

Spridd prostatacancer:





Ny stor studie kan ge vägledning som **förlänger livet**

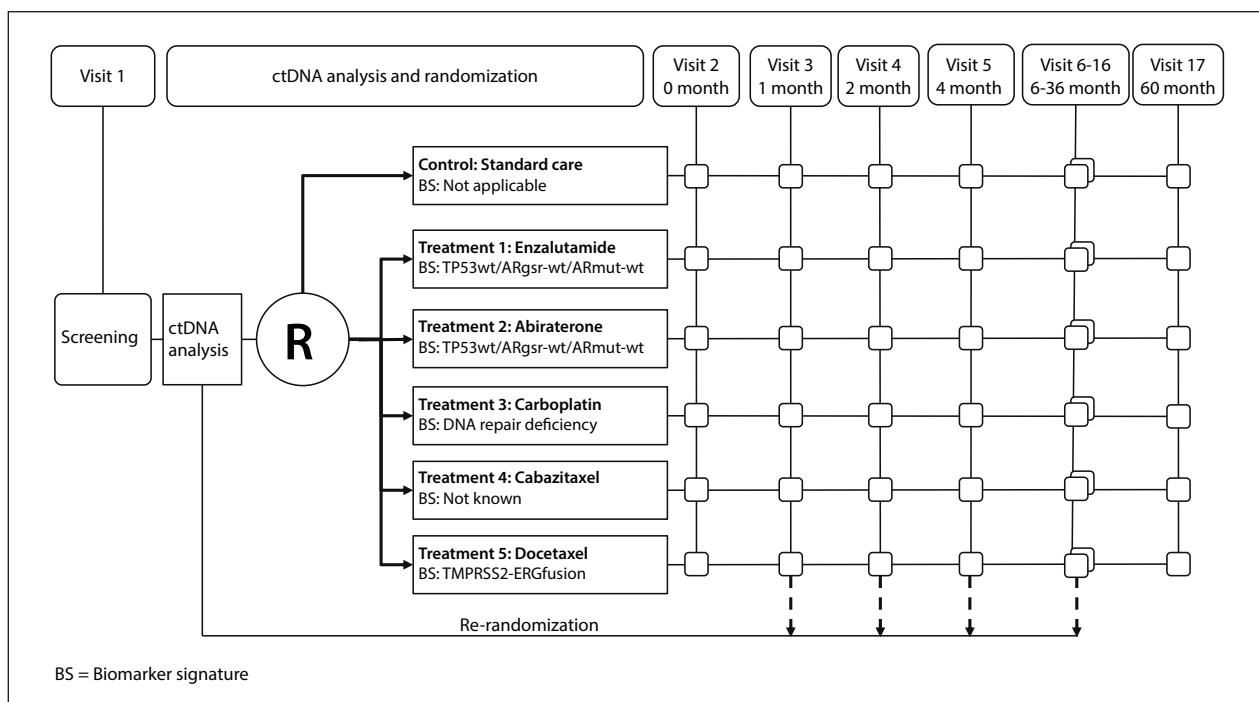
Forskare vid Karolinska Institutet har hittat markörer som i ett blodprov kan förutsäga vilka patienter som har nytta av läkemedel mot spridd prostatacancer.

Förhoppningen är att fyndet kan leda till ett test som bidrar till en mer individanpassad behandling av sjukdomen. I det fortsatta arbetet initieras nu ProBio – en omfattande randomiserad klinisk studie som kommer att genomföras på 10–15 sjukhus i Sverige.

Målet med studien är att testa om randomisering baserat på ctDNA-profilering kan förbättra patienters progressionsfria överlevnad samt att hitta behandlingsprediktiva biomarkörer för metastaserad kastrationsresistent prostatacancer.

Fyndet och den nya studien beskrivs här av **Johan Lindberg**, forskare vid Institutionen för medicinsk epidemiologi och biostatistik vid Karolinska Institutet.

Cirka 2 500 män drabbas varje år av metastaserad prostatacancer. Initial hormonell behandling fungerar väl för de flesta med spridd prostatacancer. Men med tiden utvecklar tumören resistens, vilket resulterar i metastaserad kastrationsresistent prostatacancer (mCRPC). För närvarande



Figur 1. ProBio studiedesign. ProBio är en randomiserad, parallell-arms läkemedelsprövning med plattform-design. mCRPC patienter som tål alla behandlingar som utvärderas i studien och som max fått två tidigare behandlingar kan delta. ctDNA analyseras för alla studiedeltagare, även kontrollgruppen men används bara för behandlingsbeslut i experimentarmen. ProBio använder en adaptiv randomiseringsalgoritm vilket innebär att allteftersom responsdata ackumuleras i studien så justeras randomiserings sannolikheterna för att öka inklusionstakten i de biomarkör/behandlingskombinationer som fungerar. Studiedeltagare kan återrandomiseras en gång, de stannar dock i kontrollarmen ifall de randomiserades dit initialt. Varje biomarkör/behandlingskombination jämförs kontinuerligt med kontrollgruppen för examination eller termination enligt predefinierade statistiska kriterier. Max 150 patienter kan tilldelas en specifik kombination och utvärdering sker kontinuerligt av data safety monitoring board. Vid examination kommer en valideringsarm att öppnas för att bekräfta att kandidatkombinationen signifikant förbättrar progressionsfria överlevnaden relativt kontrollgruppen. För varje biomarkörsignatur som initialt testas i studien existerar retrospektiva data som föreslår en association med en viss behandling vilket är utskrivet för varje behandling i experimentarmarna. Nya behandlingar och biomarkörer kan läggas till i framtiden.

är fem läkemedel godkända för behandling av mCRPC baserat på publicerade fas III-studier med signifikanta överlevnadsvinster jämfört med placebo (enzalutamide, abiraterone, cabazitaxel, docetaxel och radium-223). Ingen av dessa studier analyserade dock biomarkörer för att försöka förstå vilka patienter som har nytta av respektive behandling. Den relativt sett låga svarsfrekvensen leder därmed till onödiga biverkningar för många patienter samt förhöjda läkemedelskostnader ur ett samhällsekonomiskt perspektiv. För att undvika detta finns det ett starkt behov av att före behandlingsstart kunna identifiera de män som kommer att ha nytta av ett läkemedel med hjälp av behandlingsprediktiva biomarkörer.

INGA KÄNDA BIOMARKÖRER

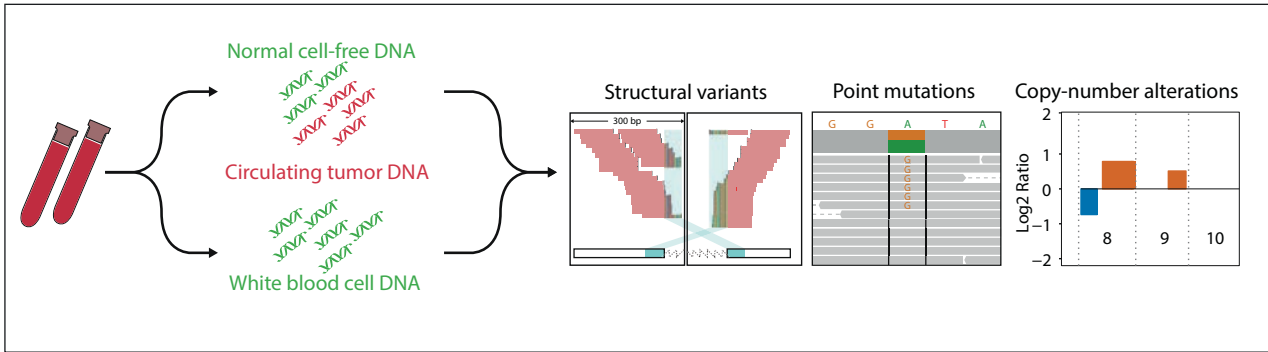
För närvarande finns det inga kända behandlingsprediktiva biomarkörer för något av de fem godkända läkemedlen. Den mesta biomarkörforskningen har

gjorts med fokus på androgenreceptorn (AR) eftersom testosteron eller derivat av testosteron binder till och aktiverar AR. AR är den centrala transkriptionsfaktorn i prostatacancer och reglerar celldelning och överlevnad av cancerceller. Vid progression i hormonkänslig fas uppstår vanligen somatiska förändringar i AR som en konsekvens av det evolutionära behandlingstrycket. Sådana förändringar inkluderar amplifiering, punktmutationer, strukturella rearrangemang samt uttryck av trunckerade transkript vilka möjliggör ligand-oberoende tillväxt och överlevnad av cancerceller.

Två läkemedel i kastrationsresistent fas riktar sig mot AR-signalering, abiraterone sänker testosteronnivåerna ytterligare medan enzalutamide binder till och blockerar den ligandbindande domänen hos AR. Associationen mellan androgenreceptor splice-variant 7 (AR-V7) och dålig prognos före behandling med abiraterone eller enzalutamide (ARSi, AR signaling inhibitors) publicerades först i New England Journal of Medicine (25184630). Genuttryck av AR-V7 undersöktes genom kvantitativ rtPCR-analys på anrikade cirkulerande tumörceller (CTCs) i en bakgrund av vita blodkroppar (modifierad AdnaTest CTC AR-V7 mRNA assay). Efter detta har även bildanalys av CTCs färgade med hjälp av en antikropp mot AR-V7 visat sig ha prognostiskt värde i män med mCRPC (27262168, CTC AR-V7 Nucleus Detect protein assay, Epic Sciences). Uppföljningsstudierna har dock också utförts på retrospektivt material (26181238, 29955787) vilket lett till en intensiv debatt kring den kliniska relevansen av AR-V7 i avsaknaden av randomiserade studier (28688614, 29955776). Nyligen publicerades ännu en uppföljningsstudie (PROPHECY, NCT02269982 men inte heller här randomiserades patienterna (30865549). Studien innehöll dessutom flertalet

tamide (ARSi, AR signaling inhibitors) publicerades först i New England Journal of Medicine (25184630). Genuttryck av AR-V7 undersöktes genom kvantitativ rtPCR-analys på anrikade cirkulerande tumörceller (CTCs) i en bakgrund av vita blodkroppar (modifierad AdnaTest CTC AR-V7 mRNA assay). Efter detta har även bildanalys av CTCs färgade med hjälp av en antikropp mot AR-V7 visat sig ha prognostiskt värde i män med mCRPC (27262168, CTC AR-V7 Nucleus Detect protein assay, Epic Sciences). Uppföljningsstudierna har dock också utförts på retrospektivt material (26181238, 29955787) vilket lett till en intensiv debatt kring den kliniska relevansen av AR-V7 i avsaknaden av randomiserade studier (28688614, 29955776). Nyligen publicerades ännu en uppföljningsstudie (PROPHECY, NCT02269982 men inte heller här randomiserades patienterna (30865549). Studien innehöll dessutom flertalet

●●● prostatacancer



Figur 2. Genomisk analys i ProBio. 2 x 10 ml blod analyseras prospektivt inför varje randomiseringstillfälle. Från plasma extraheras cell-fritt DNA. Även friska individer har cell-fritt DNA i plasma. I individer med cancer kommer en fraktion från tumörcellerna, så kallat cirkulerande tumör-DNA. Germline-DNA extraheras från överblivet blod efter plasmacentrifugering. En anrikning görs sedan för att kunna sekvensera och analysera de regioner i humana genomet som är relevanta för prostatacancer. Detta inkluderar exoniska, introniska samt intergeniska regioner. En omfattande bioinformatisk analys utförs sedan för att identifiera strukturell variation, mutationer samt kopietsförändringar både från cirkulerande tumör-DNA samt germline-DNA. Denna information används sedan för att definiera biomarkörsignaturerna och randomisering av studiedeltagarna.

tvksamheter gällande statistisk analys, patienturval samt att författarna hävdade behandlings-prediktiv förmåga genom att hänvisa till sina tidigare retrospektiva studier (pmid: 31265360).

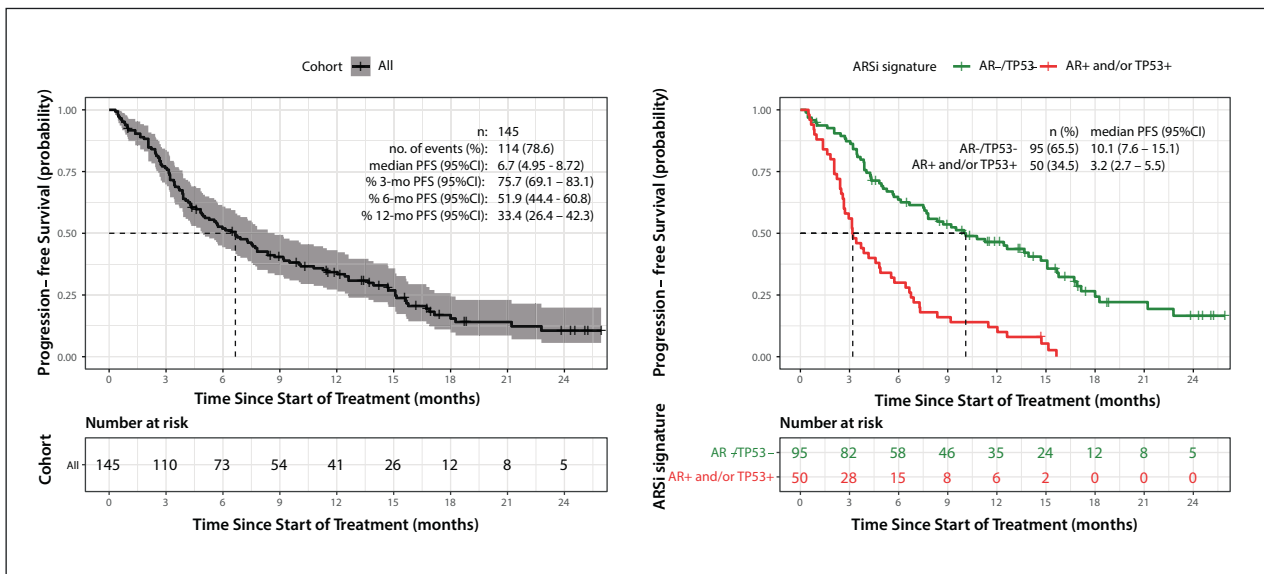
”Eftersom det är mycket svårt att ta och processa metastasbiopsier från män med mCRPC etablerade vi en omfattande blodbaserad icke-invasiv profil.”

GRUNDLIG UNDERSÖKNING

Parallellt med den pågående forskningen kring AR-V7 bestämde vi oss för att grundligt undersöka AR i 30 män med mCRPC. Olika forskargrupper hade undersökt AR antingen med hjälp av DNA eller RNA-analys, men inte samtidigt. Eftersom det är mycket svårt att ta och processa metastasbiopsier från män med mCRPC etablerade vi en om-

fattande blodbaserad icke-invasiv profil. Denna innefattar sekvensering av cirkulerande tumör-DNA (ctDNA) från plasma och analys av AR-V7 samt ytterligare en handfull kända splice-varianter från CTC-RNA. Vi fann att majoriteten bar på multipla somatiska för-

ändringar i AR med stor heterogenitet. Detta begränsar det kliniska värdet av en enskild biomarkör, såsom AR-V7 eller AR-amplifiering (28104311). I en uppföljningsstudie använde vi vår blodbaserade icke-invasiva profil i 168 män med mCRPC för att undersöka de



Figur 3. Effekten av en biomarkörsignatur på progressionsfri överlevnad. Vänstra panelen: Kaplan-Meier-analys av män med mCRPC som behandlats med abiraterone eller enzalutamide. Högra panelen: Som i vänstra panelen men stratifierat på biomarkörsignaturen TP53WT/ARWT.

dittills kända biomarkörerna, associerade med dålig prognos, före start av ARSi-behandling. Vi blev mycket förvånade att ingen biomarkör i AR var signifikant associerad med prognos i den multivariata analysen. Istället var somatiska förändringar i TP53 tillsammans med tumörbördaestimat signifikant associerade med progressionsfri överlevnad. Vi gjorde dock en intressant observation, nämligen att majori-

ringar i AR hos en enskild patient. Därefter utförde vi en post-hoc analys för att undersöka om AR-börda var signifikant associerad med prognos i patienter med oförändrad TP53. Vi fann att en ökning av AR-bördan innebar en reduktion av den progressions-fria överlevnaden vilket nådde statistisk signifikans i den multivariata analysen om tre eller fler somatiska förändringar kunde detekteras i AR (31046065).



“ Vi blev mycket förvånade att ingen biomarkör i AR var signifikant associerad med prognos i den multivariata analysen. Istället var somatiska förändringar i TP53 tillsammans med tumörbördaestimat signifikant associerade med progressionsfri överlevnad.”

teten av män bar på en eller flera relevanta somatiska förändringar i AR vilket i princip gällde alla vid progression. Det är sannolikt att långsiktig kastring i kombination med ytterligare behandling leder till somatiska förändringar i AR hos alla män. I detta scenario är det inte relevant att undersöka en enskild biomarkör för att stratifiera patienter. Vi myntade termen ”AR-börda” definierat som antalet relevanta föränd-

FÖRBÄTTRAR AR-ANALYS

Vi arbetar nu med att förbättra vår blodbaserade analys av AR för att bland annat kunna ta hänsyn till absoluta expressions-nivåer av enskilda splicevarianter samt kopietal av AR-amplifiering. Vi behöver dock biobanka prospektivt från nya patienter eftersom CTC-anrikning för RNA-analys behöver utföras inom ett dygn från det att blod dragits. Detta kommer vi att göra inom ramen

av en ny klinisk studie. I samband med våra retrospektiva studier förde jag, Martin Eklund (biostatistikforskare, MEB) och Henrik Grönberg (professor, MEB) intensiva diskussioner kring vilken typ av studie som behöver göras för att ta nästa steg och utvärdera om de nuvarande prognostiska biomarkörerna är behandlings-prediktiva eller inte. Därför har vi initierat ProBio-studien (Prostate Biomarkers, NCT03903835, www.probiotrial.org). ProBio är designad som en adaptiv randomiserad plattformstudie (Fig. 1) där bred panel-sekvensering av ctDNA samt germline-DNA utförs prospektivt (Fig. 2) för att identifiera så kallade biomarkörssignaturer. En biomarkörssignatur definieras som somatiska eller ärftliga förändringar i gener eller pathways associerade med behandlingsvar hos män med mCRPC. Huvudhypotesen i ProBio är att behandlingsval baserat på de fördefinierade biomarkörssignaturerna kommer att signifikant förlänga behandlingsvar jämfört med standardbehandling utan information från den prospektiva sekvenseringen. Ett exempel på en biomarkörssignatur som kommer utvärderas är TP53WT och ARWT definierad som avsaknad av somatiska förändringar i TP53 samt avsaknad av hot-spot-mutationer eller strukturella rearrangemang i den ligandbindande domänen i AR. Vårt retrospektiva data har visat att män som är TP53WT/ARWT svarar signifikant längre med ARSi (Fig. 3). I ProBio kommer vi även att kunna identifiera samt validera behandlings-prediktiva biomarkörer. ProBio kommer att inkludera patienter från 10–15 studiecentra i Sverige. Biomaterial kommer att biobankas och göras tillgängligt för forskare vid deltagande studiecentra. Intresse finns från andra nordiska länder och under hösten kommer vi att initiera tre studiecentra i Belgien. Totalt kommer 750 män att inkluderas i ProBio. För närvarande är fem centra startade och tio studiedeltagare har randomiserats. Vi ser fram emot några mycket spännande år med ProBio-studien.

JOHAN LINDBERG, FORSKARE VID INSTITUTIONEN FÖR MEDICINSK EPIDEMIOLOGI OCH BIostatistik, KAROLINSKA INSTITUTET, JOHAN.LINDBERG@KI.SE

