

Dr. Tímár József

Országos Onkológiai Intézet, Tumor Progressziós Osztály
Budapest

A pancreasrák prognosztikus pathológiája

TNM

Egy hatalmas tanulmány validálta az AJCC-6 pancreas-staging rendszerét 121000 beteg adatainak elemzésével, ahol az 5 éves túlélés értékelhető volt. Megállapították, hogy a pancreas adenocarcinomájában pancreatectomia után az egyes stádiumokban a túlélés: IA: 31.4%, IB: 27.2%, IIA: 15.7%, III: 6.8%, IV: 2.8%. A pancreatectomia után a tumor mérete, az N státusz és a távoli áttétek mind kedvezőtlen meghatározó prognosztikus tényezők (1). 2007-ben az ASCO a tumormarker guideline-jában igen kevés markert tartott validáltnak, ezek között kiemelt szerepet adott a CA19-9-nek a pancreasrák diagnosztizálásában és monitorozásában illetve prognózisában (2).

Genomika

Mára egyre nyilvánvalóbbak azok az alapvető genetikai léziók, melyek az intraductalis pancreas adenocarcinoma prekursor léziójában az intraepiteliális neopláziában (PanIN) keletkeznek. Korai genetikai eltérésnek tűnik a KRA2 mutáció, a telomér rövidülés (telomeráz aktiválódás) és a p21/WAF1 fokozott aktivitása. Ezt követi időben a ciklinD1 expresszió fokozódása és a sejtproliferáció fokozódása. Végül ún. késői genetikai eltérések a BRCA2 és P53 mutáció és a DPC4/SMAD4/MADH4 inaktiválódás (3). Egy ehhez hasonló, de kissé más genetikai utat követ a mucinózus cisztikus neoplázia (MCN), melyben a DPC4 allélvesztése a KRAS mutáns állapotban MCN-hez vezet, melyben ezt követően vagy p53 vagy p16 inaktiválódás következik be (4). A génexpresszió szabályozásának újonnan felfedezett elemei az ún. mikroRNsek, melyekből eddig több mint 200 félét ismerünk. Egy új vizsgálatban 42 krónikus pancreatitiszes illetve 65 pancreasrákos mintát elemeztek a miRNS expressziós mintázatuk szempontjából keresve a "diagnosztikus" erejű eltéréseket. A rákot a normál szövetből 25 miRNS-mintázat volt képes elkülöníteni 90%-os eséllyel, míg a krónikus pankreatitist a tumortól 23 93%-os eséllyel. Találtak egy olyan 6 miRNS-el jellemezhető mintázatot is, mely a progressziós képességet jellemezte N+ esetekben. Végül az miR-196a-2 önmagában is erős kedvezőtlen prognosztikus markernek bizonyult (5).

Egy másik vizsgálatban a citológiai rákdiagnózis hatékonyságát kívánták növelni az uPAR expresszió és génexpressziós mintázat segítségével. Először egy 29-géne mintázatból indultak és qPCR-t használtak, majd ez leszűkült egy 6 génes mintázatra, mely a uPAR-hoz kapcsolva 92%-os erővel volt képes a pancreas adenocarcinomat azonosítani: a 6 gén között az EpCAM adhéziós molekula, a CEA5/6 valamint MAL2, MSLN és TRIM29 gének szerepeltek. (6). Továbbra is problémás a chr pancreatitis és pancreasrák elkülönítése és ebben a CA19-9 nem túl hatékony. Egy taiwani csoport az adiponectint találta hasznos szérumszerviz markernek ebből a szempontból, különösen a CA19-9-el együtt (7).

A WNT jelátviteli pályának szerepe van a pancreasrák kialakulásában preklinikai és klinikai adatok alapján. Egy genomikai vizsgálatban ennek részleteit elemezték 12 pancreasrák és 6 normál pancreas szövet chip-elemzésével. Adataik szerint a WNT-ligandok (2-6, 8B, 11) emelkedett expressziója mellett receptoraik a FZD2, 7, 9 is fokozottan expresszáldott rákban. Hogy a jelátvitel domináns az az igazolta, hogy a β -catenin mellett (mely ebben a jelátvitelben is kulcsszereplő) annak target génjei közül is sok fokozottan expresszáldott pancreas rákban: ciklinD1, RAR γ , COX2, uPAR, MMP7. Ezek közül többről esett a fentiekben már szó (8).

EGFR

Úgy tűnik, hogy pancreasrákban is fontos szerepe lehet az EGFR expresszióknak azonban ennek genetikai alapjai nem ismertek, csak az tudott, hogy nincsen TK-mutációs aktiválódás (9). Amerikai szerzők

31 pancreasrákban elemezték az EGFR kópiaszámot qPCR-rel és elemezték az EGFR valamint jelátviteli elemeinek, (pAKT,pERK) protein expresszióját. A betegek 42%-ban észlelték magas polisomiát (a 7 kromoszóma megsokszorozódását) valódi EGFR génamplifikáció nélkül. Ugyanakkor a tumorszövetek 77%-ban észlelték az EGFR protein expressziót és ezek felében aktív is volt a receptor (pEGFR+). A tumorok többségében a jelátviteli pálya downstream elemei az AKT és az ERK is aktívak voltak (65 és 84%) (10). Ezek az adatok az anti-EGFR terápiák esélyét igazolják pancreasrákban. Hogy az EGFR fontos szereplő, azt az is igazolja, hogy az EGFR+ daganatok egy részében (24%) fokozott HER2 expresszió is észlelhető, melynek hátterében 14%-ban valódi amplifikáció áll (11).

Progresszió

A perineurális invázió pancreasrákban fontos negatív prognosztikus tényező. Amerikai szerzők 422 tumorban elemezték ennek a jelenségnek a részleteit, és azt találták, hogy az ilyen daganatok tubulus formáló képességűek, és a jelenség a perineuriumban, illetve a perineurális térben zajlik. A statisztikai elemzés azt mutatta, hogy a tumorméret és necrosis mellett a pancreas capsulától távoli idegplexus invázió illetve a perineurális invázió kedvezőtlen prognosztikus tényező volt (12). A génamplifikációk ismerete segít olyan gének szerepét felismerni melyek a progresszióban is szerepet játszhatnak. 44 pancreasrákban elemezték array CGH módszerrel az esetleges amplifikációkat és kitüntetetten olyanokat kerestek, melyek a betegség kimenetelével álltak kapcsolatban. A 17 kromoszómán a PPM1D gén, míg a 20 kromoszómán a LUNX, HCK, E2F1 és DNMT3b gének amplifikációját igazolták prognosztikus értékűnek. Korábban csak az E2F1-re nézve voltak sporadikus adatok (13).

Egy másik vizsgálatban a KGFR és keratinocita növekedési faktor szerepét elemezték a progresszióban, és azt találták, hogy a KGF és KGFR expresszió az érinváziós képességgel, az emelkedett VEGF expresszióval kapcsolódott és nem meglepően kedvezőtlen prognózishoz vezetett (14). Az adhéziós molekulák közül az E-cadherin expresszió jelentőségét sokan elemezték, de mások is fontosnak lehetnek, mint adptereik az ezrin, moezin radixin. Ezeket vizsgálták 46 pancreasrákban immunhisztokémiával. Az Ecadherin expresszió a perineurális inváziós képességgel kapcsolódott de nem a lympho-vascularishoz. A túlélés szempontjából egyedül a moezin expresszió volt negatív prediktív hatása (15). Más daganatokban az S10A4 gén metasztázis-génként szerepel, ezt vizsgálták nagyszámú premalignant in situ és invazív pancreasrákokban immunhisztokémiával és qPCR-rel. Egyértelműen igazolódott, hogy a normál (negatív) pancreas szövethez képest progresszíven emelkedik az S100A2 expresszió és a metasztatikus, rövid túlélésű esetekben szintje szignifikánsan magasabb (16).

A proteázok közül az MMP21 és MMP26 illetve inhibitoruk a TIMP4 szerepét elemezték 50 pancreasdaganatban. Megállapították, hogy a jól differenciált tumorokra az MMP21 és TIMP4 expresszió jellemző, ugyanakkor a metasztatikus, gyorsan progrediáló tumorokban az MMP26 fejeződik ki (17).

A daganatsejtek stressz-válaszát többek között az immediate/early response gene X1 IEX1 szabályozza, ennek szerepét elemezték 78 pancreasrákban. Azt találták, hogy az IEX1+ tumorok esetében ritkább az érinvázió, gyakoribb a N0 stádium és ezért hosszabb a túlélés (18). Korábban az NFkB transzkripciós rendszer kedvezőtlen szerepét hangsúlyozták pancreasrákban. Ennek egyik szabályozó eleme a REL-p65, amit 82 pancreasrákban elemeztek immunhisztokémiával és kiegészítették 5 NFkB targetgén vizsgálatával is. Megfigyelték, hogy a REL+ daganatok esetében a 2 éves túlélés sokkal kedvezőtlenebb, mint a REL- tumoroké és ez esetben az NFkB targetgén expressziója is igazolható (ciklinD1, BCL2) (19).

A daganatos stroma kialakulásában sokféle citokin szerepel, ezek között egy potenciális szabályozó a midkine (MK) heparin-kötő citokin. Ennek szérumszintjét elemezték 75 pancreasrákos betegben ELISA módszerrel. A betegek 53,3%-ban észlelték emelkedett szintjét és ebben az esetben az érdenzitás és az érbetörés gyakoribb volt. Az MK+ pancreasrákos betegek esetében az 5 éves túlélés szignifikánsan rosszabb volt (20).

A pancreasrákban is szerepet játszhat a hypoxia és annak genetikai szabályozó rendszere. Ebből a HIF-target gének közül a GLUT1, hexokináz-II-t valamint a PCNA proliferációt jelző gént illetve

fehérje termékeket elemezték 74 pancreasrákban. A magas PCNA (magas proliferációs aktivitás) és a HK-II emelkedett szintje kedvezőtlen prognosztikus tényezőnek bizonyult (21).

Korábban már felmerült a gyulladás és a pancreasrák közötti kapcsolat ezt elemezték a C reaktív protein szintjén keresztül 119 pancreasrákos betegben. Megállapították, hogy az emelkedett CRP szint kedvezőtlen túlélést jelez (10,8 hó/4,2 hó) (22). Gemcitabine kezelés hatásosságát is érzékenyen jelezte egy másik vizsgálatban a szérum CRP szintje (23). Egyes daganatok kifejezett immunszuppresszív hatásúak, aminek egyik közvetítői a Treg sejtek, melyeket a ILT3 receptor aktiválódása generál. Pancreasrákos betegekben a szérumban kimutatható az ILT3. Ennek egyik fő forrásai a makrofágok. Pancreasrákban és nyirokcsomó áttéteiben emelkedett makrofág denzitás észlelhető, így valószínű, hogy ezek a tumorasszociált makrofágok a forrásai a Treg-indukáló ILT3-nak (24).

Farmakogenomika

Más daganatokban már előrehaladott vizsgálatok vannak a Gemcitabine rezisztencia egyik fő faktorának a ribonukleotid reduktáz RRM1 szerepére nézve. Most 18 recidív pancreasrákban elemezték az RRM1 szintet (PCR) és vizsgálták a Gemcitabine választ. Ebben a ráktípusban is azt találták, hogy a magas RRM1 szint relatív rezisztenciához vezet, és megrövidült túlélést eredményez (25). Egy másik vizsgálatban a sugárterápia+capecitabine kombináció prediktív faktorait elemezték (TP, DPD, TNF α). 50 Gy 1600 mg/kg/m² kezelés (6 hét) után a reagáló betegek capecitabint kaptak fenntartóan 2 hétig, a progresszióig. Endoscopos aspirációs cytológia készült pre és post RT+Cap 2 hétnél. A PR 20% volt, míg SD 58% a 20 beteges konorszban. A sugárhatásra a TP szintje megemelkedett jelentősen, de nem sikerült igazolni a TP/DPD arány szerepét a capecitabine érzékenységben.... (26). Mások szerint a Gemcitabine hatékonyságának meghatározó enzime a deoxicitidin kináz (DCK). Ennek szerepét elemezték 44 pancreasrákban melyeket Gemcitabinnal kezeltek. A DCK-t immunhisztokémiával mutatták ki és expresszióját a limfocitákhoz hasonlították, aminél erősebb szint emelkedett értékre utalt a tumorban. Az elemzés azt mutatta, hogy a DCK alacsony expressziója a PFS-el és a teljes túléléssel is összefüggött (27).

Az EGFR expresszióról már volt szó, de kérdéses továbbra is hogy az EGFR expresszió prognosztikus vagy prediktív tényező és hogyan kapcsolódik az EGFR TK gátló érzékenységhez (Tarceva). Ezt elemezték 30 pancreasrák esetében. A genetikai elemzést az EGFR 1-intron CA-ismétlődéseinek hosszán végezték, amit az EGFR IHC-hoz és Tarceva érzékenységhez hasonlítottak. Azt találták, hogy a 36-repeat-nél kevesebb CA az EGFR 1 intronban kedvezőtlenebb túléléssel kapcsolódik és fokozott EGFR expressziót okoz. Ugyanakkor az ilyen genetikai adottságú pancreasrák-sejtek Tarceva-érzékenysége fokozottabbnak bizonyult in vitro körülmények között... (10). Természetesen ilyen vizsgálatokat a Tarcevával kezelt betegeken is el kell végezni. Látva, hogy pancreasrákban nincsen TK mutáció, EGFR génamplifikáció nem sok minden marad, ami az EGFR gátlók iránti érzékenységet jósolhatná, csak a promoter genetikája.

Irodalom:

1. *Bilimoria KY, Bentrem DJ, Ko CY, et al:* Validation of the 6th edition AJCC Pancreatic Cancer Staging System: report from the National Cancer Database. *Cancer* 110:738-744, 2007
2. *Park JK, Yoon YB, Kim YT, et al:* Survival and prognostic factors of unresectable pancreatic cancer. *J Clin Gastroenterol* 42:86-91, 2008
3. *Feldmann G, Beaty R, Hruban RH, Maitra A.:* Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 14:224-232, 2007
4. *Izseradjene K, Combs C, Best M, et al:* Kras(G12D) and Smad4/Dpc4 haploisufficiency cooperate to induce mucinous cystic neoplasms and invasive adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Cell* 11:229-242, 2007

5. Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, et al: MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 197:1901-1908, 2007
6. Chen Y, Zheng B, Robbins DH, et al: Accurate discrimination of pancreatic ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis using multimarker expression data and samples obtained by minimally invasive fine needle aspiration. *Int J Cancer* 120:1511-1517, 2007
7. Chang MC, Chang YT, Su TC, et al: Adiponectin as a potential differential marker to distinguish pancreatic cancer and chronic pancreatitis. *Pancreas* 35:16-21, 2007
8. di Magliano MP, Biankin AV, Heiser PW, et al: Common activation of canonical Wnt signalling in pancreatic adenocarcinoma. *PLoS ONE* 11:01155, 2007
9. Tzeng CW, Frolov A, Frolova N, et al: EGFR genomic gain and aberrant pathway signalling in pancreatic cancer patients. *J Surg Res* 143:20-26, 2007
10. Tzeng CW, Frolov A, Frolova N, et al: Pancreatic cancer epidermal growth factor receptor (EGFR) intron 1 polymorphism influences postoperative patients survival and in vitro erlotinib response. *Ann Surg Oncol* 14:2150-2158, 2007
11. Dancer J, Takei H, Ro JY, Lowery-Nordberg M.: Coexpression of EGFR and HER-2 in pancreatic ductal adenocarcinoma: a comparative study using immunohistochemistry correlated with gene amplification by fluorescent in situ hybridization. *Oncol Rep* 18:151-155, 2007
12. Mitsunaga S, Hasebe T, Kinoshita T, et al: Detail histologic analysis of nerve plexus invasion in invasive ductal carcinoma of the pancreas and its prognostic impact. *Am J Surg Pathol* 31:1636-1644, 2007
13. Loukopoulos P, Shibata T, Katoh H, et al: Genome-wide array-based comparative genomic hybridization analysis of pancreatic adenocarcinoma: identification of genetic indicators that predict patient outcome. *Cancer Sci* 98:392-400, 2007
14. Cho K, Ishiwata T, Uchida E, et al: Enhanced expression of keratinocyte growth factor and its receptor correlates with venous invasion in pancreatic cancer. *Am J Pathol* 170:1964-1974, 2007
15. Torer N, Kayaselcuk F, Nursal TZ, et al: Adhesion molecules as prognostic markers in pancreatic adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 96:419-423, 2007
16. Ohuchida K, Mizumoto K, Miyasaka Y, et al: Over-expression of S100A2 in pancreatic cancer correlates with progression and poor prognosis. *J Pathol* 213:275-282, 2007
17. Bister V, Skoog T, Virolainen S, et al: Increased expression of matrix metalloproteinases-21 and -26 and TIMP-4 in pancreatic adenocarcinoma. *Mod Pathol* 20:1128-1140, 2007
18. Sasada T, Azuma K, Hirai T, et al: Prognostic significance of the immediate early response gene X-1 (IEX-1) expression in pancreatic cancer. *Ann Surg Oncol* 2007
19. Weichert W, Boehm M, Gekeler V, et al: High expression of RelA/p65 is associated with activation of nuclear factor-kB-dependent signalling in pancreatic cancer and marks a patient population with poor prognosis. *Br J Cancer* 97:523-530, 2007
20. Maeda S, Shintchi H, Kurahara H, et al: Clinical significance of midkine expression in pancreatic head carcinoma. *Br J Cancer* 97:405-411, 2007
21. Lyshchik A, Higashi T, Hara T, et al: Expression of glucose transporter-1, hexokinase-II, proliferating cell nuclear antigen and survival of patients with pancreatic cancer. *Cancer Invest* 25:154-162, 2007
22. Tingstedt B, Johansson P, Andersson B, Andersson R.: Predictive factors in pancreatic ductal adenocarcinoma: role of the inflammatory response. *Scand J Gastroenterol* 42:754-759, 2007
23. Nakachi K, Furuse J, Ishii H, et al: Prognostic factors in patients with gemcitabine-refractory pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol* 37:114-120, 2007

24. *Cortesini R.*: Pancreas cancer and the role of soluble immunoglobulin-like transcript 3 (ILT3). JOP 8:697-703, 2007
25. *Nakahira S, Nakamori S, Tsujie , et al*: Involvement of ribonucleotide reductase M1 subunit overexpression in gemcitabine resistance of human pancreatic cancer. Int J Cancer 120:1355-1363, 2007
26. *Saif MW, Black G, Roy S, et al*: Phase II study of capecitabine with concomitant radiotherapy for patients with locally advanced pancreatic cancer: up-regulation of thymidine phosphorylase. Cancer J 13:247-256, 2007
27. *Sebastiani V, Ricci F, Rubio-Viquiera B, et al*: Immunohistochemical and genetic evaluation of deoxycytidine kinase in pancreatic cancer: relationship to molecular mechanisms of gemcitabine resistance and survival. Clin Cancer Res 12:2492-2497, 2006