

Emlődaganatok rutin molekuláris diagnosztikája

Kulka Janina

Semmelweis Egyetem II.sz. Pathologiai Intézet

69. Magyar Pathologus Kongresszus



Az emlőrák molekuláris
diagnosztikája a
mindennapokban - a
genetikai profil
tükröződése az
immunfenotípusban

Kulka Janina
Semmelweis Egyetem II.sz.Pathologiai
Intézet, Budapest
65. Magyar Patológus Kongresszus

www

center

- Immunhisztokémia
 - IH profil
 - „Claudin low” altípus
- Grade 2 daganatok
 - Ki67 index jelentősége
- Primer tumor és metasztázis
 - típusváltás

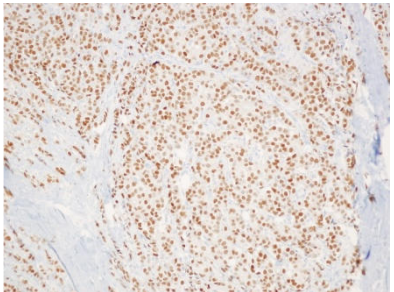
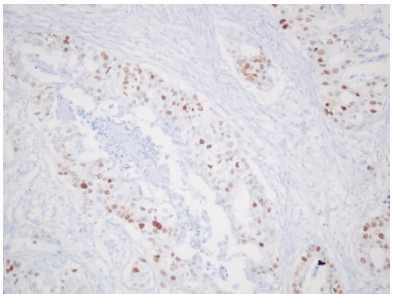
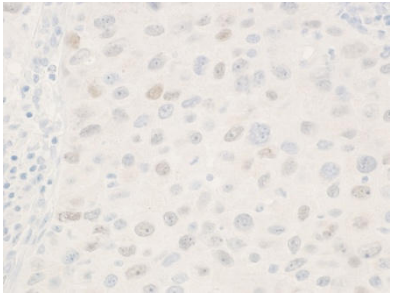
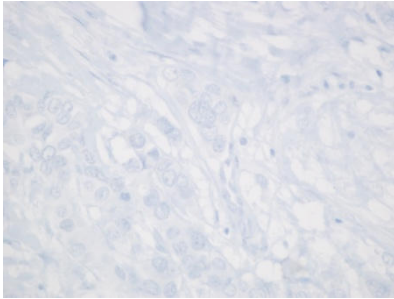
Az IH fenotípus a genetikai profil indikátora

- Feltétel:
 - Validált, kifogástalan minőségű IH technika és reakciók
 - Részvétel külső minőségbiztosítási programban
 - Pontos interpretáció
 - Mértéktartó párhuzam

KECSKEMÉTI KONSZENZUS DOKUMENTUM

4. táblázat

Ösztrogén- és progeszteronreceptor meghatározás az
Allred féle gyors pontozással



Átlagos intenzitás:

Negatív

Gyenge

Közepes

Erős

Pont

0

1

2

3

Pozitív sejtmagok aránya:

nincs

<1%

1-10%

10%-1/3

1/3-2/3

>2/3

0

1

2

3

4

5

A két részpont összege adja meg az összpontszámot.

Lehetséges értékek:0, 2-8.

(Endokrin terápia hatás >2 pontszám esetén várható.)

KECSKEMÉTI KONSZENZUS DOKUMENTUM

5. táblázat – HER-2 vizsgálatok értékelése

Immunhisztokémia:

3+ értékelés: Komplettn erős membránfestődés a sejtek **>30%**-ában

2+ értékelés: Komplettn közepes intenzitású membránfestődés a sejtek **>10%**-ában, illetve komplettn erős membránfestődés a sejtek **>10**, de **<30%**-ában.

1+ értékelés: Komplettn gyenge membránfestődés a sejtek **> 10%**-ában

0 értékelés: **<10%**-ban észlelt pozitívítás, inkomplettn festődés, festődés hiánya

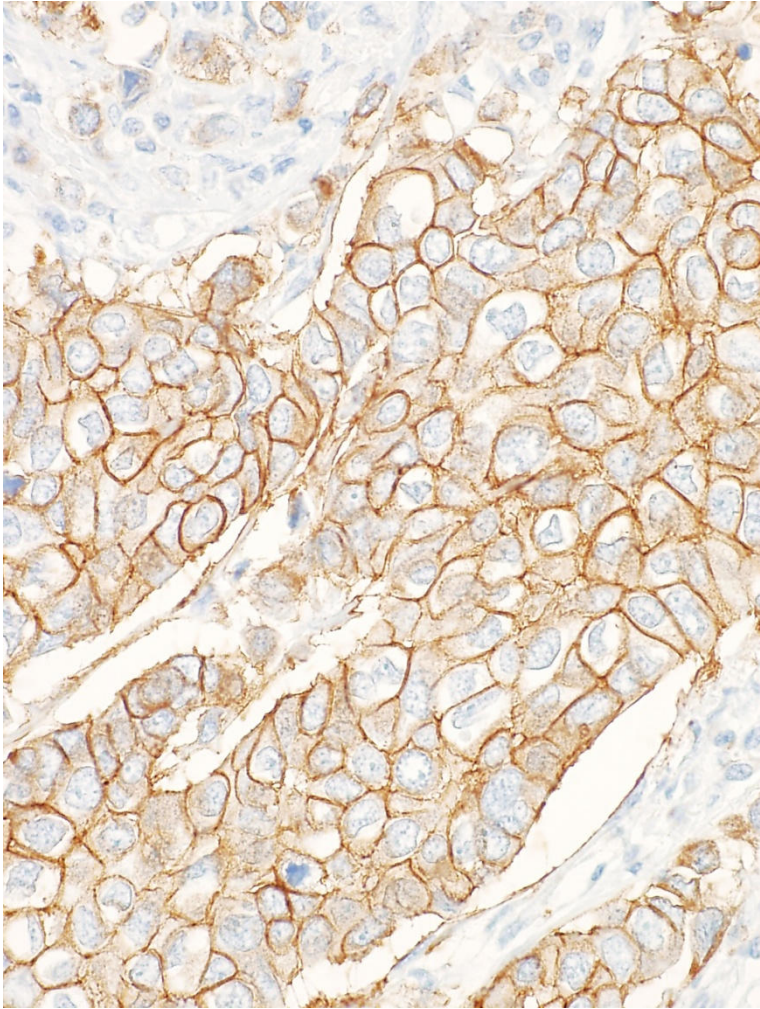
Célzott kezelés szempontjából pozitívnak tekinthetők a 3+ értékelésű esetek, és bizonytalanoknak a 2+ értékelésű esetek, illetve az erős membránfestődést a sejtek **<30%**-ában mutató esetek. Negatívnak kell tekinteni a 0 és 1+ értékelésű eseteket.

FISH:

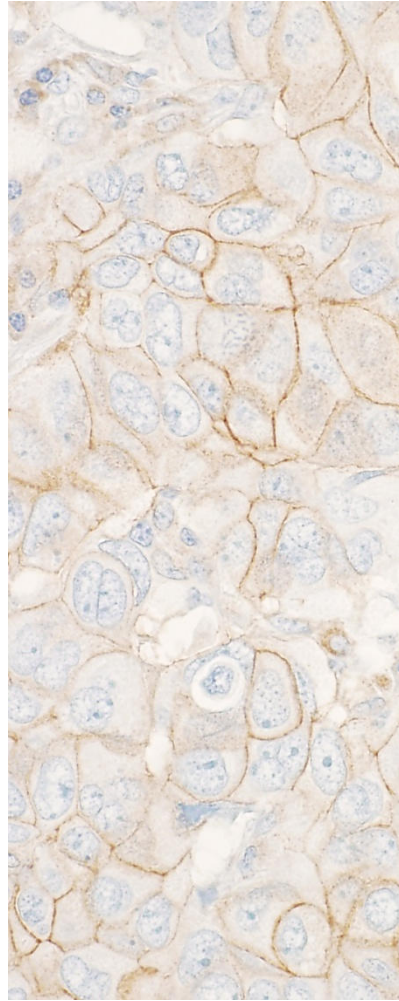
Pozitív (génamplifikáció): **>2,2** HER2/CEP17 arány vagy átlagosan **>6** HER2 gén kópiaszám sejtmagonként belső kontrollal (CEP17: 17-es kromoszóma centromerikus próba) nem rendelkező tesztek esetén.

Bizonytalan: **1,8-2,2** közötti HER2/CEP17 arány vagy **4-6** közötti átlagos kópiaszám sejtmagonként belső kontrollal nem rendelkező tesztek esetén.

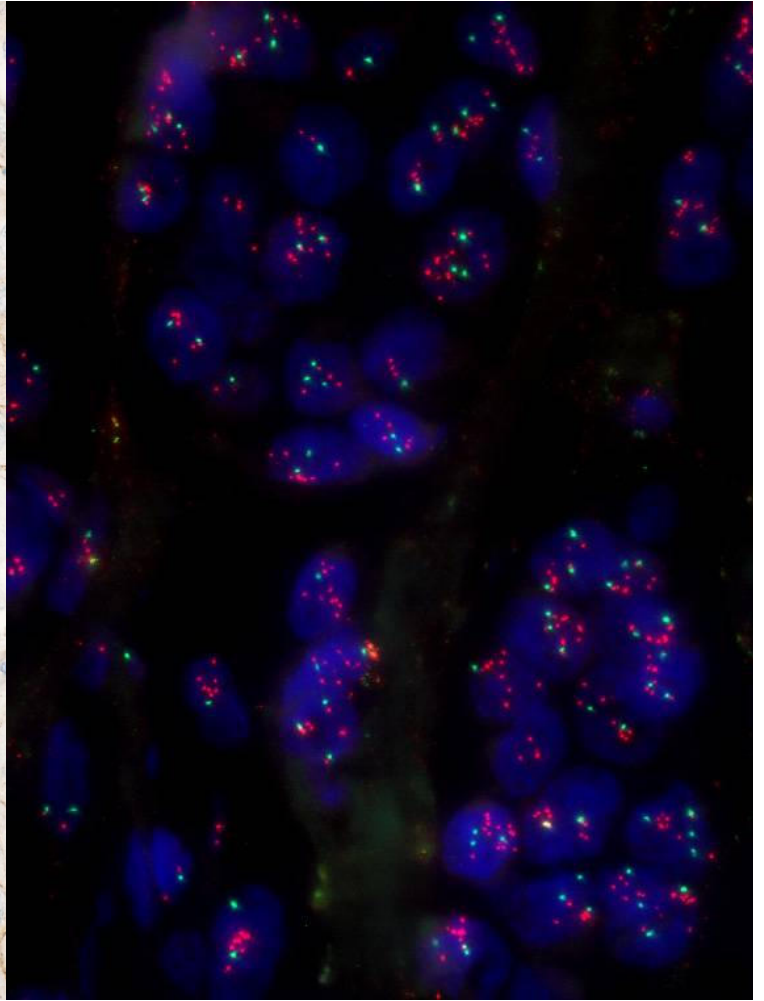
Negatív: **<1,8** HER2/CEP arány vagy **<4** HER2 gén kópiaszám belső kontrollal nem rendelkező tesztek esetén.



3+



2+

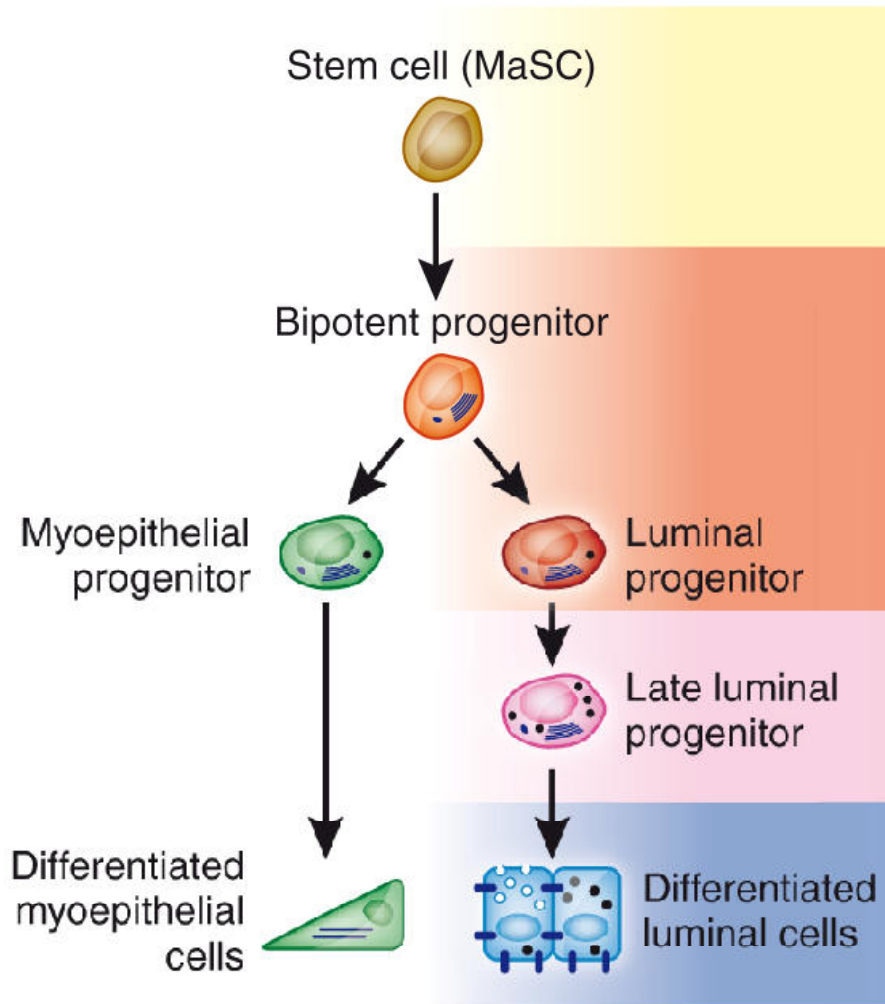


Genetikai profil alapján meghatározott altípusok

- **Luminalis A**
 - Ösztrogén és ösztrogénhez kapcsolt gének magas expressziója
- **Luminalis B**
 - Ösztrogén és ösztrogénhez kapcsolt gének alacsony expressziója, fokozott a proliferációhoz kapcsolt gének expressziója
- **Her2 típus: „Her2 enriched”**
 - Her2 gén amplifikáció
- **Basalis**
 - EGFR, „basalis” cytokeratinok, proliferációs gének
- **CLAUDIN LOW***
 - ÚJ altípus: : PROGENITOR SEJTEKRE JELLEMZŐ GÉNEXPRESSZIÓ, agresszív viselkedés

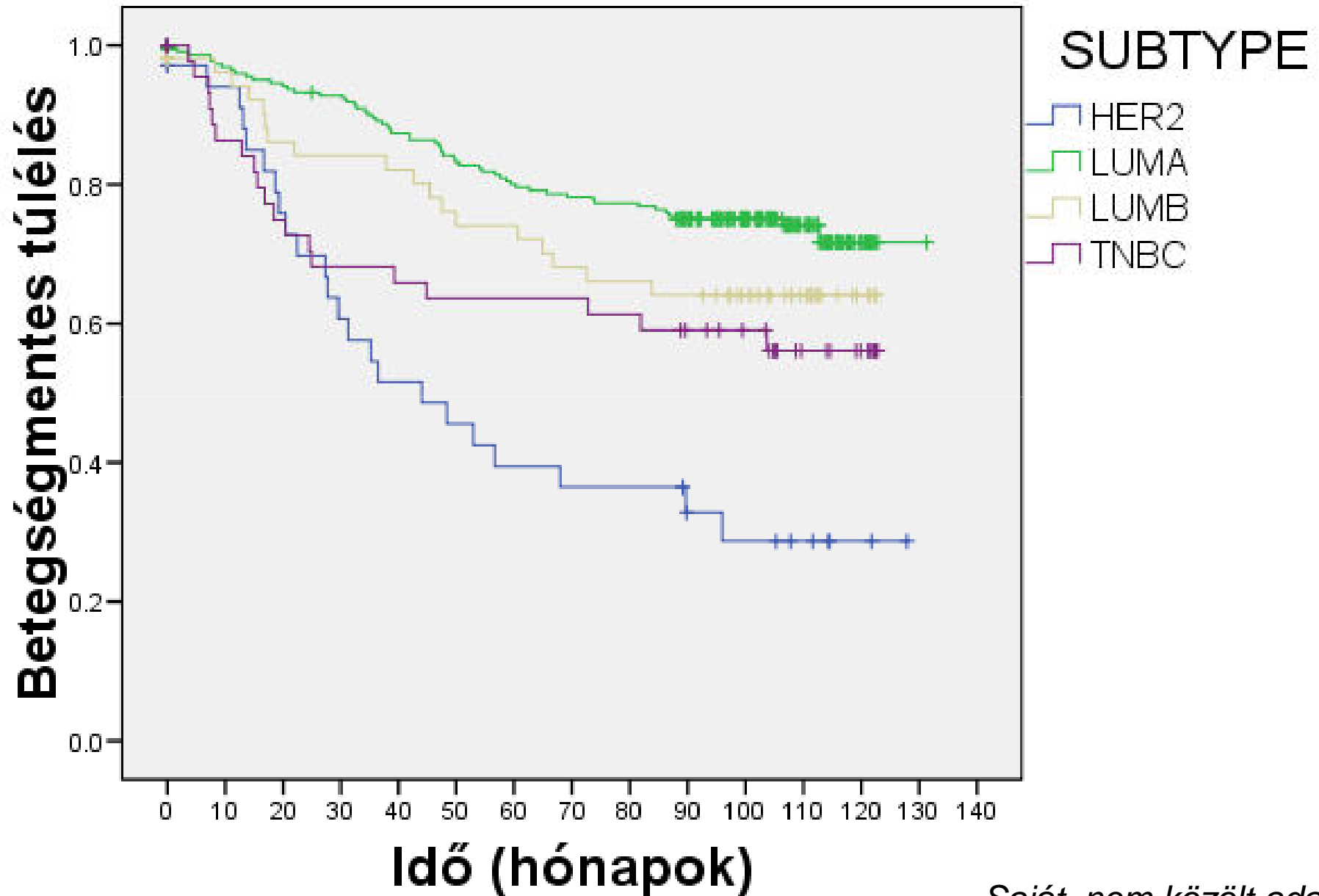
*Claudin: tight junction fehérje (24 féle)

Normal mammary development



Prat A, Perou CM. Mammary development meets cancer genomics. Nat Med 2009; 15(8): 842-4

Betegségmentes túlélés az I^H/FISH profil alapján meghatározott altípusokban (Budai MÁV Kórház, n=387, 1999-2002)



Saját, nem közölt adatok

Ösztrogén receptor pozitív emlőcarcinomák IH altípusai – „Luminalis A”, „Luminalis B”

- 765 ER pozitív emlőrák (II. Pathológia, 2000-2007)
- 3 alcsoport:
 - **A:** ER POZITÍV
Ki67<20%
HER2 NEGATÍV
 - **B:** ER POZITÍV
Ki67≥20%
HER2 NEGATÍV
 - **C:** ER POZITÍV
HER2 POZITÍV

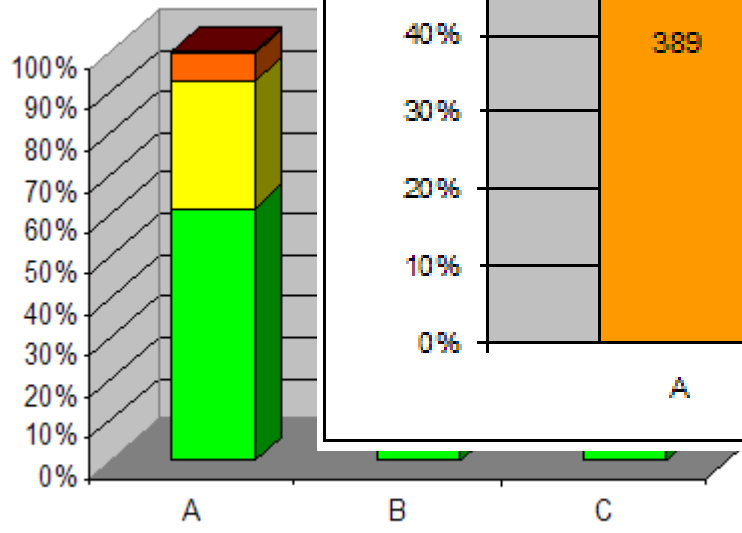
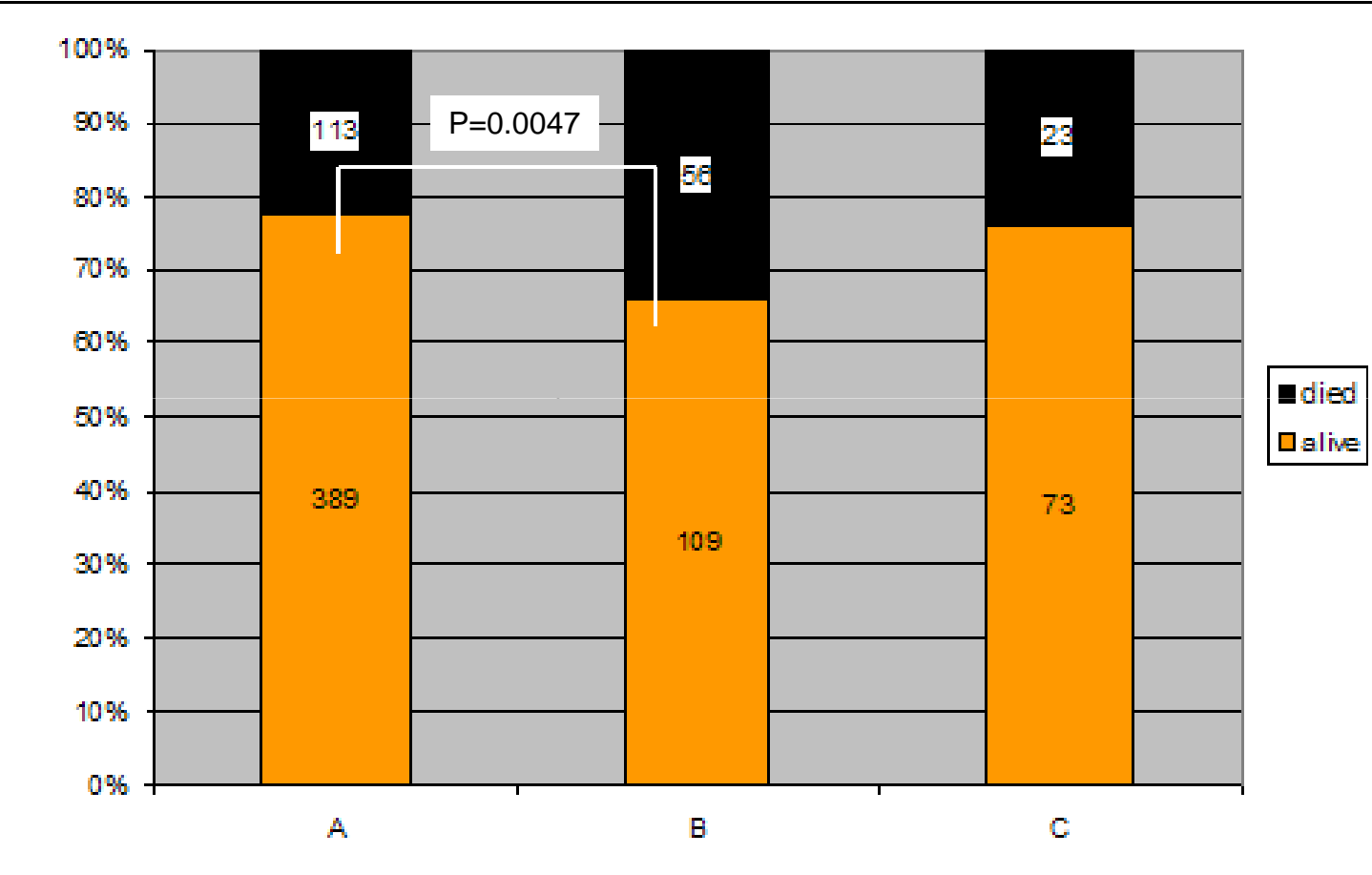
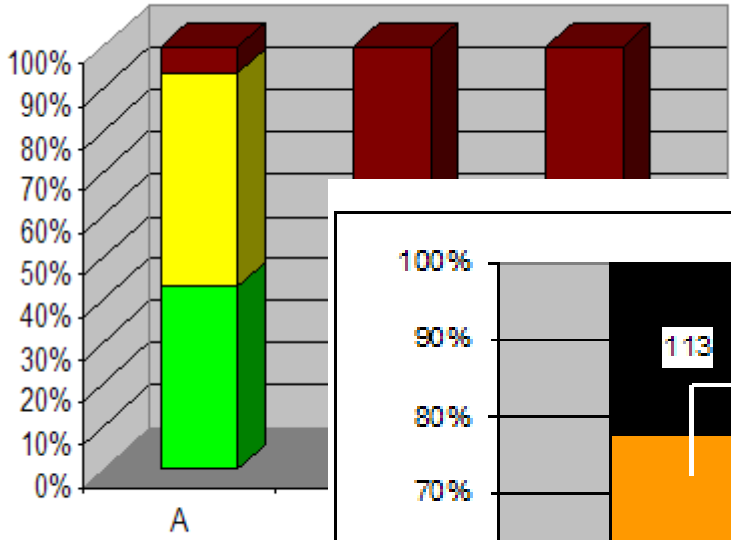
	A (n=504)	B (n=165)	C (n=96)	p value
Age (median, year)	60	58	57	
Histological type				IDC-nonIDC 0.0000001
IDC	68,7	84	88,4	
ILC	18,8	9,8	9,3	
Mucinous	3,7	1	1,2	A-B: 0.0002 A-C: 0.0003
Tubular	4,3	1	0	
Other	4,6	4,9	1,2	
Grade				0.0000
1	43,2	8,1	11,8	
2	50,2	45,9	51,5	G1-G2-3 A-B: 0.0000 A-C: 0.0000
3	6,5	45,9	36,8	
pT				0.0045
1	62,30	44,6	63,8	A-B: 0.002
2	32,1	40,6	29,8	A-C: 0.935
3	2,2	5,9	2,1	B-C: 0.0448
4	3,5	8,9	4,3	
pN				pN0->N0: 0.003
0	61,6	39,5	45,5	
1	31,1	44,2	45,5	A-B: 0.0063
2	6,7	11,6	4,5	A-C: 0.037
3	0,6	4,7	4,5	
LVI				0,0000
absent	71,7	49,3	48,7	A-B: 0.0007
present	28,3	50,7	51,3	A-C: 0.0035

A: ER POZITÍV
Ki67<20%
HER2 NEGATÍV

B: ER POZITÍV
Ki67≥20%
HER2 NEGATÍV

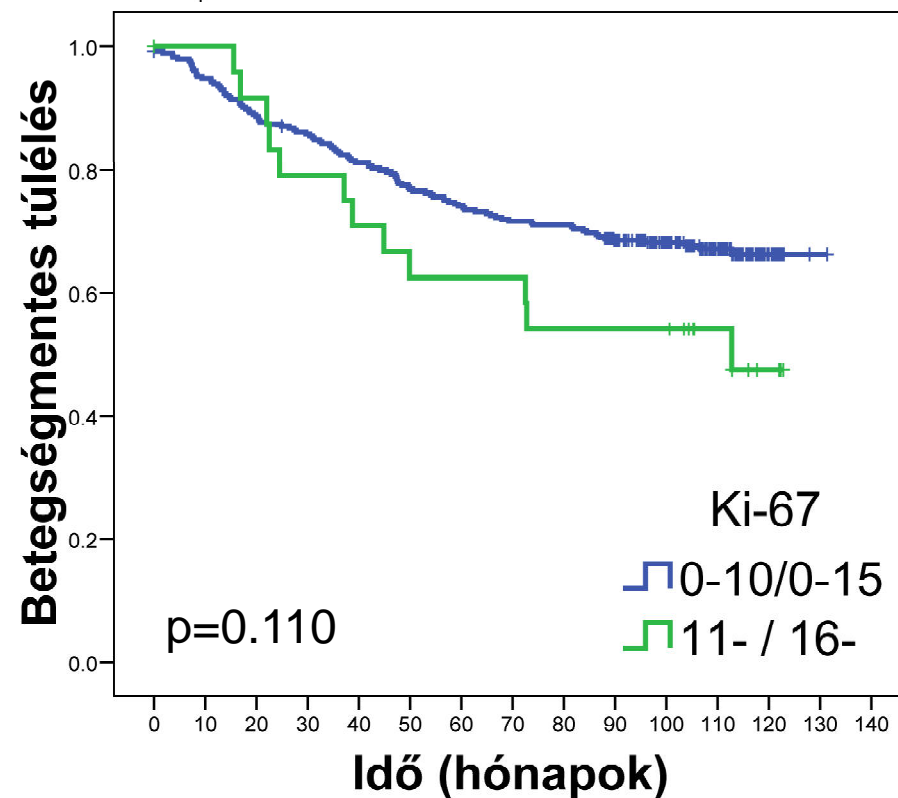
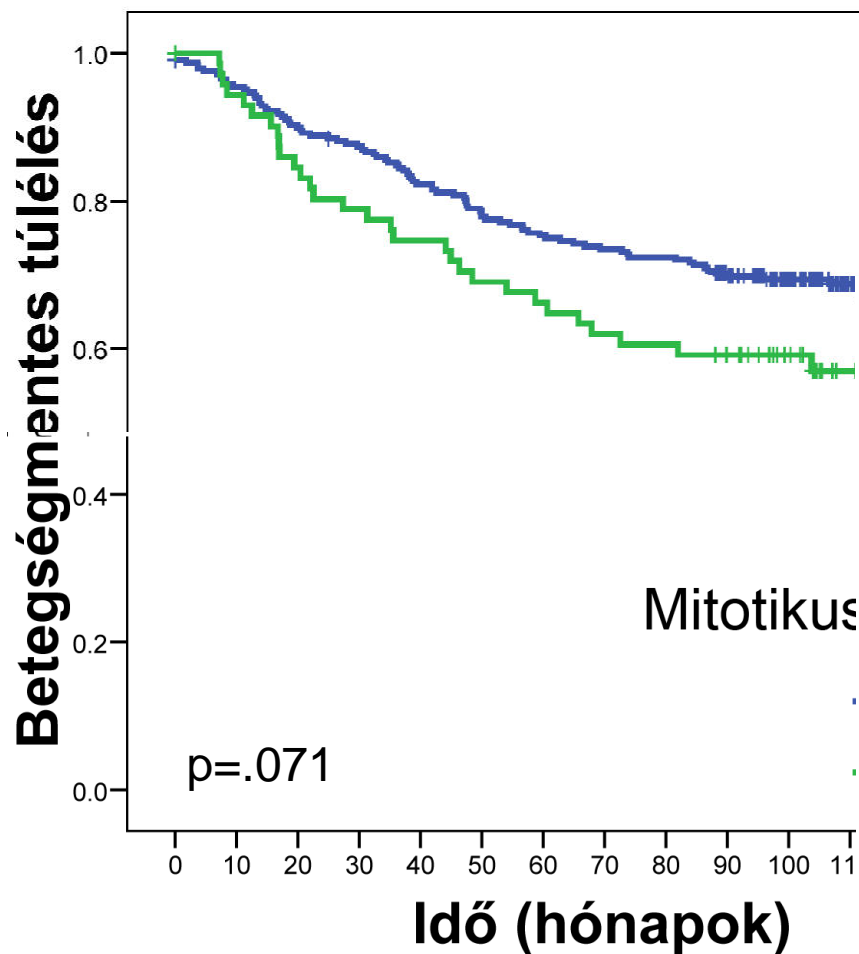
C: ER POZITÍV
HER2 POZITÍV

Grade 1 vs Grade 2-3: p=0.0000



pN0- >N0: p=0.003

Mitotikus index és Ki-67: emlődaganatok prognosztikus vizsgálatai – *altípustól függetlenül*: (Budai MÁV, n=387, 1999-2002)



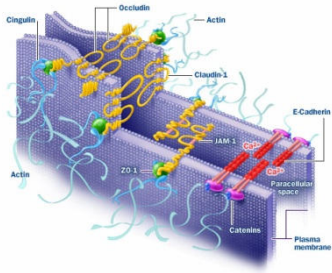
Saját, nem közölt adatok

Kérdések

- Hogyan határozzuk meg a Ki67 pozitivitást?
- Hogyan kvantifikáljuk?
- Hogyan interpretáljuk?
- Mi a küszöbérték?

2009 St Gallen: a Ki67 index fontos marker, segít kiválasztani azokat az ER pozitív tumoros betegeket, akiknek kemoterápiát kell adni az endokrin kezelés mellett. $\leq 15\%$, 16-30%, $>30\%$. DE: standard protokoll hiánya miatt korai lenne az alkalmazása.

Colozza M, Sidoni A, Piccart-Gebhart M: Value of Ki67 in breast cancer: the debate is still open. The Lancet Oncology 2010;11:414



Claudin-low alcsoport azonosítása és jelentősége

60 IDC és 37 ILC, $pN \geq 1$
Claudin IH expressziós
 profilját vizsgáltuk.
 A nyirokcsomó áttétek
 claudin1
 expressziójának elvesztése
 („claudin-low” profil)
 szignifikánsan rövidebb
 betegségmentes túléléssel
 társult.

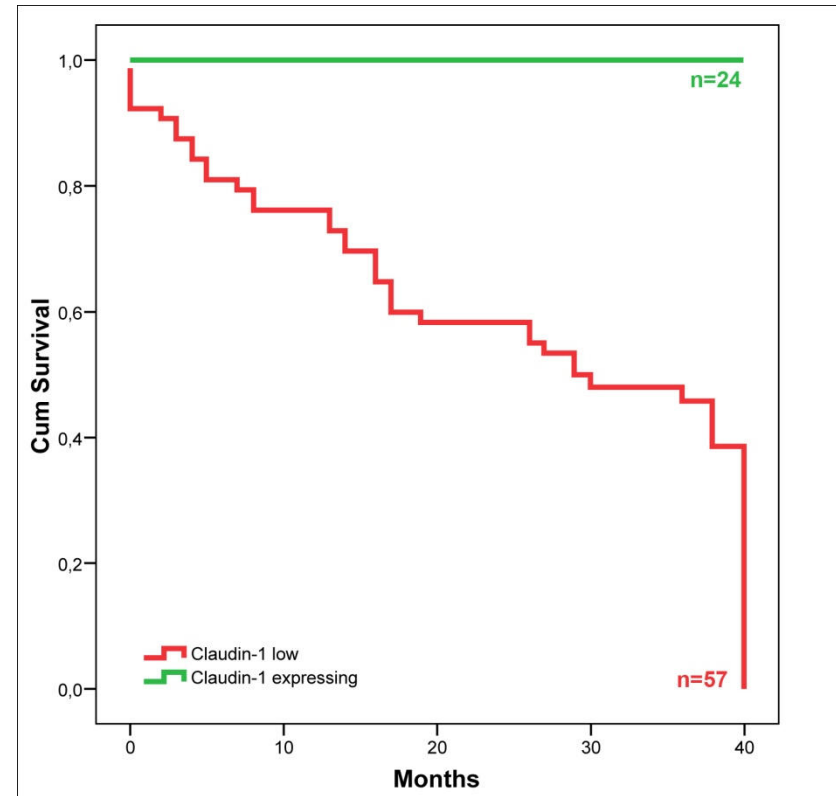
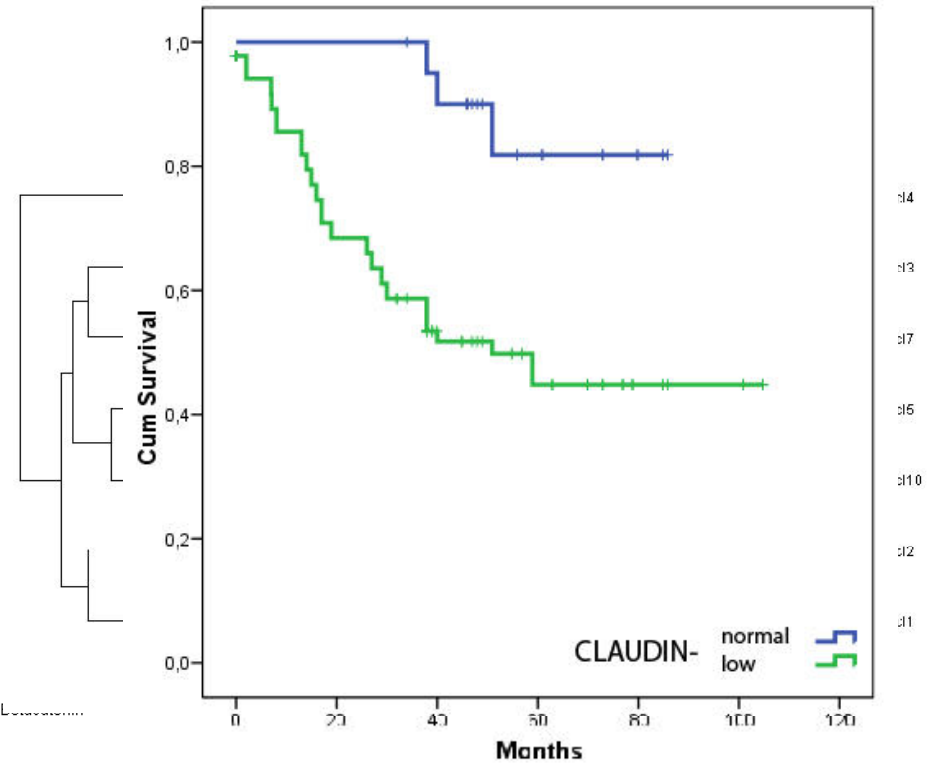
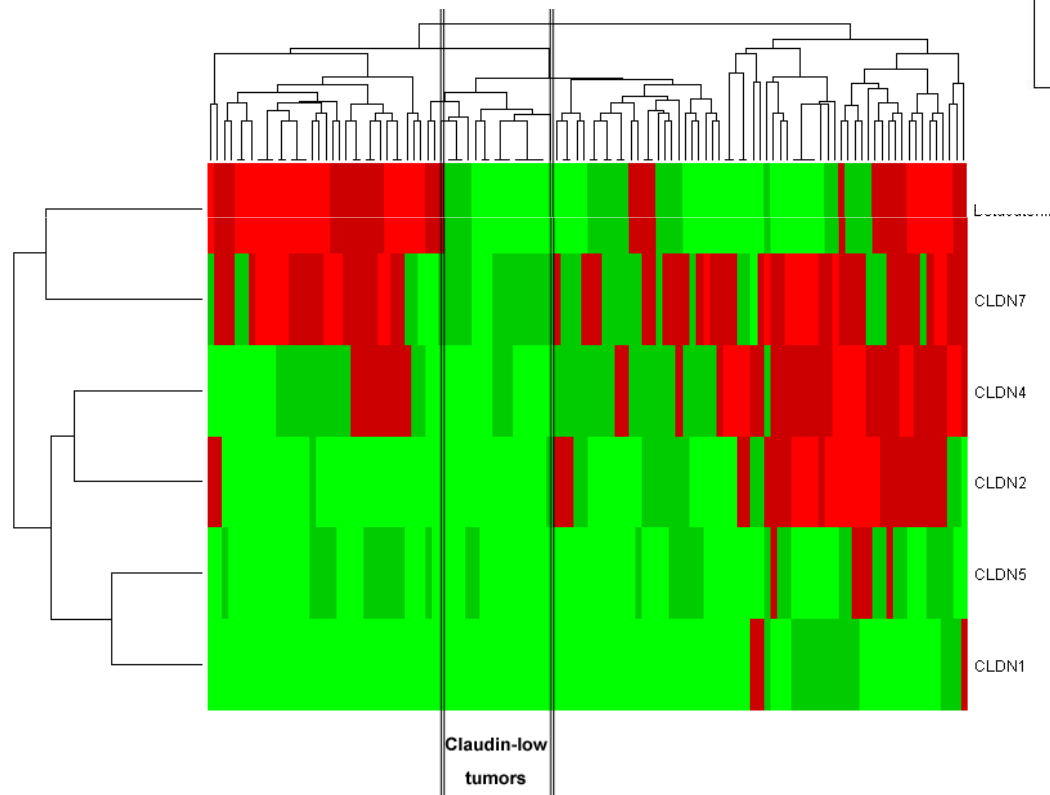


Figure 3. Claudin-1 expression and disease-free survival. Claudin-1 expressing carcinomas (score > 1) have less relapse than claudin-1 low (score ≤ 1) breast carcinomas shown on Kaplan-Meier survival plot.

Szász A. Marcell et al: Prognostic significance of claudin expression changes in breast cancer with regional lymph node metastasis. Clin Exp Metast 2010, under revision

Claudin-low

97 invazív emlőcarcinoma
38 tripla negatív emlőrák



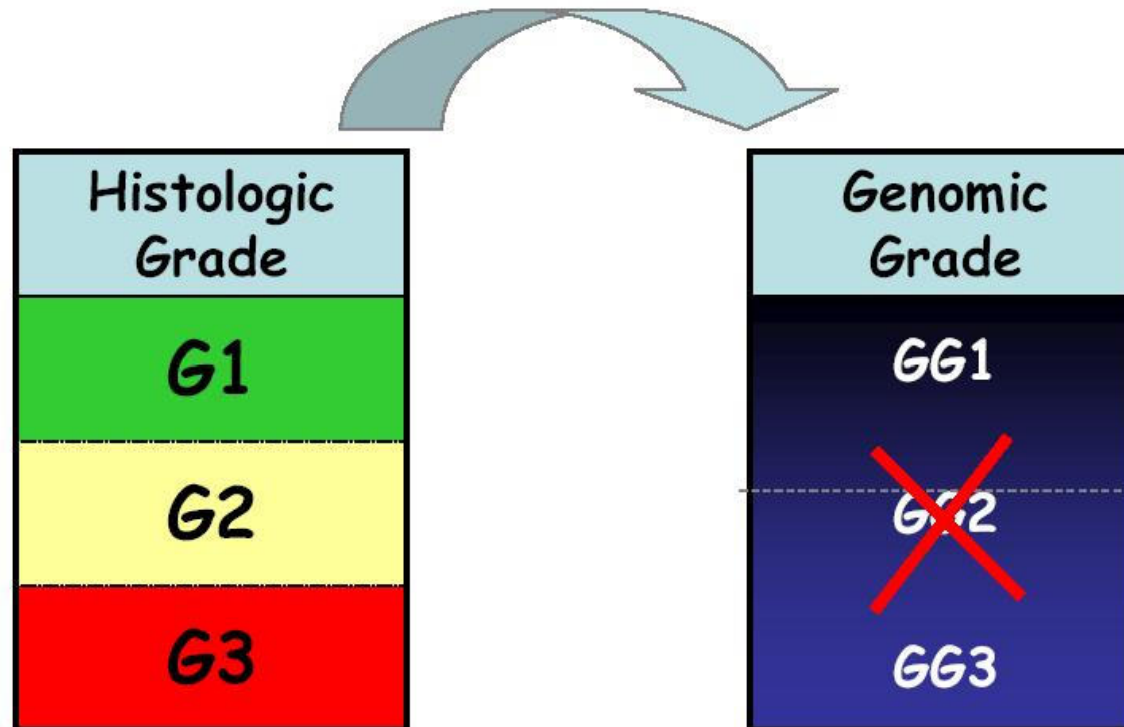
Összes emlőrák alcsoporttól függetlenül

Szasz, ASCO Breast 2009
Perou, SABCS 2009
Szasz SABCS 2009

Grade 2 daganatok

Sotiriou, used with permission

Sotiriou *et al.*, ASCO 2005

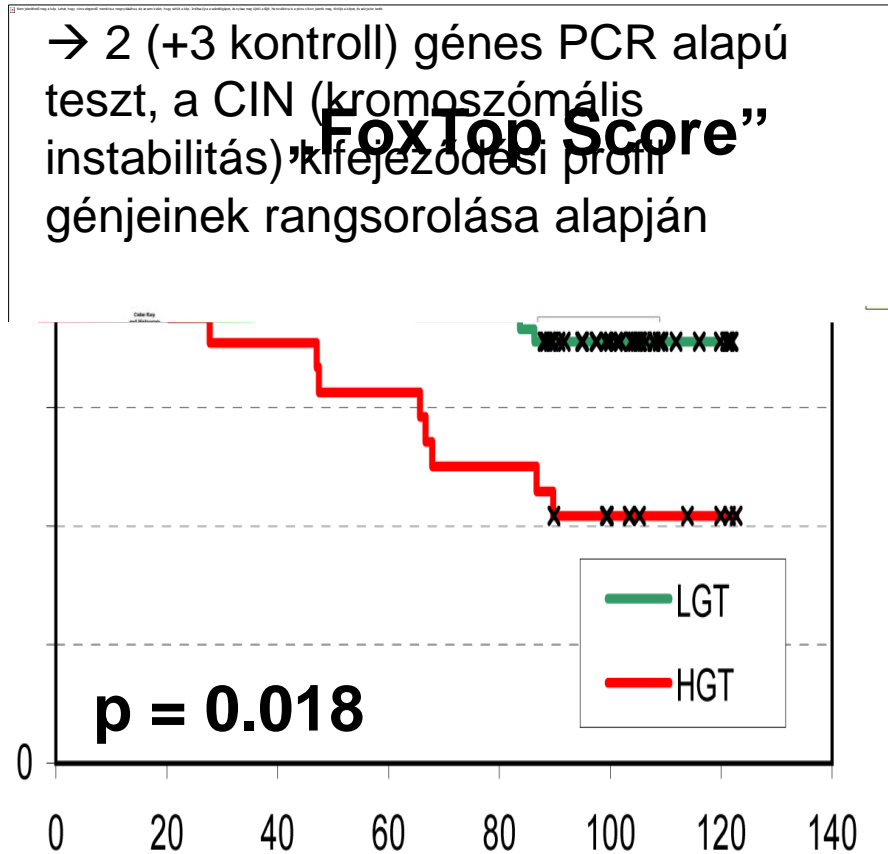
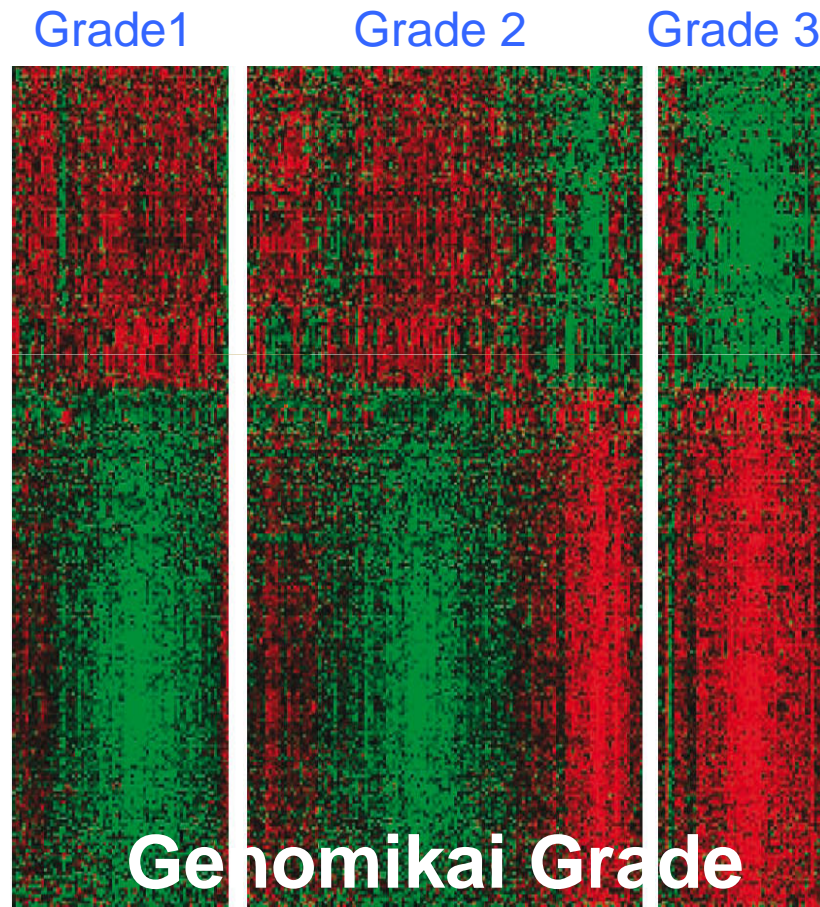


- Poor inter observer reproducibility
- G2: difficult treatment decision making, under- or over treatment likely

- Findings consistent across multiple data sets and microarray platforms
- More objective assessment
- Easier treatment decision-making
- High proportion of genes involved in cell proliferation !

Grade 2 daganatok prognosztikus vizsgálatai – Genomikai Grade, FoxTop score

(Budai MÁV Kórház, n=387, 1999-2002)



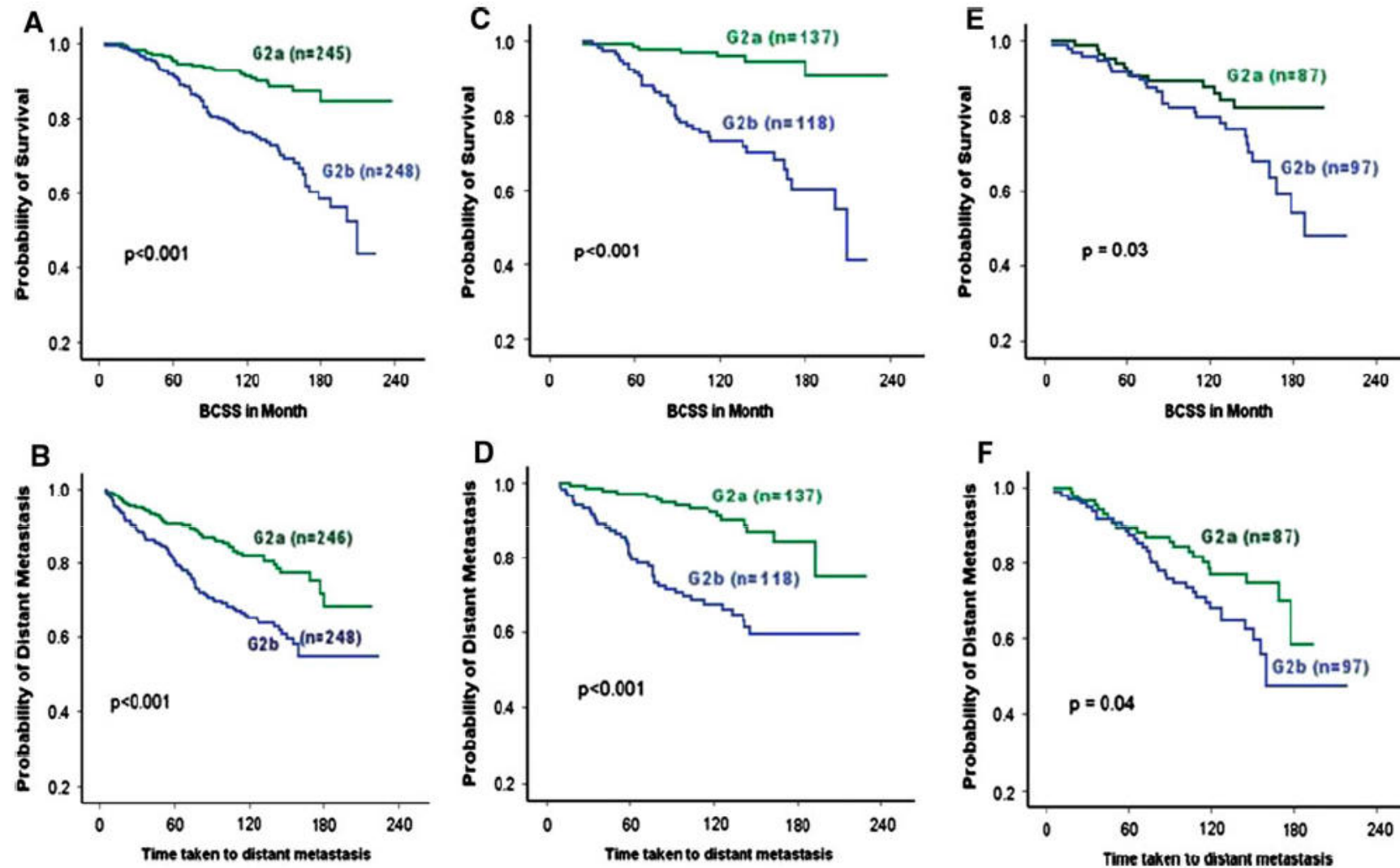


Fig. 4 Kaplan–Meier survival plot of BCSS and metastasis free survival in grade 2 breast tumours at 10% MIB1-LI cut-point: a, b in all grade 2 patients; c, d non-treated patients; e, f tamoxifen-treated patients

Breast Cancer Res Treat. 2010 Jul 11. [Epub ahead of print]

MIB1/Ki-67 labelling index can classify grade 2 breast cancer into two clinically distinct subgroups.

Aleskandrany MA et al,

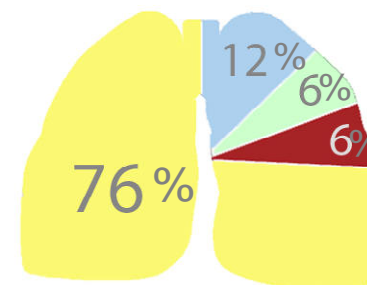
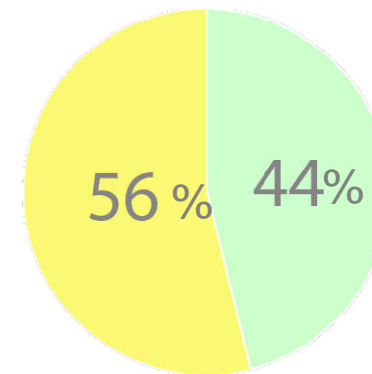
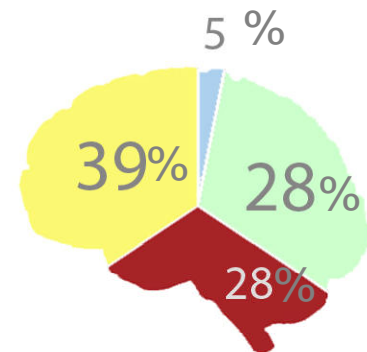
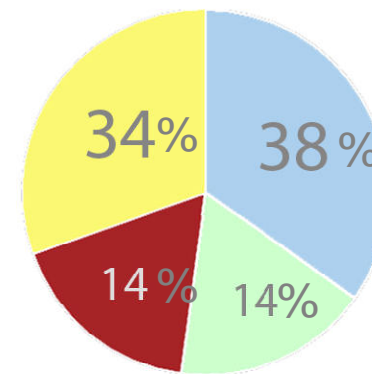
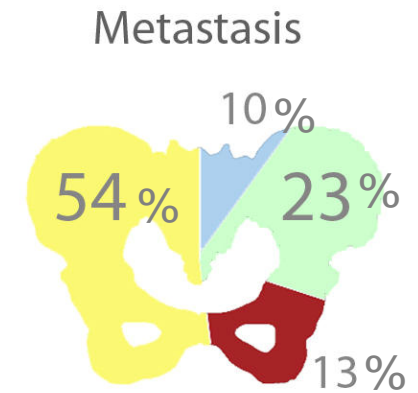
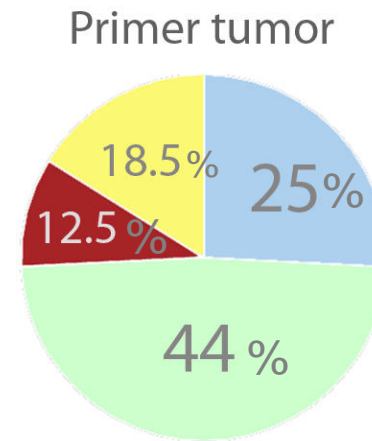
Primer tumor és metasztázis

A progressziót követően, a tervezett kezelés szempontjából a fő kérdés:

AZONOS VAGY ELTÉRŐ?

Primer tumor- Metastasis

- 44 pár + 9 metasztatizáló primer tumor és 23 áttét
- Ha a 10-20%-os hibahatárt elfogadjuk ismételt biopsziák esetében, akkor is nagy az eltérés (jelen esetben 43%) a primer tumorok és áttétjeik között.



■ LUMA
 ■ LUMB
 ■ HER2
 ■ TNBC

Összefoglalás

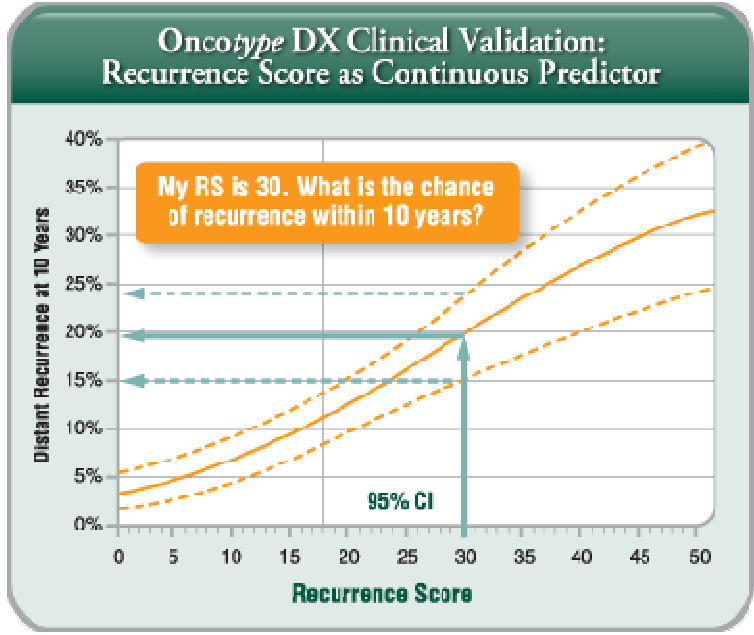
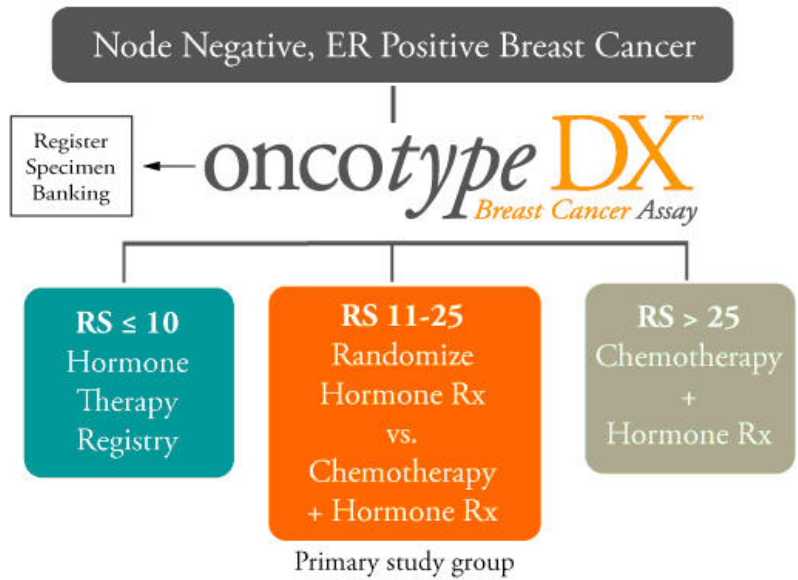
- Az IH fenotípus lényeges prognosztikai információt hordoz
- A genetikai profil alapján azonosított új tumortípus, a „Claudin-low” altípus, rossz prognózisú, a Claudin expressziós profil alapján azonosítható
- A Grade 2 emlőtumorok a Ki67 index alapján (és a „FoxTop” score alapján) jó és rossz prognózisú csoportra oszthatók
- A metasztázisok különbözhetnek a primer tumortól, tehát áttétekből származó mintákban célszerű újravizsgálni a prediktív faktorokat

Rutin molekuláris diagnosztika másképpen



0 500 Miles
0 500 KM
Parallel scale at 45°N 90°W

Schema: TAILORx



Köszönet

Dr. Szász A. Marcell
Dr. Tőkés Anna-Mária
Azumah Erzsébet
Dr. Baranyák Zsuzsa
Hajnáczyk András V. é. oh.
Jaczó Csilla
Dr. Lotz Gábor
Dr. Lukács Lilla
Dr. Madaras Lilla
Dr. Micsinai Mariann
Pekár Magdolna
Samodai Erika
Dr. Schönfeld Tibor
Somogyi Éva
Dr. Székely Borbála
Szittyá Liliána V. é. oh.





KÖSZÖNÖM A FIGYELMET