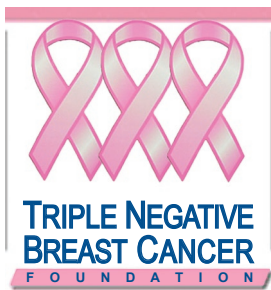


Dreifach negativer Brustkrebs

Tieferes Verständnis der Tumorbiologie als Wegbereiter neuer Therapieoptionen?



Brustkrebs umfasst eine sehr heterogene Gruppe von Tumoren, die sich anhand von klinischen und histopathologischen Merkmalen, genetischen Alterationen wie auch Genexpressionsprofilen klassifizieren lassen. Histologischer Typ, Tumorgrad, die Expression der Hormonrezeptoren und seit einigen Jahren auch der ERBB2/HER2-Status sind die typischen Kriterien, an denen sich Prognose und Therapiestrategien orientieren. Ein gut definierter Subtypus von Brustkrebs ist dadurch gekennzeichnet, dass keine Expression von Estrogenrezeptoren und Progesteronrezeptoren wie auch keine ERBB2-Genamplifikation nachzuweisen ist. Diese so genannten dreifach rezeptornegativen Tumoren stellen in der Onkologie insbesondere deshalb eine große Herausforderung dar, weil es sich überwiegend um sehr aggressive Tumoren handelt, und sich die Behandlungsmöglichkeiten im Wesentlichen mit der Chemotherapie erschöpfen. Anhand von Genexpressionsprofilen wurde ein Tumortyp definiert, der als basalähnlich bezeichnet wird, und dessen klinische und pathologische Merkmale sich weitgehend mit denen der dreifach rezeptornegativen Tumoren überlappen.

Onkologen richten sich bei der Auswahl systemischer Therapien für Brustkrebspatientinnen im Wesentlichen nach klinischen und histopathologischen Parametern sowie dem Ergebnis der immunhistochemischen Rezeptorbestimmungen: Bei Estrogenrezeptor (ER)-positivem Status kommen hormonelle Therapien (ER-Blockade, Aromatasehemmung) mit oder ohne Chemotherapien zum Einsatz. Sind die Tumoren ERBB2-positiv wird heute routinemäßig zusätzlich eine Blockade von ERBB2 (Trastuzumab, unter Umständen auch Lapatinib) durchgeführt. Lassen sich aber weder ER, Progesteronrezeptoren (PR) noch ERBB2 nachweisen, d.h. bei dreifach rezeptornegativen

Mammakarzinomen bleiben Chemotherapien nach gegenwärtiger Empfehlung die einzige medikamentöse Behandlungsmöglichkeit.

Angaben zur Prävalenz von dreifach rezeptornegativem Brustkrebs variieren von 10 % bis 17 %. Diese Differenzen basieren hauptsächlich auf unterschiedlichen Schwellenwerten, die jeweils für die Eingruppierung als Hormonrezeptor-positiv bzw. -negativ festgelegt wurden. Zudem ist die Klassifizierung des HER2-Status bis zu einem gewissen Grad von der gewählten Testmethode abhängig.

Dreifach rezeptornegative Brusttumoren stellen eine sehr aggressive Krebsform dar. Häufig sind jüngere Frauen unter 50 Jahren betroffen, und

Studien aus den USA zeigen, dass hierunter prämenopausale Afroame-

Dreifach rezeptornegativer Brustkrebs stellt aufgrund seiner Aggressivität, seiner verhältnismäßig ungünstigen Prognose sowie dem Fehlen zielgerichteter Therapien ein klinisches Problem dar.

rikanerinnen deutlich überrepräsentiert sind. In der Mehrheit der Fälle von dreifach rezeptornegativem

Brustkrebs finden sich Tumorzellen mit dem histologischen Grad 3, obgleich bei etwa jeder zehnten betroffenen Frau auch nur der Tumorgrad 1 registriert wird. Brustkrebs bei Frauen mit einer *BRCA1*-Mutation ist zu meist dreifach rezeptornegativ.

Klassifizierung anhand der Genexpressions-signatur

Mit den Arbeiten von Perou et al. (2000) und Sorlie et al. (2001) wurde ein neues Kapitel in der Taxonomie von Brustkrebs aufgeschlagen [1, 2]. Durch die Identifizierung von molekularen Signaturen anhand der mittels Microarray-Analysen erstellten Genexpressionsprofile, lässt sich Brustkrebs in zumindest fünf Subtypen einteilen. Diese molekularen Phänotypen sind jeweils vor und nach der Therapie gleich und stimmen auch

Immunhistochemisch als dreifach rezeptornegativ eingestufte Mammatumoren, weisen weit überwiegend im Genexpressionsprofil einen basalähnlichen Phänotyp auf.

zwischen Primärtumor und Metastasen überein [3].

Der deutlichste Unterschied im Gesamtprofil der Genexpression wird zwischen ER-positiven und ER-negativen Tumoren beobachtet [1, 2]. Bei ersteren werden anhand der Genexpressionsprofile zwei Subtypen, luminal A und B, unterschieden. In ähnlicher Weise lassen sich ER-negative Tumoren in drei weitere molekulare Subtypen untergliedern: normaler brustähnlicher, ERBB2-positiver und basalähnlicher Typ.

Als basalähnliche Mammakarzinome werden Tumoren bezeichnet, deren neoplastische Zellen durchweg Gene exprimieren, wie das auch in basalen/myoepithelialen Brustzellen

der Fall ist. Hierzu zählen hochmolekulare Zytokeratine (ZK; ZK5/6, 14, 17), Vimentin, p-Cadherin, α B-Krystallin, Fascin sowie die Caveoline 1/2 sowie verschiedene myoepitheliale Marker. Der basalähnliche Phänotyp war im Grunde bereits vor der molekulargenetischen Ära anhand des immunhistochemischen Nachweises von Zytokeratinen in Brusttumoren erkannt worden [4], geriet jedoch wieder weitgehend in Vergessenheit. Zu einem sehr hohen Prozentsatz werden in solchen Tumoren verschiedene mit der Proliferation im Zusammenhang stehende Gene überreichlich exprimiert. In bis zu 85 % der basalähnlichen Karzinome lässt sich entweder p53 immunhistochemisch nachweisen oder es finden sich *p53*-Genmutationen.

Basalähnliche Mammakarzinome weisen in ihren klinischen und Tumorcharakteristika große Übereinstimmung mit dreifach rezeptornegativen Brusttumoren auf. Es handelt sich überwiegend um aggressive Tumoren. Die weitgehende Übereinstimmung hat dazu geführt, dass beide Begriffe vielfach synonym verwendet werden.

Dreifach rezeptornegativer Brustkrebs Synonym für basalähnliche Mammakarzinome?

Kreike et al. (2007) kommen anhand der Ergebnisse von Genexpressionsanalysen an 97 immunhistochemisch dreifach negativen Brusttumoren zu dem Schluss, dreifach negative Tumoren und basalähnliche Tumoren seien identisch. Sie klassifizierten sämtliche ihrer dreifach negativen Tumoren auch als basalähnliche Tumoren. Ferner ließen sich bei hierarchischen Cluster-Analysen fünf Untergruppen von dreifach negativen Mammakarzinomen unterscheiden (**Abb. 1**). Die Autoren identifizierten zwar einige bekannte Gen-Cluster wie den Keratin-Cluster, den Immunglobulin-Cluster, den Interferon-Cluster, den Ionentransporter-Cluster und den Proliferationscluster, doch aus ihnen ließen sich keine schlüssigen biologischen

Mechanismen für die Subklassifizierung der Tumoren ableiten [5].

Die meisten anderen Untersucher unterscheiden zwischen dreifach rezeptornegativen und basalähnlichen Tumoren [Reviews 6 - 8]. Sie machen

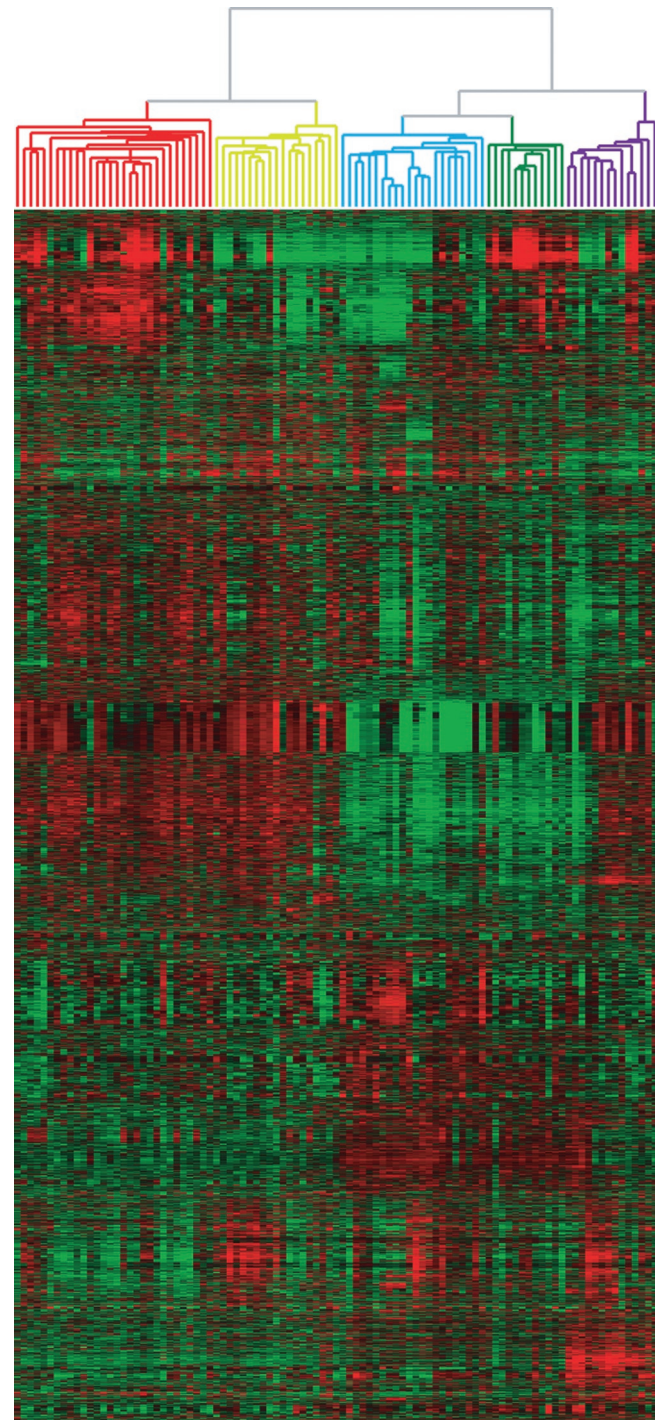


Abb. 1: Gesamtgenexpressionsprofil von dreifach rezeptornegativen Brusttumoren: Hierarchische Cluster-Analyse von 97 dreifach negativen Tumoren und 7 770 Genen. (Kreike B, et al. 2007. Breast Cancer Research 9:R65 doi:10.1186/bcr1771).

deutlich, dass beide Klassifizierungen zwar zahlreiche klinische und pathologische Gemeinsamkeiten aufweisen, sie jedoch aufgrund ihrer unterschiedlichen Definitionen keineswegs identisch sind. Andererseits wurde in praktisch allen einschlägigen Untersuchungen festgestellt, dass der größte Teil basalähnlicher Tumoren zugleich dreifach rezeptornegativ ist und vice versa. Dennoch stimmen beide Kategorien zu einem erheblichen Prozentsatz nicht überein.

Bertucci et al. (2008) analysierten die Genexpressionsprofile von 172 immunhistochemisch als dreifach rezeptornegativ klassifizierten Mammakarzinomen. Als basalähnlich stellten sich 123 Tumoren (71 %) heraus. Die restlichen 49 Fälle verteilten sich auf luminal A (8), luminal B (4), ERBB2-überexprimierend (12), normal brustartig (15) und zu keinem Subtyp passend (10). Demnach bestanden in ca. 30 % der Fälle Diskrepanzen zwischen der immunhistochemischen Einstufung und dem anhand von Microarray-Analysen bestimmten molekularen Phänotyp. Von den basalähnlichen Tumoren hatten 88 % den histologischen Grad III, während das bei den restlichen Tumoren nur bei 51 % der Fall war [9].

Nielsen et al. (2004) berichteten über eine immunhistochemische Charakterisierung von basalähnlichen Brusttumoren. Sie ermittelten dass es sich bei Karzinomen, die ER-, PR- und ERBB2-negativ sowie positiv für Zytokeratin 5/6 und/oder ERBB1 (epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor) sind, mit Sicherheit um basalähnliche Tumoren handelt. Die Sensitivität dieses Kriteriums belief sich auf 76 % [10].

BRCA1 Pathway bei dreifach negativen und basalähnlichen Brusttumoren außer Funktion?

Frauen mit einer Mutation im *BRCA1*-Gen haben ein zumindest 80 %iges Risiko, im Laufe ihres Lebens an Brustkrebs zu erkranken. Ihnen fehlt ein wichtiger Schutz genetischen Materials. Denn wie Bennett et al. (2008) ak-

tuell berichten, beinhaltet der *BRCA1* Pathway wichtige Funktionen beim Erkennen von DNA-Schäden. Die Forscher fanden heraus, dass *BRCA1* in Verbindung mit der Transkription fehlerhafte DNA aufspürt und der Zelle signalisiert, Reparaturmechanismen in Gang zu setzen. Ist dieser Mechanismus gestört, kommt es zur Anhäufung fehlerhaft kopierter DNA und letztlich zur Entstehung bestimmter Krebsentitäten [11].

Brustkrebs, der sich bei Trägerinnen einer *BRCA1*-Genmutation

Spontaner und mit einer *BRCA1*-Mutation verbundener dreifach negativer Brustkrebs sind sich histologisch und auf Transkriptionsebene sehr ähnlich, so dass bei beiden Formen eine Funktionsstörung im *BRCA1* Pathway als ätiologischer Faktor angenommen wird.

– insbesondere den unter 50-Jährigen – entwickelt, ist weit überwiegend dreifach negativ und gleicht im Genexpressionsmuster basalähnlichen Tumoren [12]. Ferner mehren sich die Indizien dafür, dass bei spontanen dreifach negativen und basalähnlichen Mammatumoren zumindest ähnliche Pathomechanismen wie bei *BRCA1*-Mutation-positiven Tumoren beteiligt sind. Auch in sporadisch auftretenden basalähnlichen Tumoren ist der *BRCA1* Pathway trotz des intakten *BRCA1*-Gens nicht funktionstüchtig [13, 14].

Chemotherapien als Hauptsäule der Behandlung bei dreifach rezeptornegativem Brustkrebs

Bis dato gibt es keine spezifische systemische Therapie für dreifach rezeptornegativen Brustkrebs [15]. Demzufolge werden hauptsächlich Standardtherapien auf Anthrazyklin- oder Anthrazyklin/Taxan-Ba-

sis eingesetzt. Allerdings ist die Rate an lokalen und systemischen Rezidiven hoch. Andererseits fanden Carey et al. (2007), dass basalähnliche Tumoren wie auch der ERBB2-Subtyp (ERBB2+/ER-) teils sensitiver gegenüber einer neoadjuvanten Anthrazyklin-basierten Therapie waren als luminal Subtypen. Zugleich war eine höhere Rate an pathologisch kompletten Remissionen zu verzeichnen. In solchen Fällen war auch das Krankheitsergebnis entsprechend günstig. Die Autoren vermuten, dass die allgemein ungünstige Prognose bei basalähnlichen und ERBB2-Tumoren auf die hohe Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs in der Gruppe von Patientinnen zurückzuführen ist, in der kein pathologisch komplettes Ansprechen erreicht wird [16].

Petit et al. präsentierten auf dem ASCO 2007 Daten von retrospektiven Analysen der Wirksamkeit Anthrazyklin-basierter neoadjuvanter Therapien bei dreifach rezeptornegativem Brustkrebs gesondert nach *BRCA1*-Status. Ihre Ergebnisse legen nahe, dass mit einer *BRCA1*-Mutation verbundene dreifach negative Brusttumoren deutlich schlechter auf eine Anthrazyklin-Therapie ansprechen als solche ohne *BRCA1*-Mutation [17]. Das deckt sich mit Ergebnissen aus In-vitro-Untersuchungen, die ergeben haben, dass der Verlust der *BRCA1*-Funktion mit Resistenz gegenüber Anthrazyklinen und erhöhter Sensitivität gegenüber Platinverbindungen verbunden ist.

Gluz et al. (2008) zeigten, dass Patientinnen mit dreifach negativem Hochrisiko-Brustkrebs deutlich von der Therapie mit einem Hochdosisregime (zwei Zyklen E₉₀C₆₀₀ alle zwei Wochen gefolgt von zwei Zyklen E₉₀C₃₀₀₀Thiotepa₄₀₀ alle drei Wochen) profitieren können [18].

Zahlreiche Ansätze für neue Therapieformen bei dreifach rezeptornegativen bzw. basalähnlichen Tumoren

Zu den potenziellen therapeutischen Angriffsziele bei dreifach negativem

Brustkrebs gehören Moleküle wie der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR/ERBB1) und die c-Kit-Tyrosinkinase. Diese Oberflächenrezeptoren setzen bei Aktivierung durch proliferative Signale (Zytokine, Wachstumsfaktoren, Hormone) intrazelluläre Signalkaskaden in Gang, die zu veränderter Genexpression führen. Zwei Phosphorylierungskaskaden stehen hierbei im Zentrum der Entwicklung eines malignen Phänotyps: der mitogen activated Protein (MAP)-Kinase- und der Akt-Reaktionsweg (Abb. 2). Zwischen beiden Signalkaskaden bestehen Querverbindungen. Neben dem EGFR und c-Kit können verschiedene andere Komponenten der proliferativen Signalkaskaden überexprimiert oder mutiert sein und stellen potentielle Ziele zukünftiger Therapieansätze dar.

Etwa 60 % aller dreifach rezeptor-negativen Tumoren exprimieren EGFR [10]. Als Wirksubstanzen, die gegen den Rezeptor gerichtet sind, kommen monoklonale Antikörper (Cetuximab) in Frage, die an die extrazelluläre Domäne des von EGFR binden und die Signaltransduktion inhibieren. Ferner können auch kleinmolekulare Inhibitoren (Gefitinib, Erlotinib) mit ATP um die Bindung an der intrazellulären Tyrosinkinase-Domäne konkurrieren und so die Phosphorylierung des Rezeptors hemmen.

O'Shaughnessy et al. präsentierten auf dem San Antonio Cancer Symposium 2007 Ergebnisse einer Phase-II-Studie zu wöchentlich Irinotecan/Carboplatin mit oder ohne Cetuximab. Die Ansprechraten betragen 49 % bzw. 30 %. Allerdings war die Therapie mit Cetuximab mit erhöhter Toxizität verbunden [19].

Das Rezeptorprotein c-Kit-Tyrosinkinase wird in ca. 30 % der basalähnlichen Mammakarzinome exprimiert [10]. Inwieweit c-Kit-Tyrosinkinaseinhibitoren wie Imatinib oder Desatinib in solchen Fällen wachstumshemmend wirken ist indes noch nicht abschließend geklärt.

Bei *BRCA1*-Mutation- oder *BRCA2*-Mutation-assoziiertem dreifach negativen Brustkrebs gelten PARP-1

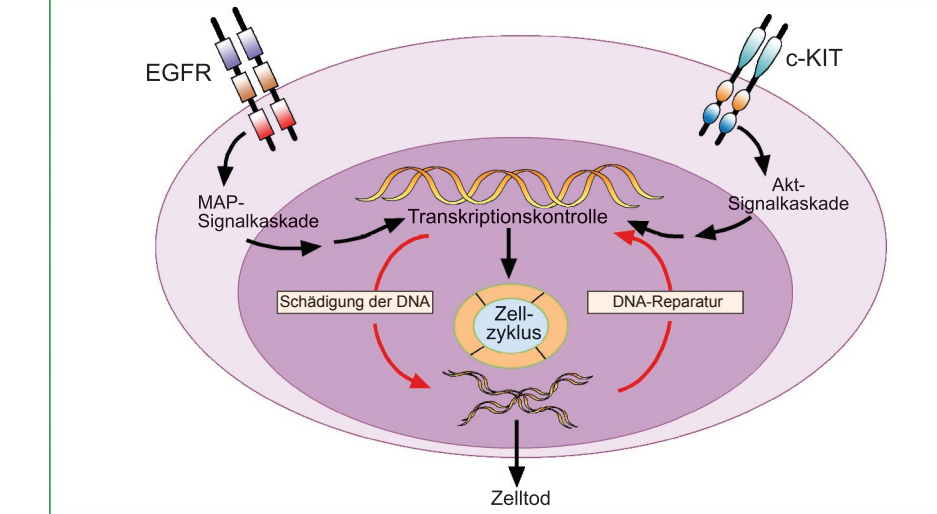


Abb. 2: Mögliche Ansätze zielgerichteter Therapien bei dreifach rezeptor-negativem Brustkrebs: In einem hohen Prozentsatz solcher Tumoren wird der epidermale Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) oder der Stammzellfaktor-Rezeptor c-KIT überexprimiert. Das macht diese Proteine zu Kandidaten für die Entwicklung zielgerichteter Therapien. Dreifach negative Brusttumoren sind weiterhin durch eine hohe Proliferationsrate wie auch verstärkte Signaltransduktion auf der mitogen activated protein (MAP)-Signalkaskade und der Akt-Signalkaskade gekennzeichnet (nach [15]).

(Poly [ADP-Ribose] Polymerase 1)-Inhibitoren als viel versprechende Agentien, um durch Akkumulation von DNA-Doppelstrangbrüchen, die unter normalen Umständen repariert würden, das Apoptoseprogramm auszulösen. *jfs* ◀

Literatur

- [1] Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. 2000. Molecular portrait of human breast tumors. *Nature* 406:747-752.
- [2] Sorlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al. 2001. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10869-10874.
- [3] Weigelt B, Hu Z, He X, et al. 2005. Molecular portraits and 70-gene prognosis signature are preserved throughout the metastatic process of breast cancer. *Cancer Res* 65:9155-9158.
- [4] Wetzels RH, Holland R, van Haelst UJ, et al. 1989. Detection of basement membrane components and basal cell keratin 14 in noninvasive and invasive carcinomas of the breast. *Am J Pathol* 134:571-579.
- [5] Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, et al. 2007. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res* 9:R65 doi:10.1186/bcr1771
- [6] Kang SP, Martel M, Harris LN, 2008. Triple negative breast cancer: current understanding of biology and treatment options. *Curr Opin Obstet Gynecol* 20:40-46.
- [7] Irvin WJ Jr, Carey LA, 2008. What is triple-negative breast cancer. doi:10.1016/j.ejca.2008.09.034
- [8] Reis-Filho JS, Tutt ANJ, 2008. Triple negative tumours: a critical review. *Histopathology* 52:108-118.
- [9] Bertucci F, Finetti P, Cervera N, et al.

2008. How basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer* 123:236-240.

[10] Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. 2004. Immunohistochemical and clinical characterization of basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 10:367-474.

[11] Bennett CB, Westmoreland TJ, Verrier CS, et al. 2008. Yeast screens identify the RNA polymerase II CTD and SPT5 as relevant targets of BRCA1 interaction. *PLoS ONE* 3:e1449.

[12] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. 2003. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:8418-8423.

[13] Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, et al. 2007. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene* 14:2126-2132.

[14] Turner NC, Reis-Filho JS, 2006. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene* 25:5846-5853.

[15] Cleator S, Heller W, Coombes RC, 2007. Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol* 8:235-244.

[16] Carey LA, Dees EC, Sawyer L, et al. 2007. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res* 13:2329-2334.

[17] Petit R, Wilt M, Rodier J, et al. 2007. Are BRCA1 mutations a predictive factor for anthracycline-based neoadjuvant chemotherapy response in triple-negative breast cancers? *J Clin Oncol* 25(suppl):580.

[18] Gluz O, Nitz UA, Harbeck N, et al. on behalf of the West German Study Group. 2008. Triple-negative high-risk breast cancer derives particular benefit from dose intensification of adjuvant chemotherapy: results of WSG AM-01 trial. *Ann Oncol* 19:861-870.

[19] O'Shaughnessy J, Weckstein D, Vukelja S, et al. 2007. Preliminary results of a randomized phase II study of weekly irinotecan/carboplatin with or without cetuximab in patients with metastatic breast cancer. (#308). *Breast Cancer Res Treat* 106(suppl 1):32.