stället verkar hämmande. När östrogen binder in till AF2-regionen på östrogenreceptorn (ER) (se faktaruta ER) förändras dennas konfiguration så att helix 12, en del av receptorn, lägger sig som ett lock över den ligandbindande ytan.

Denna position av helix 12 är essentiell för rekrytering av koaktivatorer och ligandaktiverad transkription via AF2. Inbindning av tamoxifen förhindrar helix 12 att inta sin rätta position, vilket minskar receptorns interaktion med koaktivatorer och i stället ökar interaktionen med korepressorer.

Anledningen till att SERMs egenskaper varierar mellan olika vävnader är inte helt känd, men flera mekanismer har föreslagits. Eftersom SERMs blockerar AF2s aktivitet kan dessa läkemedel verka som antagonister i celler där AF2 har en stor betydelse för ERs transkriptionella aktivitet, medan de i celler där AF1 är viktigare i stället har östrogenlika egenskaper.

Agonistiska/antagonistiska effekter kan också påverkas av vilken typ och mängd av koaktivatorer/korepressor som uttrycks i vävnaden. Ytterligare något som diskuterats är förhållandet mellan den vanliga östrogenreceptorn (ER-alfa) och en variant av denna (ER-beta).

av tamoxifen respektive aromatashämmare och vilka som inte har det.

Vanliga biverkningar av tamoxifen är värmevallningar, svettningar, torra slemhinnor, huvudvärk, illamående och humörsvängningar. Dessutom finns en viss ökad risk för tromboembolism och livmodercancer. Även behandling med aromatashämmare kan ge klimakteriella symtom, huvudvärk, yrsel och depression. Med dessa läkemedel är också muskel- och ledvärk ett stort problem och det finns en ökad risk för hyperkolesterolemi, hypertoni och ischemisk hjärtsjukdom.

AIB1 STARTAR GENTRANSKRIFTIONEN

AIB1, även känd som bland annat SRC-3, NCOA3, upptäcktes vid mikrodissektion av q-armen på kromosom 20, en region som ofta är amplifierad vid bröstcancer. AIB1 verkar som en koaktivator till ER. Transkription av nukleära hormonreceptorer, som ER, regleras genom direkt interaktion mellan receptor, koregulatorer och transkriptionsfaktorer (se faktaruta och figur 4).

Koregulatorer delas in i koaktivatorer och korepressorer, varav flertalet hittills kända är koaktivatorer. När östrogen binder in till ER aktiveras denna, går in i cellkärnan och binder till specifika av-

snitt, så kallade "östrogen response elements", i DNA. I en stegvis process binder sedan komplex av koregulatorer in. Flertalet av dessa är enzymer och gemensamt initierar och reglerar de remodulering av kromatinet, transkription, RNA-syntes och splicing samt slutligen nedbrytning av aktiva transkriptionsfaktorer.

AIB1 tillhör den viktiga SRC-familjen ("steroid receptor coactivator") av koaktivatorer och fungerar som en brygga mellan ER och övriga koaktivatorer (figur 1). Genom rekrytering och ansam-

ling av övriga koaktivatorer initierar AIB1-remodulering av kromatinet och startar den stegvisa process vilken slutligen leder till gentranskription.

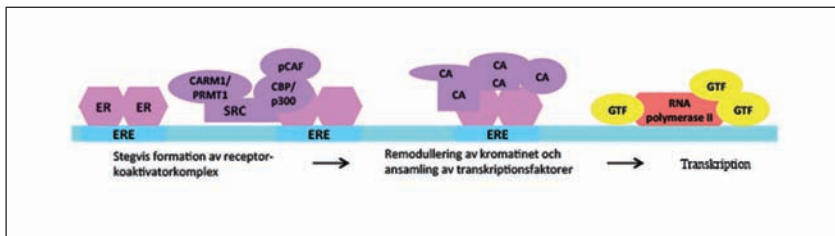
EN MÅNGSIDIG KOAKTIVATOR

Prekliniska studier har visat att AIB1 kan fungera som en onkogen. I humana bröstcancrar är den överuttryckt i 30–60 procent och man ser en genamplifiering i 5–10 procent. Ett överuttryck har också setts vid ett flertal andra tumörformer, bland annat endometrie-, ovarial-, kolorektal- och pankreascancer. Flera studier tyder också på att AIB1 är involverad i viktiga nyckelprocesser i både normala och maligna celler som cellcykelreglering, apoptos och metastasering.

Dessutom kan AIB1, förutom att verka som en koaktivator till ER, även interagera med andra signalvägar och transkriptionsfaktorer och därigenom inducera hormonoberoende cellproliferation³. Transgena musstudier har visat att ett högt AIB1 kan inducera cancer, och då huvudsakligen i bröst och uterus, medan ett lågt AIB1 i stället skyddar mot bröstcancer⁴.

Anledningen till att vi ville undersöka AIB1 närmare var tidigare studier som indikerade att tumöruttryck av AIB1 eventuellt kunde påverka behandlingssvar på tamoxifen. Resultaten mellan tidigare studier varierade dock, både vad det gäller AIB1:s prognostiska värde och hur dess uttryck påverkar effekt av endokrin terapi. Från att ha föreslagits vara involverad i resistensutveckling mot tamoxifen finns även studier som pekar på att ett högt AIB1-uttryck i

SAMVERKAN MELLAN ER OCH KOAKTIVATORER STARTAR GENTRANSKRIFTION



Figur 1. Vid aktivering av östrogenreceptorn (ER) går denna in i cellkärnan och binder till specifika avsnitt av DNA (ERE; östrogen response elements). I en stegvis process binder sedan olika koaktivatorer (CA) till receptorn och DNA. Dessa förbereder kromatinet för transkription och ansamlar transkriptionsfaktorer (GTF) och RNA-polymeras, vilka därefter kan starta gentranskription. Förkortningar: CA = koaktivator; ER = östrogenreceptor, ERE = östrogen response element, GTF = generell transkriptionsfaktor, SRC = steroid receptor coactivator. Källa: Sara Alkner

stället ger en god effekt av endokrin behandling^{5,6}.

Dessa motstridiga resultat kan möjligen förklaras av att flertalet tidigare studier inkluderade få patienter och ingen var gjord i ett randomiserat patientmaterial. Dessutom har olika metoder använts för att mäta uttryck av AIB1 och olika "cut off"-nivå för vad som räknas som högt AIB1.

STUDIER PÅ EFFEKTEN AV AIB1

Vår forskargrupp har i två studier undersökt AIB1:s prognostiska och behandlingsprediktiva värde för tamoxifen^{7,8}. I den första studien använde vi oss av en kontrollerad studie genomförd av södra och sydöstra bröstcancergrupperna mellan 1986–1992 där 564 premenopausala kvinnor med bröstcancer i stadium II efter kirurgi randomiserades till att erhålla tamoxifen i två år gentemot kontroll. Randomiseringen gjordes oberoende av tumörernas hormonreceptorstatus.

Effekten av AIB1 har därefter validerats i två oberoende kohorter, den ena inkluderande 237 lymfkörtelnegativa premenopausala bröstcancerpatienter som inte erhållit adjuvant tamoxifen, den andra 445 pre- och postmenopausala patienter som samtliga erhållit tamoxifen i två år.

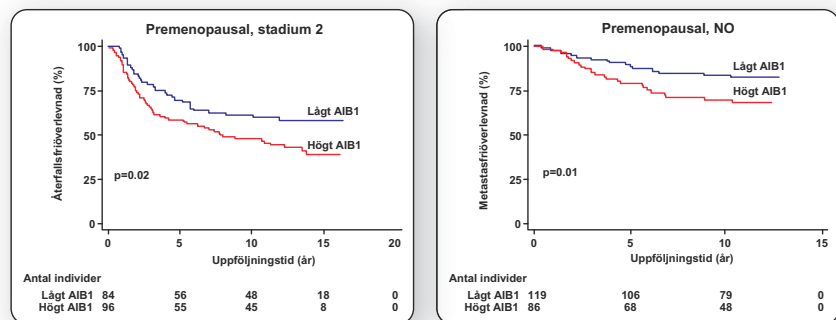
AIB1-uttryck mättes med hjälp av immunhistokemi där hänsyn togs både till andel infärgade celler och till hur starkt de färgade in. Detta innebar i samtliga av våra kohorter att cirka 50 procent av de undersökta tumörerna klassades som att ha ett högt AIB1 (42–56 procent).

Bland de kvinnor som inte erhållit adjuvant tamoxifen kunde vi se att ett högt tumöruttryck av AIB1 är förknippat med en sämre prognos. Dessa kvinnor får oftare återfall och har en försämrad överlevnad (återfallsfri överlevnad: HR 1,6; 95% CI 1,1–2,5; p=0,02, total överlevnad: HR 1,7; 95% CI 1,1–2,7; p=0,02). Figur 2 visar återfallsfri överlevnad för den obehandlade armen av den randomiserade tamoxifenstudien respektive metastasfri överlevnad för kohorten av kvinnor med lymfkörtelnegativ bröstcancer som inte erhållit tamoxifen.

AIB1-UTTRYCK AVGÖR EFFEKT

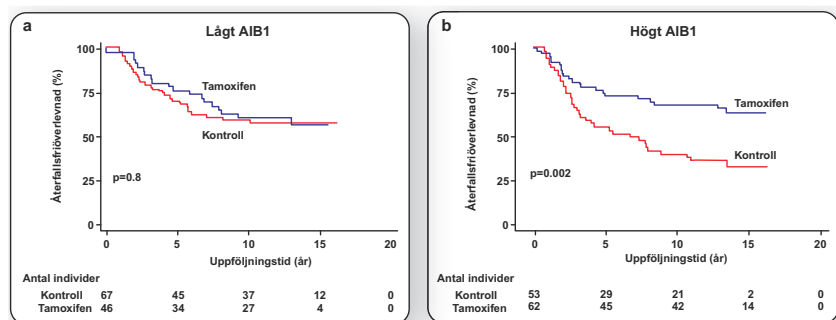
Kvinnor vars tumörer uttrycker höga ni-

ÅTERFALLSFRI RESPEKTIVE METASTASFRI ÖVERLEVAD I FÖRHÅLLANDE TILL TUMÖRUTTRYCK AV AIB1



Figur 2. Utan tamoxifen är ett högt tumöruttryck av AIB1 förknippat med en sämre prognos. A/ visar återfallsfri överlevnad i procent för premenopausala kvinnor med bröstcancer i stadium II, B/ metastasfri överlevnad för premenopausala kvinnor med lymfkörtelnegativ (NO) bröstcancer.

ÅTERFALLSFRI ÖVERLEVAD AV TAMOXIFEN, LÅGT JÄMFÖRT MED HÖGT AIB1



Figur 3. Dessa grafer visar premenopausala kvinnor med ER-positiva tumörer randomiserade till att erhålla adjuvant tamoxifen gentemot en kontrollgrupp utan adjuvant läkemedelsbehandling. Kvinnor med lågt tumöruttryck av AIB1 (A) har visserligen en bättre prognos från början, men ingen vinst av tamoxifen. Det har däremot kvinnor med högt AIB1 (B), för vilka tamoxifen både minskade risken för återfall och gav en förbättrad överlevnad.

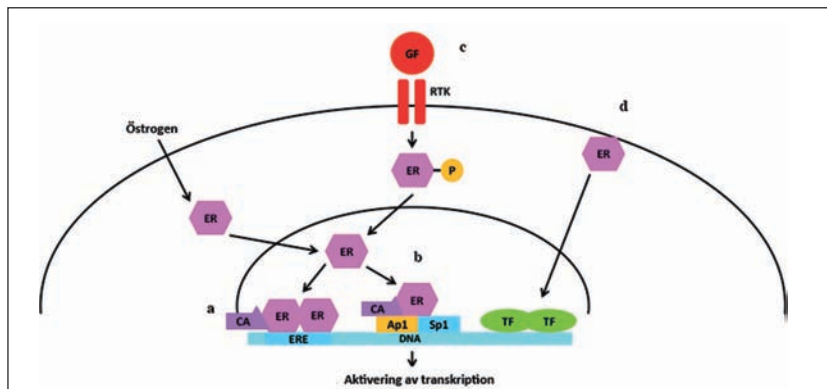
vår av AIB1 har alltså en sämre prognos. Samtidigt svarar dessa kvinnor mycket bra på tamoxifen, till och med så bra att återfallsfri överlevnad då höjs till samma nivå som hos dem med låga tumöruttryck av AIB1. För kvinnor med lågt tumöruttryck av AIB1 däremot, även om de har en bättre prognos från början, förbättras denna inte ytterligare med tamoxifen (figur 3).

En interaktionsanalys mellan AIB1 och tamoxifen blev signifikant (p=0,007), vilket visar på ett statistiskt säkerställt samband mellan tumöruttryck av AIB1 och behandlingssvar på tamoxifen. Detta innebär att vi med

hjälp av AIB1 har identifierat en grupp av kvinnor med ER-positiv bröstcancer som inte verkar ha någon nytta av adjuvant tamoxifenbehandling. Våra studier inkluderar huvudsakligen premenopausala patienter, men resultaten har även verifierats av professor Olle Ståls grupp vid Linköpings universitet i en randomiserad tamoxifenstudie inkluderande postmenopausala kvinnor⁹.

AIB1:s effekter på cellnivå är ännu inte fullständigt kända, men ett flertal studier visar på att faktorn är involverad i cellcykelreglering, proliferation och apoptos. Ett okontrollerat ökat uttryck verkar kunna leda till initiering och pro-

AKTIVERING AV ÖSTROGENRECEPTORN (ER)



Figur 4. A/ Dimerisk inbindning av ER till EREs. B/ Protein-protein-interaktion med transkriptionsfaktorer som Ap1 och Sp1. C/ Aktivering via RTKs. D/ Icke-genomisk signalering via ER lokaliserad i cytoplasman eller cellmembranet.

Förkortningar: Ap1 = activation protein 1; CA = koaktivator; ER = östrogenreceptor; ERE = oestrogen response element; GF = tillväxtfaktor; P = fosforylering; RTK = tyrosinkinase-receptor; Sp1 = specificity protein 1; TF = transkriptionsfaktor.

Källa: Sara Alkner

ÖSTROGENRECEPTORN (ER)

ER är en intracellulär receptor med två aktiverande domäner: AF1 (activation function 1) vilken regleras med fosforylering och AF2 (activation function 2) vilken regleras genom östrogeninbindning. AF1 och AF2 kan aktivera transkription individuellt och/eller synergistiskt.

Vid klassisk östrogensignalering binder östrogen till receptorn vilket förändrar konfigurationen av AF2. Detta leder i sin tur till underlättad interaktion med koaktivatorer och histonacetyltransferaser och i komplex med dessa faktorer aktiverar ER genexpression. Detta kan göras genom direkt inbindning av ER till specifika DNA-responselement, EREs (oestrogen response elements) (figur 4a). Det kan också ske via interaktion med transkriptionsfaktorer som Ap1 (activation protein 1) och Sp1 (specificity protein 1) (figur 4b).

Förutom den klassiska ligandberoende signaleringsvägen kan ER även aktiveras via signalering från tyrosinkinase-receptorer som HER2 (figur 4c). Slutligen kan signalering dessutom medieras icke-genomiskt via ER lokaliserad vid cellmembranet eller i cytoplasman (figur 4d).

gression av cancer, samt vara av betydelse vid metastasering. Resultaten ovan hade kunnat orsakas av att ett högt AIB1-uttryck tyder på en snabb tillväxthastighet hos cancercellerna, men att denna samtidigt hos ER-positiva patienter är beroende av ER:s signaleringsvägar. Detta skulle förklara varför kvinnor med ett högt tumöruttryck av AIB1 utan endokrinbehandling har en dålig prognos, men samtidigt svarar mycket bra på tamoxifen.

FRAMTIDA UTMANINGAR

Utmaningen i nuläget är hur vi ska in-

föra och validera AIB1 i klinisk rutin användning. I vår forskargrupp har vi skapat en vävnadsbank (tissue microarray) för kvinnor med kontralateral bröstcancer, det vill säga kvinnor som får först en primärtumör i ena bröstet och sedan ytterligare en i motsatt bröst¹⁰. Vi har material från båda tumörerna och, i de fall det förekommer, även från lymfkörtelmetastaser, lokal-/regionalrecidiv och distansmetastaser.

Med hjälp av denna vävnadsbank kan vi undersöka AIB1 och även andra biomarkörer i olika stadier av tumörutveckling, i förhållande till given be-

handling och hur det sedan gått för patienterna. Vi arbetar även med nationella och internationella samarbeten för att kunna verifiera våra data i oberoende patientmaterial och resultaten har som sagt redan verifierats i en randomiserad tamoxifenstudie med postmenopausala kvinnor⁹.

Det hade också varit mycket intressant att studera tumöruttryck av AIB1 före och under neoadjuvant endokrinbehandling och sätta detta i relation till behandlingseffekt och senare recidiv/överlevnad.

För att AIB1 ska bli användbar i kliniken måste man även standardisera metoden att mäta dess uttryck och se till att denna har en hög reproducerbarhet. En annan viktig fråga gäller gruppen av kvinnor med lågt AIB1, som inte har nytta av tamoxifen. De har visserligen en bättre prognos från början, men kan denna förbättras ytterligare? Bör de erbjudas något annat läkemedel, till exempel aromatashämmare?

Det saknas i dag en prediktiv markör för att avgöra vilken postmenopausal bröstcancerpatient som har störst nytta av tamoxifen gentemot aromatashämmare, men kanske kan AIB1 ha en funktion här.

KLINISK BETYDELSE

Genom våra studier har vi alltså identifierat en patientgrupp som inte har nytta av adjuvant tamoxifen trots ER-positiv bröstcancer. Kan dessa data verifieras och markören göras kliniskt tillgänglig hade dessa patienter således kunnat slippa en 5–10 år lång behandling utan effekt på återfallsrisk och med de potentiella biverkningar denna medför.

Jämfört med vissa andra läkemedel som används inom bröstcancer vården (till exempel cytostatika) kan visserligen tamoxifens biverkningar verka relativt milda. Men värmevallningar, huvudvärk, torra slemhinnor, humörsvingningar och så vidare kan vara nog så bevärande för den enskilda patienten. Dessutom förekommer ovanliga, men potentiellt livshotande biverkningar som ökad risk för tromboemboliska händelser och endometriecancer. Utöver vinsten för individen innebär detta också insparade läkemedelskostnader, sjukvårdsbesök och kostnad för behandling av biverkningar. Dessa resurser kan i stället läggas där de gör bättre nytta.

REFERENSER

1. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative G, Davies C, Godwin J, et al. Relevance of breast cancer hormone receptors and other factors to the efficacy of adjuvant tamoxifen: patient-level meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2011; 378(9793): 771-84.

2. Dowsett M, Cuzick J, Ingle J, et al. Meta-analysis of breast cancer outcomes in adjuvant trials of aromatase inhibitors versus tamoxifen. *J Clin Oncol* 2010; 28(3): 509-18.

3. Ma G, Ren Y, Wang K, He J. SRC-3 has a role in cancer other than as a nuclear receptor coactivator. *International journal of biological sciences* 2011; 7(5): 664-72.

4. Torres-Arzayus MI, Zhao J, Bronson R, Brown M. Estrogen-dependent and estrogen-independent mechanisms contribute to AIB1-mediated tumor formation. *Cancer research* 2010; 70(10): 4102-11.

5. Osborne CK, Bardou V, Hopp TA, et al. Role of the estrogen receptor coactivator AIB1 (SRC-3) and HER-2/neu in tamoxifen resistance in breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 2003; 95(5): 353-61.

6. Iwase H, Omoto Y, Toyama T, et al. Clinical significance of AIB1 expression in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2003; 80(3): 339-45.

7. Alkner S, Bendahl PO, Grabau D, et al. AIB1 is a predictive factor for tamoxifen response in premenopausal women. *Ann Oncol* 2010; 21(2): 238-44.

8. Alkner S, Bendahl P, Grabau D, et al. The role of AIB1 and PAX2 in primary breast cancer: validation of AIB1 as a negative prognostic factor. *Ann Oncol* 2013; 24(5): 1244-52.

9. Weiner M, Skoog L, Fornander T, Nordenskjöld B, Sgroi DC, Stal O. Oestrogen receptor co-activator AIB1 is a marker of tamoxifen benefit in postmenopausal breast cancer. *Annals of Oncology* 2013; 24(8): 1994-9.

10. Alkner S, Bendahl PO, Ferno M, Manjer J, Ryden L. Prediction of outcome after diagnosis of metachronous contralateral breast cancer. *BMC Cancer* 2011; 11: 114.

SARA ALKNER, ST-LÄKARE, SKÅNES ONKOLOGISKA KLINIK, SKÅNES UNIVERSITETSSJUKHUS, LUND PHD, AVDELNINGEN FÖR ONKOLOGI, INSTITUTIONEN FÖR KLINISKA VETENSKAPER, LUNDS UNIVERSITET, LUND, SARA.ALKNER@MED.LU.SE



MÅRTEN FERNO, PROFESSOR, AVDELNINGEN FÖR ONKOLOGI, INSTITUTIONEN FÖR KLINISKA VETENSKAPER, LUNDS UNIVERSITET, LUND, MARTEN.FERNO@MED.LU.SE



LISA RYDÉN, DOCENT, AVDELNINGEN FÖR KIRURGI, INSTITUTIONEN FÖR KLINISKA VETENSKAPER, LUNDS UNIVERSITET, LUND, LISA.RYDEN@MED.LU.SE



Har du mCRC* patienter som progredierat efter 1L FOLFOX?

Har du mCRC patienter som skall få 2L FOLFIRI?

Lägg då till ZALTRAP® (aflibercept) som på denna patientgrupp visat;

- ◆ Median OS*; 13,5 månader (vs. 12,1 månader med enbart FOLFIRI)¹
- ◆ Median PFS*; 6,9 månader (vs. 4,7 månader med enbart FOLFIRI)¹
- ◆ ORR*; 19,8 % (vs. 11,1 % med enbart FOLFIRI)¹



Tel 08-634 50 00 | www.sanofi.se

SANOFI ONCOLOGY

* mCRC = Metastaserande kolorektalcancer, OS = Total överlevnad, PFS = Progressionsfri överlevnad, ORR = Fullständig respons + partiell respons | Referens: 1. Produktresumé ZALTRAP® 2013-06-21
ZALTRAP® (aflibercept), Rx, EF, L01XX44, angiogeneshämmare som ges intravenöst (iv). **Indikation:** ZALTRAP i kombination med irinotekan/5-fluorouracil/folinsyra (FOLFIRI) kemoterapi är indicerat för vuxna patienter med metastatisk kolorektal cancer (mCRC) som är resistent mot eller har progredierat efter oxaliplatinnehållande behandling. **Dosering:** 4 mg/kg kroppsvikt administreras som iv infusion under 1 timme följt av FOLFIRI. Detta ses som en behandlingscykel. **Styrkor och förpackningar:** 4 ml eller 8 ml ZALTRAP koncentrat till infusionsvätska, lösning 25 mg/ml. För varnings- och försiktighetsföreskrifter samt ytterligare information se www.fass.se. ▼ Detta läkemedel är föremål för utökad övervakning. **Datum för senaste översyn av SPC:** 2013-06-21. Vid frågor om våra läkemedel kontakta: infoavd@sanofi.com