

Testování HER-2/neu u karcinomu žaludku – nová výzva i naděje?

Aleš Ryška, Tomáš Rozkoš, Jan Laco

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN, Hradec Králové

Karcinom žaludku je ve světě druhou nejčastější příčinou úmrtí na malignitu. V rámci jednotlivých stadií může být prognóza nádoru velmi rozdílná, proto se zájem onkologů upíná k hledání nových prognostických a prediktivních markerů, jako je např. HER-2/neu (HER2). Po jeho stimulaci dochází k nastartování signální dráhy, vedoucí ke zvýšené proliferaci, zablokování apoptózy, ztrátě diferenciaci a zvýšení invazivity nádoru. HER2 je negativním prognostickým faktorem, sdruženým s vyšší invazivitou, postižením serózy, metastazováním do uzlin a kratším přežitím, i negativním prediktivním faktorem a cílem pro biologickou léčbu trastuzumabem.

Existují dvě metody detekce HER2 – imunohistochemie (IHC) a in situ hybridizace (ISH). Pozitivita HER2 se u karcinomu žaludku pohybuje v rozmezí 6,8–34 % (průměrně 17,6 %) při stanovení IHC, resp. 7,1–42,6 % (průměrně 19,2 %) pomocí ISH. HER2 je častěji přítomen v intestinálním, než v difuzním typu karcinomu.

Při stanovení HER2 platí některá specifika – za pozitivní považovány jak buňky s kompletní, tak s pouze bazolaterální expresí proteinu, vzhledem k častěji nehomogenní expresi je dolní hranice v resekátech 10 % pozitivních buněk, ale u endobiopsických vzorků je vyžadována přítomnost alespoň jedné skupiny barvících se (2+ nebo 3+) neoplastických buněk.

Klíčová slova: karcinom žaludku, HER-2/neu, c-erbB-2, imunohistochemie, in situ hybridizace.

HER-2/neu testing in gastric carcinoma – new challenge and hope?

Gastric carcinoma is the second cause of cancer related death worldwide. Prognosis significantly varies among patients within the same stage, therefore oncologists urge for identification of new prognostic and predictive markers, such as HER-2/neu (HER2). Stimulation of HER2 triggers molecular pathway resulting in increased proliferation, blocked apoptosis, loss of differentiation and increased tumor invasion. HER2 is a negative prognostic factor, associated with increased invasiveness, serosal involvement, lymph-node metastases and shorter survival, as well as a negative predictive marker and target for trastuzumab treatment.

There are two methods of HER2 detection – immunohistochemistry (IHC) and in situ hybridisation (ISH). Positivity of HER2 in gastric cancer ranges from 6,8 to 34 % (mean 17,6 %) in IHC detection, and 7,1–42,6 % (mean 19,2 %) in ISH detection, respectively. HER2 is more often positive in intestinal than in diffuse type.

HER2 detection in gastric carcinoma shows certain specific features – positive cells show either complete or incomplete basolateral (U-shaped) membranous expression. Due to more frequent inhomogeneity of tumor population, the threshold has been set at 10 % of positive cells in resection specimens, but even one cohesive cluster of positive (2+ or 3+) neoplastic cells is sufficient in biopsy samples.

Key words: gastric carcinoma, HER-2/neu, c-erbB-2, immunohistochemistry, in situ hybridization.

Onkologie 2010; 4(2): 115–119

Úvod

Karcinom žaludku je jedním z nejrozšířenějších zhoubných novotvarů, v současné době je ve světě druhou nejčastější příčinou úmrtí na malignitu. Nejdůležitějším prognostickým faktorem tohoto nádoru je přes všechny diagnostické pokroky stále stadium onemocnění stanovené dle TNM klasifikace. Bohužel, ve většině případů je onemocnění diagnostikováno v pokročilém stádiu, následně terapeutické možnosti jsou tak vzhledem k inoperabilitě do značné míry limitovány a pacienti jsou odkázáni převážně na chemoterapeutickou léčbu. Přes užití celé řady různých typů cytostatik však zůstává přežití u takto léčených pacientů relativně limitované.

Histologická klasifikace karcinomu žaludku

Tradičně je v Laurenově klasifikaci karcinom žaludku dělen na typ intestinální a difuzní. Dle

novějších poznatků je vyčleňován ještě typ smíšený. Zatímco intestinální typ karcinomu žaludku roste spíše solidně, expanzivně a makroskopicky i mikroskopicky velmi věrně napodobuje koloidektální karcinom (obrázek 1A), difuzní typ má tendenci k růstu infiltrativnímu (obrázek 1B) a tím k časnějšímu a rychlejšímu metastazování. Smíšený typ vzniká s největší pravděpodobností ze společného prekurzorového elementu, následně dochází v nádorové populaci ke genetickým a epigenetickým změnám, vedoucím k vytvoření dvou morfologicky odlišných populací (obrázek 1C).

Celá řada studií ukázala, že v rámci jednotlivých stadií téhož histologického typu nádoru může být prognóza různých pacientů velmi rozdílná. Z těchto důvodů se celkem logicky upíná pozornost a zájem onkologů k hledání nových prognostických parametrů a prediktivních markerů, které by umožnily lepší výběr

nemocných vhodných pro jednotlivé typy léčby. Jako jeden z nadějných molekulárních markerů se nabízí HER-2/neu, jehož problematika je velmi podrobně prostudována u karcinomu prsu.

HER2 a metodické možnosti jeho detekce

HER-2/neu (HER2) je protoonkogen lokalizovaný na dlouhém raménku chromozomu 17 kódující transmembránový receptor o molekulové hmotnosti 185 kDa, který patří do širší skupiny HER receptorů (HER1=EGFR, HER2, HER3 a HER4). Molekula HER2 obsahuje 3 části – extracelulární doménu sloužící jako vazebné místo pro dosud neznámý ligand, transmembránovou doménu a intracelulární doménu, která se vyznačuje tyrozinkinázovou aktivitou. Po stimulaci receptoru dochází k jeho homo- či heterodimerizaci (s ostatními receptory z HER rodiny) a fosforylaci a tím k nastartování signální dráhy,

kteřá v konečné fázi vede ke zvýšené proliferaci nádorových buněk, zablokování apoptózy, zástavě diferenciace, ztrátě adhezivity a zvýšení invazivity nádoru.

V posledních 2 dekáдах byla věnována extrémní pozornost otázkám diagnostiky HER2 u karcinomu prsu. Důvodem byl zejména fakt, že HER2 není pouze negativním prognostickým faktorem (zejména u pacientek s postižením lymfatických uzlin), ale rovněž prediktivním faktorem a cílem pro biologickou léčbu trastuzumabem. Celá řada studií prokázala, že efekt léčby touto humanizovanou monoklonální protilátkou velmi úzce koreluje s pozitivitou HER2 stanovenou v nádorové tkáni.

Přesto, že bylo opakovaně prokázáno, že zastoupení HER2 pozitivních karcinomů prsu je nižší, než bylo dříve předpokládáno a data z recentních studií ukazují na relativní podíl mezi 12,5 a 15 % ze všech karcinomů prsu (9, 10), možnost vysoce efektivní cílené biologické léčby HER2 pozitivních nádorů, kdy podání trastuzumabu může eliminovat negativní prognostický vliv overexprese onkoproteinu se všemi jeho důsledky, vyžaduje velmi přesné stanovení tohoto markeru. Proto je v literatuře v posledních letech věnována velká pozornost metodickým úskalím a problematice kontroly kvality laboratorního stanovení HER2 v nádorové tkáni.

Existují dvě principiálně odlišné metody detekce HER2. První je imunohistochemie (IHC), která pomocí polyklonální či monoklonální protilátky vizualizované detekčním systémem stanovuje přítomnost receptoru (proteinu) v membráně nádorových buněk. Druhou je in situ hybridizace (fluorescenční – FISH, nebo chromogenní – CISH či SISH), která stanoví počet kopií genu v jádře nádorové buňky.

IHC hodnocení se opírá o průkaz membránové positivity barvení, kde je hodnocen stupeň intenzity barvení a charakter positivity (inkompletní/kompletní membránová pozitivita) se závěry: negativní (0 – bez jakékoli membránové positivity, 1+ – s inkompletní membránovou pozitivitou), slabě pozitivní (2+ – slabá kompletní membránová pozitivita) a silně pozitivní (3+ – silná kompletní membránová pozitivita), a množství nádorových buněk vykazujících reaktivitu (% nádorové populace). V původních doporučeních byla pro zhodnocení nádoru jako HER2 pozitivního vyžadována kompletní středně silná (2+) či silná (3+) membránová exprese v minimálně 10 % nádorových elementů. Dle současného společného doporučení American Society of Clinical Oncologists (ASCO) a College of American

Pathologists (CAP) je třeba dosažení positivity 2+ či 3+ alespoň ve 30 % buněk.

Pro hodnocení pomocí FISH byl v minulosti jako kritérium amplifikace obecně přijímán poměr mezi počtem kopií genu HER2 a centromerické oblasti chromozomu 17 (CEP17) > 2 . Dle doporučení ASCO a CAP jsou v současnosti jako amplifikované hodnoceny případy s poměrem $HER2/CEP17 > 2,2$. Případy s poměrem $HER2/CEP17 < 1,8$ jsou brány jako neamplifikované a nádory s $HER2/CEP17$ mezi 1,8–2,2 patří do oblasti „šedé zóny“, kde je vyžadováno retestování z jiného bloku a/nebo ověření pomocí IHC.

HER2 byl prokázán jako důležitý prognostický faktor u celé řady maligních nádorů, vedle karcinomu prsu jde zejména o karcinomy ovaria, tlustého střeva, močového měchýře, endometria, jícnu, hlavy a krku, nemalobuněčný karcinom plic a také o karcinom žaludku.

HER2 u karcinomu žaludku

Poprvé byl tento receptor prokázán v buněčné nádorové linii karcinomu žaludku již v roce 1986 (3).

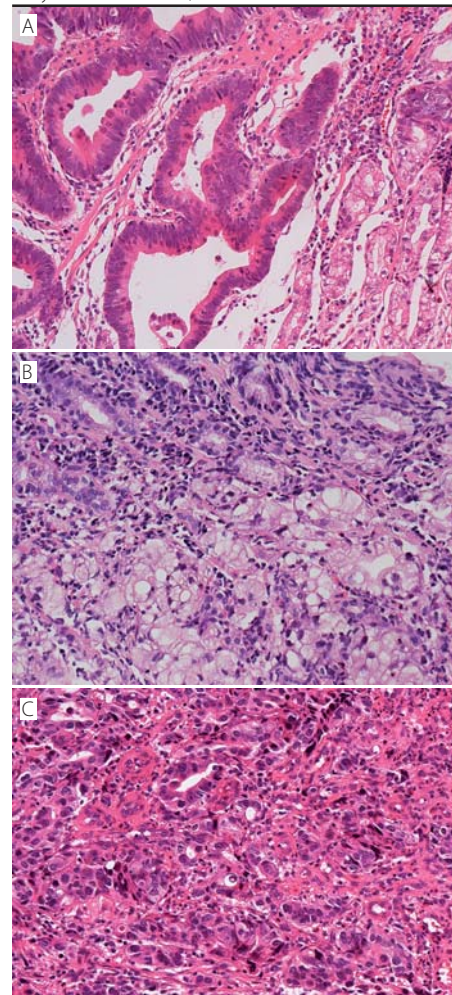
Pozitivita HER2 se u karcinomu žaludku pohybuje v jednotlivých studiích v rozmezí 6,8–34 % (s váženým průměrem 17,6 %) při stanovení pomocí IHC, resp. 7,1–42,6 % (s váženým průměrem 19,2 %) při stanovení pomocí ISH – přehled viz Hofman, et al. (4). Důvodem poměrně značného rozptylu výsledků jednotlivých studií jsou velmi pravděpodobně metodické odlišnosti – použití různých typů primárních protilátek, detekčních systémů a způsobu hodnocení. Metodicky jednotnější studie z posledních let ukazují, že pozitivita HER2 se vyskytuje u zhruba 12–24 % případů (4, 8, 14, 19). Pozitivita HER2 je významně častější (v jednotlivých studiích 5x–8x) u intestinálního typu karcinomu, než u karcinomu difuzního či smíšeného. Pozitivita je také významně častější (1,5x–2x) u karcinomu gastroezofageální junky, než u karcinomu těla a antra.

Prognostický význam exprese HER2 u karcinomu žaludku

Četné studie (1, 5, 16) prokázaly, že HER2 pozitivita je nezávislým negativním prognostickým faktorem u karcinomu žaludku, koreluje s invazivitou nádoru, postižením serózy, metastazováním do lymfatických uzlin (22–24), významně kratším přežitím (19) a až 5x vyšším relativním rizikem úmrtí na nádor (22–24).

Je však třeba dodat, že výsledky jiných studií nejsou takto jednoznačné (2, 15) a prognostický význam HER2 u karcinomu žaludku proto ne-

Obrázek 1. Histologický vzhled jednotlivých typů adenokarcinomu žaludku – intestinální typ (A), difuzní typ (B), smíšený typ (C) – barvení hematoxylinem-eosinem, zvětšení 200x



lze brát jako zcela jednoznačně a nepochybně prokázány.

Zajímavý je rozdíl v prognostickém významu HER2 u karcinomu žaludku, který byl v recentní studii prokázán u intestinálního, nikoli ale u difuzního typu (2). Zatímco u intestinálního typu karcinomu žaludku, který roste spíše expanzivně, může vést zvýšená exprese HER2 ke změně jeho růstu na invazivní a tím přispět ke zvýšení agresivity nádoru a zhoršení prognózy, vykazují difuzní karcinom infiltrativní typ růstu od samého počátku jako důsledek mutace genu pro E-cadherin, která je spojena se ztrátou buněčné kohezivity a invazivitou nádoru (17). Proto nemá overexprese HER2 u difuzního karcinomu signifikantní prognostický význam (2).

Zajímavou se jeví analogie mezi expresí HER2 u jednotlivých subtypů karcinomu prsu a žaludku. Obdobně, jako je HER2 výrazně častěji overexprimován u duktálního než u lobulárního karcinomu prsu, je výrazně častější u intestinálního než u difuzního a smíšeného karcinomu žaludku. Lobulární karcinom prsu a difuzní kar-

HERCEPTIN® 150 mg

Základní informace o přípravku

- **Účinná látka:** trastuzumab
- **Držitel registračního rozhodnutí:** Roche Registration Ltd., Welwyn Garden City, Velká Británie
- **Registrační číslo:** EU/1/00/145/001
- **Indikace:** Léčba metastazujícího karcinomu prsu u pacientů, jejichž nádory ve zvýšené míře exprimují HER2 (human epidermal receptor 2): **a)** v monoterapii u pacientů, kteří byli pro své metastazující nádorové onemocnění již léčeni nejméně 2 chemoterapeutickými režimy; **b)** v kombinaci s paklitaxelem k léčbě pacientů, kteří nedostávali předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění a pro něž léčba antracyklinem není vhodná; **c)** v kombinaci s docetaxelem k léčbě pacientů, kteří nedostávali předchozí chemoterapii k léčbě metastatického nádorového onemocnění; **d)** v kombinaci s inhibitorem aromatázy k léčbě postmenopauzálních pacientek s metastatickým karcinomem prsu s pozitivitou hormonálních receptorů, dosud neléčených trastuzumabem. Léčba pacientů s HER2 pozitivním časným karcinomem prsu po chirurgickém zákroku, chemoterapii (neoadjuvantní nebo adjuvantní) a radioterapii (pokud je to relevantní).
Herceptin v kombinaci s kapecitabinem nebo 5-fluorouracilem a cisplatinou je indikován k léčbě nemocných s HER2-pozitivním metastazujícím adenokarcinomem žaludku nebo gastro-esofageálního spojení, kteří dosud nebyli léčeni pro metastazující onemocnění.
- **Kontraindikace:** Pacienti se známou přecitlivělostí na trastuzumab, myši proteiny nebo na některou z pomocných látek. Pacienti, kteří z důvodu komplikací spojených s pokročilým onkologickým onemocněním trpí klidovou dušností nebo vyžadují podpůrnou kyslíkovou terapii.
- **Upozornění:** Stanovení HER2 musí být provedeno ve specializované laboratoři při zajištění dostatečné validace testovacích postupů. Užití samotného Herceptinu je spojeno s určitým rizikem kardiotoxicity, současné podávání přípravku v kombinaci s antracykliny toto riziko zvyšuje. U nemocných, kterým byly antracykliny podávány v minulosti, je riziko kardiotoxicity nižší než při současném podávání. Bezpečnost pokračování léčby nebo opětovného zahájení léčby přípravkem u pacientů s projevy kardiotoxicity nebyla prospektivně hodnocena. Nicméně u většiny pacientů, u kterých došlo v pilotních studiích s přípravkem k rozvoji srdečního selhání, se klinický stav zlepšil po podání standardní léčby. U většiny pacientů se srdečními příznaky a prokázaným prospěchem z léčby se pokračovalo v týdenní terapii přípravkem Herceptin bez dalších klinických srdečních příhod.
- **Klinicky významné interakce:** Studie lékových interakcí u lidí nebyly s přípravkem Herceptin prováděny. Riziko vzniku interakcí se současně užívanými přípravky proto nemůže být vyloučeno.
- **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky** při léčbě Herceptinem v monoterapii nebo v kombinaci s paklitaxelem byly příznaky spojené s podáním infuzí (obvykle po první infuzi přípravku) - hlavně horečka a/nebo třesavka, méně často nauzea, zvracení, bolest, ztuhlost, bolest hlavy, kašel, závratě, vyrážka, astenie, dušnost; zřídka hypotenze, hypertenze, bronchospasmus, tachykardie, dechová tíseň, angioedém; alergické a hypersenzitivní reakce. Některé z těchto reakcí mohou být závažné. Dalšími čtenějšími nežádoucími účinky byly bolesti břicha, astenie, bolest na hrudi, třesavka, horečka, bolest hlavy, nespecifikovaná bolest; průjem, nauzea, zvracení; artralgie, myalgie, vyrážka, vypadávání vlasů. Byly zaznamenány izolované případy závažných plicních příhod, které v několika případech vedly k úmrtí pacienta. Tyto případy mohou být součástí reakcí spojených s podáním infuze nebo k jejich výskytu může dojít později po podání přípravku. U nemocných léčených přípravkem Herceptin byly zaznamenány některé projevy srdeční toxicity jako snížení ejekční frakce a příznaky srdečního selhání, např. dušnost, ortopnoe, zvýšený kašel, plicní edém a třetí srdeční ozva.
- **Dávkování a způsob podání:** Herceptin by měl být podáván pouze nemocným s nádory se zvýšenou HER2 expresí, nebo nemocný jejichž nádory vykazují amplifikaci genu HER2 zjištěnou a vyhodnocenou odpovídající metodou. Léčba přípravkem Herceptin by měla být zahájena pouze lékařem, který má dostatečné zkušenosti s podáváním cytotoxické chemoterapie. Příslušné informace o dávkování a způsobu podání Herceptinu v monoterapii a ve výše uvedených kombinacích v nasycovacích a následujících dávkách viz platný Souhrn údajů o přípravku Herceptin.
- **Dostupná balení přípravku:** Herceptin 150 mg, prášek pro koncentrát pro přípravu infuzního roztoku v injekční lahvičce.
- **Podmínky uchovávání:** Při teplotě 2 °C až 8 °C.
Po rekonstituci se sterilní vodou na injekce je rekonstituovaný roztok fyzikálně a chemicky stabilní po dobu 48 hodin při teplotě 2 °C až 8 °C.
- **Datum poslední revize textu:** 19. 1. 2010



Herceptin®

trastuzumab

Precision • Power • Promise

1/ Léčba pacientek s HER2 pozitivním metastazujícím karcinomem prsu ve všech liniích léčby

2/ Léčba pacientek s HER2 pozitivním časným karcinomem prsu

3/ Léčba pacientů s HER2 pozitivním metastazujícím adenokarcinomem žaludku



Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. K léčbě karcinomu prsu je léčivý přípravek hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, o úhradě k léčbě karcinomu žaludku dosud nebylo rozhodnuto. Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Herceptin nebo na adrese:

Roche, s.r.o., Dukelských hrdinů 52, 170 00 Praha 7, telefon 220 382 111.

Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) www.emea.europa.eu

cinom žaludku přitom sdílí i další znak a tím je absence exprese E-cadherinu, molekuly, která hraje klíčovou roli v udržování mezibuněčných kontaktů a její ztráta způsobuje právě onen charakteristický difuzní či „plíživý“ charakter růstu. Zdá se tedy, že difuzní karcinom žaludku a invazivní lobulární karcinom prsu mohou využívat podobné signální dráhy, které jsou nezávislé na HER2 stimulaci.

Specifika stanovení HER2 u karcinomu žaludku

Při vyšetřování HER2 u karcinomu žaludku se ukázalo, že tento nádor se v některých aspektech liší od karcinomu prsu a na základě toho musela být upravena kritéria hodnocení pro stanovení pozitivitu.

Prvním odlišným znakem je charakter membránové exprese. Zatímco u karcinomu prsu je u pozitivních případů patrná kompletní pozitivita na celém obvodu nádorové buňky, je u karcinomu žaludku (a to zejména u případů dobře diferencovaného intestinálního subtypu) přítomna exprese, která vynechává luminálně orientovaný úsek buněčné membrány se sekretorickým aparátem a pozitivita je tak omezena pouze na bazální a laterální partie cytoplazmy – obrázek 2A. Proto jsou za pozitivní považovány jak buňky s kompletní, tak pouze bazolaterální (U-shaped) expresí proteinu (4). U difuzního karcinomu žaludku k tomuto jevu nedochází a vzácné případy se HER2 pozitivitou vykazují prakticky vždy kompletní membránovou expresí – obrázek 2B.

Druhou odlišností je distribuce exprese v rámci nádorové populace a z toho vycházející kvantitativní požadavky na stanovení pozitivitu. Zatímco u karcinomu prsu lze v naprosté většině případů pozorovat relativně homogenní expresi napříč nádorovou populací (heterogenita byla pozorována u 1,4 % případů), u karcinomu žaludku je exprese častěji nehomogenní (až u 4,8 % případů) (4) – obrázek 2C. Tento fakt nepředstavuje zásadní problém u vzorků z resekátu, kdy lze zhodnotit relativně rozsáhlé partie nádoru, u endobioptických vzorků by však mohlo dojít vlivem limitovaného množství odebrané tkáně

ke stanovení falešně pozitivního, či falešně negativního výsledku. Ve studii 200 operovaných karcinomů žaludku byla konkordance mezi výsledkem simultánně provedeného IHC vyšetření bioptického vzorku a následného resekátu nádoru 88,5 %; negativní prediktivní hodnota IHC vyšetření z biopsie byla 91,7 %, avšak pozitivní prediktivní hodnota dosáhla pouze 76,7 % (21).

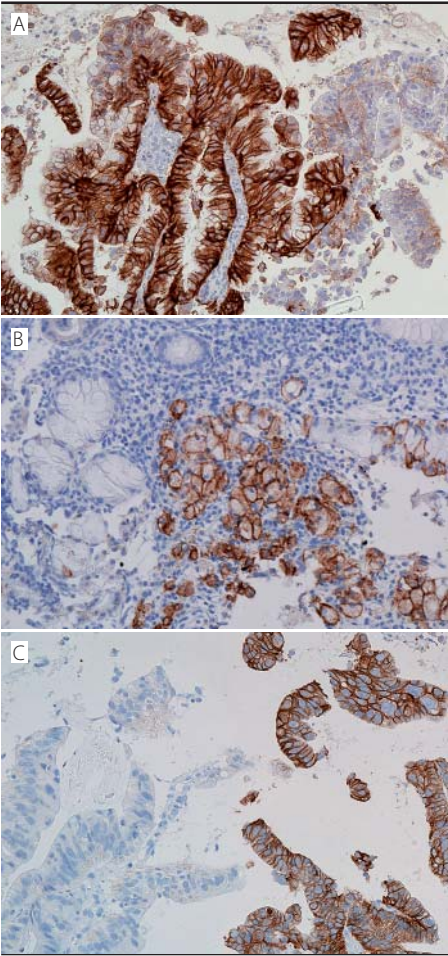
Proto, zatímco u resekátů byla zachována dolní hranice 10 % pozitivních buněk, byl u endobioptických vzorků snížen kvantitativní požadavek pro stanovení pozitivitu nádoru na přítomnost alespoň jedné skupiny barvicích se (2+ nebo 3+) neoplastických buněk, tedy množství, které představuje méně než 10 % populace (4). Kritéria pro hodnocení jsou shrnuta v tabulce 1.

Tato kritéria byla následně použita při výběru pacientů zařazených do studie ToGA (20). Není vyloučeno, že po analýze odpovědi na léčbu trastuzumabem a její korelaci s úrovní exprese/amplifikace HER2 dojde ještě k případné modifikaci kritérií pro stanovení HER2 u karcinomu žaludku.

Konkordance mezi IHC a ISH pozitivitou HER2

Údaje o konkordanci mezi výsledkem IHC a ISH vyšetření u karcinomu žaludku se v literatuře rozcházejí. Na rozdíl od karcinomu prsu, kde zvýšená exprese proteinu je v 95 % případů důsledkem amplifikace daného genu, byly v některých studiích u žaludečních karcinomů prokázány poměrně významné diskrepance mezi výsledky obou metod. Příčin může být celá řada – vzhledem k tomu, jak dramaticky se lišily podíly nádorů se zvýšenou expresí HER2 v jednotlivých studiích (7,1–42,6 %), lze předpokládat, že v důsledku použití různých typů primárních protilátek a detekčních systémů tvořily v některých – zejména starších – studiích určité procento HER2 pozitivních nádorů případy falešně IHC pozitivní. To vedlo ve svém důsledku k výskytu nádorů IHC+/ISH-. Zastoupení takových případů se pohybuje od 0 % (2) až po 45 % (12). Novější studie však ukazují, že při použití ověřených IHC

Obrázek 2. A: Silná imunohistochemická exprese HER2 v intestinálním typu karcinomu žaludku. Část buněk vykazuje kompletní membránovou pozitivitu (hnědé zbarvení), část buněk vykazuje pozitivitu bazolaterální (U-shaped). HerceptestTM, zvětšení 200x. B: Silná exprese HER2 u difuzního karcinomu žaludku – takovéto případy jsou spíše výjimečné. HerceptestTM, zvětšení 200x. C: Část případů vykazuje výraznou heterogenitu exprese, kdy část nádorové populace je pozitivní (pravá část obrázku), část je naopak kompletně negativní (levá část obrázku). HerceptestTM, zvětšení 200x.



postupů (2, 4, 6, 18), lze dosáhnout velmi vysoké shody mezi IHC a ISH u případů silně pozitivních (3+) a negativních (0). U případů s mizivou expresí HER2 (1+) – které jsou hodnoceny také jako negativní – a u případů slabě pozitivních (2+) existuje malé procento nádorů, u nichž je patrná amplifikace genu přes negativitu, resp. sporný výsledek IHC. Příčinou může být např. poškození

Tabulka 1. Kritéria hodnocení IHC průkazu HER2 – srovnání karcinomu prsu a žaludku

	Karcinom prsu				Karcinom žaludku – resekát				Karcinom žaludku - biopsie			
	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+	0	1+	2+	3+
Intenzita barvení	žádná	slabá	slabá/střední	silná	žádná	slabá	slabá/střední	silná	žádná	slabá	slabá/střední	silná
Kompletnost membránové reakce	–	inkompletní	kompletní	kompletní	–	inkompletní	kompletní/bazolaterální	kompletní/bazolaterální	–	inkompletní	kompletní/bazolaterální	kompletní/bazolaterální
% nabarvených buněk	–	jakékoli	> 30 %	> 30 %	–	jakékoli	> 10 %	> 10 %	–	jakékoli	jakékoli	jakékoli

antigenu při fixaci vzorku nádorové tkáně. Proto je doporučováno ověření amplifikace genu HER2 u případů 1+ nebo 2+ (2, 4).

Prediktivní význam HER2 u karcinomu žaludku

Hypotéza, že trastuzumab by mohl mít na buňky karcinomu žaludku obdobné účinky, jako na karcinom prsu, se objevila již před mnoha lety. Již v roce 2001 předpovídali někteří autoři, že v blízké budoucnosti budou realizovány klinické studie testující použití trastuzumabu v kombinaci s dalšími chemoterapeutiky u HER2 pozitivního karcinomu žaludku.

První studie, které proběhly na buněčných nádorových liniích N87, ať již in vitro (19), tak u nádorových xenograftů (11) prokázaly, že trastuzumab blokuje proliferaci nádorových buněk s amplifikovaným HER2.

Studie testující současné použití trastuzumabu s různými typy chemoterapeutik (oxaliplatinu, cisplatinu, 5-FU) na celkem 12 různých buněčných liniích karcinomu žaludku prokázala synergistický, resp. aditivní účinek trastuzumabu na liniích, které vykazovaly HER2 pozitivitu (7), což se projevilo zástavou proliferace (zablokování buněk v G1 fázi) a v snížení exprese molekul HER2 signální dráhy (STAT3, AKT a ERK), zatímco u buněčných linií bez HER2 amplifikace nevykazoval trastuzumab prakticky žádný cytostatický/cytotoxický účinek (7).

Jako nadějně se ukázalo také kazuistické sdělení popisující úspěšný terapeutický zásah u pacienta s karcinomem žaludku, který vykazoval silnou IHC pozitivitu (3+) (13).

Recentně prezentované výsledky studie ToGA prokázaly, že trastuzumab je efektivním a bezpečným v léčbě pokročilého karcinomu žaludku, který vykazuje silnou pozitivitu IHC (3+), nebo slabou pozitivitu (2+) se současnou amplifikací genu stanovenou FISH (20).

Závěr

Lze předpokládat, že v blízké budoucnosti bude HER2 zařazen mezi standardně vyšetřované parametry u karcinomu žaludku, u kterých bude uvažováno o terapii trastuzumabem. Při vyšetřování tohoto markeru, ať již prováděném pomocí IHC, nebo ISH a interpretaci výsledků je třeba mít na paměti některá specifika, která vy-

plývají ze zvláštností karcinomu žaludku. Jedná se zejména o odlišný charakter exprese proteinu v nádorových buňkách (možnost bazolaterální positivity) a dále odlišná kvantitativní kritéria pro stanovení positivity (10% pozitivních nádorových elementů v resekátu, ojedinelá skupina nádorových buněk v endobiopsickém vzorku) vyplývající z častější heterogenity nádorové populace.

Literatura

1. Allgayer H, Babic R, Gruetznert KU, Tarabichi A, Schildberg FW, Heiss MM. c-erbB-2 is of independent prognostic relevance in gastric cancer and is associated with the expression of tumor-associated protease systems. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2201–2209.
2. Barros-Silva JD, Leitao D, Afonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Frago M, et al. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br J Cancer* 2009; 100: 487–493.
3. Fukushige S, Matsubara K, Yoshida M, Sasaki M, Suzuki T, Semba K, et al. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol* 1986; 6: 955–958.
4. Hofmann M, Stoss O, Shi D, Buttner R, van de Vijver M, Kim W, et al. Assessment of a HER2 scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology* 2008; 52: 797–805.
5. Im SA, Lee KE, Nam E, Kim DY, Lee JH, Han HS, et al. Potential prognostic significance of p185 (HER2) overexpression with loss of PTEN expression in gastric carcinomas. *Tumori* 2005; 91: 513–521.
6. Kim MA, Jung EJ, Lee HS, Lee HE, Jeon YK, Yang HK, et al. Evaluation of HER-2 gene status in gastric carcinoma using immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization, and real-time quantitative polymerase chain reaction. *Hum Pathol* 2007; 38: 1386–1393.
7. Kim SY, Kim HP, Kim YJ, Oh do Y, Im SA, Lee D, et al. Trastuzumab inhibits the growth of human gastric cancer cell lines with HER2 amplification synergistically with cisplatin. *Int J Oncol* 2008; 32: 89–95.
8. Lee KE, Lee HJ, Kim YH, Yu HJ, Yang HK, Kim WH, et al. Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 173–179.
9. Lund MJ, Butler EN, Hair BY, Ward KC, Andrews JH, Oprea I, et al. Age/race differences in HER2 testing and in incidence rates for breast cancer triple subtypes: a population-based study and first report. *Cancer* 2010.
10. Marla S, Cardale J, Dodwell DJ, Skene AI, Abram P, Palmieri C, et al. A multi centre audit of HER2 positive Early Breast Cancers and the reasons why patients do not receive Trastuzumab therapy. *Eur J Cancer Suppl.* 2010; 8: 85 Abstract 94.
11. Matsui Y, Inomata M, Tojigamori M, Sonoda K, Shiraishi N, Kitano S. Suppression of tumor growth in human gastric cancer with HER2 overexpression by an anti-HER2 antibody in a murine model. *Int J Oncol* 2005; 27: 681–685.
12. Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, et al. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371–1379.
13. Rebischung C, Barnoud R, Stefani L, Faucheron JL, Mousseau M. The effectiveness of trastuzumab (Herceptin) combined with chemotherapy for gastric carcinoma with overexpression of the c-erbB-2 protein. *Gastric Cancer* 2005; 8: 249–252.
14. Risio M, De Rosa G, Sarotto I, Casorzo L, Capussotti L, Torchio B, et al. HER2 testing in gastric cancer: molecular morphology and storage time-related changes in archival samples. *Int J Oncol* 2003; 23: 1381–1387.
15. Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest* 2001; 19: 554–568.
16. Shinohara H, Morita S, Kawai M, Miyamoto A, Sonoda T, Pastan I, et al. Expression of HER2 in human gastric cancer cells directly correlates with antitumor activity of a recombinant disulfide-stabilized anti-HER2 immunotoxin. *J Surg Res* 2002; 102: 169–177.
17. Shun CT, Wu MS, Lin JT, Wang HP, Hwang RL, Lee WJ, et al. An immunohistochemical study of E-cadherin expression with correlations to clinicopathological features in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 1998; 45: 944–949.
18. Takehana T, Kunitomo K, Kono K, Kitahara F, Iizuka H, Matsumoto Y, et al. Status of c-erbB-2 in gastric adenocarcinoma: a comparative study of immunohistochemistry, fluorescence in situ hybridization and enzyme-linked immunosorbent assay. *Int J Cancer* 2002; 98: 833–837.
19. Tanner M, Hollmen M, Junttila TT, Kapanen AI, Tammola S, Soini Y, et al. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273–278.
20. Van Cutsem E, Kang Y, Shen L, Lordick F, Ohtsu A, Satoh T, et al. Trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) as first-line treatment in human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2)-positive advanced gastric cancer (GC): efficacy and safety results from the Phase III ToGA trial. *Eur J Cancer Suppl* 2009; 7: 7(Abtract 7BA).
21. Yano T, Doi T, Ohtsu A, Boku N, Hashizume K, Nakanishi M, et al. Comparison of HER2 gene amplification assessed by fluorescence in situ hybridization and HER2 protein expression assessed by immunohistochemistry in gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 65–71.
22. Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Fushida S, Kimura H, Tsugawa K, et al. Correlation of c-erbB-2 protein expression and lymph node status in early gastric cancer. *Oncology* 1992; 49: 363–367.
23. Yonemura Y, Ninomiya I, Ohoyama S, Kimura H, Yamaguchi A, Fushida S, et al. Expression of c-erbB-2 oncoprotein in gastric carcinoma. Immunoreactivity for c-erbB-2 protein is an independent indicator of poor short-term prognosis in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 1991; 67: 2914–2918.
24. Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, Fushida S, Kimura H, Ohoyama S, et al. Evaluation of immunoreactivity for erbB-2 protein as a marker of poor short term prognosis in gastric cancer. *Cancer Res* 1991; 51: 1034–1038.

prof. MUDr. Aleš Ryška, Ph.D.

Fingerlandův ústav patologie LF UK a FN
Fakultní nemocnice, 500 05 Hradec Králové
ryskaale@fnhk.cz