

Können futuristische Pixelbilder das Management verbessern?

Genexpressionstests bei frühem Mamma-Karzinom

Bestimmte Genexpressionstests sind in der Lage die «Proliferation» des Tumorgewebes zu messen und die Prognose abzuschätzen. Die Validierung ihrer prädiktiven Bedeutung steht aber noch aus.

Certains tests de l'expression des gènes sont capables de mesurer la «prolifération» du tissu tumoral et estimer le pronostic. La validation prédictive de leur importance est encore en suspens.



Prof. Dr. med. Bernhard C. Pestalozzi
Zürich

Für die klinischen Onkologen hat die Zeit der Genexpressionstests vor etwa 10 Jahren begonnen, als die ersten „Heatmaps“ auf Kongressen und in Publikationen gezeigt wurden (1) (Abb. 1). „Heatmaps“ sind rechteckige Abbildungen, auf denen eine Vielzahl von Genexpressionsdaten in einem „Pixelbild“ zusammengestellt und veranschaulicht werden. Dabei wird eine Gen-Überexpression mit einem roten Punkt, eine Gen-Unterexpression mit einem grünen Punkt, eine durchschnittliche Expression meist mit einem schwarzen Punkt wiedergegeben. In einer einzigen „Heatmap“ können Hunderte von vertikal angeordneten Genen dargestellt und Hunderte von horizontal nebeneinandergelegten Tumoren aneinandergereiht werden. Durch den Vergleich der Genexpressionsmuster können ähnliche Tumoren zu Clustern gruppiert werden, z.B. zu den ‚intrinsic Subtypen‘ Luminal A, Luminal B, „normal-like“, HER2-überexprimierend, „basal-like“. Der Kliniker musste lernen, diese futuristischen abstrakten Pixelbilder zu lesen.

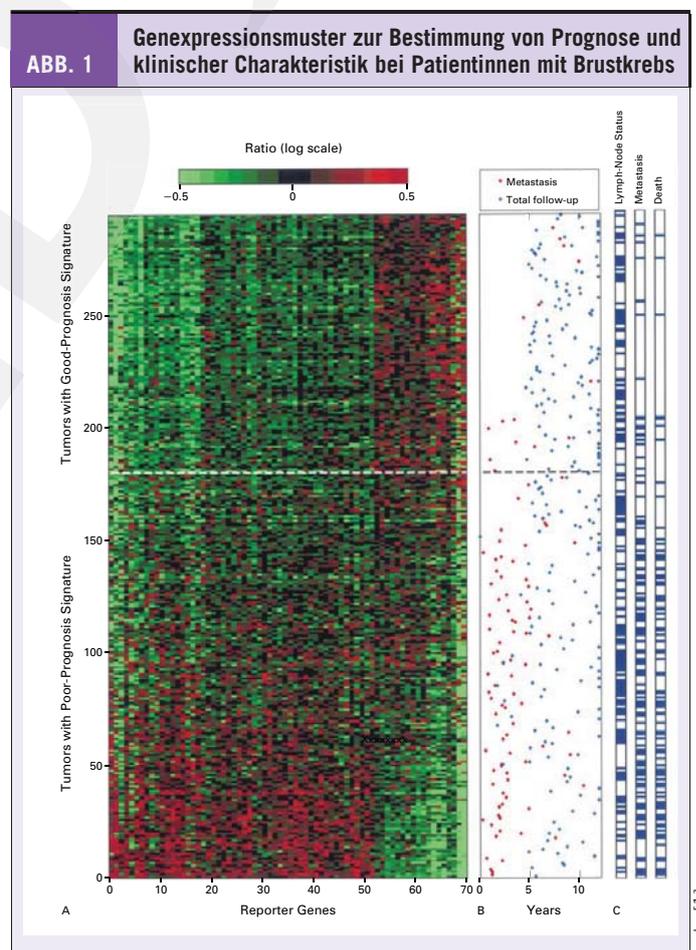
Überexpression von Malignom-relevanten Genen

Der Darstellung in der „Heatmap“ liegt für jeden Farbpunkt ein Hybridisierungsexperiment zugrunde. Dabei wird die RNS aus den Tumorzellen extrahiert und mit markierter Referenz-RNS hybridisiert. Nach der Entfernung nicht-hybridisierter RNS kann visuell analysiert werden, wie hoch die RNS-Expression eines bestimmten Genes in dem Tumorgewebe war. Die Expression muss in Beziehung gesetzt werden zu sogenannten Referenz-Genen, die in allen Tumoren in ähnlichem Masse vorhanden sind wie Gene des Zytoskeletts (z.B. Actin). Auch einem nicht näher mit den technischen Details vertrauten Kliniker leuchtet ein, dass eine Kontamination der Tumorzellen mit Bindegewebszellen die Messung der Überexpression von Malignom-relevanten Genen verfälschen kann. Auch ist RNS bekanntermassen ein heikles und „instabiles“ Molekül. Die meisten Genexpressionstests verwenden deshalb tiefgefrorenes Tumorgewebe, dessen Handling anspruchsvoller ist als dasjenige fixierter Gewebe. Jedoch ist auch die quantitative Extraktion von RNS aus Formalin-fixiertem Gewebe mit verschiedenen konkurrieren

und patentierten Verfahren erfolgreich und reproduzierbar durchgeführt worden.

Einteilung in prognostische Gruppen

Es gelang nun mit ganz verschiedenen Genexpressionstests Mamma-karzinome in prognostische Gruppen einzuteilen. Das 70-Gen Pro-



fil aus Amsterdam, das 76-Gen Profil aus Rotterdam, das 21-Gen Profil aus Kalifornien, die intrinsischen Subtypen aus den USA, der „Wound Response“ Score konnten Mammakarzinome aufteilen in Gruppen mit guter, mittlerer und schlechter Prognose, zuerst in ‚training sets‘ (Test-Optimierung) und danach prospektiv in ‚validation sets‘ (Bestätigung). Sehr erstaunlich war, dass diese verschiedenen Tests in den einzelnen verwendeten Genen kaum überlappten (<5%). Hingegen verwenden alle Tests Gene aus denselben Pathways: Es sind Gene der Proliferation, des Oestrogen-Rezeptor-Pathways, des HER2-Pathways. In einer gemeinsamen Studie mit denselben 295 Samples kamen denn auch 4 von 5 Tests zu sehr ähnlichen Ergebnissen bezüglich der Prognose (2).

Zwei dieser Tests haben den Weg in die Praxis schon vor einigen Jahren angetreten: *Mammaprint* (70-Gen Profil, Amsterdam) und *OncotypeDX* (21-Gen Recurrence Score, Kalifornien). Beide Tests sind käuflich erhältlich, Mammaprint ist auch von der FDA zugelassen. OncotypeDX hat den Vorteil, dass es an Formalin-fixiertem Gewebe durchgeführt werden kann. Zudem ist der mit Oncotype gemessene „Recurrence Score“ (RS) der einzige Score, dem ein prädiktiver Wert zugeschrieben werden kann.

Nur mit diesem Test wurde klinisches Material aus grossen vergleichenden adjuvanten Therapiestudien geprüft. In der NSABP-14

Assay	ER+	ER-	N-	N+	FFT	Kommentar	Validiert
Recurrence Score	++	-	++	+	Y	Prädiktiv für adjuvante Chemotherapie (plus Hormonther)	Y
70-Gen Profil	++	-	++	+	N	Prognostisch in N-, N1-3; 32% <i>diskordant</i> zu konv.Parameters	Y
76-Gen Profil	++	?	++	?	N	Prognostisch in N-	Y
Intrinsische Subtypen	+	-	+	+	Y	Biologische Subtypisierung	N

FFT = Formalin fixed tissue.

adaptiert nach L.Carey, D.Hayes

Studie wurde Tamoxifen versus Placebo geprüft (3). Die Wirksamkeit von Tamoxifen beschränkte sich auf die Gruppen mit tiefem RS (<18) oder intermediärem RS (18–30). Bedeutsamer war NSABP-20 bei nodal-negativen Patientinnen, in der Tamoxifen allein gegen die damalige Chemotherapie (CMF bzw. MF) plus Tamoxifen untersucht wurde (4). Der Nutzen der Chemotherapie war erheblich, beschränkte sich aber auf die Gruppe mit hohem RS (≥31). Ähnliche Resultate ergab die SWOG-8814 Studie bei Patientinnen mit 1–3 positiven Lymphknoten (5). Der Nutzen einer CAF-Chemotherapie war nur signifikant in der Gruppe mit hohem RS (≥31), jedoch fraglich in der intermediären Gruppe (RS 18–30) und fehlend in der low-risk Gruppe (RS<18). Eine Bewertung der wichtigsten Tests präsentiert Tabelle 1.

Der amerikanische TAILORx Trial



Die Fortbildungszeitschrift in Hausarztmedizin

für interessierte Hausärzte & Hausärztinnen:

- ▶ «**der informierte arzt**» gibt uns nützliche Tipps für den Praxisalltag und entspricht voll und ganz unseren Anliegen. Wir können uns besser einbringen und werden angehört. (Die Herausgeber)
- ▶ Das Geriatrie-Forum vermittelt wichtige Informationen für den Praktiker – es war unser Wunsch, dass es im «**informierten arzt**» integriert ist. (Die Herausgeber)

Ich möchte keinen Monat die Zeitschrift «der informierte arzt» verpassen und wünsche ein Jahresabonnement (12 Ausgaben) zum Einführungspreis von CH 50.– anstelle von CH 95.–

«der informierte arzt»

Name, Vorname: _____

Fachgebiet: _____

Strasse: _____

PLZ, Ort: _____

Datum: _____

Auf dieser Basis wurde eine grosse prospektive Studie mit OncotypeDX lanciert im Mai 2006, der amerikanische TAILORx Trial. Im Oktober 2010 wurde das Accrual von über 10'000 Patientinnen erreicht. In der Studie erhielten Patientinnen mit einem RS <11 nur eine adjuvante Hormontherapie (HT). Patientinnen mit RS >25 erhielten die kombinierte adjuvante Chemotherapie und Hormontherapie (CHT). Die intermediäre Gruppe (RS 11–25), etwa zwei Drittel aller Patientinnen, wurde randomisiert zwischen HT gegenüber CHT. Kommentar: Resultate zu TAILORx werden erst 2015 erwartet. Die verwendeten Grenzen zwischen den drei Risiko-Gruppen wurden arbiträr festgelegt und liegen tiefer als die Grenzen der publizierten Studien (RS 18–30 für intermediär). TAILORx ist ein pragmatischer Trial, der den Wert einer CHT bei RS 11–25 überprüft, aber nicht den Wert des OncotypeDX-Tests an sich.

Der europäische MINDACT Trial

Wissenschaftlich stringenter ist der europäische MINDACT Trial, der den Wert von Mammaprint vergleicht mit den konventionellen Parametern (Alter, Komorbidität, ER-Status, Grading, Tumorgrosse, Nodalstatus), deren Kombination von „Adjuvant Online“ zur Einschätzung der Prognose verwendet wird. Zwischen Februar 2007 und Juli 2011 wurden 6'527 Patientinnen in MINDACT aufgenommen. (Das Akronym steht für Microarray In Node-negative and 1–3 Node-positive Disease may Avoid ChemoTherapy.)

Am ESMO-Kongress 2011 wurden die ersten Daten vorgestellt, zur Selektion, Risikoeinschätzung und Gruppeneinteilung der Patientinnen. Nur wenn eine Diskrepanz zwischen „clinical risk“ und „genetic risk“ vorlag (N=2'114, 32%), wurden die Patientinnen randomisiert zwischen HT versus CHT. Bei Konkordanz und Einstufung als High-Risk (N=1827, 28%) erhielten die Patientinnen CHT, bei Konkordanz als Low-Risk (N=2'586, 40%) nur HT. Clinical high-risk (C-high) wurde definiert als <88% breast-cancer specific survival nach 10 Jahren gemäss dem Algorithmus von „Adjuvant Online“. Der Cutoff zwischen hohem und tiefem genetischen Risiko war prospektiv durch den Hersteller (Agendia) festgelegt worden.

Der MINDACT Trial wird Resultate liefern, welche den Wert des genetisch definierten Risikos vergleichen lassen mit der Verwendung der konventionellen Parameter. Zudem werden die Resultate eine Bewertung der CHT gegenüber der HT in den diskordanten (C-high/G-low und C-low/G-high) Gruppen erlauben. Auch diese Ergebnisse werden erst in mehreren Jahren verfügbar sein.

Zum Schluss kommen wir noch auf das leidige aber unvermeidliche Thema der Kosten. Ein Gentest von OncotypeDX kostet ungefähr CHF 4000.- pro Untersuchung. Diese Kosten müssen bisher in der Schweiz nicht von den Krankenkassen übernommen werden, obwohl es viele Studien aus anderen Ländern gibt, welche die Kosteneffektivität des Tests belegen. Die Schweizerische Arbeitsgemeinschaft für Klinische Krebsforschung plant eine wissenschaftliche Studie, die den klinischen Nutzen des Tests auch in den Händen der Schweizer Onkologen belegen soll (SAKK 26/10).

Prof. Dr. med. Bernhard Pestalozzi

Leitender Arzt Klinik für Onkologie
 Universitätsspital, 8091 Zürich
 bernhard.pestalozzi@usz.ch

Literatur:

1. Van de Vijver M et al. NEJM 2002, 347:1999-2002
2. Fan C et al. 2006, New Engl J Med 355:560-9

Take-Home Message

- ◆ Die Prognose des operierten Mammakarzinoms im Frühstadium kann durch die konventionellen Faktoren statistisch genau bestimmt werden. Weitere rein prognostische Faktoren oder Tests bringen keinen klinischen Fortschritt
- ◆ Die Validierung einer prädiktiven Bedeutung liegt bisher nur für den Recurrence Score von OncotypeDX vor. Für ER+ Mammakarzinome, die adjuvante Hormontherapie erhalten, zeigt ein RS>30 an, dass die adjuvante Chemotherapie mit CMF (bei N0) bzw. CAF (bei N1-3) einen signifikanten Vorteil bringt. Die Übertragung dieses Resultates auf „modernere“ adjuvante Chemotherapien wird allgemein akzeptiert. Die Übertragung des Resultates auf ‚intermediäre‘ Risiken (RS 18–30) ist nicht bewiesen
- ◆ Andere Genexpressionstests (76-Gen Mammaprint, 70-Gen Rotterdam, biologische Subtypen wie auch PAM50, Endopredict, RISK-25 etc.) sind sicher in der Lage, die „Proliferation“ des Tumorgewebes zu messen und die Prognose genau einzuschätzen. Die Validierung ihrer prädiktiven Bedeutung steht aber aus
- ◆ Auch die immunhistochemische Bestimmung der „Proliferation“ durch Ki-67 (MIB-I Antikörper) ergibt eine prognostische Aussage. Ein hoher Ki67 Index war in gewissen Studien mit Chemotherapie-Wirksamkeit assoziiert. Diese Messung ist aber mit technischen und interpretatorischen Schwierigkeiten behaftet und kein vollwertiger Ersatz für die Genexpressionstests
- ◆ Es ist zu hoffen, dass es in naher Zukunft gelingen wird, das prädiktive Potential der Genexpressionstests zu verbessern, und Fragen wie die folgenden zu beantworten: Welche Hormontherapie, welche adjuvante Polychemotherapie bzw. welche adjuvante HER2-gerichtete Therapie ist die beste für eine bestimmte Patientin?

Messages à retenir

- ◆ Le pronostic du cancer du sein opéré à un stade précoce peut être déterminé de façon statistiquement exacte par des facteurs conventionnels. Autres facteurs purement pronostiques ou tests n'apportent pas de progrès clinique
- ◆ La validation d'une importance prédictive est à ce jour disponible seulement pour le Recurrence Score de Oncotype DX. Pour des cancers du sein ER +, qui reçoivent une hormonothérapie adjuvante un RS> 30 montre que la chimiothérapie adjuvante par CMF (si N0) ou CAF (pour N1-3) apporte un avantage significatif. La transmission de ce résultat sur la chimiothérapie adjuvante «moderne» est généralement acceptée. La transmission du résultat sur des risques «intermédiaires» (RS 18–30) n'a pas été prouvé
- ◆ D'autres tests d'expression génique (76-GenMammaprint, 70 Gen Rotterdam, ainsi que les sous-types biologiques comme PAM50, Endopredict, RISK-25 etc) sont certainement en mesure de mesurer exactement la «prolifération» de la tumeur et le pronostic. La validation prédictive de leur importance n'est cependant pas encore là
- ◆ Même la détermination immunohistochimique de la «prolifération» par le Ki-67 (MIB-I anticorps) résulte en une valeur prédictive. Un haut indice de Ki-67 a été associé dans certaines études avec une efficacité de la chimiothérapie. Cette mesure se heurte à des difficultés techniques et d'interprétation, et n'est pas un remplacement complet pour les tests d'expression génique
- ◆ Il est à espérer qu'il sera possible dans un proche avenir d'améliorer le potentiel prédictif des tests d'expression génique, et de répondre à des questions comme: Quel traitement hormonal, quelle polychimiothérapie adjuvante ou quelle thérapie dirigée contre HER2 est la meilleure pour une patiente particulière