

# Lav tumorheterogenitet

- en gunstig prognostisk faktor etter leverreseksjon for metastatisk tarmkreft



**Av Anita Sveen,**

ph.d.,  
Seksjon for molekylær onkologi,  
Institutt for Kreftforskning og K.G.  
Jebsen senter for tarmkreft,  
Kreftklinikken,  
Oslo universitetssykehus (OUS)

**Nesten halvparten** av alle pasienter med tykk- og endetarmskreft (heretter tarmkreft) utvikler levermetastaser, ofte med multiple lesjoner.<sup>1</sup> Selv om ca. 25 % av pasientene behandles med partiell leverreseksjon, er det bare omlag en tredjedel av disse som har langtidseffekt av behandlingen.

Lite er kjent om den kliniske betydningen av genetisk heterogenitet blant leverlesjoner hos den enkelte pasient. I en studie publisert i PLoS Genetics, et samarbeidsprosjekt mellom forskere ved OUS og Haukeland Universitetssykehus, har vi vist at pasienter med et lavt nivå av inter-metastatisk heterogenitet på DNA-kopitallsnivå har bedre prognose etter partiell leverreseksjon enn pasienter med heterogene lesjoner.<sup>2</sup>

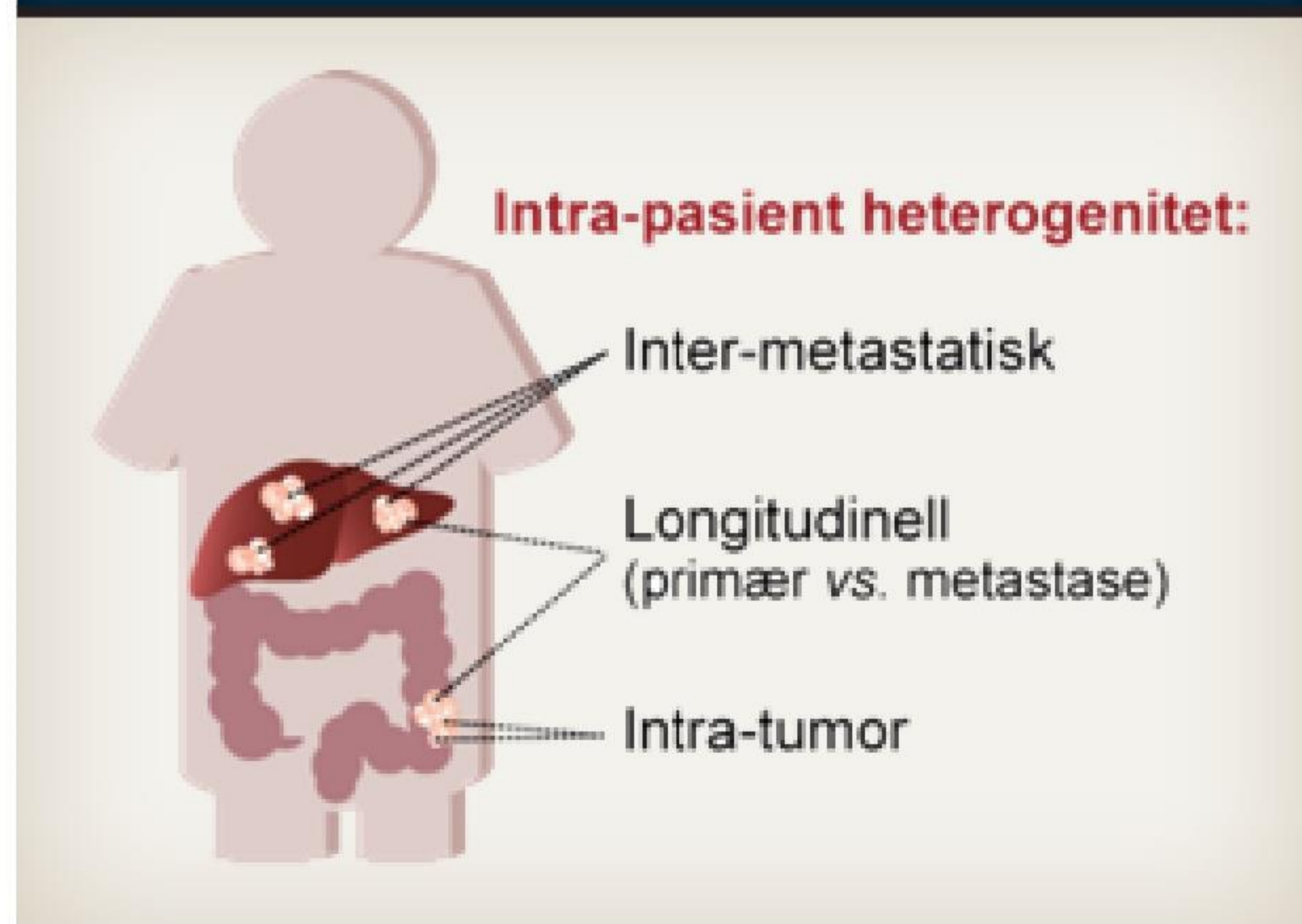
## Variasjon i graden av inter-metastatisk heterogenitet

Klonal evolusjon er en viktig biologisk prosess i kreftutvikling og medfører genetisk heterogenitet både innad i enkeltsvulster og mellom lesjoner fra samme organ, samt over tid, som for eksempel mellom primærsvulst og metastase fra samme pasient (se figur 1). Den kliniske betydningen av dette i tarmkreft har særlig blitt dokumentert ved behandlingssvikt etter fremvekst av resistente kloner med mutasjoner i den såkalte MAPK (mitogen activated protein kinase) signalveien under anti-EGFR (epidermal growth factor receptor) behandling.<sup>3,4</sup> Det er også sterke indikasjoner på at intra-tumor heterogenitet i primære svulster er assosiert med dårlig prognose,<sup>5</sup> men analyse av heterogenitet i solide krefttyper er utfordrende blant annet med hensyn til prøvetaking. Partiell leverreseksjon for metastatisk tarmkreft gir derfor en unik mulighet til å analysere inter-metastatisk heterogenitet.

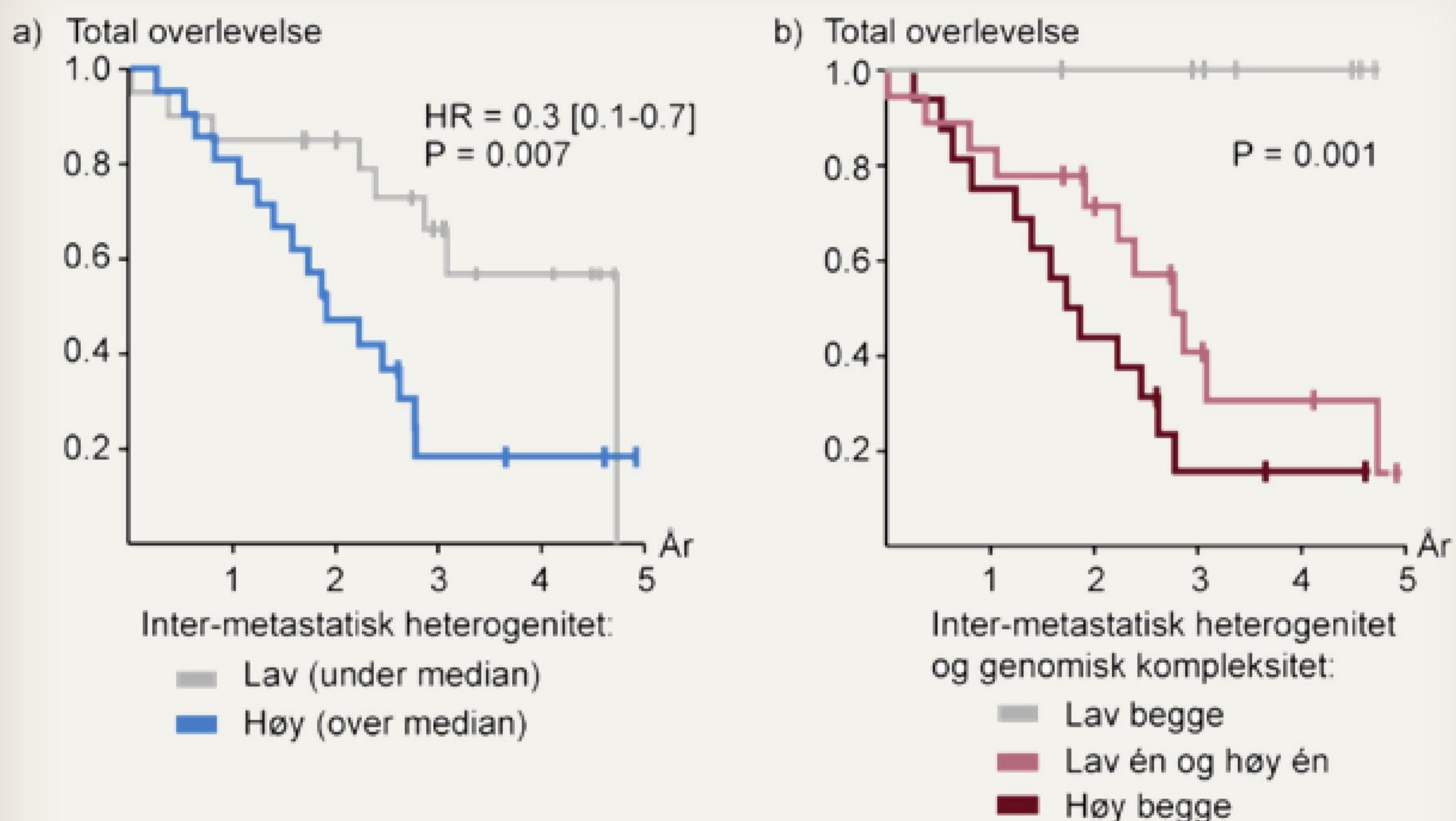
Basert på DNA-kopitallsanalyser i multiple leverlesjoner beregnet vi en inter-metastatisk heterogenitetsindeks per pasient. Denne viste at noen pasienter hadde mer genetisk forskjellige metastaser enn andre, og at graden av heterogenitet var uavhengig av den gjennomsnittlige mengden DNA-kopitallsavvik per pasient. Med andre ord, en pasient med kopitallsavvik i en moderat andel av genomet kan ha større heterogenitet mellom metastasene enn en pasient med en større andel av genomet affisert.

**Figur 1**

**Ulike typer intra-pasient tumorheterogenitet i metastatisk tarmkreft**





**Figur 2****Inter-metastatisk genetisk heterogenitet er en sterk prognostisk faktor etter partiell leverreseksjon**

**a)** Pasienter med lav inter-metastatisk heterogenitet hadde en signifikant bedre 3-års total overlevelseshastighet enn pasienter med høy heterogenitet. Hazard ratio (HR) og 95 % konfidensintervall er beregnet ved Cox's regresjonsanalyse.

**b)** Pasienter med et lavt nivå av både inter-metastatisk heterogenitet (under median) og genomisk kompleksitet (under 25 % av genomet affisert av kopitallsendringer) hadde en 3-års total overlevelseshastighet på 100 %, signifikant høyere enn tilsvarende overlevelseshastighet på 41 % og 16 % for pasienter med et lavt nivå av kun én eller ingen av disse parametrene. P-verdi er beregnet med log-rank test for lineær trend mellom de tre gruppene.

Kromosomal ustabilitet kjennetegner aggressiv sykdomsutvikling i tarmkreft, og levermetastaser har frekvente DNA-kopitallsendringer. Vi analyserte derfor kopitallsendringer genomvidt i 123 leverlesjoner fra førstegangs-reseksjon av 45 pasienter ved hjelp av høyresolusjons mikromatriseteknologi. Samlet sett fant vi at DNA kopitallsprofilene til levermetastaser gjenspeiler de mest frekvente avvikene i primære tarmsvulster, men statistiske klustringsanalyser indikerte to distinkte pasientgrupper. Halvparten av pasientene hadde en stor grad av likhet i kopitallsprofilene i samtlige leverlesjoner, mens den andre halvparten utviste større variasjon. For å tallfeste denne variasjonen beregnet vi inter-metastatisk heterogenitet mellom to lesjoner som den totale forskjellen i kopitall langs hele genomet. Ettersom et ulikt antall metastaser ble analysert per pasient, summerte vi

videre det totale nivået av inter-metastatisk heterogenitet som den gjennomsnittlige forskjellen blant alle mulige parvise sammenstillinger av lesjoner fra hver pasient.

**Gunstig prognostisk undergruppe av metastatisk tarmkreft**

Graden av inter-metastatisk heterogenitet var en sterk prognostisk faktor, og gruppen av pasienter med lav heterogenitet (heterogenitetsindeks under median) hadde en 3-års total og progresjonsfri overlevelseshastighet på henholdsvis 66 % og 23 %, sammenliknet med 18 % og 5 % for pasienter med høy heterogenitet ( $P < 0,01$ ; figur 2a). Dette var uavhengig av kjente kliniske prognostiske faktorer, samt behandling med kjemoterapi i multivariable modeller.



Hyppige kopytallsendringer er en kjent dårlig prognostisk faktor i primær tarmkreft,<sup>5,6</sup> og i samsvar med dette fant vi også at metastatiske pasienter med høy genomisk kompleksitet (her definert som mer enn 25 % av genomet affisert av kopytallsendringer) hadde dårligere overlevelseshastighet enn pasienter med lavere genomisk kompleksitet. I samsvar med det uavhengige forholdet mellom inter-metastatisk heterogenitet og genomisk kompleksitet viste kombinert analyse av disse to parametrene et enda større potensiale for prognostisk stratifisering av pasientene (figur 2b). Dette underbygger at inter-metastatisk heterogenitet er en biologisk prosess uavhengig av genomisk kompleksitet, og at den kliniske relevansen er stor.

I K.G. Jebsen senter for tarmkreft ved OUS har vi et stort aktivt forskningsprogram på tumorheterogenitet. Dette inkluderer studier av pasientprøver med tilhørende kliniske opplysninger i primær tarmkreft (pasienter behandlet på OUS-Aker eller Ullevål) og metastatiske lesjoner (inntil fem per pasient) hos pasienter behandlet med partiell leverreseksjon på OUS-Rikshospitalet. I tillegg til detaljerte analyser av klonal ekspansjon under metastatisk progresjon, med og uten seleksjonspress fra medikamentell behandling, muliggjør dette også oppfølgingsstudier på inter-metastatisk heterogenitet, blant annet med tanke på en uavhengig prognostisk validering av funnene beskrevet over. ■

## KONKLUSJON

Denne studien indikerer at genetisk tumorheterogenitet er en sterk prognostisk faktor i metastatisk tarmkreft, og at selv i denne pasientgruppen er det mulig å identifisere en gunstig prognostisk undergruppe. Tilsvarende er det indikasjoner på at pasienter med høy inter-metastatisk heterogenitet har begrenset langtids effekt av partiell leverreseksjon, en behandlingsform det per i dag finnes få gode seleksjonskriterier for. I K.G. Jebsen senter for tarmkreft har vi som mål å utvikle nye strategier for stratifisert behandling basert på molekylære analyser i perspektiv av tumorheterogenitet og klonal ekspansjon.

## Referanser

1. Helsedirektoratet. Nasjonalt handlingsprogram med retningslinjer for diagnostikk, behandling og oppfølging av kreft i tykktarm og endetarm, 2017.
2. Sveen A, Løes IM, Alagaratnam S, Nilsen G, Høland M, Lingjærde OC, Sorbye H, Berg KC, Horn A, Angelsen JH, Knappskog S, Lønning PE, Lothe RA. Intra-patient inter-metastatic genetic heterogeneity in colorectal cancer as a key determinant of survival after curative liver resection. *PLoS Genet* 2016;12(7):e1006225.
3. Morelli MP, Overman MJ, Dasari A, Kazmi SM, Mazard T, Vilar E, Morris VK, Lee MS, Herron D, Eng C, Morris J, Kee BK, Janku F, Deaton FL, Garrett C, Maru D, Diehl F, Angenendt P, Kopetz S. Characterizing the patterns of clonal selection in circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer refractory to anti-EGFR treatment. *Ann Oncol* 2015;26(4):731-736.
4. Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, Ponzetti A, Cremolini C, Amatu A, Lauricella C, Lamba S, Hobor S, Avallone A, Valtorta E, Rospo G, Medico E, Motta V, Antoniotti C, Tatangelo F, Bellosillo B, Veronese S, Budillon A, Montagut C, Racca P, Marsoni S, Falcone A, Corcoran RB, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Siena S, Sartore-Bianchi A, Bardelli A. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med* 2015;21(7):795-801.
5. Andor N, Graham TA, Jansen M, Xia LC, Aktipis CA, Petritsch C, Ji HP, Maley CC. Pan-cancer analysis of the extent and consequences of intratumor heterogeneity. *Nat Med* 2016;22(1):105-113.
6. Danielsen HE, Pradhan M, Novelli M. Revisiting tumour aneuploidy - the place of ploidy assessment in the molecular era. *Nat Rev Clin Oncol* 2016;13(5):291-304.