

AZ EPIDERMÁLIS NÖVEKEDÉSI FAKTOR RECEPTORÁT CÉLZÓ TERÁPIÁK RAS PARADOXONA VASTAG- ÉS VÉGBÉLRÁKBAN

Tímár József, Láng István

Országos Onkológiai Intézet, Budapest

A vastag- és végbélrák karcinogenezise során a korai adenómákban az esetek közel felében K-RAS-, ennél ritkábban B-RAF-mutáció alakul ki. A K-RAS-mutáns daganatok inkább férfiakban alakulnak ki, míg a B-RAF-mutáns tumorok inkább nőkre jellemzőek és e gének mutációja független a mikroszatellita-státustól. Az epidermális növekedési faktor receptorának (EGFR) változó mértékű expressziója a vastag- és végbélrákok döntő hányadában kimutatható; maga a gén nem mutált, amplifikációja igen ritka, gyakrabban a megfelelő kromoszóma poliszómiája miatt fokozott a kópiaszám. Ez képezte alapját az anti-EGFR antitest-terápiák bevezetésének a vastag- és végbélrákok kezelésébe. E terápiák indikációjának alapját sokáig az EGFR fehérje legalább minimális szintű expressziója jelentette. A két antitest-terápia kemoterápia-rezisztens kolorektális rákok monoterápiája esetén hasonló mértékű (kb. 10%) objektív tumorválaszt eredményez, mely független a daganat EGFR-státuszától. A panitumumab esetében fény derült azonban arra, hogy a kedvező klinikai hatás csak a K-RAS-mutáns daganatos csoportban mutatkozik. A cetuximab kombinációja kemoterápiával az eddigi adatok alapján szintén a vastag- és végbélrákok K-RAS-mutációs státuszától függ. Mindezek alapján megállapítható, hogy az EGFR-t célzó monoterápiák negatív predikciós markere vastag- és végbélrákban a K-RAS onkogén mutációja. Mindaddig, amíg nem rendelkezünk hatékonyabb betegszelekciós módszerrel, a vastag- és végbélrákok K-RAS-mutációs státuszának meghatározását el kell végezni az EGFR-t célzó terápiák alkalmazása előtt. Magyar Onkológia 52: 185–191, 2008

Kulcsszavak: EGFR, K-RAS onkogén, antitest-terápia, vastagbélrák

During the carcinogenesis of colorectal cancer in about half of the cases K-RAS, while much less frequently B-RAF mutation occur in early adenomas. While K-RAS mutant tumors are more likely present in male patients, B-RAF mutant tumors develop more frequently in females and are independent of the microsatellite status. Colorectal cancers are characterized by EGFR expression; the gene is not mutated, rarely amplified and increased copy number is due to chromosomal polysomy. This pheno-/genotype of colorectal cancer lent support to the introduction of anti-EGFR antibody therapies. For a while positive EGFR expression status of the tumor was the basis of patient selection for these targeted therapies in colorectal cancer. Monotherapies with the two available anti-EGFR antibodies of chemoresistant colorectal cancers resulted in appr. 10% objective response rate, which was independent of the level of EGFR expression. In case of panitumumab it was discovered that the efficacy of this targeted therapy depends on the K-RAS mutant status of the tumors. Furthermore, preliminary data suggest that cetuximab combined with chemotherapy is effective also exclusively in K-RAS wild-type tumors. Based on these data it is safe to say that K-RAS mutant status of colorectal cancer is a negative predictor for EGFR-targeted therapies of colorectal cancer. Accordingly, it is necessary to determine the K-RAS status of colorectal cancer before making therapeutic decisions. Tímár J, Láng I. The RAS paradoxon of the EGFR-targeted therapy of colorectal cancer. Hungarian Oncology 52: 185–191, 2008

Keywords: EGFR, K-RAS, antibody therapy, colorectal cancer

Közlésre érkezett:
2008. március 10.

Elfogadva:
2008. május 29.

Levelezési cím:
Dr. Tímár József
Országos Onkológiai
Intézet
1122 Budapest
Ráth György u. 7–9.
Telefon: (06-1) 224-8786
Fax: (06-1) 224-8706
E-mail: jtimar@oncol.hu

A cikk megjelenését az
Amgen Kft. támogatta.

BEVEZETÉS

A RAS onkogéneket emlős onkogén vírusokban fedezték fel, mint azok malignus transzformáló hatását okozó géneket, és 3 ismert formájuk van, a K-RAS (Kirsten-sarcomavírus-eredetű), H-RAS (Harvey-sarcomavírus-eredetű) és az N-RAS neurális forma. Bár

ez a géncsalád funkcionálisan igen hasonlóan működő fehérjéket kódol, a gének eltérő kromoszómákon találhatóak (K-RAS: 12., H-RAS: 11., N-RAS: 1.). Malignus transzformáló képességüket ún. aktiváló pontmutációk révén szerzik (10, 57).

A RAS gének által kódolt fehérjék 21 kD méretű G-proteinekhez hasonlatos fehérjék, melyek nyugalmi

1. táblázat. RAS- és B-RAF-mutáció gyakorisága emberi daganatokban (50, 58)

Malignus daganat	K-RAS	H-RAS	N-RAS	B-RAF
Hasnyálmirigyrák	60 (70-80)*	0	2	3
Vastagbélrák	32 (45-50)*	0	3	14 (10-15)*
Epeútrák	33	0	1	14
Tüdőrák (adenokarcinóma)	19 (35)*	1	1	2
Petefészekrák	17	0	4	15
Endometriumrák	15	1	0	1
Méhnyakrák	9	9	1	0
Májrák	8	0	10	3
Mieloid leukémia	5	0	14	1
Pajzsmirigyarák	4	5	7	27
Emlőrák	4	0	0	2
Húgyhólyagrák	4	11	3	0
Melanóma	2	6	18	43 (70)*
Veserák	1	0	0	0

Az adatok gyakorisági %-ot jelentenek.

*58-as ref.; a többi ref. 50.

állapotban GDP-t kötnek, ám aktiválásukkor a GEF fehérje (guanine nucleotide exchange factor) GTP-re cseréli. Az önszabályozás (kikapcsolás) a RAS fehérje GTP-áz aktivitásán keresztül valósul meg. Az onkogén RAS genetikai hibája éppen ennek a GTP-áz funkció-
nak az elvesztését jelenti, amitől a RAS konstitutívan aktív marad. A GTP-áz aktiváló fehérjék (GAP) közül a legjobban a neurofibromin-1 (NF1) ismert, és hatásukra az aktív RAS-GTP komplex a RAS GTP-ázának segítségével visszaalakul inaktív RAS-GDP-vé. Az NF1 inaktíváló mutációja felelős a neurofibromatózis kialakulásáért, mely ugyanúgy rögzíti a RAS aktív GTP-kötött státuszát, mint a RAS ún. aktiváló mutációja.

Fontos sajátossága a RAS fehérjéknek, hogy C-terminálisukon ún. poszttranszlációs módosuláson mennek keresztül, ami különböző lipidek kapcsolódását jelenti. Az egyik átalakulás a vad típusú RAS plazmamembránba történő kihorgonyozását segíti elő (preniláció: farnesil- vagy geraniltranszferázok révén). A RAS aktiválódását jelentősen fokozza membrán-lokalizációja. Egy másik módosulás, a palmitoiláció révén a RAS fehérje a Golgi-zóna membránjába horgonyzódik, és általában ez az inaktív állapota.

Az onkogén RAS pontmutáció révén keletkezik, ami leggyakrabban a 12. és 13. kodonban keletkezik, de pl. az N-RAS esetében a 61.-ben. A RAS-mutáció az egyik leggyakoribb génhiba emberi daganatokban és leginkább a hasnyálmirigyarákokat jellemzi, de a gyakori szolid tumorok többségében is, bár eltérő gyakorisággal, de előfordul (1. táblázat) (30, 50, 58).

RAS-ELLENŐRZÖTT JELPÁLYÁK

A RAS fehérje tipikus jeltovábbító/jelerősítő fehérje, mely a sejtfelszíni kinázaktivitású (és bizonyos esetekben G-protein-kapcsolt) receptorok jeleit hivatott továbbítani. Aktiválódása nem direkt kapcsolódás vagy fosz-

foriláció révén jön létre, hanem számos ún. adapter fehérje közbeiktatásával, melyek közül a legfontosabb a SOS1, mely egyike a korábban emlegetett GEF fehérjéknek. A RAS fehérje nem egyszerűen csak továbbítja a jeleket, hanem azokat mintegy diverzifikálja, azaz szortírozza is, emiatt központi szereplője a jeltovábbításnak. Az aktív RAS három típusú jelpályát aktivál, a MAP-kináz útvonalat (mitogén-aktivált proteinkináz), a túlélést/programozott sejthalált szabályozó foszfatidilinozitol-3 (PI3)-kináz/AKT útvonalat és az adhéziót/migrációt reguláló pályákat.

A mitogén jeltovábbításkor a RAF-kinázt (B-, C-) aktiválja a RAS, mely kináz-kaskádon keresztül (MAPKK, ERK1/2) transzkripció faktorokat aktivál (FOS/JUN – AP1, ETS, ALK1, SAP1). A túlélési jelek továbbításakor a RAS a PI3-kinázt

aktiválja, mely a foszfatidilinozitol-dependens kinázon (PDK) át az ún. AKT útvonalat aktiválja, melynek eredménye a fehérjeszintézis fokozódása (az mTOR aktiválása révén), a proliferáció serkentése (a p21CIP és GSK3 β gátlása révén) és az apoptotikus folyamatok gátlása (proapoptotikus BAD és FKHR gátlása, MDM2 aktiválása, p53 gátlása révén). A harmadik típusú, ún. matrixkölcsonhatást szabályozó jelpályák egyike az aktivált RAS által stimulált PI3-kináz aktivitásához kötött, mely GEF fehérjéken keresztül kis GTP-áz fehérjéket aktivál (RHO, RAC, CDC42), melyek a sejtmembrán-sejtváz kapcsolatokat szabályozzák. Az aktivált RAS képes a RAC-GTP-áz direkt aktiválására is, vagy egy másik GEF fehérje, a TIAM1 (tumorinvázió és metasztázis-1) mozgósítására. A CDC42 révén a matrixreceptorokban dús filopódiumok, míg a RHO-RAC útvonalon a sejtmozgásban meghatározó polaritást biztosító lamellipódiumok alakulnak ki. A RAS más úton is képes a sejtváz-mediált folyamatokat aktiválni, mert a foszfolipáz-C-t is aktiválja, mely többek között a Ca-függő proteinkinázokat kapcsolja be. Egy talán kisebb jelentőségű aktivitása a RAS onkoproteinnek, hogy a RAL típusú GTP-ázokat is aktiválja, melyek a foszfolipáz-D révén a citoplazmatikus membránvezikulák mozgását modulálják.

K-RAS ÉS A KOLOREKTÁLIS KARCINOGENEZIS

A vastagbél- és végbélrák (CRC) karcinogenezisének molekuláris alapjait Weinberg rakta le bemutattva, hogy a hiperplázia-adenóma-karcinóma szekvenciában mely genetikai eltérések a meghatározók. A folyamat kiindulópontja az APC tumorsuppresszor gén elvesztése, melyet metilációs aktivitásváltozás követ általában, megváltoztatva a génexpressziós mintázatot. Ezt nagy gyakorisággal követi a K-RAS vagy a B-RAF onkogé-

nek, vagy a PI3K mutációja a korai adenómákban, ezt követően alakul ki a TGFBRII-mutáció vagy annak jelátvivő transzkripciósfaktora, a SMAD4 elvesztése, melyet legvégül egy másik tumorsuppresszor gén, a p53 elvesztése tetézik be. Ennek megfelelően vastagbélrákban a K-RAS mutációjának gyakorisága 45–50%, míg a B-RAF géné 10–15% (58). Érdekes, hogy K-RAS-mutáció mellett mind mikroszatellita-stabil, mind pedig -instabil daganatok is kialakulhatnak. E K-RAS-mutáns tumorokban a CpG-sziget-metilációs képesség hiányzik vagy alacsony szinten van, és ezek a daganatok inkább férfiakban alakulnak ki. Ezzel szemben a B-RAF-mutáns daganatokra a CpG-sziget-metilátor fenotípus jellemző, általában nőkben alakulnak ki és függetlenek a mikroszatellita-instabilitástól (stabil, alacsony, magas) (40). Fontos megjegyezni, hogy a K-RAS- és B-RAF-mutáció egymást kizáró genetikai események, jelezve azt, hogy egyazon jelátviteli pályában 2 onkogén együttes sérülése egymást kizáró események (ld. később). Más daganatokban, de CRC-ben is, a K-RAS-mutáns státusz csökkent kemo- és radioszenzitivitással társul (11).

AZ EGFR ÁLTAL AKTIVÁLT JELÁTVITELI PÁLYÁK (24)

Az EGFR transzmembrán fehérje citoplazmatikus szakasza tirozinkináz-aktivitással rendelkezik, és megfelelő ligand kötése után az aktiválódó enzim számos ponton foszforilálja „saját magát” illetve vele dimerizálódó partnerét. A különböző ún. autofoszforilációs helyek más-más jelátviteli utakat aktiválnak (1. ábra), melyek közül a RAS-RAF-MAPK, a PI3K-AKT-mTOR-S6K és a PLC-PKC tűnik meghatározónak, de áttételeken keresztül a JAK-STAT citokin- és a FAK-CAS matrixadhéziós vagy az E-cadherin sejtheadhéziós útvonalak is aktiválódhatnak. Egyszerűen azt mondhatjuk, hogy az EGFR fiziológiás aktiválódása a mitogén, motogén és túlélési folyamatok szabályozásáért felelős jelátviteli pályákat képes aktiválni, azonban ezek tényleges bekövetkezése az adott sejtípustól és ligand-környezetétől döntően függ. Fontos látni, hogy az EGFR által aktivált jelpályában a RAS-mediált útvonalak kulcsszerepet ját-

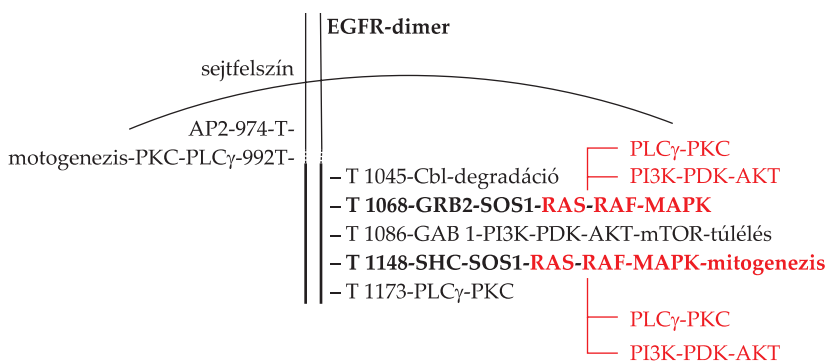
szanak, illetőleg azt, hogy a konstitutívan aktivált onkogén RAS szinte önmagában képes mintegy reprodukálni azon jelpályákat, melyeket az EGFR szabályoz. Az EGFR működését tovább módosítja a géncsalád többi tagjának jelenléte, illetve az azokkal történő kapcsolódás és aktivitásuk (mint amilyen a ligand nélküli HER2, a kinázhányos HER3 és a teljes aktivitású HER4).

AZ EGFR ÉS A KOLOREKTÁLIS RÁK

mRNS- és fehérjeszintű vizsgálatok alapján ismert az, hogy a CRC-k döntő hányadában (70–85%) kimutatható az EGFR-expresszió, bár ennek mértéke igen eltérő (a daganatsejtek 1–100%-át érinti) és igen változó intenzitású lehet (53). A fehérjeszintű EGFR-expresszióknak nincsen prognosztikai jelentősége (36). Az EGFR gén amplifikációjáról igen ellentmondó adatokat lehet találni (0,6–30%). A fokozott génkópiaszám hátterében leggyakrabban a 7. kromoszóma poliszómiája áll (1, 37, 49). Ami ennél még érdekesebb, hogy EGFR-LOH (egy génkópia elvesztése, loss of heterozygosity) is előfordulhat (8%), ami nem jár az EGFR fehérjeszintű elvesztésével (49). Az EGFR gén mutáció-analízisét több munkacsoport is vizsgálta CRC-ben. A tirozinkináz domén aktiváló mutációja japán betegekben 12% (38), míg máshol igen ritka, és olyan exont érint, mely tüdőrákban nem játszik szerepet (exon 18) (41). Az extracelluláris doménben is felléphetnek aktiváló mutációk, melyek közül a del2–7, vIII a leggyakoribb (glioblasztómában), de CRC-ben ez a hiba nem észlelhető (5). Ugyanakkor az extracelluláris domén ligandkötő részében nagy gyakorisággal (50%) mutatható ki R497K polimorfizmus, ami csökkent ingerlékenységű receptort eredményez (43).

A TÜDŐ-ADENOKARCINÓMA EGFR-K-RAS PARADOXONA

A korábbi évek egyik fontos genetikai megfigyelése volt az, hogy a tüdő adenokarcinómájában, elsősorban a nemdohányzó nőbetegek esetében jelentős gyakorisággal észlelhető EGFR-tirozinkináz-mutáció (hazánkban ez 20%) (51). A génhiba jelentősége az, hogy ebben az esetben a daganatok EGFR-kinázgátló szerek iránti érzékenysége jelentősen megnő. A nemkissejtes tüdőrákok másik genetikai jellegzetessége a K-RAS-mutáció, ami elsősorban az adenokarcinóma csoport sajátossága (35–40%) (51). Ebben a daganatféleségben mutatták ki először azt, hogy a K-RAS gén mutációja esetében nem észlelhető EGFR-gén-mutáció, illetve hogy EGFR-mutáns adenokarcinómákban nem mutatható ki K-RAS-mutáció, jelezve azt, hogy valószínűleg létezik egy genetikai



1. ábra. Az epidermális növekedési faktor autofoszforilációs helyei és az ezekhez csatolt jelátviteli pályák. Az EGFR tirozinkináz aktivitással rendelkezik és képes a receptor citoplazmatikus részén lévő számos tirozin (T) autofoszforilációjára

szabály, mely szerint egy adott jelátviteli pályában csak egy onkogén lehet mutáns (ebben az esetben vagy az EGFR, vagy a K-RAS) (9). A nem-kissejtes tüdőrákok EGFR-gátló szerekkel végzett klinikai vizsgálatai során az is kiderült, hogy a K-RAS-mutáns tumorok gyakorlatilag rezisztensek az ilyen típusú célzott terápiákkal szemben (35). A K-RAS-mutációs státusz nem-kissejtes tüdőrákban negatív prognosztikus és prediktív tényező, mely nemcsak a célzott, de a klasszikus kemo- és sugárterápiás modalitásokra is érvényes.

A TÁVOLI ÁTTÉTES VASTAGBÉL/ VÉGBÉLRÁK (MCRC) ANTI-EGFR ANTITEST-TERÁPIÁJA

A vastagbél/végbélrák a harmadik leggyakrabban előforduló rosszindulatú daganat a világon. Évente egymillió új beteget észlelnek, és félmillió halálesetet okoz (42, 59). Magyarországon is a második helyen áll a daganatos halálozási okok között. Kezelésében az új évezredben a korábbiaktól alapvetően eltérő hatásmechanizmusú, biológiailag célzott gyógyszereket vezettek be. Erre azért volt szükség, mert a hagyományos (fluoropirimidin-alapú) és az újabb (irinotecan, oxaliplatin) kemoterápiás szerek alkalmazása ellenére a legtöbb beteg daganata rezisztenssé válik, kiújul, és bár a medián túlélés meghaladja a 18 hónapot (3, 15, 16, 19, 44, 45, 48, 52), végül halálhoz vezet. A vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) elleni monoklonális antitest bevacizumab (Avastin) fluoropirimidinnel, irinotecannal vagy oxaliplatinnal kombinálva tovább növeli a túlélést (23, 27, 28), mégis a betegek döntő többségében recidíva alakul ki. Ezért időszerű további, más hatásmechanizmusú gyógyszerek kifejlesztése.

Amint azt az eddigiekben bemutattuk, az epidermális növekedési faktor receptorának (EGFR) jelátviteli útvonala kulcsszerepet játszik számos daganat, így a CRC patogenezisében is (36, 56). Az EGFR ellen kifejlesztett monoklonális antitestek közül eddig kettőt, a cetuximabot (Erbix) és a panitumumabot (Vectibix) törzskönyvezték MCRC kezelésére (20, 55).

A cetuximab IgG1 egér-emberi kiméra antitest, és eddig irinotecan-rezisztens MCRC kezelésére törzskönyvezték irinotecannal kombinálva vagy monoterápiaként (20). A közeljövőben várható törzskönyvezése K-RAS-mutáció nélküli tumorú MCRC-s betegek elsőként választott kezelésére is kemoterápiával kombinálva.

A panitumumab (Vectibix) teljesen humán IgG2 monoklonális antitest. Az EGFR-hez kötődve megakadályozza a receptordimerizációt, az EGFR-tirozin autofoszforilációt és a sejt belseje felé irányuló jelátvitelt, így gátolja a sejtproliferációt, valamint a daganat növekedését, és apoptózist indukál (21, 60, 61). Olyan MCRC-s betegek kezelésére törzskönyvezték, akik daganata fluoropirimidin, irinotecan és oxaliplatin kemoterápia alatt vagy azt követően progrediált (7, 8). Előnye, hogy gyakorlatilag nem immunogén (34, 60, 61), alkalmazása

során nincs szükség sem telítő dózisra, sem premedikációra. Miután tolerálhatóságát és hatásosságát több I. és II. fázisú klinikai vizsgálatban bizonyították (7, 8, 46), III. fázisú randomizált klinikai vizsgálatban tanulmányozták hatását MCRC-ben monoterápiaként alkalmazva (54). Négyszázhatvanhárom, immunhisztokémiával legalább 1% EGFR-megjelenést mutató tumorú MCRC-s olyan beteget soroltak be véletlenszerűen a panitumumab plusz legjobb tüneti kezelés (BSC) vagy csak BSC csoportba, akiknek a betegsége a legutóbbi fluoropirimidin, irinotecan és oxaliplatin kemoterápia alatt vagy azt követően 6 hónapon belül progrediált. A panitumumab csoportban a betegek a BSC-n túlmenően kéthetente 6 mg/kg adagban kapták az antitestet 60 perces infúzióban a betegség progressziójáig vagy tűrhetetlen fokú toxicitásig. A kontroll csoport csak BSC-ben részesült. A követési idő mediánja 35 hét volt. A kontroll csoport betegek progresszió esetén választhatták a panitumumab kezelést, és 76%-uk élt is ezzel a lehetőséggel. A vizsgálat elsődleges végpontja a progressziómentes túlélés (PFS) volt.

A panitumumab szignifikánsan meghosszabbította a betegek PFS-ét: kockázati arány (HR) 0,54, $p < 0,001$, ami a kiújulás relatív kockázatának a 46%-os csökkenését jelentette. A medián PFS a kezelt csoportban 8 hét, a kontroll csoportban 7,3 hét, az átlagos PFS $13,8 \pm 0,8$, illetve $8,5 \pm 0,5$ hét volt. Legalább 1 éves követési időkor az objektív tumorválasz a kezelt csoportban 10%, a kontroll csoportban 0% volt. A teljes túlélésben nem találtak értékelhető különbséget. Ennek az lehet a magyarázata, hogy a kontroll csoportban progrediált betegek 76%-a élt a panitumumab kezelés felkínált lehetőségével. A fontosabb eredményeket a 2. táblázat mutatja. A panitumumab előnye nemtől, életkortól, általános állapottól, az előzetes kemoterápiák típusának számától és az immunhisztokémiával kimutatott EGFR-megjelenés mértékétől függetlenül kimutatható volt vastagbél- és végbélrákban egyaránt.

2. táblázat. Panitumumab monoterápia hatása előzetesen irinotecannal és oxaliplatinnal kezelt MCRC-ben

	Panitumumab n=232	BSC n=231
PFS 24 hét kezeléssel (%)	18	5
PFS 32 hét kezeléssel (%)	10	4
Objektív tumorválasz (%)	8	0
Betegségstabilizáció (%)	28	10
Klinikai hasznosság (%)	36	10

BSC: legjobb tüneti kezelés, PFS: progressziómentes túlélés

A bőrtotoxicitás súlyossága előrejelezte a kezelés hatásosságát mind a progressziómentes-, mind a teljes túlélés vonatkozásában. A kontroll csoportban (tüneti kezelés) progrediált betegek közül 176 élt a panitumumab kezelés felkínált lehetőségével, és közülük 30 betegnél észleltek objektív tumorválaszt. Mellékhatás-

3. táblázat. EGFR elleni monoklonális antitestekkel végzett monoterápia összehasonlítása előzetes kemoterápiában részesült MCRC-s betegekben

Az antitest típusa	Panitumumab (26)	Cetuximab (47)
	IgG2; 100% humán	IgG1; 34% egér
EGFR iránti affinitás (mmol/l)	0,05	0,39
Premedikáció	nem szükséges	szükséges
OR (%)	10	11
TTP (hónap)	2,5	1,5
OS (hónap)	9,4	6,9
Acneiform dermatitis (%)	70–100	89
≥grade 5 (%)	3,4	5,2
HAHA/HACA (%)	0	3
Allergiás reakciók (%)	<1	3

OR: objektív tumorválasz, TTP: progresszióig eltelt idő, OS: teljes túlélés, HAHA: humán anti-humán antitest, HACA: humán anti-kiméra antitest, EGFR: epidermális növekedési faktor receptor

ként acneiform dermatitis a betegek 62%-ában alakult ki, hasmenést mintegy 50%-ban, asthaeniát és hypomagnesiaemiát a betegek egyharmadánál észleltek. A mellékhatásprofil hasonló volt annál a 176 betegnél is, akik a tüneti kezelési csoportból progresszió után részesültek panitumumab kezelésben. Közülük egy betegnél teljes remissziót észleltek. A részleges tumorválasz aránya 11%, a betegségstabilizációé pedig 33% volt, így a betegségkontroll (klinikai hasznosság) 44%-nak adódott. A medián progressziómentes túlélés 9,4 hét, a teljes túlélés 6,3 hónap volt. A panitumumab monoterápia tehát irinotecannal és oxaliplatinnal előzetesen kezelt MCRC-s betegekben hasonló objektív tumorválaszt eredményezett (11%), mint más vizsgálatokban a cetuximab monoterápia (8,5–11,6%) (14, 32).

A két törzskönyvezett anti-EGFR monoklonális antitesttel végzett monoterápia fontosabb adatainak az összehasonlítását a 3. táblázat mutatja be. Az előzőekben ismertetett, irinotecan és oxaliplatin kemoterápia alatt vagy után progrediált MCRC-s betegeken végzett III. fázisú panitumumab monoterápiás vizsgálat (54) anyagán a kutatók a K-RAS onkogén mutációs státuszának a prediktív szerepét is tanulmányozták (2). Ennek a klinikai gyakorlatban, különösen a betegszelekcióban fontos kérdésfelvetésnek a tudományos háttérét közleményünk első részében részletesen bemutattuk. Onkogén mutációval rendelkező K-RAS a CRC-k 30–50%-ában fordul elő (4, 18), rossz prognózisú betegséget jelez (4), és az EGFR-gátlás terápiás hatásának az elmaradására utal (6, 18, 29). Ezek az adatok nem randomizált vizsgálatokból származnak, melyekben az antitestkezelést részben egymagában, részben kemoterápiával kombináltan alkalmazták. Az említett III. fázisú klinikai vizsgálatban (54) szereplő 463 beteg 92%-ában (427 beteg) igyekeztek a K-RAS mutációs státuszát meghatározni. Közülük 231 a panitumumab, 232 a BSC karon volt. Harminchat esetben nem volt megfelelő tumorminta, így végül az antitest-terápiás karon 84 K-RAS-mutáns és 124 mutációmentes (vad típusú) tumort, míg a tüneti terápiás karon 100 mutáns és 119 vad típusú tumort

azonosítottak. A tüneti terápiás csoportban a 100 mutáns közül 77, a 119 mutáció nélküli közül pedig 90 részesült a progressziót követően panitumumab terápiában. Az elsődleges végpont vonatkozásában a panitumumab előnyös hatása csak a mutációmentes (vad típusú) csoportban volt bizonyítható (PFS HR 0,45, $p < 0,001$), míg a mutáns csoportban egyáltalán nem jelentkezett (HR 0,99). A medián progressziómentes túlélés a vad típusú tumorról rendelkező betegek körében panitumumab kezeléssel 12,3 hét, csak tüneti kezeléssel pedig 7,3 hét volt. Ez a különbség a mutáns tumorú betegek körében egyáltalán nem volt kimutatható (panitumumab 7,4, csak tüneti kezelés 7,3 hét medián PFS). A vad típusú tumoros betegek körében a panitumumabra adott tumorválasz 17%-os volt,

míg a mutáns daganattal rendelkezők között 0%. A két terápiás csoportot (panitumumab és csak tüneti kezelés) együtt elemezve a vad típusú tumorról rendelkező betegek teljes túlélése jelentősen hosszabb volt, mint a mutáns tumoros betegeké (HR 0,67). A hosszabb panitumumab kezelésnek megfelelően a vad típusú K-RAS tumoros betegek körében több volt a III. fokozatú toxicitás, azonban a teljes populáció és a vad típusú K-RAS csoport között nem volt számottevő különbség a toxicitás tekintetében. A panitumumab előnye a K-RAS vad típusú csoportban nemtől, életkortól, általános állapottól, az előzetes kemoterápiák típusának a számától és az EGFR sejtfelszíni megjelenésének mértékétől függetlenül megmutatkozott mind a colon-, mind a rectumcarcinomas betegeknél.

Mindezek alapján a hiperaktív K-RAS-mutáció a CRC-s betegek EGFR-t célzó antitest-terápiája vonatkozásában a tumorválasz megbízható negatív prediktív faktorának tekinthető. Ez egyaránt igaz a panitumumabra (amint ezt az eddigiekben részletesen bemutattuk), és a cetuximabra is (4, 17, 18, 33). A cetuximab irinotecan-alapú kombinált kemoterápiához adva MCRC-s betegek elsőként választott kezelése során a tumorválaszt csak a K-RAS vad típusú tumoros betegekben javítja (E. Van Cutsem és mtsai, New Engl J Med, közlésre benyújtva 2008 júniusában). Az összes eddig ismert klinikai adat amellel szól, hogy EGFR-gátló monoterápiát K-RAS-mutáns daganattal rendelkező CRC-s betegnek nem célszerű adni. Az anti-EGFR monoklonális antitestek és más kemoterápiás vagy célzott terápiás szerek kombinációja tekintetében további vizsgálatok szükségesek.

AZ ANTI-EGFR TERÁPIÁK PREDIKTÍV PATOLÓGIÁJA

A CRC célzott terápiájának egyik hatékony eszköze az anti-EGFR antitest-terápia, azonban a prediktív tényezők ezek esetében még nem ismertek. Egyik anti-EGFR

antitest-terápia esetében sem észlelhető összefüggés a daganat immunhisztokémiával kimutatható EGFR-expressziója és a kezelésre adott válasz között, bár a gyógyszer alkalmazásának feltétele a minimális expresszió (legalább 1+ intenzitású membránreakció a tumorsejtek legalább 1%-án). Ezt indokolhatja az, ha feltételezzük, hogy az anti-EGFR antitest-terápiák direkt antitumorális immunmechanizmust aktiválnak, mely az EGFR-t legalább minimális szinten expresszáló daganatsejtek ellen alakul ki (22). Az EGFR elleni cetuximab antitest esetében több vizsgálat is igazolta, hogy EGFR-negatív daganatok esetében is észlelhető objektív klinikai válasz (13). Ezt magyarázhatja az, hogy a daganatban lévő erek is expresszálhatják az EGFR-t, és ilyen esetben gyakorlatilag antivaszkuláris hatásról lehet szó (31). A cetuximab esetében egy vizsgálat utalt arra, hogy az EGFR gén kópiaszámának megemelkedett volta pozitívan korrelált a terápiás válasszal, de ezeket az eredményeket még vitatják (37). A frissen törzskönyvezett panitumumab esetében is hasonló eredményre jutottak, az alacsony EGFR-kópiaszám (<2,47/sejtmag vagy <40% sejtből a 7. kromoszóma poliszómiája) kedvezőtlenebb progressziómentes- és teljes túléléshez vezetett.

K-RAS GÉNHIKÁK KIMUTATÁSA

A CRC molekuláris patológiai vizsgálatát különböző minta-típusokból lehet elvégezni, ami a vizsgálat sikerét jelentősen befolyásolja. A legjobb eredmény friss fagyasztott tumormintából érhető el, ami ritkán áll rendelkezésre, így a tumorok formalinfixált és paraffinos blokkjaiból kell a vizsgálatot elvégezni. Megjegyzendő, hogy amennyiben előrehaladott daganatok áttéteinek mintái állnak rendelkezésre, akkor célszerű a vizsgálatot ebből végezni, és nem az amúgy is reszekált primer tumorból, melynek K-RAS-státusza esetleg eltérhet az áttététől. Előjáróban megjegyzendő, hogy a tumorszövetben a normális szöveti elemek magas aránya, valamint a nyákos szövettani típus is jelentősen befolyásolja az esetleges mutáció kimutathatóságának esélyét. E problémák kiküszöbölésére egyre gyakrabban alkalmazzák a lézer-mikrodisszekció módszerét, mellyel 90%-os tumorsejt-tisztaságot lehet elérni.

A K-RAS esetében a mutáció tényét gyakorlatilag eleget kimutatnunk a leggyakoribb helyeken, amely a 2. exon 12/13-as kodonja, melyhez ún. kodonspecifikus módszerként régóta használják a PCR-rel kombinált restriktációs fragmenshossz-polimorfizmus vizsgálatát (RFLP) (39). Igen elterjedt a direkt szekvenálás, mely azonban lézer-mikrodisszekció nélkül a 30%-nál kevesebb tumorsejtet tartalmazó mintákban problematikus lehet (6). Újabban az olvadáspont-analízisre alapozott valósídejű PCR-technika is bevezetésre került, melynek érzékenysége 1/10 mutáns arány (12). Az anti-EGFR antitest panitumumab klinikai vizsgálatok egy allél-specifikus PCR-módszert alkalmaztak, melynek érzékenysége 1/100 mutáns arány (2).

IRODALOM

1. Al-Kuraya K, Novotny H, Bavi P, et al. HER2, TOP2A, CCND1 and C-MYC oncogene amplification in colorectal cancer. *J Clin Pathol* 60:768–772, 2007
2. Amado RG, Wolf M, Peeters M, et al. Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 26:1626–1634, 2008
3. Andre T, Louvet C, Maindrault-Goebel F, et al. CPT-11 (irinotecan) addition to bimonthly, high-dose leucovorin and bolus and continuous-infusion 5-fluorouracil (FOLFIRI) for pretreated metastatic colorectal cancer. GERCOR. *Eur J Cancer* 35:1343–1347, 1999
4. Andreyev HJ, Norman AR, Cunningham D, et al. Kirsten ras mutations in patients with colorectal cancer: The 'RASCAL II' study. *Br J Cancer* 85:692–696, 2001
5. Azuma M, Danenberg KD, Iqbal S, et al. Epidermal growth factor receptor and epidermal growth factor receptor variant III gene expression in metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 6:214–218, 2006
6. Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, et al. Oncogenic activation of the RAS/RAF signalling pathway impairs the response of metastatic colorectal cancers to anti-epidermal growth factor receptor antibody therapies. *Cancer Res* 67:2643–2648, 2007
7. Berlin J, Malik I, Picus J. Panitumumab therapy with irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin (IFL) in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC). *Ann Oncol* 15(Suppl 3): abstr 265PD, 2004
8. Berlin J, Neubauer M, Swanson P, et al. Panitumumab antitumor activity in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) expressing >10% epidermal growth factor receptor (EGFR). *J Clin Oncol* 24(18S): abstr 3548, 2006
9. Bonomi PD, Buckingham L, Coon J. Selecting patients for treatment with epidermal growth factor tyrosine kinase inhibitors. *Clin Cancer Res* 13(Suppl 15):4606s–4612s, 2007
10. Bos JL. Ras oncogenes in human cancer: A review. *Cancer Res* 49:4682–4689, 1989
11. Cengel KA, Voong KR, Chandrasekaran S, et al. Oncogenic K-Ras signals through epidermal growth factor receptor and wild-type H-Ras to promote radiation survival in pancreatic and colorectal carcinoma cells. *Neoplasia* 9:341–348, 2007
12. Chen CY, Shiesh SC, Wu SJ. Rapid detection of K-ras mutations in bile by peptide nucleic acid-mediated PCR clamping and melting curve analysis: comparison with restriction fragment length polymorphism analysis. *Clin Chemistry* 50:481–489, 2004
13. Chung KY, Shia J, Kemeny NE, et al. Cetuximab shows activity in colorectal cancer patients with tumors that do not express the epidermal growth factor receptor by immunohistochemistry. *J Clin Oncol* 23:1803–1810, 2005
14. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 351:337–345, 2004
15. Cunningham D, Pyrhonen S, James RD, et al. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 352:1413–1418, 1998
16. De Gramont A, Figuer A, Seymour M, et al. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol* 18:2938–2947, 2000
17. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J, et al. KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 19:508–515, 2008
18. Di Fiore F, Blanchard F, Charbonnier F, et al. Clinical relevance of KRAS mutation detection in metastatic colorectal cancer treated by cetuximab plus chemotherapy. *Br J Cancer* 36:1166–1169, 2007
19. Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial. *Lancet* 355:1041–1047, 2000

20. Erbitux® Prescribing Information. Branchburg, NJ. ImClone Systems Inc, 2005
21. Foon KA, Yang XD, Weiner LM, et al. Preclinical and clinical evaluations of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor antibody. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 58:984–990, 2004
22. Gianni L. The “other” signaling of trastuzumab: antibodies are immunocompetent drugs. *J Clin Oncol* 26:1778–1780, 2008
23. Giantonio JB, Catalano PJ, Meropol NJ, et al. High-dose bevacizumab improves survival when combined with FOLFOX4 in previously treated advanced colorectal cancer: Results from the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) study E3200. *J Clin Oncol* 23(15): abstr 2, 2005
24. Harari PM, Allen GW, Bonner JA. Biology of interactions: anti-epidermal growth factor receptor agents. *J Clin Oncol* 25:4057–4065, 2007
25. Hecht JR, Mitchell E, Baranda J, et al. Panitumumab antitumor activity in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (MCRC) expressing low (1–9%) or negative (<1%) levels of epidermal growth factor receptor (EGFR). *J Clin Oncol* 24(18S): abstr 3547, 2006
26. Hecht JR, Patnaik A, Malik I, et al. ABX-EGF monotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: an updated analysis. *J Clin Oncol* 22(14S): abstr 3511, 2004
27. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 350:2335–2342, 2004
28. Kabbinnavar FF, Schulz J, McCleod M, et al. Addition of bevacizumab to bolus fluorouracil and leucovorin in first-line metastatic colorectal cancer: Results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 23:3697–3705, 2005
29. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ, et al. Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 25:3230–3237, 2007
30. Kopper L, Timár J. (szerk.) Molekuláris onkológia. Semmelweis Kiadó, Budapest, 2007
31. Kuwai T, Nakamura T, Sasaki T, et al. Phosphorylated epidermal growth factor receptor on tumor-associated endothelial cells is a primary target for therapy with tyrosine kinase inhibitors. *Neoplasia* 10:489–500, 2008
32. Lenz HJ, Van Cutsem E, Khambata-Ford S, et al. Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J Clin Oncol* 24:4914–4921, 2006
33. Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, et al. KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 66:3992–3995, 2006
34. Lynch DH, Yang XD. Therapeutic potential of ABX-EGF: a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for cancer treatment. *Semin Oncol* 29(Suppl 4):47–50, 2002
35. Massarelli E, Varella-Garcia M, Tang X, et al. KRAS mutation is an important predictor of resistance to therapy with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 13:2890–2896, 2007
36. McKay JA, Murray LJ, Curran S, et al. Evaluation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) in colorectal tumours and lymph node metastases. *Eur J Cancer* 38:2258–2264, 2002
37. Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, et al. Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to anti-EGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol* 6:279–286, 2005
38. Nagahara H, Mimori K, Ohta M, et al. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor in colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res* 11:1368–1371, 2005
39. Nagasaka T, Sasamoto H, Notohara K, et al. Colorectal cancer with mutation in BRAF, KRAS, and wild-type with respect to both onco-genes showing different patterns of DNA methylation. *J Clin Oncol* 22:4584–4594, 2004
40. Ogino S, Goel A. Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *J Mol Diagn* 10:13–27, 2008
41. Ogino S, Meyerhardt JA, Cantor M, et al. Molecular alterations in tumors and response to combination chemotherapy with gefitinib for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 11:6650–6656, 2005
42. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 55:74–108, 2005
43. Press OA, Zhang W, Gordon MA, et al. Gender-related survival differences associated with EGFR polymorphisms in metastatic colon cancer. *Cancer Res* 68:3037–3042, 2008
44. Rothenberg ML, Cox JV, DeVore RF, et al. A multicenter, phase II trial of weekly irinotecan (CPT-11) in patients with previously treated colorectal carcinoma. *Cancer* 85:786–795, 1999
45. Rougier P, Van Cutsem E, Bajetta E, et al. Randomised trial of irinotecan versus fluorouracil by continuous infusion after fluorouracil failure in patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 352:1407–1412, 1998
46. Rowinsky E, Schwartz GH, Gollob JA, et al. Safety, pharmacokinetics and activity of ABX-EGF, a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody in patients with metastatic renal cell cancer. *J Clin Oncol* 22:3003–3015, 2004
47. Saltz L, Meropol N, Loehrer PJ, et al. Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that express the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 22:1201–1208, 2004
48. Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan Study Group. *N Engl J Med* 343:905–914, 2000
49. Sauer T, Guren MG, Noren T, Dueland S. Demonstration of EGFR gene copy loss in colorectal carcinomas by fluorescence in situ hybridization (FISH): a surrogate marker for sensitivity to specific anti-EGFR therapy? *Histopathology* 47:560–564, 2005
50. Schubert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer* 7:295–308, 2007
51. Timár J, Ostoros Gy. Az epidermalis növekedési factor receptorának molekuláris diagnosztikája nem kissejtes tüdőrákban. *LAM* 17:681–687, 2007
52. Tournigand C, Andre T, Achille E, et al. FOLFIRI followed by FOLFOX6 or the reverse sequence in advanced colorectal cancer: A randomized GERCOR study. *J Clin Oncol* 22:229–237, 2004
53. van Cutsem E, Labianca R, Cignetti F, Tabernero J. Targeted therapies for patients with advanced colorectal cancer: focus on cetuximab. *Targeted Oncol* 0:2–12, 2005
54. Van Cutsem E, Peeters M, Siena S, et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 25:1658–1664, 2007
55. Vectibix®. Prescribing Information. Thousand Oaks, CA, Amgen Inc, 2006
56. Wan CW, McKnight MK, Brattain DE, et al. Different epidermal growth factor growth responses and receptor levels in human colon carcinoma cell lines. *Cancer Lett* 43:139–143, 1988
57. Weinberg RA. (Ed.) *The Biology of Cancer*. Garland Science Taylor and Francis Group, New York, 2007 pp. 164–165
58. Weinberg RA. (Ed.) *The Biology of Cancer*. Garland Science Taylor and Francis Group, New York, 2007 pp. 408
59. World Health Organization. Facts about Cancer. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2007, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/index.html>
60. Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, et al. Eradication of established tumors by a fully human monoclonal antibody to the epidermal growth factor receptor without concomitant chemotherapy. *Cancer Res* 59:1236–1243, 1999
61. Yang XD, Jia XC, Corvalan JR, et al. Development of ABX-EGF, a fully human anti-EGF receptor monoclonal antibody, for cancer chemotherapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 38:17–23, 2001