

Dr. Tímár József

Országos Onkológiai Intézet, Tumor Progressziós Osztály
Budapest

A gyomorrák prognosztikus pathológiája**Genomika**

Örökletes diffúz típusú gyomorrákok (HDGC) háttérében gyakran (30%) CDH1 csonkoló mutáció áll. Egy kanadai vizsgálatban 38 HDGC családot vizsgáltak, ebből 40%-ban mutattak ki CDH1 mutációt, ami főleg ún. splicing forma volt. 4 család hasonló mutációt hordozott, akik Kanada ugyanazon régiójából származtak, ami felvetette a lehetőségét egy alapító mutáció kialakulásának (1). Egy másik vizsgálatban egy HDGC családban 6 családtagot találtak, akik CDH1 mutáció hordozók voltak, klinikai vizsgálatok nem mutattak rákra. Ugyanakkor mindegyik beteget gastrectomizálták és D2 lymphadenectomiát is végeztek. Mind a 6 beteg esetében T1N0M0 DGC (signet ring) találtak. (2), ami arra utal, hogy a CDH1 mutáció példátlanul erős carcinogén hatású HDGC esetében.

Sporadikus *H. pylori* indukált gyomorrák kialakulása szempontjából a gyulladásos citokin profil érdekes lehet. Japán szerzők 100 gyomorrákos és 93 dyspeptikus beteget analizált 8 citokin illetve 2 citokin receptor génpolimorfizmusra. Vizsgálataik szerint bizonyos IL-4 és IL1RN polimorfizmusok daganatvédő hatásúak (3). Egy mexikói vizsgálatban (337 beteg) ugyanakkor az IL-8 citokin megadott polimorfizmusa függött össze gyomorrák kialakulásával (4). Ezzel kapcsolatban érdekes, hogy a magas sótartalmú diéta hajlamosít gyomorrákra. A magas sókoncentráció ugyanakkor génexpressziós változásokat idéz elő a *H. pylori*-ban, a *cagA* gén fokozottan expresszálódik, ami átkerül a gyomor hámsejtjeibe, ahol fokozott IL-8 termelést indukál (5).

A gyomorrák-képződést epigenetikai változások is kísérik (pl. gén-metiláció), ezt vizsgálták 30 intestinalis 35 diffúz gyomorrákban: a vizsgált gének CDH1, FHIT, MTAP és PLAGL1 voltak. A CDH1 és FHIT metiláció igen gyakori volt (98 és 53%) ami a gének inaktiválását jelenti. Az MTAP metiláció a diffúz típusú gyomorrákra jellemző, és a női nemmel függött össze (6).

Egy genetikai vizsgálatban 300 gyomorrákot vizsgáltak *myc* amplifikációra és overexpresszióra (IHC), amit 16%-osnak találtak, amiből 1/5 amplifikált is volt (3%). Valamennyi esetben a MYC amplifikáció vagy EGFR vagy HER2 amplifikációval kapcsolódott (7)!

Egy újabb vizsgálatban ún. meta-analízist végeztek egy gyomorrák-chip-adatbank segítségével (GEO) melyben 44 normál nyálkahártya és 196 gyomorrákos minta nyers adatai találhatóak meg. Vizsgálták ebben a transzformáció-specifikus szetteket, az intesztinális/diffúz típust elkülönítő mintázatot és a korai/késői ún. progressziós mintázatot (8).

A gyomorrák-mintázatban 120 gént találtak, melyek között elsősorban csökkent expressziójú nyáktermelésben szereplő valamint a glikolitikus folyamatban szereplő géneket észleltek. Fokozottan expresszálódó gének között számos matrix protein (kollagének), és citokin-jelátviteli gének voltak találhatóak. A két szövettani altípus elkülönítésére 35 gén expressziója volt alkalmas, melyek között a korábban már megfigyelt E-cadherin elvesztése a diffúz típusú rákban itt is igazoltást nyert. Emellett ezt az agresszívabb formát a sejtmozgásban érintett gének, illetve stress válasz-gének fokozott expressziója jellemezte. A korai/késői gyomorrákok összehasonlítása során már csak 13 szignifikánsan eltérő expressziójú gén maradt, melyek között 2 már korábban felmerült valamilyen formában: az RGS5-t mint angiogenezisben érintett gént már megfigyelték gyomorrákban, míg az ALDH5A1-et veserákban észlelték (8). A szerzők nem elégedtek meg ezzel, hanem a mintázatokat megkísérelték valódi diagnosztikus erejű minimális mintázatokká alakítani, amit ún. teszt-szetteken vizsgálgattak tovább. Ezen ún. in-sziliko teszteléseken egy 10 génes mintázat keletkezett, mely csaknem 100%-os biztonsággal volt képes a daganatos mintákat elkülöníteni a normál nyálkahártyától. Ebből 2 gén alkalmas volt a két szövettani altípus elkülönítésére (E-cadherin/intesztinális típus és PTPRS: protein tyrosin phosphatase-S a diffúz típusban). A 8 génből 5 fokozottan fejeződik ki gyomorrákban: SERPINH1

(szerin proteáz inhibitor), CENPF (centromera gén), SFRP4 (frizzled-related gene) és a b1 integrin. Az eltűnő gének között enzimek voltak: FBP1 (fruktóz biszfoszfátáz), KHK (ketohexonkináz) egy aminosztransferáz (AGXT).

A továbbiakban tesztelték a 8-génes mintázatot, hogy mennyiben képes a chr. gastritist elkülöníteni a ráktól és azt találták, hogy ezen gyulladásos állapotok többsége ún. rákmintázatot mutatott. Másrészről, a *H. pylori* fertőzött minták esetében nem tévesztett a 8 génes mintázat. A továbbiakban azt is kimutatták kettős vak módszerrel tesztelve, hogy az ún. stádiumfüggő gének expressziós mintázata alapján két csoportba lehet a gyomorrákos betegeket rendezni, amelyek prognózisa szignifikánsan eltérő, az ún. késői rákok mintázata egyben prognosztikus mintázat is (8).

Progressziós markerek

A metasztázisképző képesség háttérében sokan ún. metasztázis-elősegítő, valamint azt gátló gének aknamunkáját sejtetik. Egy kínai munkacsoport az NM23, KAI1 és KISS1 gének által kódolt fehérjék expresszióját vizsgálta TMA segítségével a primer tumorban valamint nyirokcsomó- és májjáttétekben. A vártaknak megfelelően a 3 metasztázis-szuppresszor csökkent expresszióját észlelték az áttétekben (9).

Japán szerzők egy új endodermális onkogén a PIM3 expresszióját elemezték nagyszámú gyomorrákban, illetve áttéteiben. Ezen onkogén fokozottan volt jelen már az adenomákban is, majd a rákokban, ezen belül elsősorban az intesztinális típusban és elsősorban a PTEN negatív tumorokban. Ebben az elemzésben a PIM3+ gyomorrákok kedvezőtlenebb prognózisuk voltak (független prognosztikus tényező volt) (10).

Egy vizsgálatban, nagyszámú gyomorrákban tesztelték a CD99 adhéziós molekula expresszióját immunhisztokémiával. Ugyanakkor a gén metilációját és LOH státuszát is tesztelték. A CD99 elvesztése kedvezőtlen prognosztikus faktornak bizonyult (OS). Ennek háttérében 17%-ban promotor metiláció míg 30%-ban LOH (allélvesztés) állt (11). A CD99 metasztázis-szuppresszornak tűnik, de lehet hogy transzkripciós faktora az SP1 is szerepet játszik ebben. Egy másik transzkripciós faktor a FOXO1A a normális mucosa proliferáló sejtjeiben és az intestinalis metaplasiában mutatható ki és gyomorrákok 85%-ban aktiv amit foszforilációja is igazol. Ugyanakkor a pFOXO1A+ gyomorrákok szignifikánsan jobb prognózisuk (12).

Már a chip-elemzések során is felmerült a gyomorrákokban bizonyos foszfatázok szerepe. Kínai és japán szerzők, egymástól függetlenül a CDC25 foszfatáz A/B típusainak prognosztikus szerepét vizsgálták és ugyanarra a következtetésre jutottak, hogy a CDC25B pozitivitás kedvezőtlen prognosztikus tényező, az invazív zónában van elsősorban jelen, társul a nyirokérbetöréssel és áttétképző képességgel (13, 14).

Egy újabb vizsgálat tovább erősíti az E-cadherin prognosztikus jelentőségét: metiláció révén történő elvesztése kedvezőtlen prognózisra utal, és egyértelműen összefügg a nyirokcsomó érintettségével (15). Korábbi vizsgálatok során az intesztinális típusú gyomorrákok fokozott CD44 expresszióját találták de kiderült, hogy a vastagbélrákokkal szemben nem a v6-os variáns, hanem a v9-es expressziója jellemző. Az előrehaladottabb gyomorrákokban fokozott MMP9 proteáz (16) és az OPN csont-matrix-fehérje expresszióját észlelték (17, 18). Egy proteáz-inhibitor, a maspin esetében azt tapasztalták, hogy fokozott expressziója az előrehaladottabb illetve metasztatikus tumorok jellemzője (19), ami ismét igazolja, hogy a proteázok progresszióval kapcsolatos viselkedése nehezen kiszámítható, sokszor a várttal szemben éppen inhibitoraik fokozott expressziója kíséri a folyamatot. Egy nagy klinikai vizsgálatban az MMP11 stromalis proteáz expresszióját szelektálták ki, mint jellegzetes gyakori kísérőjét a gyomorráknak. Ezután 123 gyomorrákban és 305 gyomorrákos beteg szérumban vizsgálták mRNS, protein expresszióját immuncitokémiával és ELISával. Megállapították, hogy az MMP11 gyakran expresszálódik gyomorrákban és szérumban szintje nemcsak gyomorrák-marker, hanem a metasztázisok kialakulásának is érzékeny jele (20).

Prediktív patológia

Az 5FU terápia a gyomorrákok kemo- és kemoradioterápiájának egyik bázis-szere. Hatékonyságát sok egyéb mellett a timidilát szintáz (TS) de pl az E2F1 checkpoint fehérje is befolyásolhatja. Ezt vizsgálták

immunhisztokémiai eszközökkel 467 R0 reszekált gyomorrákban. A TS pozitivitás 19% míg az E2F1 pozitivitás 22%-os volt. Hasonlóan a colorectális rákhoz, a TS expresszió nem bizonyult prediktívnek az 5FU terápia hatásossága szempontjából, míg az E2F1+ kedvező prediktív faktornak bizonyult (21). A platina-bázisú terápia hatékonynak bizonyult előrehaladott gyomorrák kezelésében, ugyanakkor az individuális érzékenység genetikai háttere nem ismert. Az X-ray repair cross complementing group1 (XRCC1) és a GSTP1 (glutathion-S-transferase) enzimek polimorfizmusa érdekes lehet, amit 62 gyomorrákos betegben vizsgáltak a perifériás vérben. Az XRCC1 gén AA és AG polimorfizmusai a 399 kodon SNP-i miatt kedvező terápiás hatással és túléléssel kapcsolódott, míg a GG genotípus szignifikánsan kedvezőtlenebb volt (22).

A gyomorrákok egy csoportjában Her2 amplifikáció észlelhető, amiért ezek a daganatok potenciálisan Herceptin érzékenyek, bár az antitest-terápia hatásmechanizmusa még nem egészen világos és abban immunológiai mechanizmusoknak is tulajdonítanak szerepet. Egy vizsgálatban HER2-expresszáló gyomorráksejtek elleni Herceptin-indukált ADCC-t (antitest-függő sejtes citotoxicitás) mérték gyomorrákos betegek perifériás immunsejtjeivel.

Megállapították, hogy:

1. kiváltható ilyen immunválasz,
2. az előrehaladottabb gyomorrákos betegekben az immunválasz gyengül, amit IL2 stimulációval részlegesen helyre lehet állítani. Ezek a vizsgálatok arra utalnak, hogy amennyiben Herceptin terápiát alkalmaznak gyomorrákos betegekben, célszerűnek tűnik azt kiegészíteni nem specifikus immunstimulációval (23).

Irodalom:

1. Kaurah P, MacMillan A, Boyd N, et al: Founder and recurrent CDH1 mutations in families with hereditary diffuse gastric cancer. *JAMA* 297:2360-2372, 2007
2. Norton JA, Ham CM, Van Dam J, et al: CDH-1 truncating mutation in the E-cadherin gene: an indication for total gastrectomy to treat hereditary diffuse gastric cancer. *Ann Surg* 245:873-879, 2007
3. Seno H, Satoh K, Tsuji S, et al: Novel interleukon-4 and interleukin-1 receptor antagonist gene variations associated with non-cardia gastric cancer in Japan: comprehensive analysis of 207 polymorphisms of 11 cytokine genes. *J Gastroenterol Hepatol* 22:729-737, 2007
4. Garza-Gonzalez E, Bosques-Padilla FJ, Mendoza-Ibarra SI, et al: Assessment of the toll-like receptor 4 Asp299Gly, Thr399Ile and interleukin-8 -251 polymorphisms in the risk for the development of distal gastric cancer. *BMC Cancer* 7:70, 2007
5. Loh JT, Torres VJ, Cover TL: Regulation of *Helicobacter pylori* cagA expression in response to salt. *Cancer Res* 67:4709-4715, 2007
6. Leal IMF, Lima EM, Silva PN, et al: Promoter hypermethylation of CDH1, FHIT, MTAP and PLAGL1 in gastric adenocarcinoma in individuals from Northern Brazil. *World J Gastroenterol* 13:2568-2574, 2007
7. Mitsui F, Dobashi Y, Imoto I, et al: Non-incidental coamplification of Myc and ERBB2, and Myc and EGFR, in gastric adenocarcinoma. *Mod Pathol* 20:622-631, 2007
8. Yap YL, Zhang XW, Smith D, et al: Molecular gene expression signature patterns for gastric cancer diagnosis. *Comput Biol Chem* 31:275-287, 2007
9. Guan-Zhen Y, Ying C, Can-Rong N, et al: Reduced protein expression of metastasis-related genes (nm23, KISS1, KAI1 and p53) in lymph node and liver metastases of gastric cancer. *Int J Exp Pathol* 88:175-183, 2007
10. Zheng HC, Tsuneyama K, Takahashi H, et al: Aberrant Pim-3 expression is involved in gastric adenoma-adenocarcinoma sequence and cancer progression. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2007

11. *Lee JH, Kim SH, Wang LH, et al:* Clinical significance of CD99 down-regulation in gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 13:2584-2591, 2007
12. *Kim JH, Kim MK, Lee HE, et al:* Constitutive phosphorylation of the FOXO1A transcription factor as a prognostic variable in gastric cancer. *Mod Pathol* 20:835-842, 2007
13. *Takahashi H, Murai Y, Tsuneyama K, et al:* High labeling indices of cdc25B is linked to progression of gastric cancers and associated with a poor prognosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 15:267-272, 2007
14. *Xing X, Chen J, Chen M:* Expression of CDC25 phosphatases in human gastric cancer. *Dig Dis Sci* , 2007
15. *Yi KD, Kyoou JJ, Kyu PY, et al:* E-cadherin expression in early gastric carcinoma and correlation with lymph node metastasis. *J Surg Oncol* 96:429-435, 2007
16. *Gao ZL, Zhang C, Du GY, Lu ZJ:* Clinical significance of changes in tumor markers, extracellular matrix, MMP-9 and VEGF in patients with gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 54:1591-1595, 2007
17. *Dai N, Bao Q, Lu A, Li J:* Protein expression of osteopontin in tumor tissues is an independent prognostic indicator in gastric cancer. *Oncology* 72:89-96, 2007
18. *Wu CY, Wu MS, Chiang EP, Wu CC, Chen YJ, Chen CJ, Chi NH, Chen GH, Lin JT:* Elevated plasma osteopontin associated with gastric cancer development, invasion and survival. *Gut* 56:782-789, 2007
19. *Song SY, Son HJ, Kim MH, Nam ES, Rhee JC, Park C:* Prognostic significance of maspin expression in human gastric adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 54:973-976, 2007
20. *Yang YH, Deng H, Li WM, et al:* Identification of matrix metalloproteinase 11 as a predictive tumor marker in serum based on gene expression profiling. *Clin Cancer* 14:74-81, 2008
21. *Lee J, Park CK, Park JO, et al:* Impact of E2F-1 expression on clinical outcome of gastric adenocarcinoma patients with adjuvant chemoradiation therapy. *Clin Cancer Res* 14:82, 2008
22. *Liu B, Wei J, Zou Z, et al:* Polymorphism of XRCC1 predicts overall survival of gastric cancer patients receiving oxaliplatin-based chemotherapy in Chinese population. *Eur J Hum Genet* 2007
23. *Kono K, Takahashi A, Ichihara F, et al:* Impaired antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by herceptin in patients with gastric cancer. *Cancer Res* 62:5813-5817, 2002