

INDIVIDUALISERAD LÄKEMEDELSBEHANDLING

– *här är vi och så kan framtiden se ut*

Dagens behandlingsstrategier för läkemedelsbehandling av cancer är utvecklade för att göra nytta på gruppnivå för patienter med likartad sjukdomsbild. Grupperna definieras vanligen av diagnos och sjukdomsstadium. I praktiken är behandlingssvaret för enskilda patienter inom grupperna mycket heterogent. Läkemedelsbehandling av cancer kan fortfarande till stor del beskrivas som "trial and error" och det borde rimligen finnas stora vinster att göra genom att individanpassa cancerbehandlingen, både i termer av patientnytta och av sjukvårdsekonomi.

Vi har utvecklat ett cellkultursbaserat test av läkemedelskänslighet för individualiserad cancerbehandling^{1, 2}. Analysen ingår sedan 2005 som en del av Akademiska laboratoriets sortiment i Uppsala. Cellbaserade tester är ett av flera alternativ för individualiserad cancerbehandling som finns tillgängligt idag men som inte vunnit allmän spridning inom klinisk praxis.

Individualisering innebär att behandlingsval för den enskilda patienten görs

på basen av preterapeutiska analyser av de faktorer som vi idag vet borde påverka behandlingssvaret.

Men vad menas egentligen med individualiserad cancerbehandling?

Utöver individualiserad cancerbehandling används begrepp som "skräddarsydd" behandling och på engelska "individuali-

zed", "tailored" eller "personalized" therapy liksom "precision medicine". Begreppen är ingalunda väldefinierade och vissa

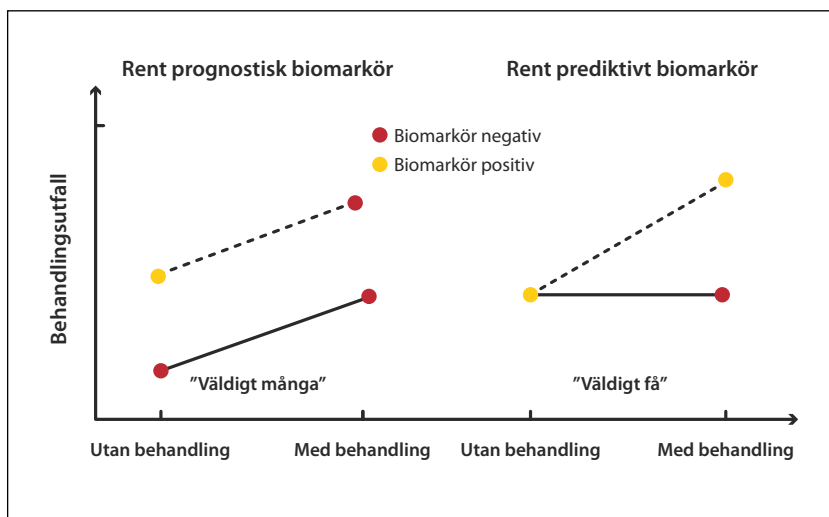


tycks mena att vi idag redan har individualiserad behandling då vi inför ett terapibeslut väger in olika faktorer som har med individens cancersjukdom att göra. De grundläggande faktorerna på tumörnivå är sedan länge cancerdiagnosen, kompletterad med sjukdomsutbredning enligt TNM och till exempel tumörens differentieringsgrad. På organismnivå vägs patientens allmäntillstånd, samsjuklighet och annan medicinering in då sådana faktorer påverkar behandlingseffekt och tolerans.

På senare år har det tillkommit mer förfinade analyser på cancercellnivå som predicerar behandlingseffekt för vissa specifika läkemedel. Exempel på sådana analyser är Her-2-uttryck i bröst- och ventrikelcancer för behandling med trastuzumab, mutationsstatus i RAS och EGFR-TK i kolorektalcancer respektive icke-småcellig lungcancer för behandling med EGFR antikropp respektive EGFR-TK-hämmare samt mu-

tationsstatus i BRAF i melanom för behandling med BRAF-hämmare³. Till samma typ av prediktiva biomarkörer hör även sedan länge östrongenreceptoranalys i bröstcancer för behandling med





Figur 1. Principiell skillnad mellan en prognostisk och en behandlingsprediktiv biomarkör.

antiöstrogen. När det gäller biomarkörer i cancerbehandling är det viktigt att skilja på sådana som är prognostiska, vilka är många, från dem som är visat behandlingsprediktiva, vilka är få utifrån rimligt höga beviskrav. Figur 1 ovan är ett försök att illustrera skillnaden mellan prognostiska och prediktiva biomarkörer. Med biomarkör menas här någon form av analys, oftast på tumörvävnad, som görs i syfte att erhålla information om ett kliniskt förlopp eller behandlingsutfall.

Behandlingsval baserat på biomarkörer som de ovan nämnda anser vi bör benämnas som stratifierat snarare än individualiserat. Marköruttrycket är oftast kopplat till hög eller låg sannolikhet för effekt av en viss typ av läkemedel vilket innebär att en patient kan slussas in i en behandlingsfälla, ett stratum, så att nytta-risk-kvoten genomsnittligt förbättras jämfört med terapival utan markören. Med "individualiserad" behandling bör istället avses en behandling utvald bland i princip alla befintliga (cancer)läkemedel utifrån en bred karaktärisering av patientens tumör och andra egenskaper hos patienten som påverkar behandlingsutfallet. Den enskilda patientens behandlingsregim skulle då teoretiskt kunna innehålla läkemedel som inte beskrivs som alternativ i etablerade behandlingsalgoritmer för olika tumörtyper. När vi i fortsättningen diskuterar individualiserad cancerbehandling är det denna typ av ansats som avses.

“När det gäller biomarkörer i cancerbehandling är det viktigt att skilja på sådana som är prognostiska, vilka är många, från dem som är visat behandlingsprediktiva, vilka är få utifrån rimligt höga beviskrav.”

Vilka verktyg finns idag för individualiserad cancerbehandling och hur har de utvärderats?

I tabell 1, se sid 18, har vi försökt sammanfatta metoder och analyser som studerats och som skulle kunna användas som grund för individualiserad cancerbehandling och deras ungefärliga status avseende evidensnivå för klinisk nytta. Flertalet av dessa metoder och analyser inklusive deras kliniska status finns beskrivna i en nyligen publicerad översiktsartikel⁴.

Ett stort antal studier har publicerats i avsikt att belysa dessa teknikers kliniska potential. Den absoluta majoriteten av dessa är retrospektiva icke-interventionsstudier där man analyserat biomarkören i patientmaterial från kliniska behandlingsstudier med avseende på behandlingsutfall och studerat kopplingen mellan biomarköruttryck och tumörrespons eller överlevnad. I sådana studier har man ofta hittat en statistiskt säkerställd koppling mellan markör och behandlingsutfall och dragit slutsatsen att biomarkören är prognostisk eller till och med behand-

lingsprediktiv med hög sensitivitet och specificitet. Denna typ av studiedesign är emellertid för svag för att tillåta säkra slutsatser då man inte kan kontrollera för alla de bakomliggande faktorer som skulle kunna vara kopplade till utfallet. När det gäller storskaliga analyser, som genexpression och proteomik, finns dessutom det biostatistiska problemet med att det oftast rent slumpmässigt går att hitta ett statistiskt signifikant mönster som kan kopplas till utfallet.

För att uppnå tillräckligt hög evidens för det behandlingsprediktiva värdet av en biomarkör krävs i princip någon form av randomiserad studiedesign, där randomiseringssteget innebär att kända och okända skillnader mellan behandlingsgrupper utjämnas med slumpens hjälp så att betydelsen av exempelvis en biomar-

kör renodlas. Det finns få publicerade randomiserade studier inriktade på att jämföra behandlingsutfallet när behandlingsbeslut baseras på en potentiellt prediktiv biomarkör respektive klinisk rutin, en design med det högsta bevisvärdet. En liten studie vid platinumrefraktär ovarialcancer randomiserade mellan terapival på basen av ett cellbaserat cytotstatikakänslighetstest och klinikerns val⁵. Känslighetstestbaserat behandlingsval tenderade att ge högre andel tumörrespons och längre progressionsfri överlevnad (PFS) men skillnaderna var inte statistiskt signifikanta. I en nyligen publicerad fransk studie randomiserades patienter med behandlingsrefraktär solid cancer till behandling med en "targeted drug" utifrån kartläggning av signalvägar i färsk tumörbiopsi eller till klinikerns val av kemoterapi, vilket oftast blev cyklofosamid⁶. Ingen skillnad sågs i tumörrespons eller PFS. Att dessa studier utföll negativt kan ha flera orsaker, bland annat att de var relativt små och rekryterade patienter med etablerat läkemedelsresistenta tumörer.

••• läkemedelsbehandling

Analys/metod	Mäter	Fördelar	Nackdelar	Klinisk status
”Therapeutic Drug Monitoring” (TDM)	Läkemedelskoncentration i serum/plasma	Möjliggör individualiserad dosering för att undvika över- och underexponering	Terapeutisk nivå av cancerläkemedel sällan fastställd	Rutin för enstaka cancerläkemedel, få för säkerhetsmonitorering
Cellbaserade känslighetstest för läkemedel	Toxisk effekt på tumör-celler av testade läkemedel	Mäter summaeffekten av tumör-cellernas genotyp, läkemedelseffekter direkttestas och kan kopplas till kliniskt utfall	Kräver färskt material, tekniskt krävande, bara applicerbar på direktverkande läkemedel	Prognostisk kapacitet visad, ej etablerat som prediktivt test, används dock lokalt och i vissa fall
Mutationstest	Mutationsstatus i definierade biomarkör-gener	Kan utföras på biobankat material, etablerade tekniker finns	Bara några få gener av prediktivt värde, relevant endast för enskilda läkemedel	Rutinanalys för några få läkemedel och diagnoser, prediktiv kapacitet visad
Genexpression	Över- och underuttryck av gener i hela genomet eller selekterade delar	Kan utföras på biobankat material, rutinmetod, kan teoretiskt kopplas till stort antal läkemedel	Känsligt för intra-tumoral heterogenitet, helst färskfruset material, krävande bioinformatik	Prognostisk kapacitet visad, ej etablerat som prediktivt test
Proteinuttryck	Mängd/uttryck av viss läkemedelsreceptor	Kan utföras på biobankat material, etablerade tekniker	Bara några få proteiner av prediktivt värde, relevant endast för enskilda läkemedel	Rutinanalys för några få läkemedel och diagnoser, prediktiv kapacitet visad
Proteomik	Proteinprofil från tumör eller plasma	Stor potential, öppning mot enkel provtagning	Tekniskt och bioinformatiskt krävande	Teknik i explorativ fas både avseende prognostik och prediktion

Tabell 1. Metoder och analyser som skulle kunna ge behandlingsprediktiv information.

Det behandlingsprediktiva värdet av KRAS mutationsstatus för effekt av EGFR-antikropp vid metastaserad kolorektalcancer etablerades genom en randomiserad studie men på ett annat sätt⁷. Patienterna randomiserades till behandling med EGFR-antikropp eller understödjande behandling oberoende av mutationsstatus men genom att man sedan analyserade den möjligt prediktiva markören, KRAS mutationsstatus, hos i stort sett alla randomiserade patienter såg man att EGFR-antikroppen enbart hade effekt om tumören var av KRAS-vildtyp. Det är också möjligt att etablera en behandlingsprediktiv biomarkör i en icke-randomiserad klinisk studie om man selekterar patienter för behandling

med ett läkemedel utifrån biomarköruttrycket och man kan observera en behandlingseffekt som är långt bättre än man rimligen kan förvänta sig utifrån klinisk kunskap och erfarenhet. På det sättet godkändes crizotinib vid ALK-positiv icke-småcellig lungcancer⁸.

Sammanfattningsvis kan man säga att kliniska studier för att bevisa det prediktiva värdet av en biomarkör är minst lika eller till och med mer krävande avseende design och genomförande som registreringsgrundande studier för nya läkemedel. Exemplet på hur KRAS mutationsstatus etablerades som prediktivt test visar värdet av att man samordnar kliniska behandlingsstudier med biomarkörstudier så att man tar

tillvara den styrka som ligger i att man randomiserat ett stort antal patienter till olika behandlingar och därmed skapat förutsättningar för att metodologiskt säkert belysa värdet av biomarkören. Nyckeln till att kunna göra detta är dock att biomarkören analyseras hos alla patienter och inte, som ofta gjorts i randomiserade studier hittills, i en liten och på oklara grunder selekterad grupp patienter.

Varför har utvecklingen mot individualiserad cancerbehandling inte kommit längre?

Konceptet individualiserad cancerbehandling har diskuterats länge som en trolig och rimlig väg mot bättre och mer

kostnadseffektiv cancerbehandling och lovande metoder för detta har funnits på plats sedan i vissa fall flera decennier. Ändå har vi, återkommande braskande nyhetsrubriker till trots, fortfarande inte kommit längre än att vi för några få cancerläkemedel kan dela in patienter i grupper med större eller mindre sannolikhet för effekt och vi är således långt ifrån det vi menar med individualiserad behandling. Om tekniker finns och intresset är så stort undrar man förstås varför utvecklingen inte kommit längre. Det enkla svaret är att det till största delen är en studieteknisk fråga: De många olika potentiellt behandlingsprediktiva biomarkörer som har funnits och finns tillgängliga har helt enkelt inte undersökts i kliniska studier med tillräckligt bra design och hög statistisk styrka för att tillåta säkra slutsatser avseende prediktiva prestanda.

Detta i sin tur faller tillbaka på att sådana studier, som diskuterats ovan, är så krävande att de akademiska forskargrupper och mindre forskningsföretag som oftast utvecklat de potentiellt prediktiva testen inte på långa vägar har de ekonomiska resurser som krävs för att genomföra studierna. Det är istället de stora resursstarka läkemedelsföretagen drivna av förhoppningar om framtida ekonomiska vinster från läkemedelsförsäljning som kan genomföra denna typ av studier, då dock inriktade på nya läkemedel. Det är också företagets intressen av att hitta en biomarkör för just sitt nya läkemedel som gjort att biomarkörstudier emellanåt framgångsrikt kopplats in i de stora randomiserade läkemedelsstudierna och då kunnat etablera vetenskapligt underlag för användningen av en viss biomarkör för ett visst läkemedel och behandlingsindikation. Av lätt förstådda skäl har företagen dock inte haft intresse av att inkludera mer generiska biomarkörer, såsom cellbaserade test eller genexpressionsanalyser, med potential att predicera effekter av många olika cancerläkemedel i sina studier.

VÄGEN FRAMÅT – TESTA I SKARPT LÄGE

Vi menar att vägen fram mot individualiserad cancerbehandling egentligen mindre handlar om teknisk utveckling men mer om att i skarpt läge, det vill säga i prospektiva kliniska studier med

design och styrka som möjliggör säkra slutsatser, testa de verktyg som redan finns för att möjliggöra individualiserad cancerbehandling. Det blir därmed, som framgått ovan, en fråga om resurser och intresse för att kunna genomföra sådana studier där inte ens de mest generösa bidragen till akademiska forskargrupper eller riskkapitalet satsat i de små forskningsföretagen räcker för att klara detta. Här behövs förmodligen storsatsningar på nivån EUs ramprogram för livsveten-

del. Vi känner oss rätt övertygade om att den individualiserade biomarkörbaserade behandlingen skulle vara effektivare än rutinbehandlingen och då bana väg för ett nytt arbetssätt inom onkologin med behov av nya expertfunktioner i form av till exempel kliniskt inriktade bioinformatiker och "laboratorieonkologer" som kan analysera, tolka och väga samman all den information som behövs för ett optimalt och individualiserat terapival.

"Sammanfattningsvis kan man säga att kliniska studier för att bevisa det prediktiva värdet av en biomarkör är minst lika eller till och med mer krävande avseende design och genomförande som registreringsgrundande studier för nya läkemedel."

skaplig forskning eller liknande för att kunna sjösätta nödvändiga studier. I väntan därpå skulle nationella ickekommersiella forskningsfinansierare kunna stödja väl designade mindre kliniska pilotstudier där principer, logistik och effekter testas i skarpt läge.

Vilken biomarkör, vilket prediktivt "test" är det då som ser mest lovande ut och som borde bli föremål för bra kliniska studier? Den frågan går inte att entydigt besvara då det finns flera tekniker med lovande prestanda men också med olika styrkor och svagheter. Det finns knappast en biomarkör som kan ge all relevant information för ett optimalt terapival utan de olika teknikerna kan bidra med olika bitar information i ett avancerat bioinformatiskt pussel som behöver läggas. En pragmatisk drömstudie vore att inom ramen för en randomiserad design med inklusion av flera olika cancer typer i vilka de olika markörerna ser lovande ut, jämföra dagens rutin med huvudsakligen empiriskt baserad läkemedelsbehandling med den som även baseras på sammanvägd information från exempelvis TDM, ett cellbaserat test, genexpression och analys av enskilda gener och proteiner som vi idag vet kan kopplas till effekt av vissa läkeme-

CELLBASERADE TESTER AV TUMÖRCELLERS KÄNSLIGHET

Idén att direkt mäta läkemedelskänsligheten hos patientens tumörceller för att individualisera behandlingsvalet är naturlig och har en lång historia. Det finns flera olika metoder för att mäta känsligheten för cancerläkemedel, var och en med sina tekniska egenheter, vilka gör dem mer eller mindre lämpade för kliniskt bruk. Bedömning av läkemedelskänslighet *ex vivo* grundar sig på den enkla premissen att om en substans är inaktiv när tumörcellerna direkt exponeras för den i ett provrör är det osannolikt att substansen har effekt i patienten. Valet av mätmetod är kritisk. Tidigt i utvecklingen av resistenstest för cancerläkemedel mättes kolonibildande förmåga efter läkemedelsexponeringen. Metoden ligger i linje med cancerstamcellshypotesen, att det bara är en liten andel omogna celler i populationen av cancer celler som driver tillväxten. Metoden är dock tekniskt svår att utföra och frekvensen lyckade analyser har visat sig låg. Andra metoder mäter effekten av läkemedel på delande celler med DNA-syntes som mått. Emellertid visade sig metoder som mäter tidig cellskada i hela tumörcellspopulationen, och inte bara i

••• läkemedelsbehandling

Mätvariabel	Teknik	Typ av metod
Reproduktiv förmåga	Klonogenisk metod.	Kolonibildning
DNA-syntes	prekursormolekyler	Tymidininkorporering
Membranfunktion	DiSC-metoden	Manuell räkning
	FMCA	Flourescens
Cellmetabolism	MTT-metoden	Absorbans
	ATP-baserad metod	ATP luminiscence
Cellmassa	SRB	Absorbans

Tabell 2. Översikt av de vanligaste teknikerna för cellbaserade test.

de kolonibildande eller prolifererande cellerna, korrelera minst lika bra med kliniskt behandlingsutfall som de tidigare nämnda testmetoderna och var tekniskt mer robusta.

De cellkultursbaserade metoder som är i kliniskt bruk idag baserar sig på cellviabilitetsbestämning efter läkemedelsexponering av anrikade cancerceller från patienter. En av de första studierna som visade god korrelation med behandlingsutfall var baserad på *differential staining cytotoxicity* (DiSC)-metoden⁹. Analysprincipen är baserad på histologisk infärgning av levande och döda celler i den behandlade kulturen. Metoden har många fördelar men kräver stor teknisk expertis, både i utförande och vid bedömning av behandlingssvar som sker via mikroskopering. För att öka provgenomströmningen är metoder med mer automatiserad avläsning att föredra.

Det finns idag ett flertal metoder för att mäta cellviabilitet, till stor del pådrivet av efterfrågan på metoder som lämpar sig för screening vid läkemedelsutveckling. Reagensen varierar men de huvudsakliga analysprinciperna är mätning av metabol aktivitet, cellmassa eller intakta cellmembran. MTT-metoden bygger på kolorimetrisk mätning av ett bildat olösligt lila salt i metabolt aktiva celler⁴. En annan metod som mäter metabol aktivitet baseras på mängden ATP via luminiscens genererad från luciferas i cellysat. Mängden ATP korrelerar direkt med antalet celler⁹. Cellmassa kan mätas med sulforhodamine B (SRB) som binder in till proteiner i fixerade celler¹. En nackdel med SRB-metoden är dock att den inte mäter viabla celler vilket förutsätter att döda cellers proteiner har

försvunnit från kulturen. Till metoder som mäter intakta cellmembran hör *fluorometric microculture cytotoxicity assay* (FMCA) som utvecklades i Uppsala. Analysprincipen är att esteraser i celler med intakt plasmamembran hydrolyserar fluorenceindiacetat till det fluorescerande ämnet fluorescein. Tabell 2 ovan sammanfattar de vanligaste metoderna för cellbaserade känslighetstest.

Grovt sett har dessa metoder en sensitivitet på ca 90 procent och specificitet på 70 procent för att förutsäga tumörrespons¹. En högre sensitivitet än specificitet är förväntat eftersom det finns mekanismer för resistens *in vivo* som inte ligger på cellulär nivå, men om tumörcellerna är resistenta *ex vivo* är det osannolikt att läkemedlet kan ha effekt *in vivo*.

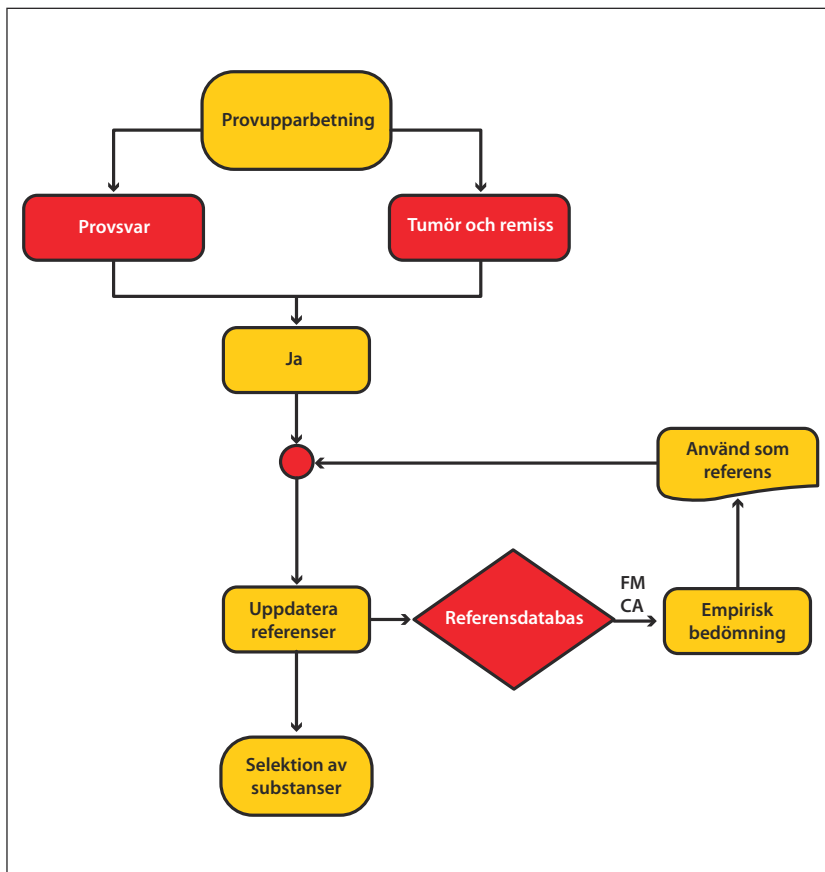
”Vi menar att vägen fram mot individualiserad cancerbehandling egentligen mindre handlar om teknisk utveckling men mer om att i skarpt läge, det vill säga i prospektiva kliniska studier med design och styrka som möjliggör säkra slutsatser, testa de verktyg som redan finns för att möjliggöra individualiserad cancerbehandling.”

Till de cellviabilitetsbaserade metoderna kan funktionellt orienterade tester läggas, till exempel bestämning av DNA-syntes, där helt enkelt nybildning av DNA som mått på proliferation mäts⁴ eller mätning av apoptos (till exempel *microculture kinetic assay*, MiCK)¹².

Det är anmärkningsvärt vad beträffar metoderna som mäter cytotoxisk effekt i hela cellpopulationen, att korrelationen mellan test och kliniskt utfall inte nämnvärt beror på diagnos och mätme-

RESISTENSTEST AV CANCERLÄKEMEDEL

Sedan 2005 finns analysen Resistensstest Cancerläkemedel (RCL) i rutinsortimentet vid Akademiska Laboratoriet, Akademiska sjukhuset, Uppsala. I dagsläget svarar vi på cirka 150 remisser på solida tumörer och ungefär lika många från leukemier per år. Figur 2 visar ett flödesschema för analysen som bygger på empirisk bedömning av läkemedelskänslighet för det aktuella provet. Prov-



Figur 2. Flödesschema för resistenstest av cancerläkemedel vid Akademiska Laboratoriet.

I dagsläget kan vi testa upp till 80 läkemedel på ett tumörprov. Läkemedlen tillsätts med akustisk dispensering, en relativt ny teknik där nanoliterstora droppar flyttas från stamlösningsplattor till försöksplattan med hjälp av en ljudimpuls. Detta ger en stor flexibilitet och möjlighet att utforma försöksplattan individuellt för varje prov.

På remissen har remitterande läkare möjlighet att prioritera vilka läkemedel som ska testas. Den begränsande faktorn är antalet celler som kan utvinnas ur provet. För hematologiska maligniteter är utbytet typiskt mycket stort, men för solida tumörer varierar antalet celler både inom och mellan diagnoser och varierar förstas med provmängd. Från till exempel operationspreparat från ovarial- och njurcancer utvinns typiskt flera miljoner celler, men från pankreascancer bara några hundra tusen. Mellannålsbiopsier från exempelvis levermetastaser ger oftast tillräckligt med celler för ett begränsat test med de kliniskt viktigaste läkemedlen. Till varje testad substans och koncentration behövs i dagsläget cirka 10 000 celler, men vi arbetar med att utveckla känsligare metoder för att kunna minska antalet. För de allra flesta prover kan ett provsvar levereras, men

svaret bygger på jämförelse av uppmätt känslighet hos tidigare analyserade prover och analysdata adderas kontinuerligt till referensdatabasen allt eftersom fler prover analyseras.

PROVMATERIAL OCH CELLPREPARATION

I laboratoriet upparbetas provet för att anrika cancercellerna som sedan exponeras för en panel av läkemedel i fem koncentrationer. Behandlingen görs i miniatyriserat format i mikrotiterplattor, och efter tre dagar analyseras andelen överlevande celler.

Provmaterialet måste vara färskt och viabelt och bestå av blod eller benmärg från patienter med hematologiska maligniteter eller operationspreparat och/eller biopsier från patienter med solida tumörer. Proverna bör anlända till laboratoriet inom 24 timmar från provtagningstillfället och prov från solida tumörer förvaras lämpligen i transportmedium (tillhandahålls av laboratoriet) under transporten.

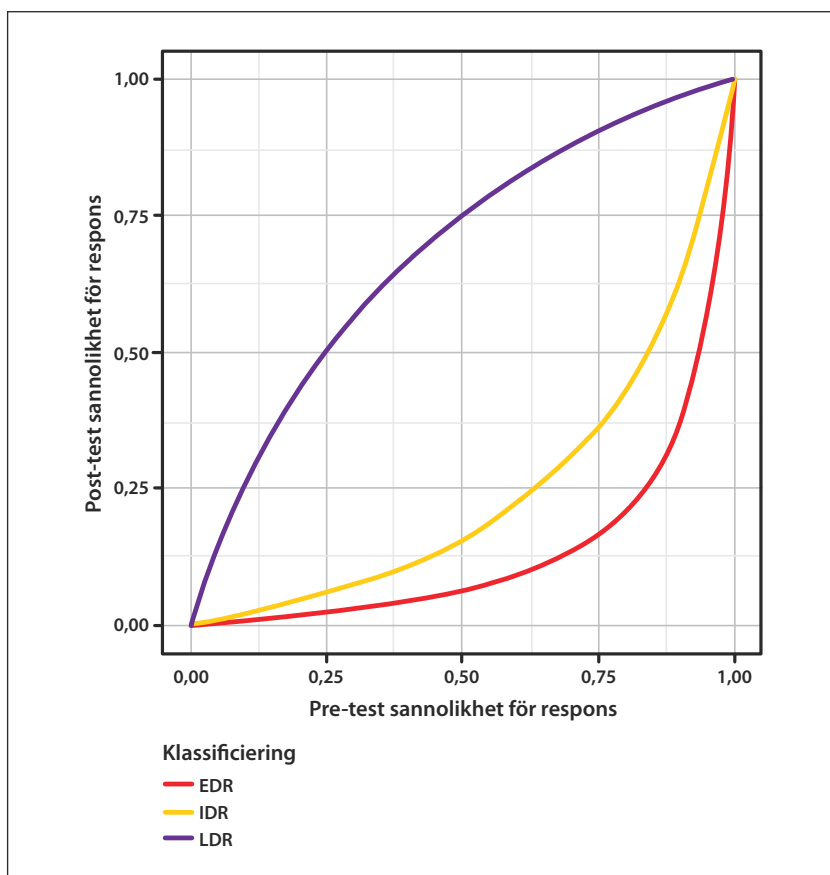
”Bedömning av läkemedelskänslighet ex vivo grundar sig på den enkla premissen att om en substans är inaktiv när tumörcellerna direkt exponeras för den i ett provrör är det osannolikt att substansen har effekt i patienten.”

Perifert blod och/eller benmärg tas i natrium-heparinrör och de mononukleära cellerna skördas med leukocytseparationsmedium. Solida tumörprov klipps manuellt med sax och enzymbehandlas med kollagenas och cellerna tvättas och renas sedan i flera olika steg beroende på preparatets beskaffenhet. Tidsåtgången för upparbetning av en solid tumör ligger på 6-8 timmar. Härefter bedöms tumör-cellhalten och cellerna sås ut på 384-håls mikrotiterplattor som ställs i inkubator tills läkemedelstillsättning vilket görs inom cirka en timme. Därefter inkuberas mikrotiterplattorna i en inkubator under tre dygn före avläsning.

antalet testade substanser varierar, särskilt för den solida tumörgruppen.

BEDÖMNING AV PROVSVAR

För varje läkemedel och koncentration klassificeras svaret som låg (LDR), intermediär (IDR) eller hög resistens (EDR) baserat på jämförelse med andra liknande prover inlagda i en referensdatabas. Om andelen överlevande celler ligger under medianen klassas svaret som LDR, om mellan median och medianen plus en standardavvikelse som IDR och om över medianen plus en standardavvikelse som EDR.

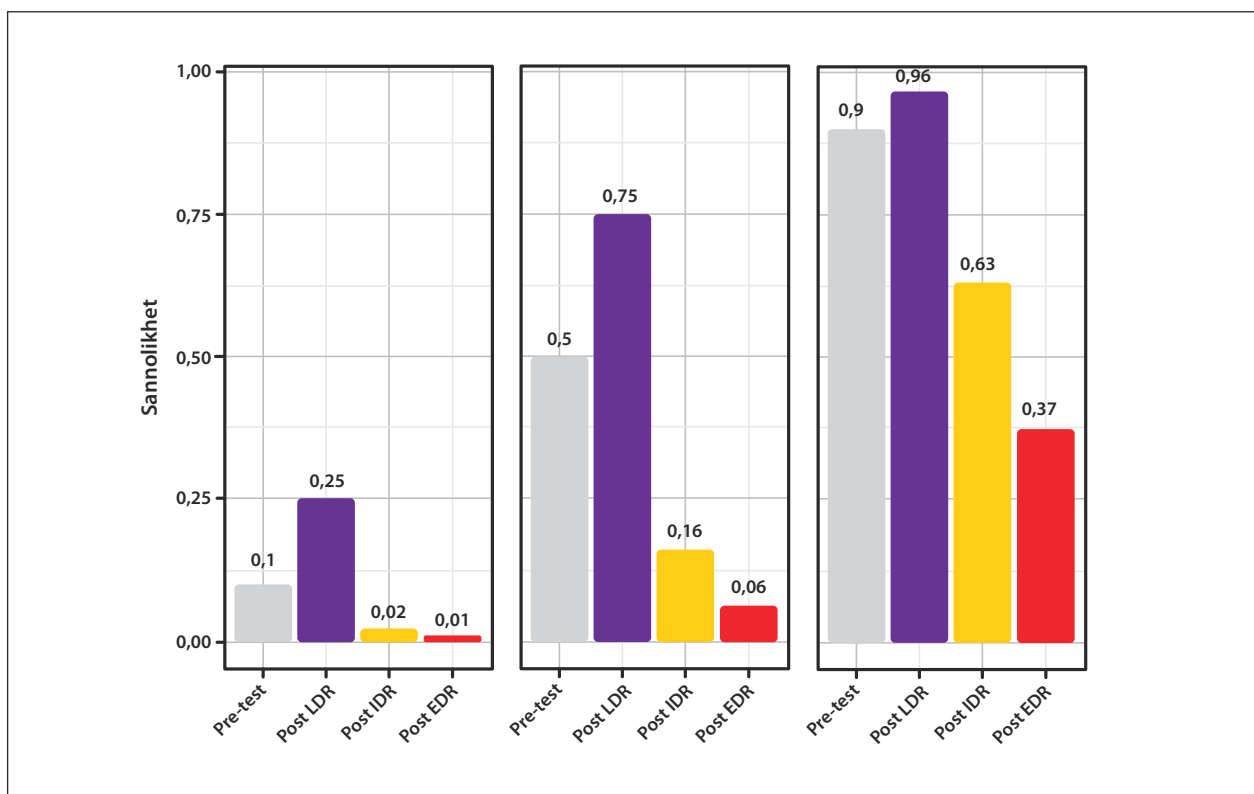


Figur 3. Nomogram i vilket sannolikheten för respons givet testutfall (klassificering) kan utläsas. Läkemedlets responsfrekvens i den aktuella patientgruppen anges på x-axeln, varpå sannolikheten för att patienten ska svara på läkemedlet avläses på y-axeln utifrån klassificeringen i testet.

Referensvärdena väljs i regel per diagnos, proven som används som referens väljs ut för att likna det analyserade så mycket som möjligt. För större diagnosgrupper finns tillräckligt många prover i databasen för att få säkra uppskattningar på median och standardavvikelse. För mer sällsynta diagnoser görs analysen genom att välja prover från en representativ blandning av diagnoser. Till exempel, för en mer sällsynt solid tumör kan hela materialet från solida tumörer användas som en referens.

För läkemedel där sannolikheten för patienter i gruppen att svara på behandling är känd, beräknar vi dessutom vilken sannolikhet patienten har att uppnå tumorsvar givet testresultatet. Beräkningen som baserar sig på Bayes teorem och prestandan i vår analys illustreras i Figur 3.

Givet responsfrekvensen för det aktuella läkemedlet i patientgruppen som helhet kan man läsa av posttest-sannolikheten för patienten att svara beroende på hur läkemedlet klassificerats i testet. Figur 4 visar några exempel på hur sannolikheten för respons ändras beroende på testets utfall. Det är tydligt att testet är mest informativt när det



Figur 4. Sannolikhet för patienten att svara på behandling (Post LDR, IDR, EDR) med ett läkemedel utifrån olika responsfrekvenser för patientgruppen som helhet (Pre-test).

gäller att predicera resistens. För till exempel ett läkemedel som har en responsfrekvens på 10 procent i patientgruppen kommer en klassificering som LDR bara att öka sannolikheten för den aktuella patienten att svara till 25 procent, en relativt modest ökning, och värdet av en LDR-klassificering minskar ju högre responsfrekvensen är. För IDR och EDR minskar däremot sannolikheten för patienten att svara drastiskt och alternativ till läkemedlet bör övervägas.

Vilken klinisk användning av testet är rimlig idag?

Utifrån befintliga data ser vi två tillämpningsområden som rimliga: Dels för att kunna exkludera läkemedel ur behandlingen vid konstaterad läkemedelsresistens (EDR), särskilt för patienter med låg pre-test sannolikhet, dels för att möjliggöra informerade val mellan behandlingsregimer som kan betraktas som lika effektiva utifrån klinisk kunskap. Vid EDR är det högst osannolikt att patienten kommer att svara på läkemedlet vilket ger den behandlande läkaren stöd för att avstå från behandling eller välja en annan typ av behandling.

Ett annat användningsområde för cellkulturbaserade läkemedelstester är som potentiell prediktiv biomarkör utifrån information som kan samlas in inom ramen för kliniska studier för ett specifikt läkemedel. Testerna kan också

hjälpa till att identifiera den bäst lämpade diagnosen för inledande kliniska prövningar av ett nytt läkemedel efter att effekten jämförts mellan diagnoser i en panel av olika tumörtyper ex vivo.

Den framtida utvecklingen av metoden som vi jobbar med är bland annat att miniaturisera den ytterligare. Kan färre celler användas per testat läkemedel så kan fler läkemedel analyseras och mindre mängd vävnad behövs för fullständig analys. Vi arbetar även med att komplettera metoden med flödescytometri- och genexpressionsanalyser för att hitta markörer som bidrar till tolkningen av resultaten.

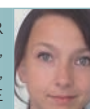
REFERENSER

1. Blom, K., Nygren, P., Alvarsson, J., Larsson, R., & Andersson, C. R. (2016) *J. Lab Autom.* 21, 178-187.
2. Lindhagen, E., Nygren, P., & Larsson, R. (2008) *Nat. Protoc.* 3, 1364-1369.
3. Goossens, N., Nakagawa, S., Sun, X., & Hoshida, Y. (2015) *Transl. Cancer Res.* 4, 256-269.
4. Unger, F. T., Witte, I., & David, K. A. (2015) *Cell Mol. Life Sci.* 72, 729-757.
5. Cree, I. A., Kurbacher, C. M., Lamont, A., Hindley, A. C., & Love, S. (2007) *Anticancer Drugs* 18, 1093-1101.
6. Le Tourneau, C., Delord, J. P., Goncalves, A., Gavaille, C., Dubot, C., Isambert, N., Campone, M., Tredan, O., Massiani, M. A., Mauborgne, C. et al. (2015) *Lancet Oncol.* 16, 1324-1334.
7. Amado, R. G., Wolf, M., Peeters, M., Van, C. E., Siena, S., Freeman, D. J., Juan, T., Sikorski, R., Suggs, S., Radinsky, R. et al. (2008) *J. Clin. Oncol.* 26, 1626-1634.
8. Kwak, E. L., Bang, Y. J., Camidge, D. R., Shaw, A. T., Solomon, B., Maki, R. G., Ou, S. H., Dezube, B. J., Janne, P. A., Costa, D. B. et al. (2010) *N. Engl. J. Med.* 363, 1693-1703.
9. Bosanquet, A. G. (1991) *Lancet* 337, 711-714.
10. Kangas, L., Gronroos, M., & Nieminen, A. L. (1984) *Med. Biol.* 62, 338-343.
11. Vichai, V. & Kirtikara, K. (2006) *Nat. Protoc.* 1, 1112-1116.
12. Bosserman, L., Prendergast, F., Herbst, R., Fleisher, M., Salom, E., Strickland, S., Raptis, A., Hallquist, A., Perree, M., Rajurkar, S. et al. (2012) *Cancer Res.* 72, 3901-3905.

PETER NYGREN, PROFESSOR/ÖVERLÄKARE, INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI, UPPSALA UNIVERSITET/ONKOLOGIKLINIKEN, AKADEMISKA SJUKHUSET, UPPSALA, PETER.NYGREN@IGP.UU.SE



KRISTIN BLOM, DOKTORAND/BIOMEDICINSK ANALYTIKER, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSKA VETENSKAPER, UPPSALA UNIVERSITET/KLINISK KEMI OCH FARMAKOLOGI, AKADEMISKA SJUKHUSET, UPPSALA, KRISTIN.BLOM@MEDSCI.UU.SE



CLAES ANDERSSON, FORSKARE, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSKA VETENSKAPER, UPPSALA UNIVERSITET/KLINISK KEMI OCH FARMAKOLOGI, AKADEMISKA SJUKHUSET, UPPSALA, CLAES.ANDERSSON@MEDSCI.UU.SE



ROLF LARSSON, PROFESSOR/ÖVERLÄKARE, INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSKA VETENSKAPER, UPPSALA UNIVERSITET/KLINISK KEMI OCH FARMAKOLOGI, AKADEMISKA SJUKHUSET, UPPSALA, ROLF.LARSSON@MEDSCI.UU.SE

