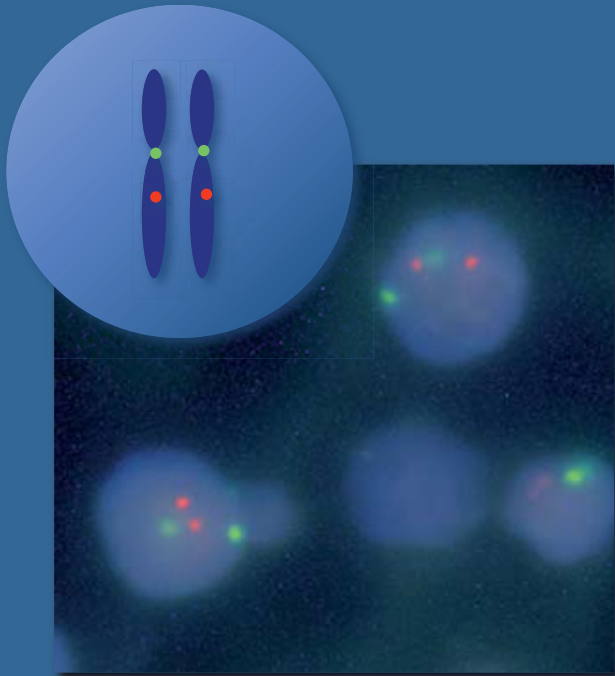


Die Östrogenrezeptorgen- (ESR1) Amplifikation beim Mammakarzinom:

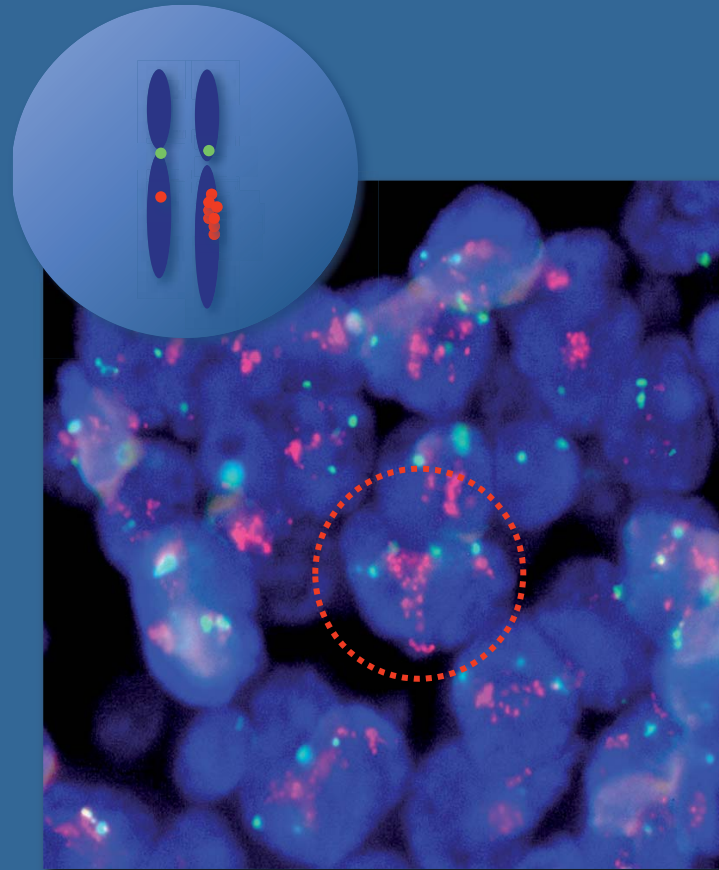
Ein neuer prädiktiver Marker ?

Frederik Holst
Institut für Pathologie
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Genamplifikation



normale Kopiezahl



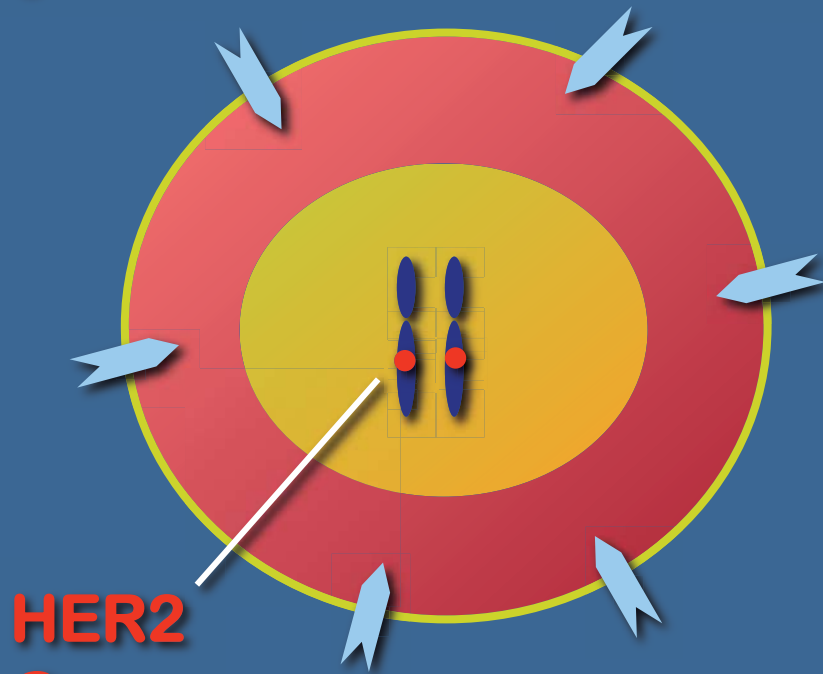
Amplifikation



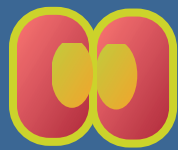
Amplikons enthalten sehr wahrscheinlich Gene, die sehr wichtig für das Krebswachstum sind.

HER2 & Herceptin

gesunde Zelle

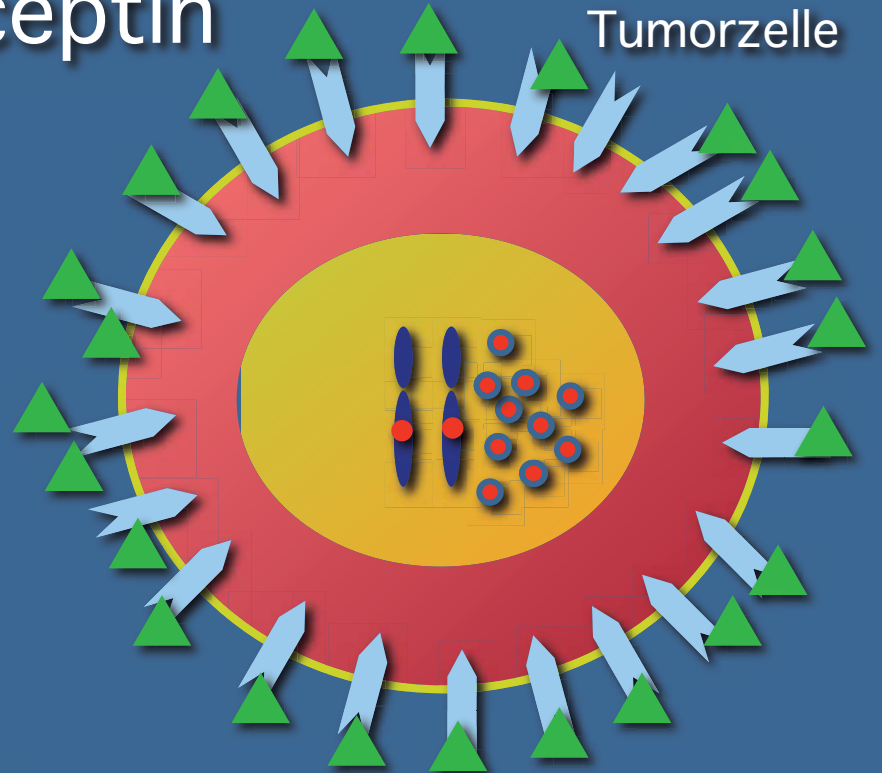


HER2
Gen

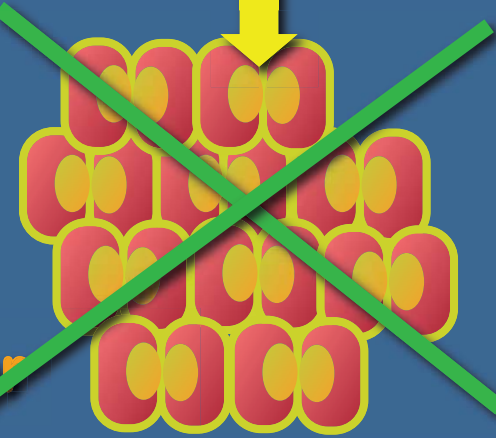


Zellteilung

Tumorzelle



Herceptin®



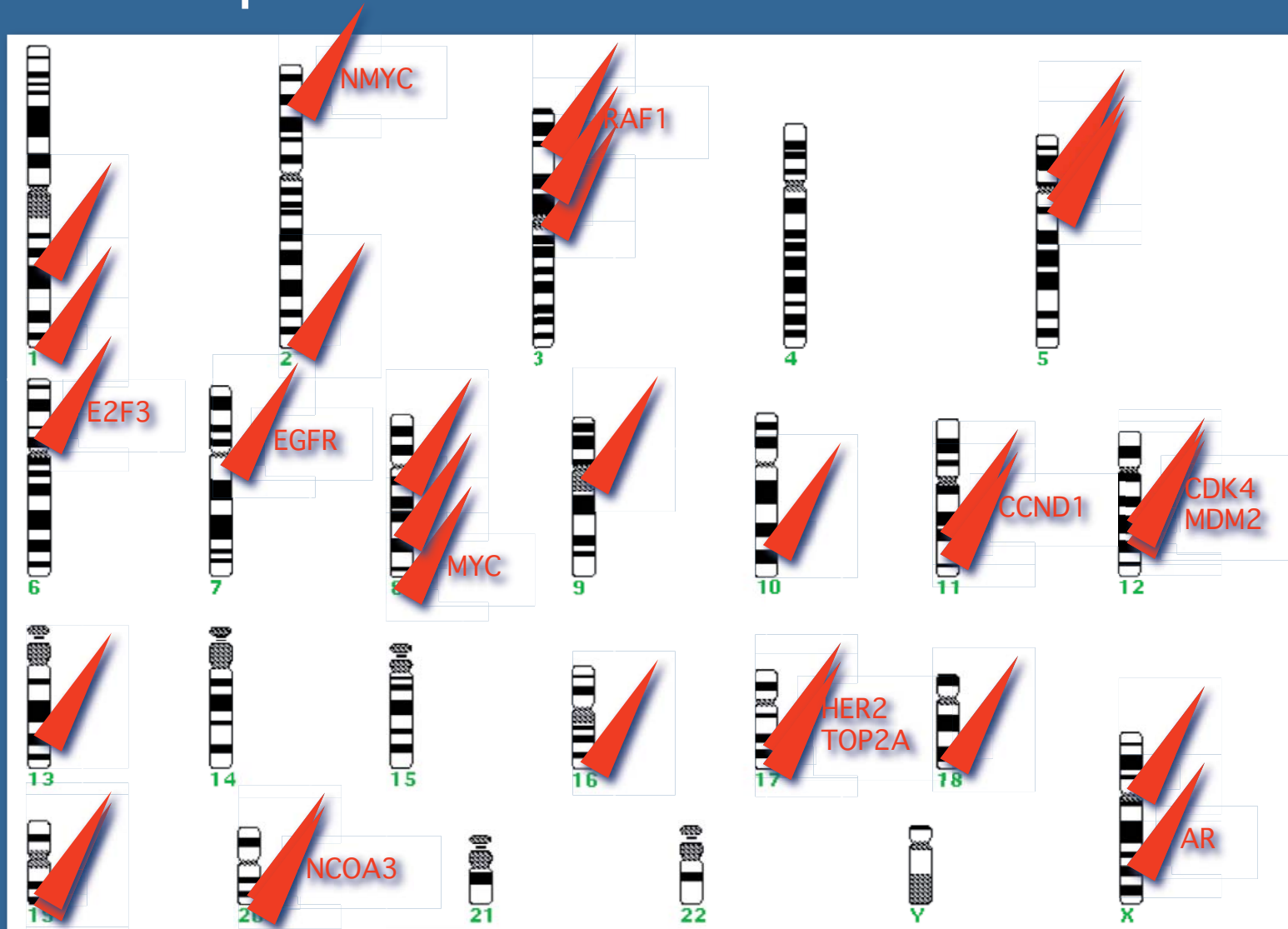
Tumor

Eigenschaften amplifizierter Gene

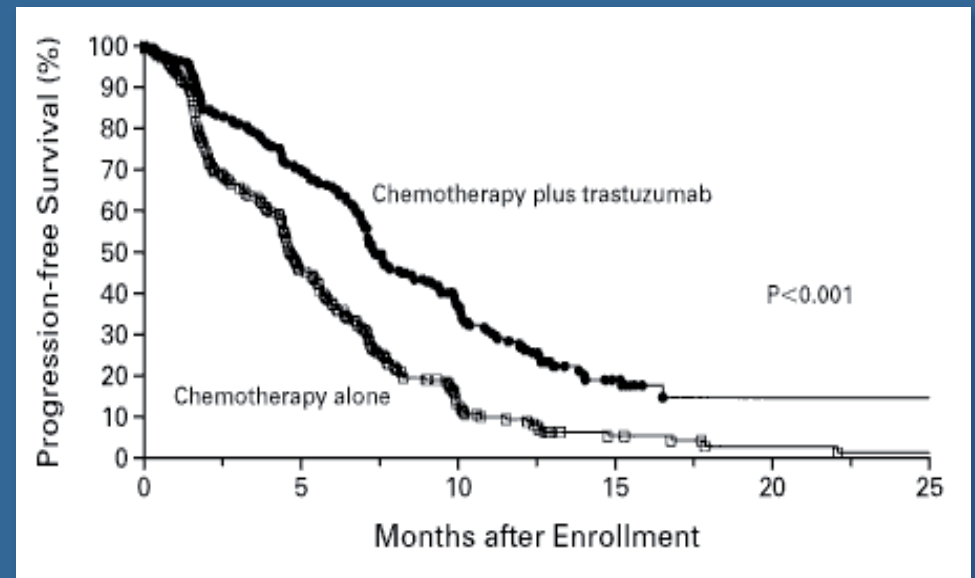
- Wichtig für die Tumorentwicklung (Achillesferse)
- in Tumoren stark überexprimiert (therapeutisches Fenster)
- in Normalgewebe schwach exprimiert (wenig Nebenwirkungen)

Amplifizierte Gene können optimale Therapieziele sein

Bekannte Amplifikationsloci: >40



Antikörper gegen HER2 verlängert Überleben beim metastasierten Mammakarzinom (N Engl J Med, März 2001)



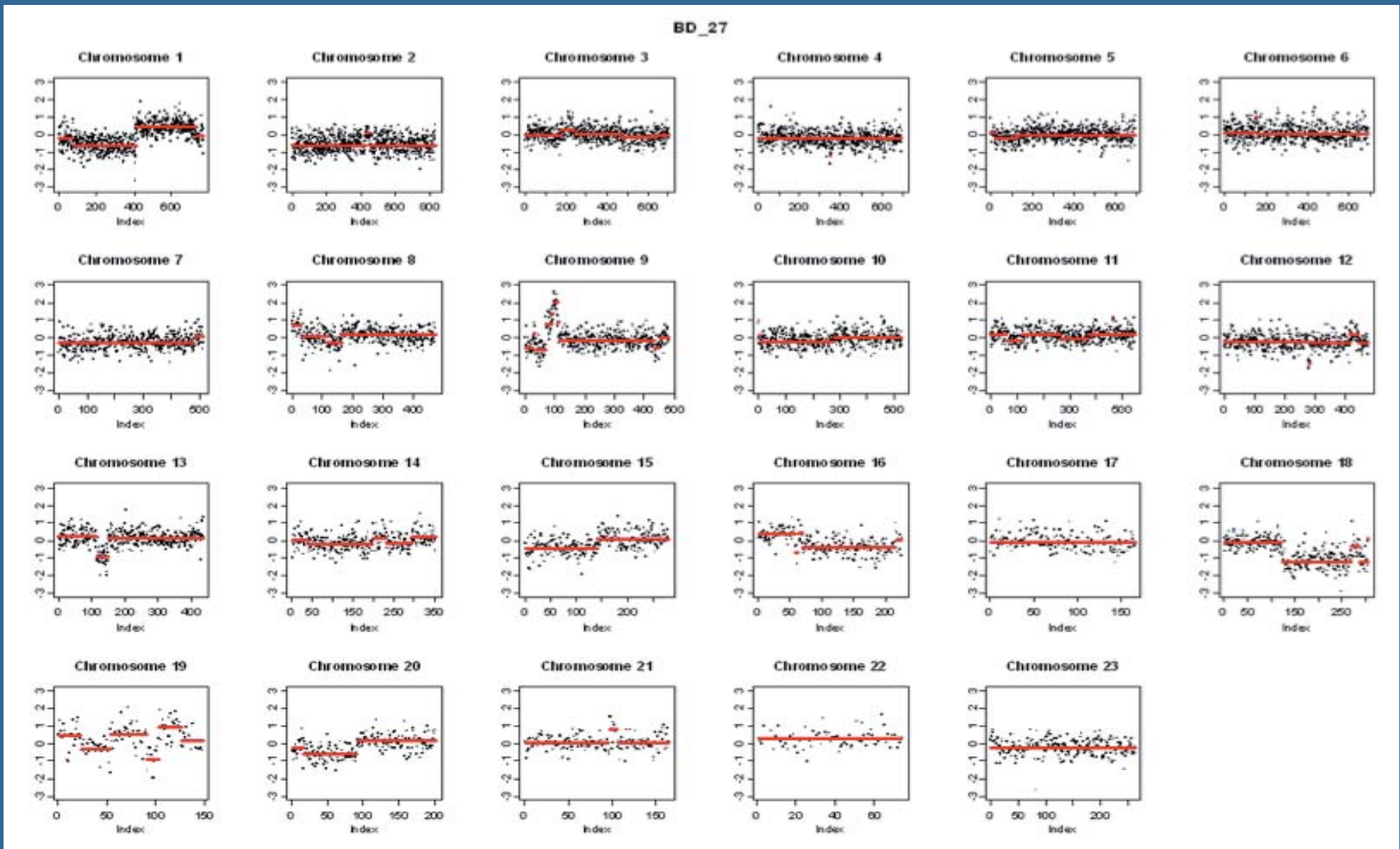
Individualisierte Tumorthherapie

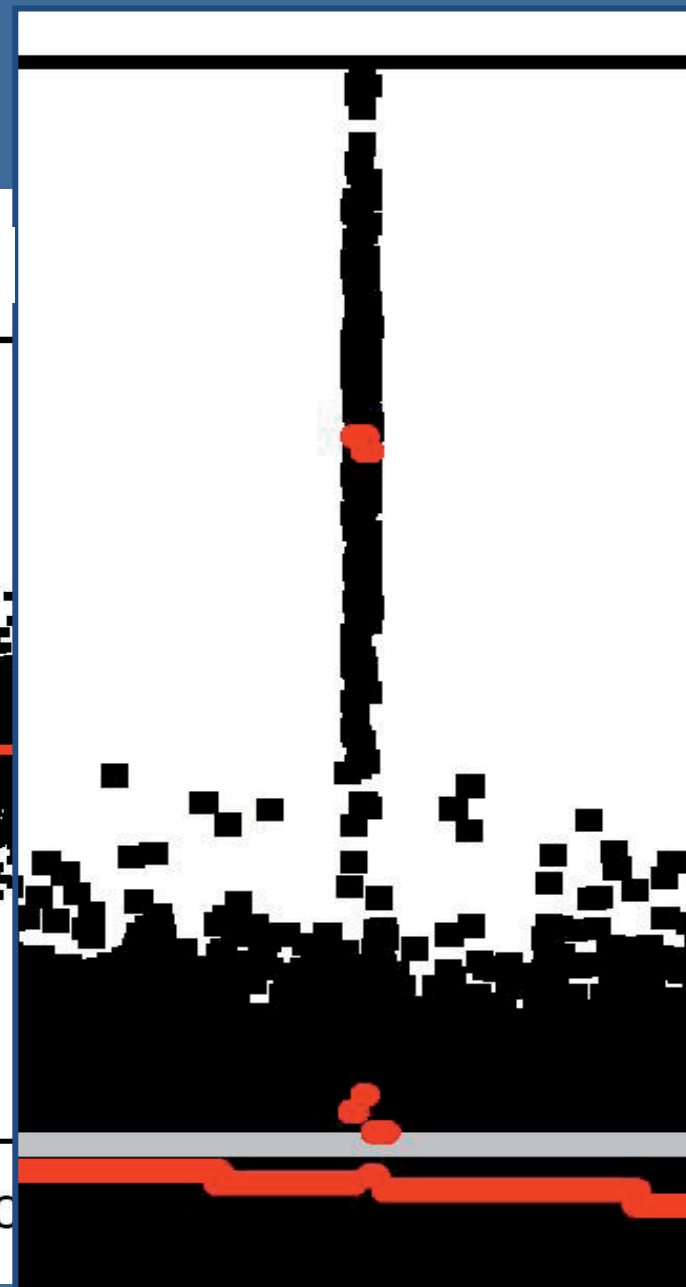
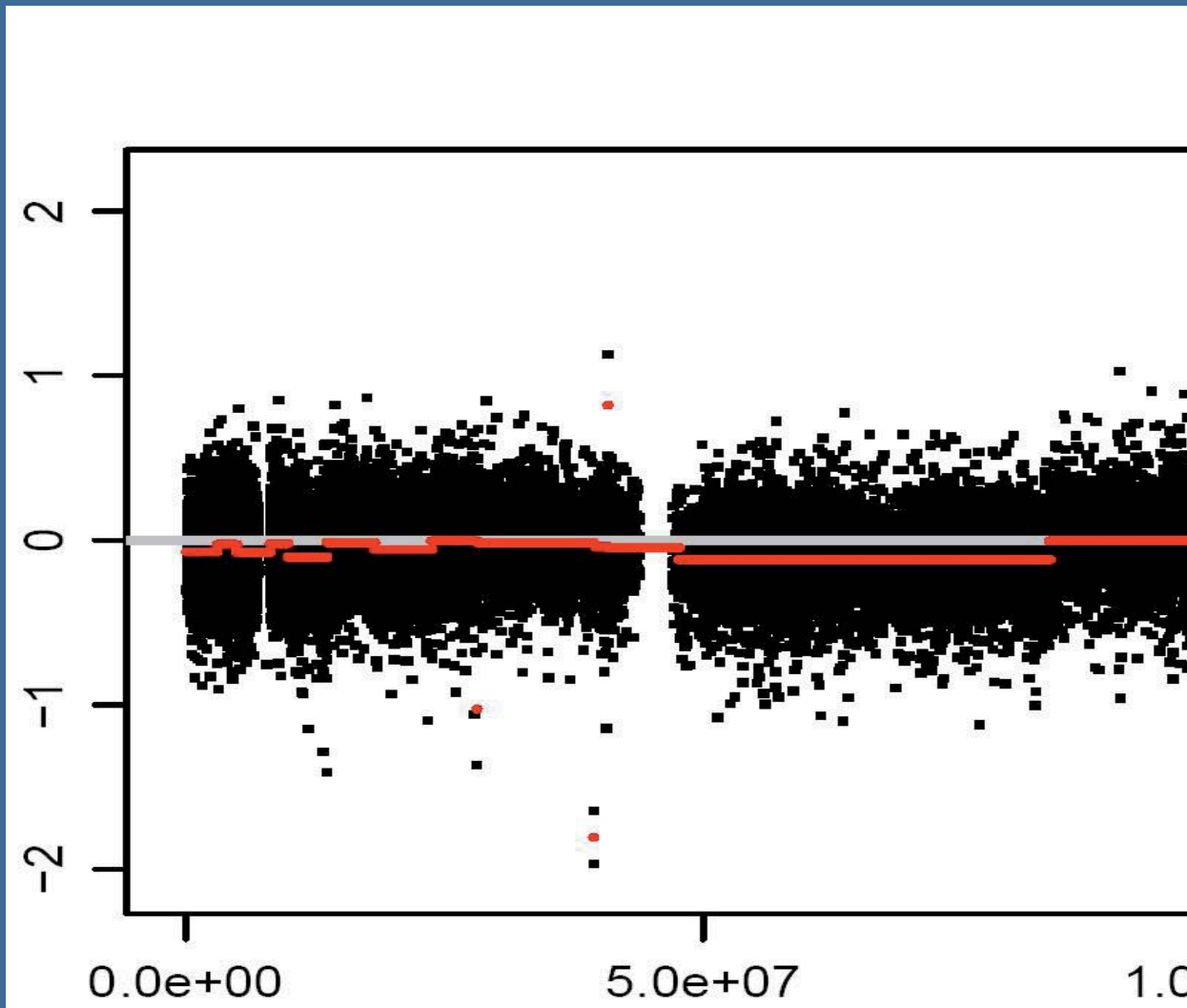
Identifizierung neuer Zielgene

ESR1 – Amplifikation

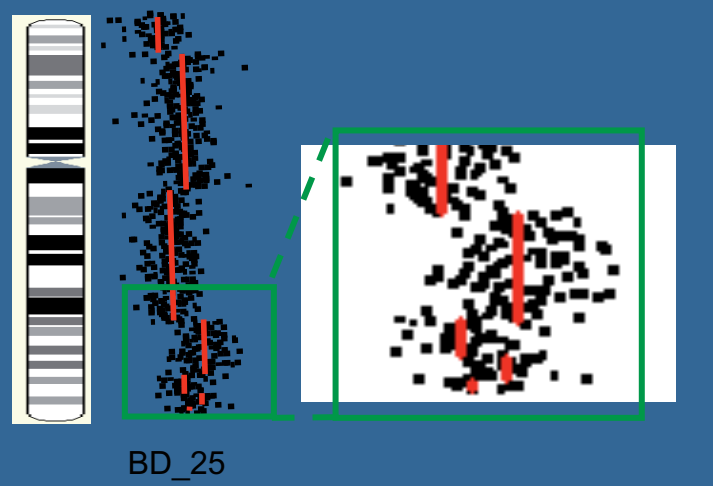
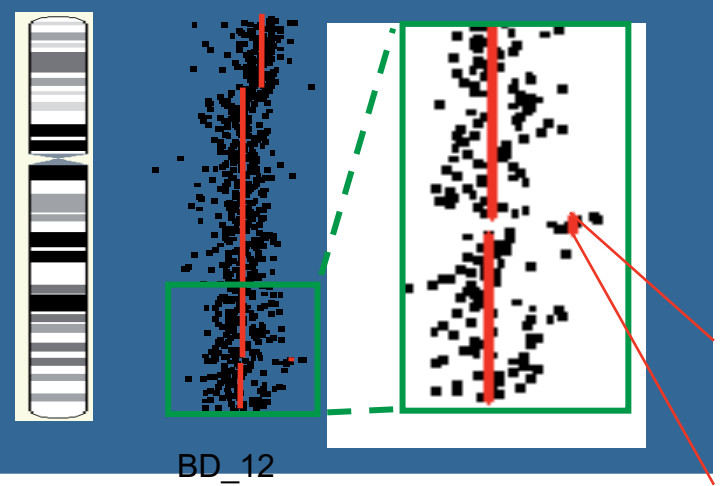
Problem: Diagnostik

DNA Profil: Mammakarzinom





Chromosome 6



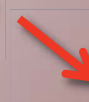
Gen...	Genes_seq	Symbol	Cyto	Description
151M				
151.1M		PLEKHG1	6q25.1	pleckstrin homology domain containing, family G (with RhoGef domain) member 1
151.2M				
151.3M				
151.4M		FTHFSDC1	6q25.1	formyltetrahydrofolate synthetase domain containing 1
151.5M		LOC442270	6q25.1	similar to ribosomal protein S12
151.6M		AKAP12	6q24-q25	A kinase (PRKA) anchor protein (gravin) 12
151.7M		ZBTB2	6q25.1	zinc finger and BTB domain containing 2
151.8M		C6orf96	6q25.1	chromosome 6 open reading frame 96
151.9M		C6orf211	6q25.1	chromosome 6 open reading frame 211
152M		C6orf97	6q25.1	chromosome 6 open reading frame 97
152.1M				
152.2M				
152.3M				
152.4M		ESR1	6q25.1	estrogen receptor 1
152.5M				
152.6M				
152.7M		SYNE1	6q25	spectrin repeat containing, nuclear envelope 1
152.8M				
152.9M		NANOGP11	6q25	NANOG homeobox pseudogene 11
153M				
153.1M		MYCT1	6q25.2	myc target 1
153.2M		VIP	6q25	vasoactive intestinal peptide
153.3M		LOC442271	6q25.2	similar to tubulin beta chain - common limpet
153.4M		FBXO5	6q25-q26	F-box protein 5
153.5M		MTRF1L	6q25-q26	mitochondrial translational release factor 1-like
153.6M		RGS17	6q25-q26	regulator of G-protein signalling 17
153.7M		LOC389435	6q25.2	similar to 60S ribosomal protein L27a
153.8M				
153.9M				

Östrogen-Rezeptor (ER, ESR1)

Östrogen



Östrogen-Rezeptor



Co-Aktivatoren



mRNA

Protein



NRIP1, GREB1, ABCA3

Zellwachstum,
Proliferation



Potentielle Konsequenzen der Östrogenrezeptorgen- (ESR1) Amplifikation

Massive ER-Überexpression

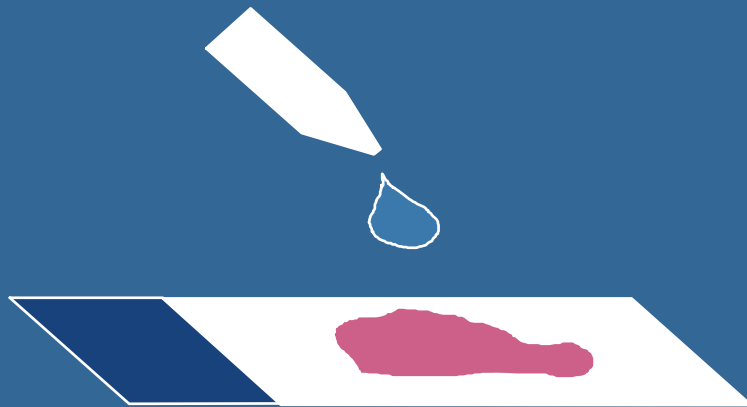
Überaktivierung des ER-Signalweges

Tumorbildung

VALIDIERUNG !!!

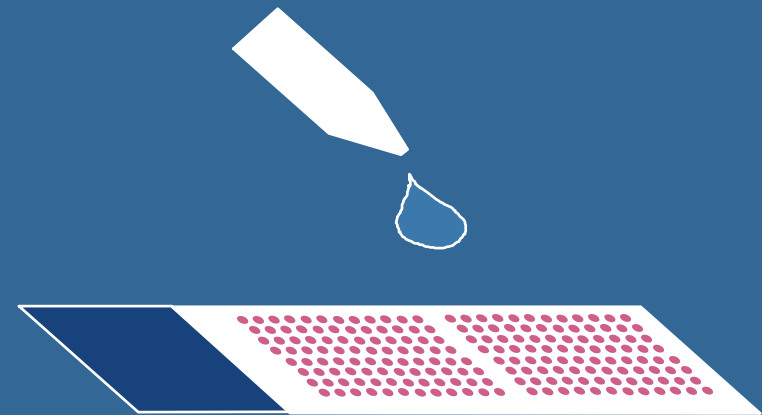
Hochdurchsatz Gewebeanalyse

Traditionelle Methode



1 Tumor

Gewebearray



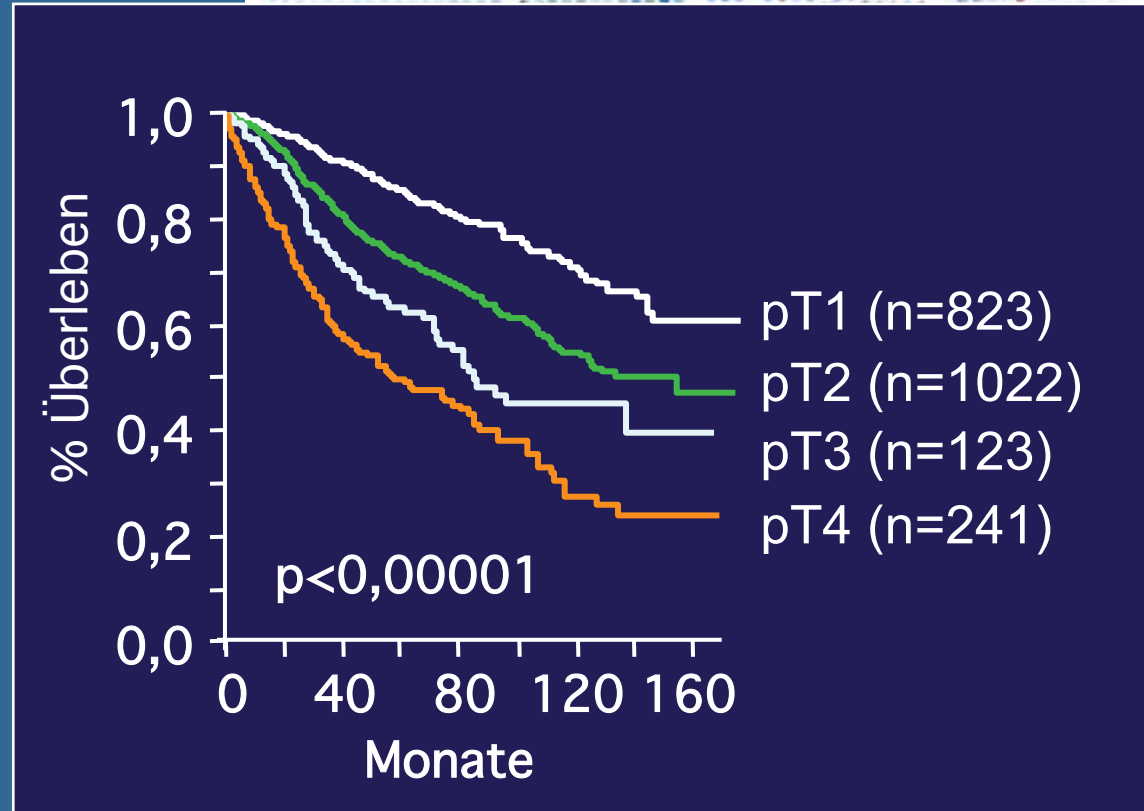
1000 Tumoren

Brustkrebs- Prognosearray

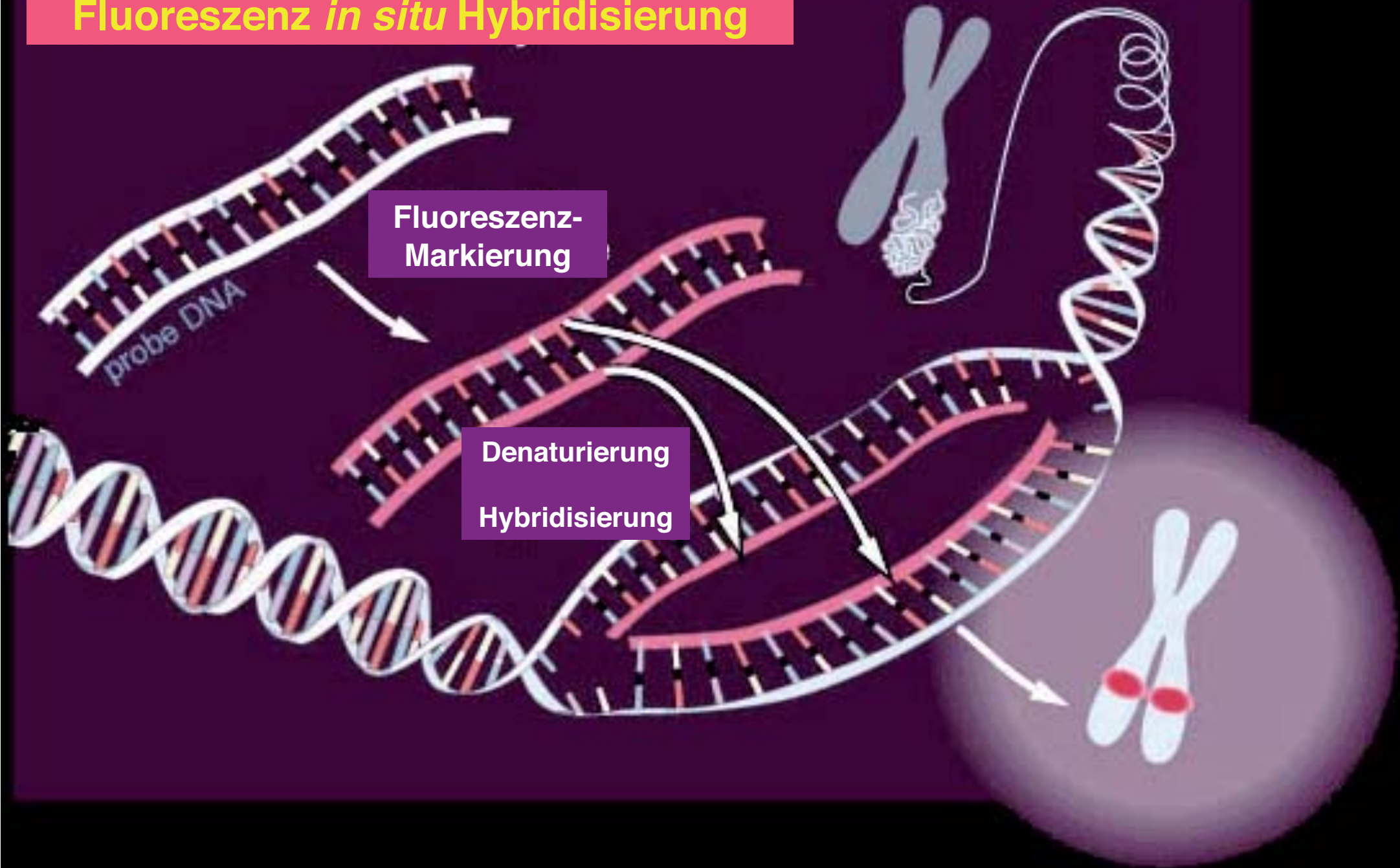
Duktales Karzinom	1398
Lobuläres Karzinom	261
Medulläres Karzinom	51
Kribriformes Karzinom	60
Mucinöses Karzinom	
Tubuläres Karzinom	47
Papilläres Karzinom	27
Klarzelliges Karzinom	13
Apokrines Karzinom	15
Atypisches medulläres Karzinom	6
andere seltene Typen	17
normales Brustgewebe	
präneoplastische Läsionen	450
in-situ Karzinome	

alle Gewebeproben

>2500

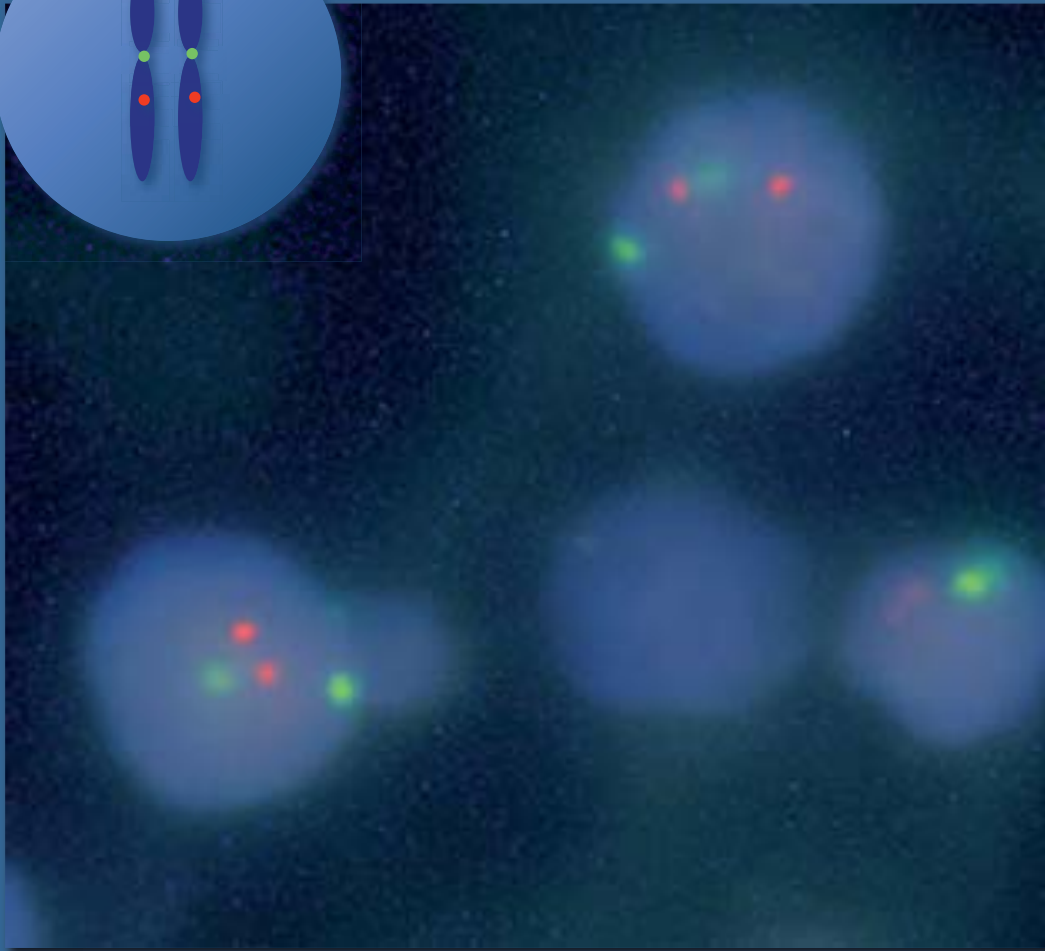
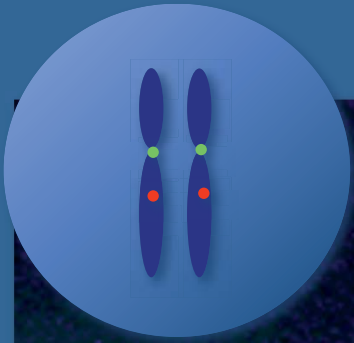


Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung

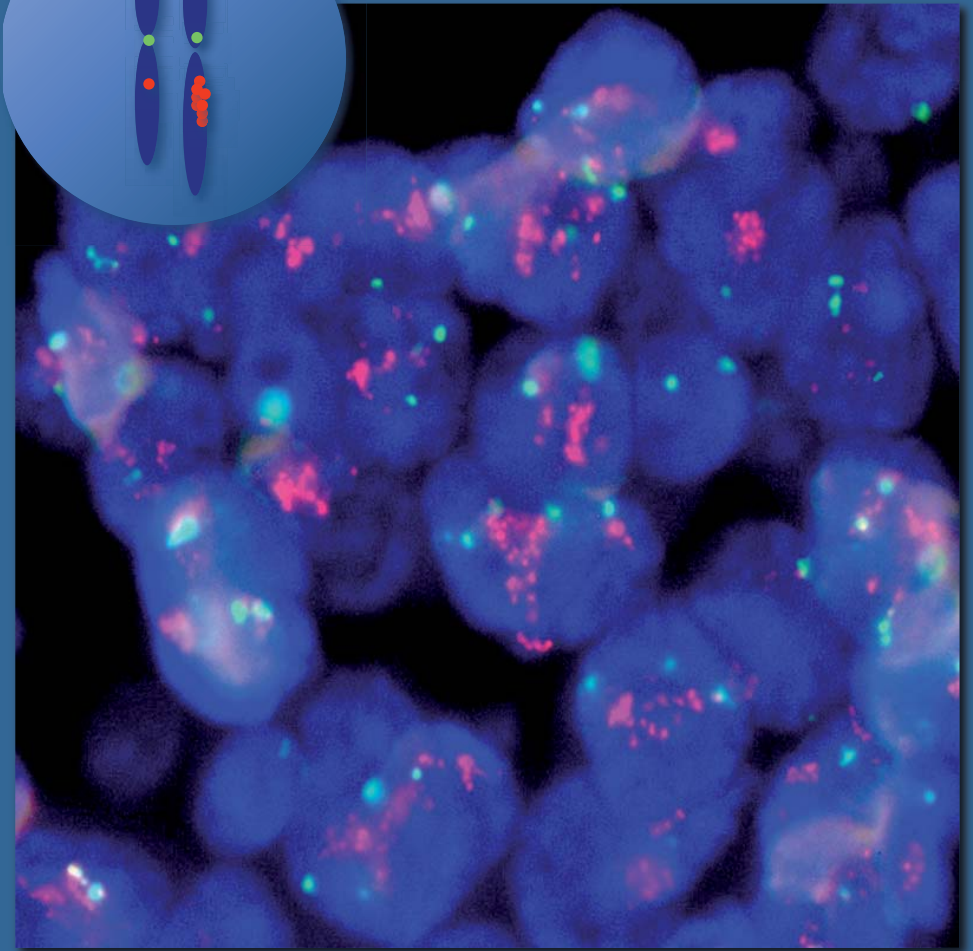
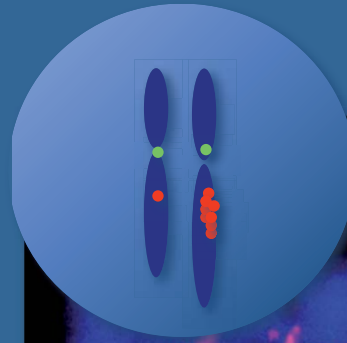


FISH

normale Genkopiezahl



Amplifikation





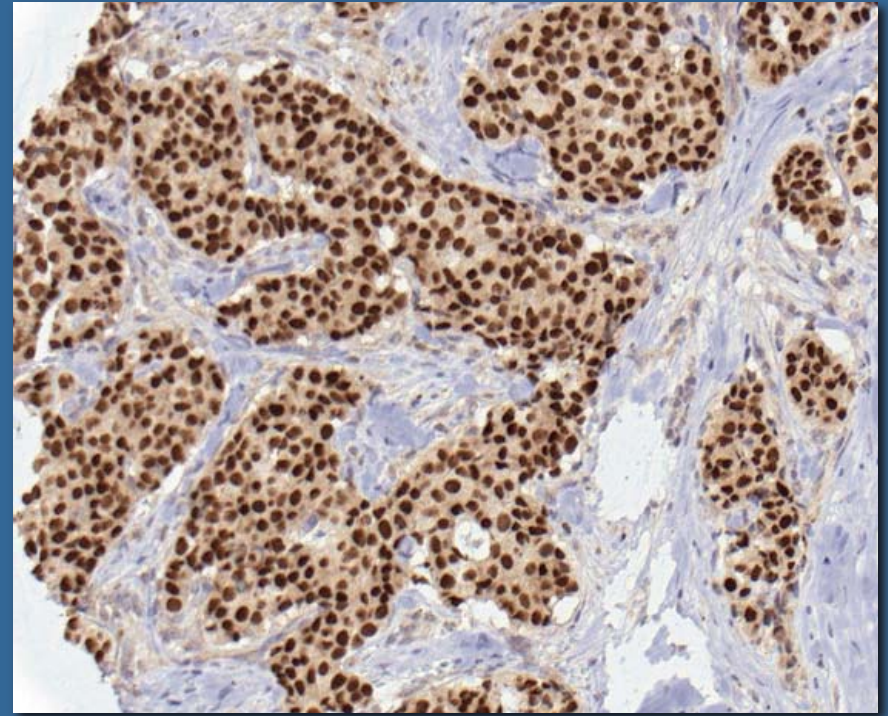
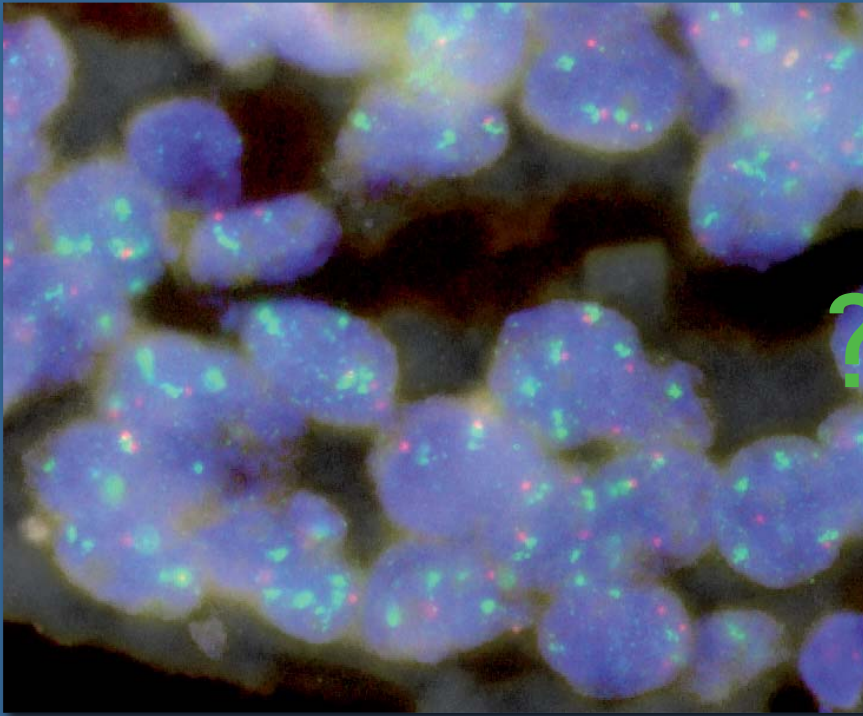
ESR1 Amplifikation* in 358/1739 (21%) Mammakarzinomen

CCND1:	20 %
HER2:	18 %
MDM2:	6 %
MYC:	5 %
EGFR:	1 %

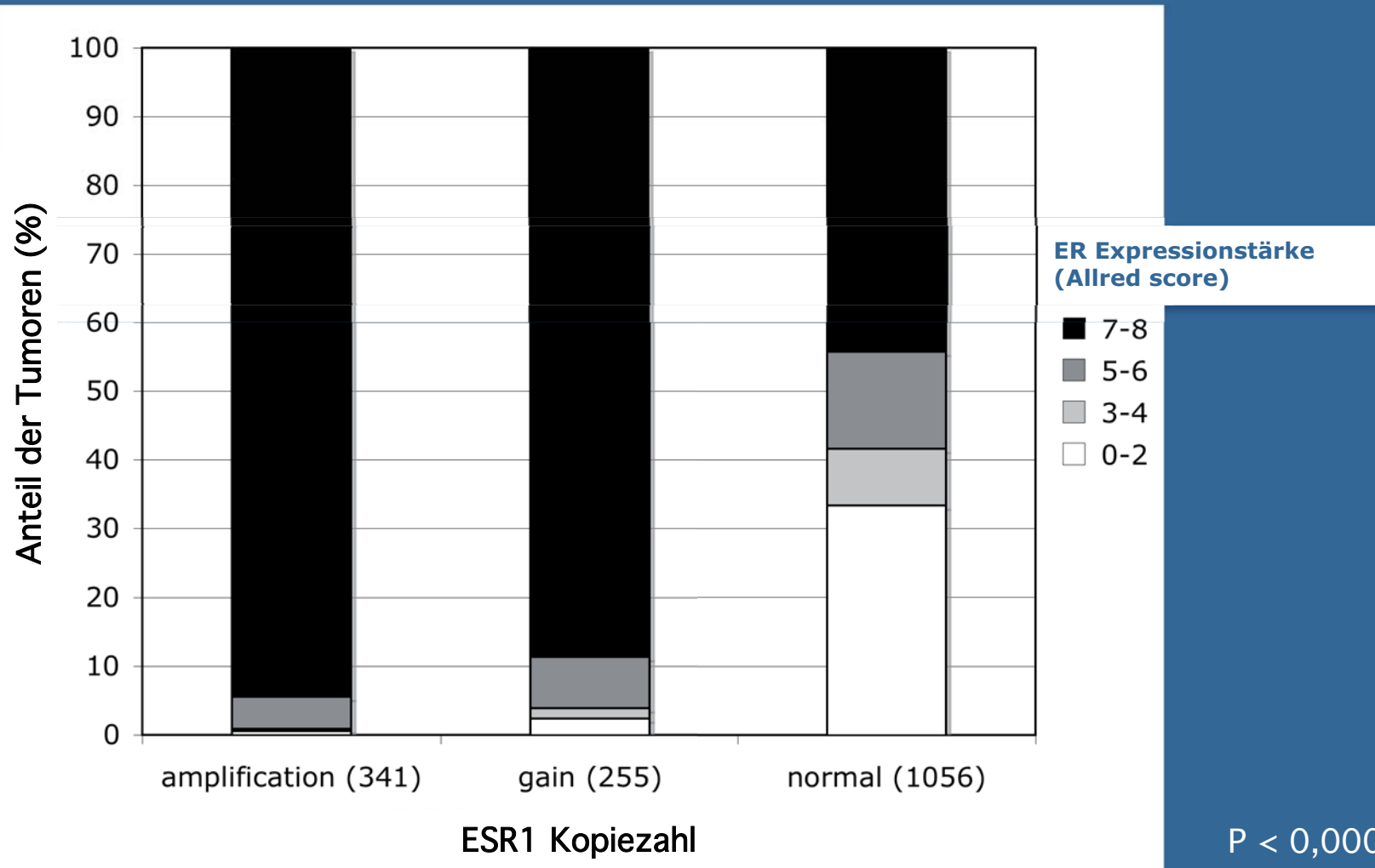
*Amplifikation:
Cen6 / ESR1 Ratio ≥ 2.0

Holst et al. (2007)
Nature Genetics 39 (5): 655-660

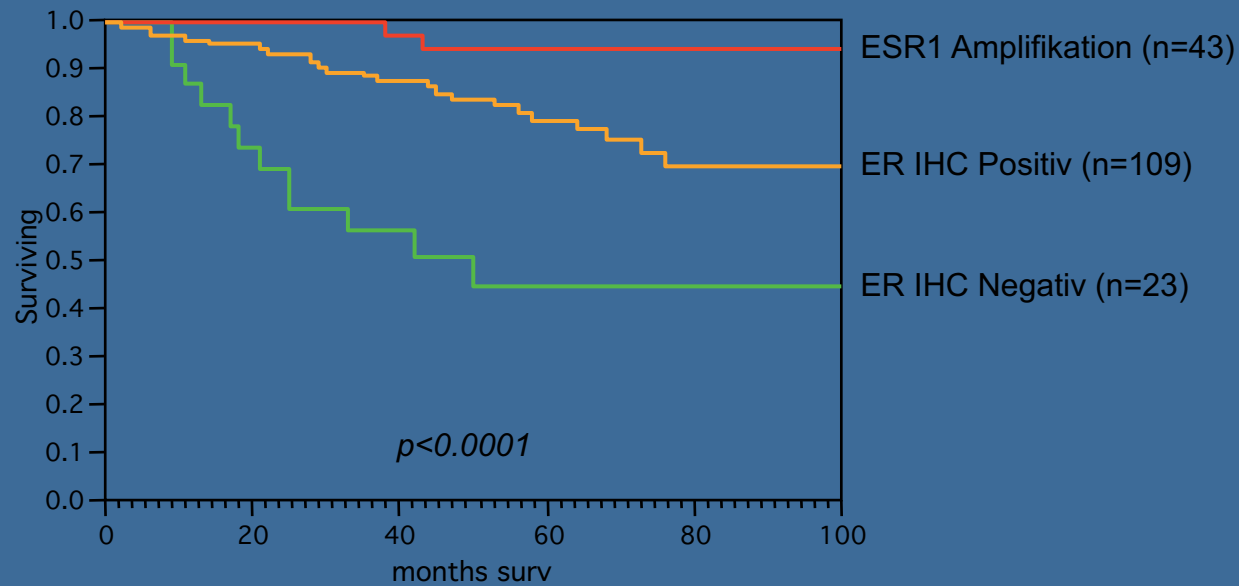
ESR1-Amplifikation vs ER-Überexpression



ESR1 Amplifikation führt zu massiver Überexpression des Proteins

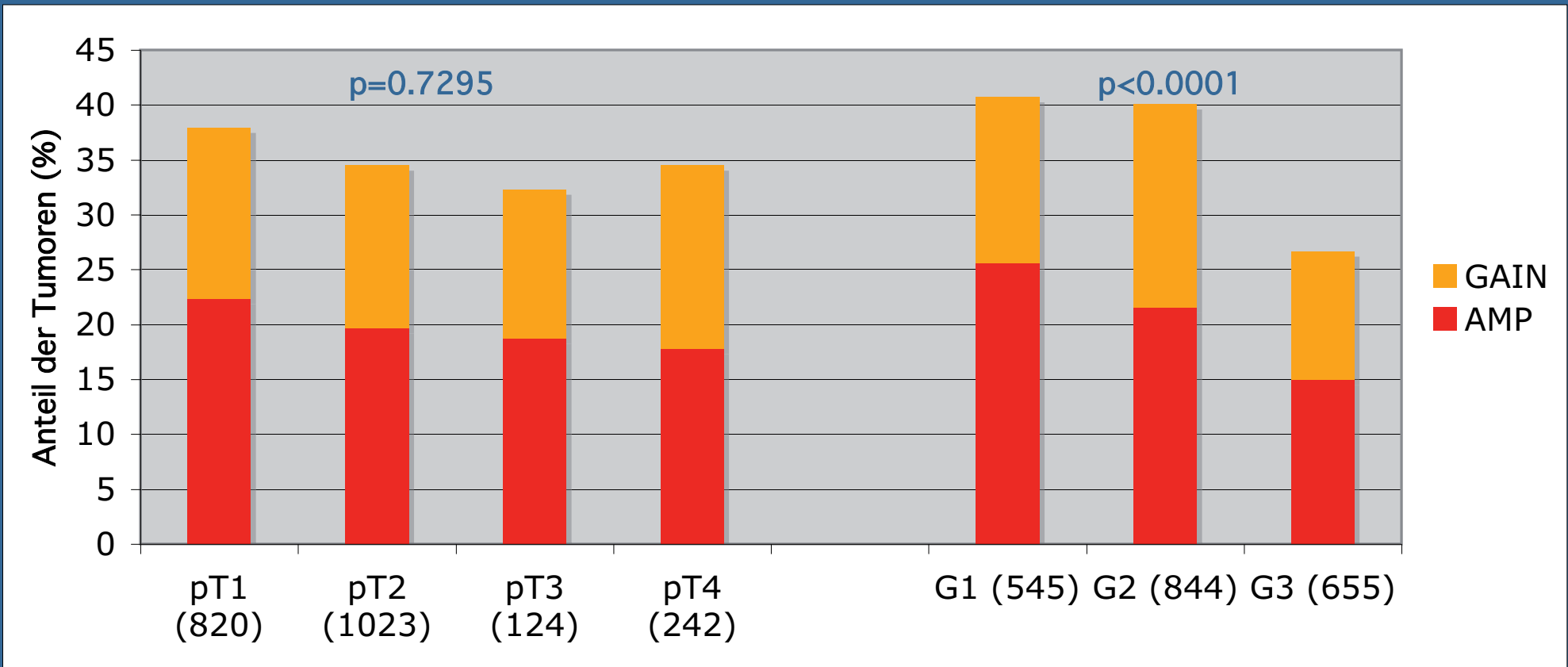


ESR1-Amplifikationen: Ansprechen auf Tamoxifen



n=175, Tamoxifen Monotherapie

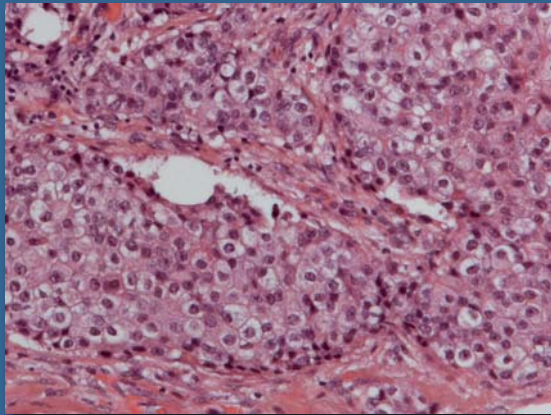
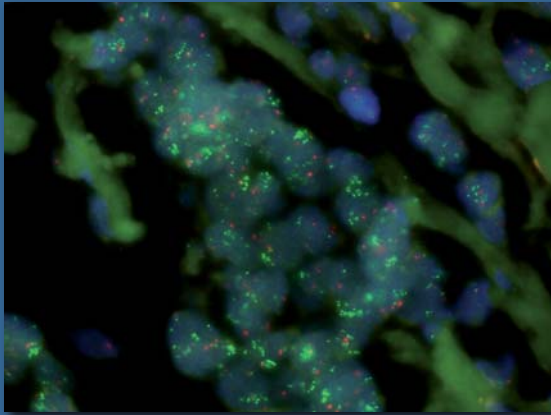
ESR1-Amplifikationen sind bereits in frühen Stadien des Mammakarzinoms häufig



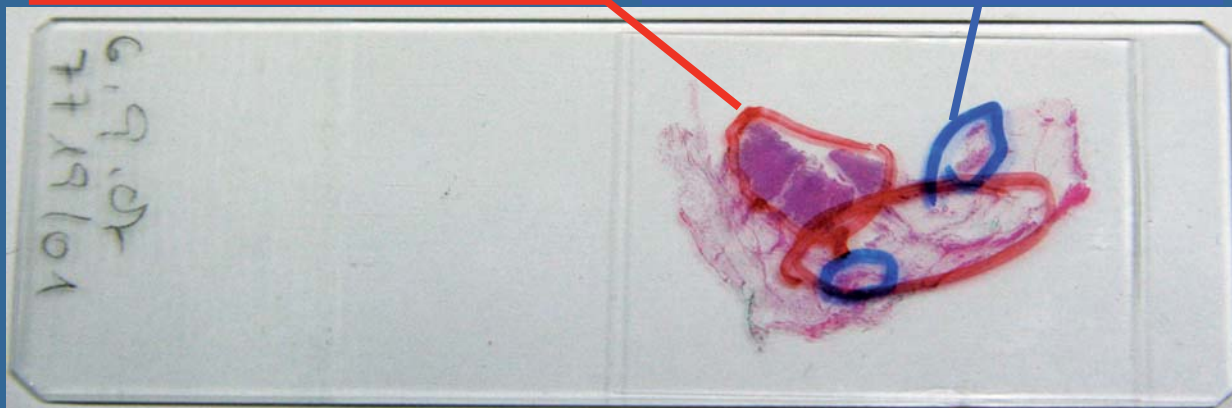
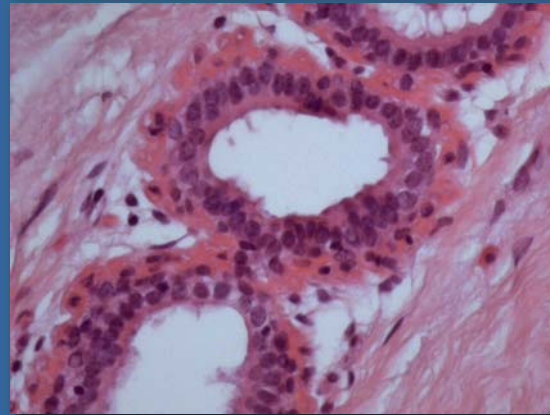
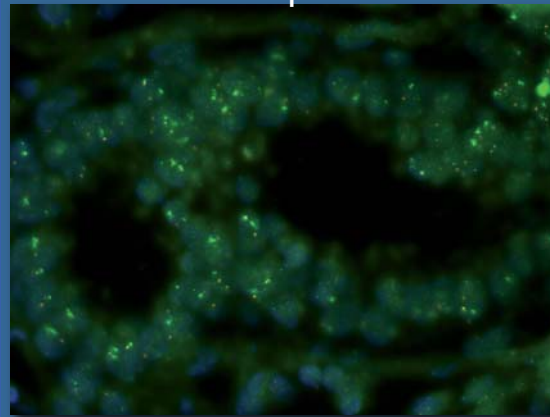
ESR1 -Amplifikationen in proliferativen Erkrankungen der Brustdrüse

Histology	im Array (n)	analysiert (n)	ESR1 FISH Ergebnis	
			Amplifikation (%)	Gain (%)
normales Brustgewebe	50	21	0.0	0.0
Mastopathie	22	13	0.0	7.7
Apokrine Metaplasie	14	4	0.0	0.0
Intraductale Hyperplasie	27	12	8.3	25.0
Atypische duktale Hyperplasie	5	1	0.0	100.0
Sclerosierende Adenose	15	8	0.0	0.0
Papillom	31	22	36.4	4.5
DCIS	62	40	35.0	7.5
LCIS	10	3	33.3	33.3

Tumor



Adjacent normal breast epithelium



Studie 1: ESR1-Amplifikationen im normalen umgebenden Epithel vom Mamma-Ca (vorläufige Ergebnisse)

Gewebe	n	ESR1 AMP
Tumor	10	10
Umgebendes Epithel	10	9
Kontrollgruppe Normales Epithel (kein Tu.-Patient)	8	0

Die ESR1 Amplifikation scheint ein frühes, vielleicht initiales Ereignis der Brustkrebsentstehung zu sein

Studie 2: ESR1-Amplifikationen in Mastopathien (Ergin Kilic, Pathologie Basel)

Testkollektiv: n=70

Mastopathie

≤ 7 Jahre

Karzinom

Kontrollkollektiv: n=20

Mastopathie

≥ 7 Jahre

Kein Tumor

Studie 2: ESR1-Amplifikationen in Mastopathien (vorläufige Ergebnisse)

Gewebe	n	ESR1 AMP
Karzinom	52	9 (15%)
Mastopathie	52	9
Kontrollgruppe (kein Ca.)	20	0

Die ESR1 Amplifikation scheint ein Risikofaktor für die Brustkrebsentstehung zu sein

Zusammenfassung: ESR1-Amplifikation

- ist eine häufige Veränderung
- verursacht massive ER Überexpression
- kennzeichnet eine Patientengruppe, die vielleicht besonders gut auf anti-ER Therapien anspricht
- ist vielleicht der „erste Schritt“ zum Brustkrebs
- Ist ein potentieller Risikofaktor

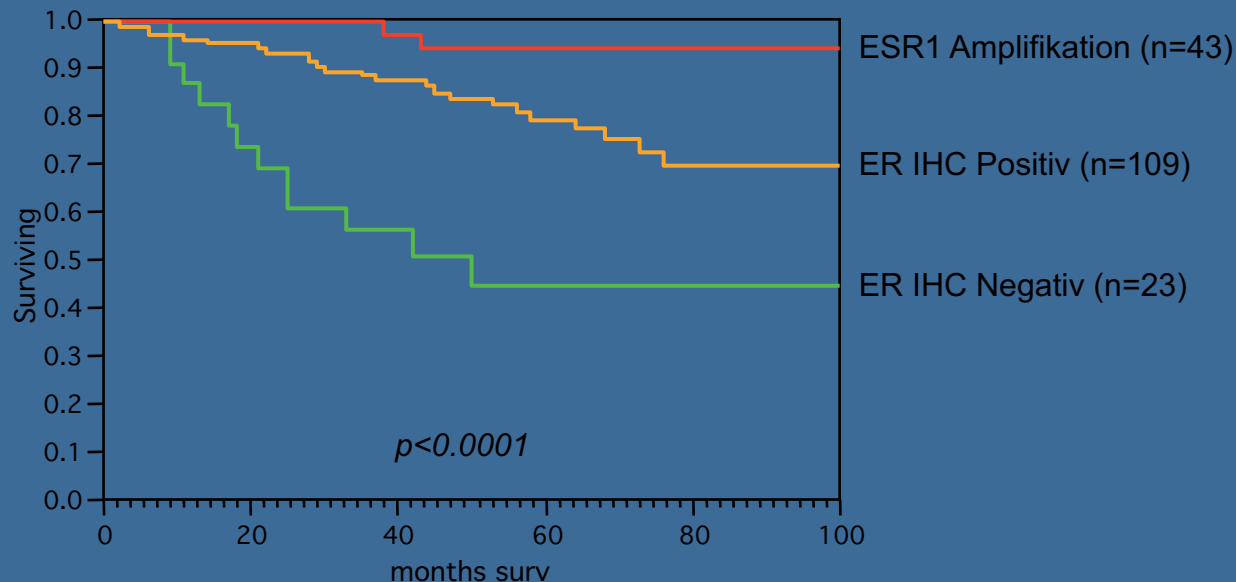
Mögliche Konsequenzen für die Klinik

- Patienten mit Karzinom

Adaptierte Therapie nach ESR1 Test

ESR1 AMP + : anti ER-Therapie vielleicht ausreichend, keine zusätzliche Chemo

ESR1 AMP - : anti-ER-Therapie vermutlich nicht ausreichend, Chemotherapie!



Mögliche Konsequenzen für die Klinik

- Patienten mit Karzinom

Adaptierte Therapie nach ESR1 Test

ESR1 AMP + : anti ER-Therapie vielleicht ausreichend, keine zusätzliche Chemo

ESR1 AMP - : anti-ER-Therapie vermutlich nicht ausreichend, Chemotherapie!

- Patienten mit proliferativen, benignen Läsionen

Identifizierung von Risikogruppen nach ESR1 Test:

ESR1 AMP + : hohes Karzinomrisiko, engmaschige Kontrolle, prophylaktische anti ER-Therapie?

ESR1 AMP - : geringes (normales) Karzinomrisiko

ESR1 gene amplification in breast cancer: a common phenomenon?

Nat Genet. 2008 Jul;40(7)

806-7

807-8

809

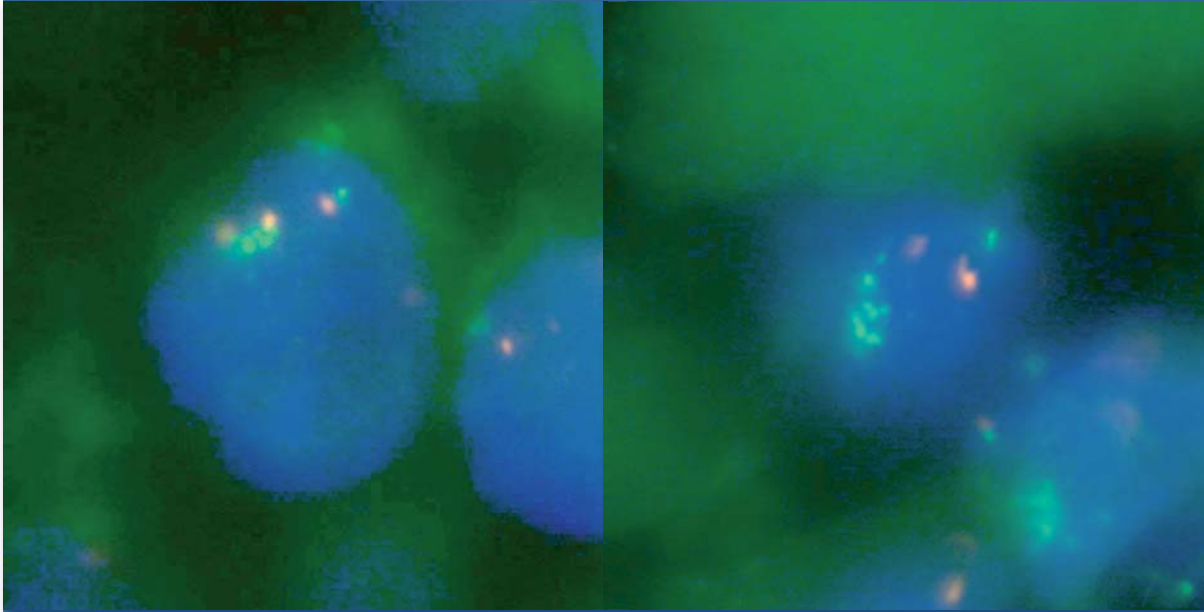
809-10

	Holst et al.	Brown et al.	Horlings et al.	Vincent-Salomon et al.	Reis-Filho et al.
Array CGH	n=21, amp.: 4%, gain: 3%	n=171, amp.: 1%, gain: 8% n=143, amp.: 0%, gain: 3% n= 77, amp.: 3%, gain: 9%	n=148, amp.: 1%, gain: 1% n= 31, amp.: 10%, gain: 3% n= 68, amp.: 0%, gain: 7% n= 37, amp.: 0%, gain: 5% n= 89, amp.: 3%, gain: 2% n= 50, amp.: 0%, gain: 4% n=112, amp.: 4%, gain: 0%	n=341, amp.: 0,9 %, gain: ?	n=70, amp.: 4.3%, gain: 7.1% n=54, amp.: 3.7%, gain: ?
FISH (CISH)	n = 2221, amp.: 21% gain.: 15%	n=334, amp.: 1% automated scoring	-	-	n=245, amp.: 1.4% by CISH
qPCR	-	N=125, incr.c.n.: 16 % copy number ESR2 reference, 2.4 - 4 % using another two reference genes	-	n=168, amp.: 2%	n=35, amp.: 5.7%, gain: 5.7% n=35, amp.: 2.8%, gain: 0% depending on reference gene

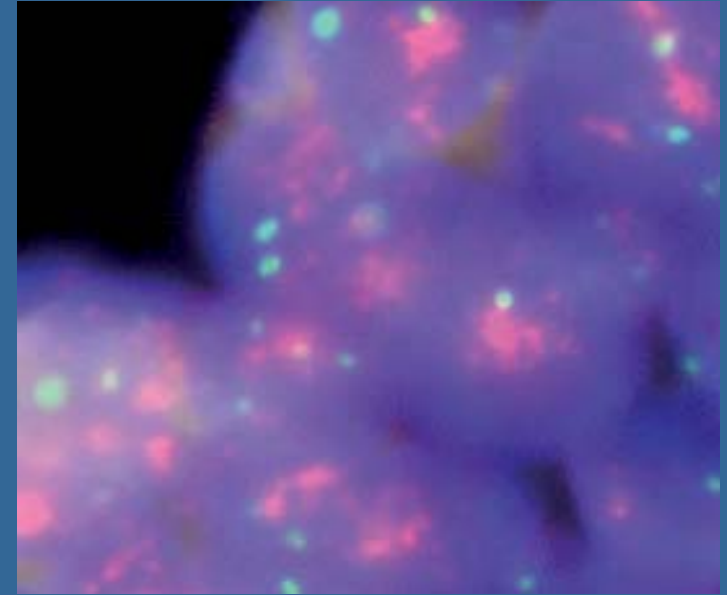
Nembrodt et al., 1990	ca 20 % (42%)	6 out of 14 (ER+)	Southern Blot
Watts et al., 1992	2,7%	1 out of 37	Southern Blot
Schuur et al., 2000	ca 20 % (43%) (total: 38 %)	3 out of 7 (ER+) (but 5 of 14 ER-)	PCR-RFLP
Nessling et al., 2005	10 %	3 out of 30	aCGH
Hicks et al., 2006	7 %	n = 99 (combined index)	aCGH
Ejlertsen et al., 2007	ca 7 % (14%)	13 out of 94 (ER+--)	FISH

Varianz bei HER2 in aCGH Untersuchungen: 7% - 35% !
Horlings et al. Nat Genet. 2008; 40 (7) 807-8

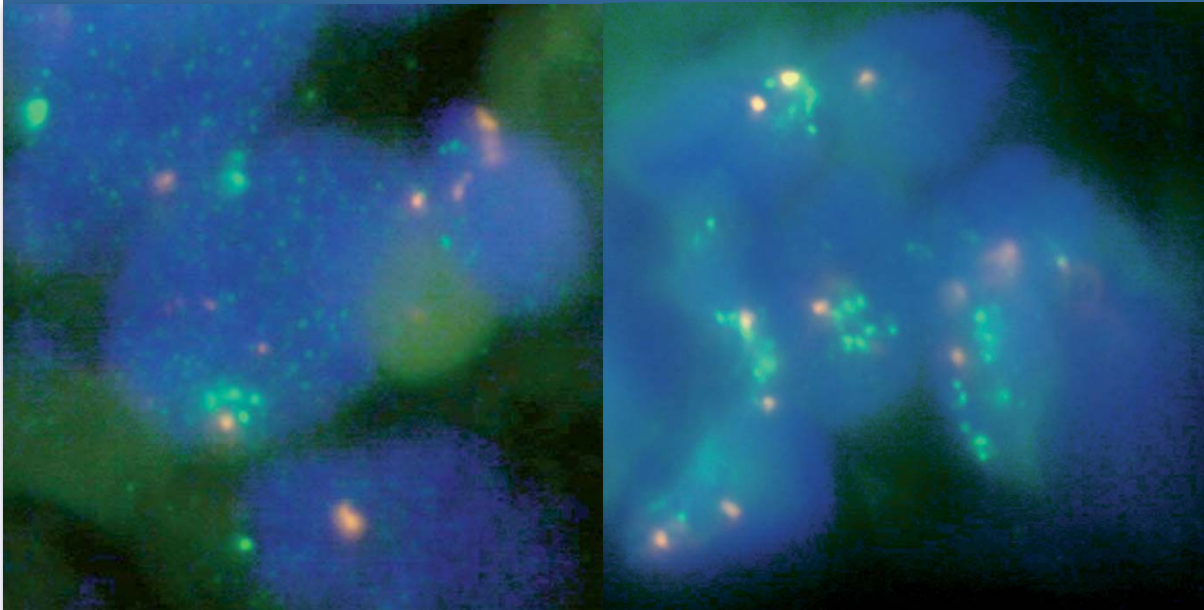
ESR1 FISH



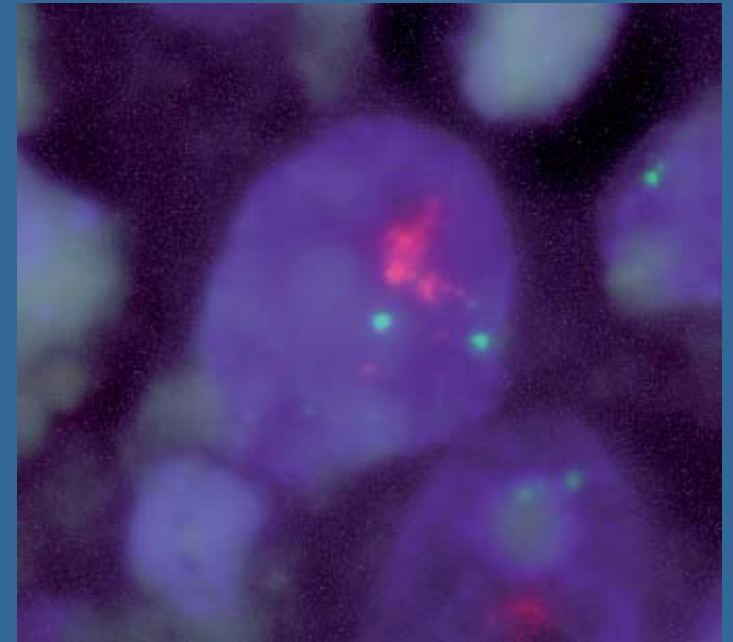
HER2 FISH



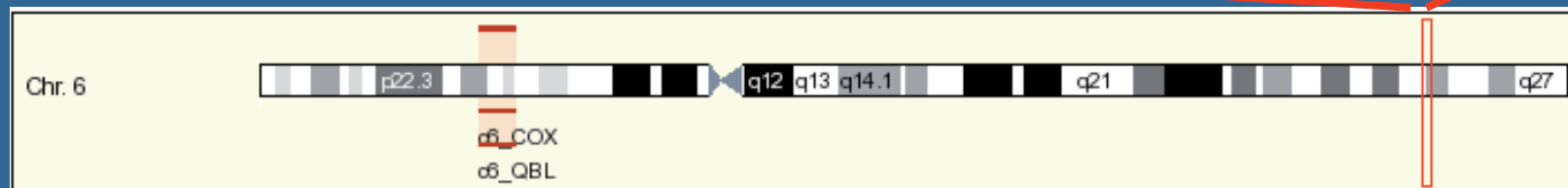
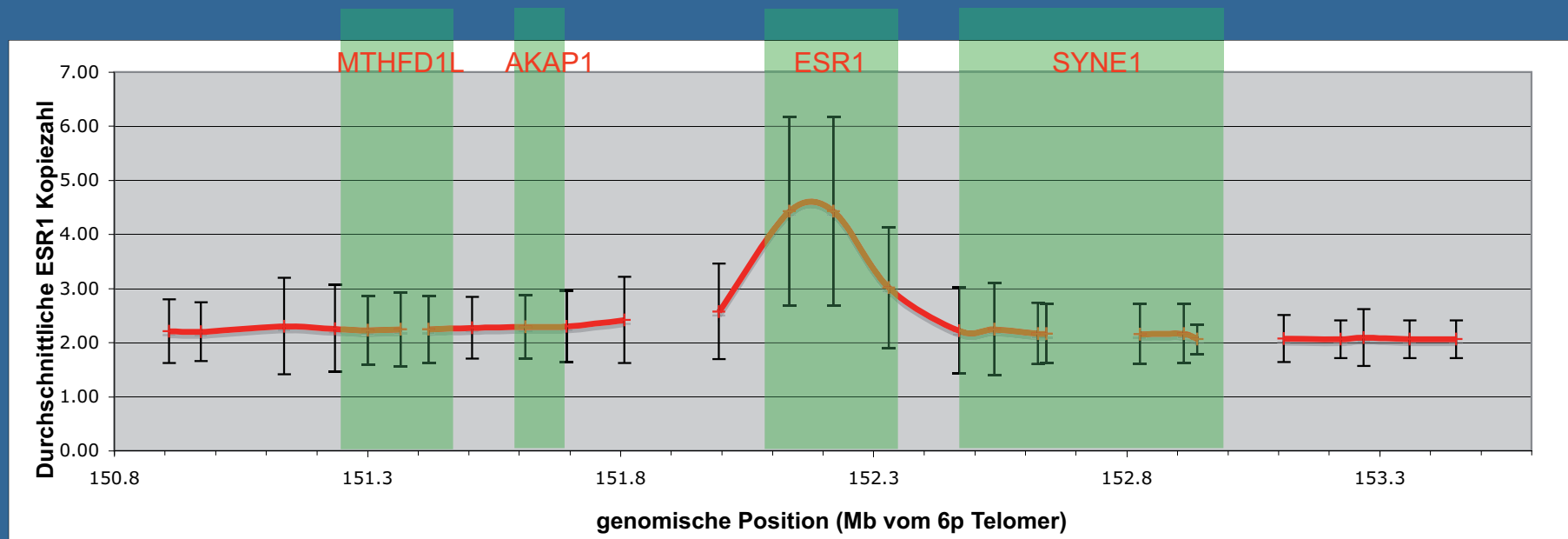
ESR1 FISH

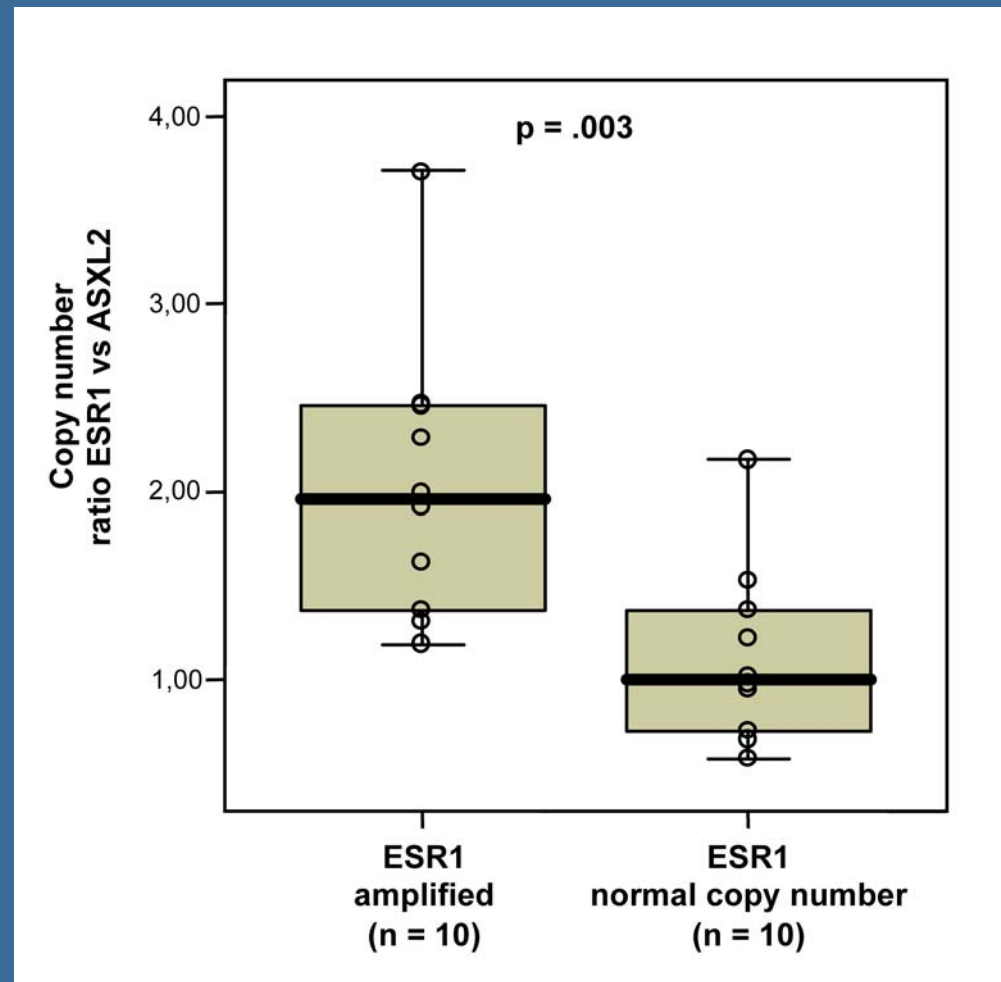


HER2 FISH



Durchschnittliche Genkopiezahl im ESR1-Amplikon (n=25)





Holst et al., Nat Genet. 2008 Jul;40(7), 805-6

ESR1: TO DO

Externe Validierung der Amplifikationsrate

Externe Validierung von ESR1 als
prädiktivem Marker

Festlegung von Diagnosekriterien

Klinische Studien zur prophylaktischen
Therapie von ESR1 positiven Mastopathien