

Tumörheterogenitet

– *en utmaning för både diagnostik och behandling*

En ny studie kring spridningsvägar för bröstcancer visar att metastaser sprider sig vidare från det första organet till andra organ i nästa steg. I vissa fall rör sig om en tidig explosion av cancerceller från brösttumören som ger upphov till metastaser i flera olika organ på en gång. Ett viktigt fynd var att metastaserna i lymfkörtlarna i armhålan inte verkar sprida sig vidare till andra organ. Även om dessa metastaser kan visa hur aggressiv canceren är, är det inte de som orsakar spridningen, skriver docent **Johan Hartman** vid Institutionen för onkologi-patologi vid Karolinska Institutet.



”Ett viktigt fynd var att i samtliga patienter där axillmetastaser förekom uppvisade dessa inget släktskap med fjärrmetastaserna utan tumörcellerna hade spridits direkt från primärtumören.”

i bröstcancer

Bröstcancer uppvisar stora skillnader i prognos och behandlingsrespons mellan olika patienter. Det gäller även tumörer som förefaller vara morfologiskt identiska i mikroskopet. Tumörstorlek och antal lymfkörtelmetastraser i axillen är de starkaste prognostiska faktorerna. Skillnader i behandlingsrespons mellan olika patienter kan delvis förklaras av skillnader i biomarköruttryck mellan olika tumörer.

I rutindiagnostiken av bröstcancer undersöks fyra proteiner med immunhistokemi; östrogenreceptorn (ER), progesteronreceptorn (PR), Her2 och proliferationsmarkören Ki67¹.

OJÄMNT FÖRDELADE UTTRYCK

Uttrycket av dessa biomarkörer tillsammans med tumörstadium och övriga kliniska faktorer lägger sedan grunden för den onkologiska behandling som patienten erhåller. Men biomarköruttryck kan också vara ojämnt fördelade inom en tumöryta där vissa regioner har starkt uttryck och andra helt saknar uttryck. Biomarkör-heterogenitet går ofta hand i hand med den morfologiska heterogenitet som patologer ofta påvisar i tumören. Vissa regioner kanske har en klassisk

körtelbildande (duktal) morfologi medan andra uppvisar en gles, infiltrativ (lobulär) morfologi.

Proliferationsmarkören Ki67 är kritiskt viktig för att dela in bröstcancer i subtyper men uppvisar nästan alltid heterogenitet med så kallade "hot-spots" där proliferationen kan vara 10-tals gånger starkare än inom andra regioner. PR uppvisar ofta heterogenitet och även ER uppvisar emellanåt heterogenitet inom tumören vilket i så fall påverkar prognosen negativt². Her2-uttrycket är i de allra flesta tumörer förvånansvärt homogent men undantag förekommer där endast fläckar av tumören har Her2-amplifikation.



ring, och i dessa fall kan det vara ytterst svårt att förutsäga patientens nytta av anti-Her2-behandling. Vid tveksamma fall utförs alltid in situ-hybridisering för att räkna antalet Her2-kopior per cell.

PROBLEMATISK VARIATION

För de patienter som insjuknar med recidiv eller metastatisk sjukdom är variation i biomarkörer problematisk. Studier från vår forskargrupp och andra visar att biomarköruttrycket förändras i många metastaser och det är ingen garanti att uttrycket är lika i olika metastaser³. I praktiken kan det innebära att en patient som tidigare behandlats med endokrin terapi inte längre får effekt av denna och istället behöver erhålla annan behandling. Vad är då orsaken till att biomarkörer inte uttrycks homogent i tumörer? Våra rutinbiomarkörer är samtliga proteiner. Proteinuttryck i sin tur regleras på flera nivåer och där själva genexpressionen av mRNA-molekyler är avgörande. Enskilda gener kan uppvisa avsevärd heterogenitet intratumoralt men vår forskning visar att bredare genprogram, så kallade molekyllära subtyper uttrycks tämligen homogent inom primärtumörerna⁴.

De fåtal studier som undersökt genexpression i primärtumörer och motsvarande metastaser bekräftar att genexpression fluktuerar och ofta resulterar i förändrade molekyllära subtyper⁵.

Hur ser det då ut på DNA-nivå? I ett nyligen publicerat arbete från vår forskargrupp i *Journal of Clinical Investigation* har vi studerat tumörprogressionen i bröstcancerpatienter, från primärtumör till både axillmetastaser och till fjärrmetastaser⁶. I normalfallet bortopereras inte metastaser eftersom det inte förbättrar överlevnaden, systemisk sjukdom är sällan botbar. Genom att gå igenom patologiregister många år tillbaka i tiden identifierade vi avlidna patienter från vilka primärtumören och bortopererade metastaser ändå fanns tillgängliga i biobank. Vi utförde DNA-sekvensering på formalinfixerat material av samtliga gener i normalvävnad, multipla delar av både metastaserna och primärtumören.

KARTLAGDA SPRIDNINGSVÄGAR

Genom fylogenetisk släktskapsanalys kunde vi sedan kartlägga spridningsvägarna för cancerceller. Det visade sig att flertalet metastaser spreds från primärtumören i relativt sent skede till ett organ och sedan vidare till andra organ, så kallad linjär tumörprogression. Men motsatsen förekom också i ett fall, så kallad parallell tumörprogression där spridning från primärtumören skedde tidigt och till flera organ samtidigt. Intressant nog kunde vi se att vissa specifika regioner i primärtumören gav upphov till metastaser i vissa organ.

Det återspeglar den heterogenitet som tidigare beskrivits i primärtumören där endast vissa tumörcellskloner ger upphov till metastaser. Ett viktigt fynd var att i samtliga patienter där axillmetastaser förekom uppvisade dessa inget släktskap med fjärrmetastaserna utan tumörcellerna hade spridits direkt från primärtumören.

DNA-förändringar i så kallade tumördrivande gener skiljde sig också markant mellan primärtumör och metastas i flera patienter. I samtliga metastaser fanns unika mutationer i tumördrivande gener som av allt att döma uppkommit under eller efter metastaseringsprocessen. Sammantaget visar våra resultat att tumörbiologin är föränderlig och avhängig DNA-förändringar som uppvisar heterogenitet. I framtiden blir det därför ännu viktigare att karakterisera metastaserna och att utveckla alternativa tekniker för mätning av biomarkörer.

RASANDE SNABB UTVECKLING

Utvecklingen av nya molekyllärdiagnostiska metoder går i ett rasande tempo. Geneexpressionsanalyser kommer till exempel att bli ett viktigt komplement och kommer kanske till och med ersätta dagens immunohistokemiskt analyserade biomarkörer. DNA-sekvensering direkt från primärtumör eller metastas möjliggör identifiering av behandlingsbara DNA-förändringar och digital bildanalys av mikroskopibilder kommer att fungera som beslutsstöd för patologen. Dessa nya diagnostiska tekniker kommer att ge en ny förståelse för tumörheterogeniteten och bli en förutsättning för individanpassad cancerbehandling.

REFERENSER

1. Nationellt vårdprogram bröstcancer 2018. <https://www.cancercentrum.se/samverkan/cancerdiagnoser/brost/vardprogram/>
2. Lindström LS et al., Intratumor Heterogeneity of the Estrogen Receptor and the Long-term Risk of Fatal Breast Cancer. *J Natl Canc Inst.* 2018; Jan 19, in press.
3. Lindström LS et al., Clinically used breast cancer markers such as estrogen receptor, progesterone receptor, and human epidermal growth factor receptor 2 are unstable throughout tumor progression. *J Clin Oncol.* 2012; 30(21):2601-8.
4. Karthik GM et al., Intra-tumor heterogeneity in breast cancer has limited impact on transcriptomic-based molecular profiling. *BMC Cancer.* 2017; 17(1):802.
5. Cejalvo JM et al., Intrinsic Subtypes and Gene Expression Profiles in Primary and Metastatic Breast Cancer. *Cancer Res.* 2017; 77(9):2213-2221.
6. Ullah I et al., Evolutionary history of metastatic breast cancer reveals minimal seeding from axillary lymph nodes. *J Clin Invest.* 2018; 128(4):1355-1370.

JOHAN HARTMAN, DOCENT, SPECIALISTLÄKARE, KLINISK PATOLOGI OCH CYTOLOGI, KAROLINSKA UNIVERSITETSLABORATORIET OCH KAROLINSKA INSTITUTET, STOCKHOLM.

