

**KIRJALLISUUSKATSAUS DIFFUUSISTI INFILTROIVIEN
ASTROSYTOOMIEN MOLEKYYLIPATOLOGISISTA
ENNUSTETEKIJÖISTÄ**

LK Antti Hyartt
Syventävien opintojen kirjallinen työ
Tampereen yliopisto
Lääketieteen yksikkö
Aivokasvaintutkimusryhmä
Heinäkuu 2012

Tampereen yliopisto
Lääketieteen laitos
Aivokasvaintutkimusryhmä

ANTTI HYARTT: KIRJALLISUUSKATSAUS DIFFUUSISTI INFILTROIVIEN
ASTROSYTOOMIEN MOLEKYYLIPATOLOGISISTA
ENNUSTETEKIJÖISTÄ

Kirjallinen työ, 18s.
Ohjaajat: dos. Hannu Haapasalo ja LT Joonas Haapasalo
Heinäkuu 2012

Avainsanat: prognoosi, genetiikka, diagnostiikka, IDH1, EGFR, p53, Ki-67

Glioomat ovat yleisimpiä keskushermostossa esiintyviä kasvaimia ja niistä voidaan erottaa omaksi ryhmäkseen diffuusisti infiltroivat astrozytoomat, eli astrozytaarista solukkoa sisältävät WHO gradus II-IV kasvaimet. Niihin sairastuu Suomessa vuosittain n. 150-200 ihmistä ja niiden ennuste on huono hoidosta riippumatta. Erityisen heikko ennuste on yleisimmässä astrozytoomassa, gradus IV glioblastoomassa, jossa yli puolet potilaista kuolee ensimmäisen vuoden aikana diagnoosista.

Diffuusisti infiltroivien astrozytoomien diagnostiikassa on käytössä perinteisten histologisten kriteerien (tuma-atypia, mitoosikuviot, mikrovaskulaarinen proliferaatio ja nekroosi) lisäksi molekyylipatologisia merkkiaineita, joilla voidaan osoittaa tiettyjä muutoksia kasvainsoluista. Näillä molekyylipatologisilla merkkiaineilla on diagnostiikan lisäksi prognostista arvoa eli ne ennustavat kasvaimen käyttäytymistä ja potilaan ennustetta.

IDH1-mutaatio on onkogeneesissä aikaisen vaiheen tapahtuma ja sen jälkeiset tapahtumat määrittävät kasvaimen kehittymisen joko astrozyttiseen tai oligodendrogliaaliseen suuntaan. IDH1-mutaatio pystytään osoittamaan histologisella värjäyksellä ja sen esiintyminen liittyy kasvaimen parempaan ennusteeseen. IDH1-mutaatioita ei lähes koskaan esiinny primaareissa glioblastoomissa.

EGFR:n eli epidermaalisen kasvutekijäreseptorin signaalipolun lisääntyminen on yleistä erityisesti primaareissa glioblastoomissa. Tämä voi johtua EGFR-geenin monistumisesta, mutta mukana on usein myös tietty geenin mutaatio. EGFR-monistumat on mahdollista havaita histologisella värjäyksellä ja siitä on apua astrozytoomien diagnostiikassa. EGFR-kohdistettuja täsmälääkkeitä on yritetty kehittää, mutta toistaiseksi tehokasta lääkettä ei ole löytynyt. Prognostisesti EGFR saattaa liittyä aggressiivisempaan kasvaimen käyttäytymiseen.

p53 on tärkeä solunjakautumista ja apoptoosia säätelevä proteiini. Sitä koodaavan p53-geenin mutaatiot ovat yleisiä diffuusisti infiltroivissa astrozytoomissa ja erityisesti sekundaarisissa glioblastoomissa. p53-mutaatiot ja yliekspressio on mahdollista havaita immunohistokemiallisin menetelmin. p53-mutaatiot liittyvät erityisesti matala-asteisiin astrozytoomiin sekundaarisiin glioblastoomiin.

Ki-67 on nukleaarinen proteiini, jonka ekspressoituminen liittyy lisääntyneeseen soluproliferaatioon. Ki-67-antigeeni on mahdollista värjätä MIB-1 vasta-aineella ja laskea ns. MIB-1-proliferaatioindeksi, joka kertoo värjäytymisen prosentteina kaikkien tumien pinta-alasta tai tumien määräst. MIB-1-proliferaatioindeksi korreloi kasvaimen histologiseen gradukseen siten, että pahanlaatuisimmissa kasvaimissa indeksi on korkeampi. Prognostisesti korkea proliferaatioindeksi merkitsee huonompaa ennustetta ja kasvaimen herkempää taipumusta uusiutua.

Tulevaisuudessa astrozytoomien tehokkaan hoidon osana tulee yhä enemmän olemaan yksittäisen kasvaimen geneettisen profiilin selvittäminen, jolloin kasvaimen käyttäytymistä voidaan ennustaa ja lääkehoitoa kohdistaa tiettyyn kasvaimen molekyylipatologiseen muutokseen.

SISÄLLYS

1 JOHDANTO	1
1.1 Diffuusisti infiltroivat astrozytoomat	1
1.1.1 Diffuusi astrozytooma WHO gradus II	1
1.1.2 Anaplastinen astrozytooma	2
1.1.3 Glioblastooma	2
1.2 Diffuusisti infiltroivien astrozytoomien hoito	3
1.3 Syövän synty	4
2 MOLEKYYLIPATOLOGISET ENNUSTETEKIJÄT DIFFUUSISTI INFILTROIVISSA ASTROZYTOOMISSA	6
2.1 IDH1	6
2.2 EGFR	8
2.3 p53	9
2.4 Ki-67	11
3 TULEVAISUUDEN NÄKYMIÄ	13
LÄHDELUETTELO	15
AIHEESEEN LIITTYVÄ ARTIKKELI	

1 JOHDANTO

1.1 Diffuusisti infiltroivat astrozytoomat

Diffuusisti infiltroivat astrozytoomat (WHO gradus II-IV) ovat yleisimpiä keskushermoston kasvaimia ja käsittävät n. 60 prosenttia primaareista aivokasvaimista. Ne ovat myös yleisin glioomatyyppeistä aikuisilla, insidenssi on 5-7 tapausta vuodessa sataatuhatta ihmistä kohti. (Louis ym. 2007) Diffuusisti infiltroivat astrozytoomat esiintyvät tyypillisesti isoaiivohemisfäärissä ja niille on ominaista diffuusi eli epätarkkarajainen kasvutapa sekä infiltrointi ympäröivään terveeseen aivokudokseen. Niillä on lisäksi taipumus pahanlaatuistua ajan myötä sekä uusiutua lähes aina leikkauksesta huolimatta. Diffuusien infiltroivien astrozytoomien histologisessa luokittelussa käytetään WHO:n kriteereitä ja ne erotetaan toisistaan tuma-atypian, mitosikuvien, mikrovaskularisaation ja nekroosin esiintymisen perusteella. Diffuusit infiltroivat astrozytoomat jaetaan graduksen II diffuusiin astrozytoomaan, graduksen III anaplastiseen astrozytoomaan sekä pahanlaatuisimpaan graduksen IV glioblastoomaan. (Louis ym. 2007) Graduksen I pilosyyttinen astrozytooma ei kuulu diffuusisti infiltroiviin astrozytoomiin benignin luonteensa ja erilaisen genetiikkansa takia. Nykykäsityksen mukaan astrozytoomat kehittyvät gliaalisista prekursorisoluista tai neuraalisista kantasoluista (Furnari ym. 2007). Diffuusisti infiltroivat astrozytoomat ovat hieman yleisempiä miehillä kuin naisilla (Louis ym. 2007).

1.1.1 Diffuusi astrozytooma WHO gradus II

Diffuusi astrozytooma (gradus II) on hitaasti kasvava epätarkkarajainen kasvain, joka koostuu ympäristöönsä diffuusisti infiltroivista soluista. Astrozytoomista n. 10-15 prosenttia kuuluu graduksen II ja niiden insidenssi on n. 1,4 uutta tapausta vuodessa miljoonaa ihmistä kohti. (Louis ym. 2007). Gradus II diffuusit astrozytoomat voivat sijaita missä päin keskushermostoa tahansa, mutta yleisimmin ne esiintyvät supratentoriaalisesti jommassakummassa aivopuoliskossa. Yleisin ilmaantumiskä on 30-40 vuotta ja kirurgisen hoidon jälkeinen elinaika keskimäärin 6-8 vuotta. Yleinen ensioire on epileptinen kohtaus, muut oireet vaihtelevat kasvaimen sijainnin mukaan ja niitä voivat olla mm. puhevaikeudet, näön ja tuntoaistin häiriöt, motorisen funktion vaikeudet sekä frontaalilohkon tuumoreissa persoonallisuuden muutokset. (Louis 2007)

Histologisesti graduksen II diffuuseissa astrozytoomissa nähdään hyvin erilaistuneita neoplastisia astrozyyttejä ja jonkin verran tuma-atypiaa. Graduksen II kasvaimessa ei nähdä mitosikuviota, mikrovaskulaarista proliferaatiota eikä nekroosia. Graduksen II astrozytoomat voidaan jakaa kolmeen eri varianttiin: fibrillaarinen, gemistosyyttinen ja protoplasminen astrozytooma. (Louis ym. 2007)

1.1.2 Anaplastinen astrozytooma

Anaplastinen gradus III astrozytooma voi kehittyä alemman graduksen diffuusista astrozytoomasta tai syntyä primaaristi, *de novo*. N. 10 prosenttia astrozytoomista on anaplastisia astrozytoomia ja ne sijaitsevat muiden astrozytoomien tapaan yleensä isoaivojen aivopuoliskossa. Sairastuneiden keski-ikä on 40-50 vuotta ja elinaika leikkauksen ja sädehoidon jälkeen n. 2 - 3 vuotta (Louis ym. 2007). Anaplastisella astrozytoomalla on voimakas taipumus pahanlaatuistua kohti glioblastoomaa, keskimäärin näin tapahtuukin n. kahdessa vuodessa (Ohgaki ym. 2004). Oireet ovat samantyyppiset kuin diffuusissa gradus II astrozytoomassa. Jos kasvain on ehtinyt kasvaa pidempään ja kehittyä alemman graduksen astrozytoomasta, voi potilaalla esiintyä kallonsisäisen paineen nousuun liittyviä oireita. (Louis ym. 2007)

Histologisesti anaplastinen astrozytooma eroaa graduksen II astrozytoomasta mitosikuvioiden ja runsaamman solukkuuden perusteella. Tuma-atypia on myös voimakkaampaa kuin graduksen II astrozytoomassa. Mikrovaskularisaatiota ja nekroosia ei näissä kasvaimissa vielä nähdä. (Louis ym. 2007)

1.1.3 Glioblastooma

Glioblastooma (WHO gradus IV) on pahanlaatuisin ja tavallisin astrozyttinen kasvain, 60-75% astrozyttisistä tuumoreista on glioblastoomia. Se on samalla yleisin yksittäinen aivokasvaintyyppi aikuisilla, vastaten noin 12-15% kaikista kallonsisäisistä kasvaimista. Sen insidenssi on 3-4 / 1000 000. Glioblastooman yleisin sijaintipaikka on aivojen frontotemporaalilohko, josta se voi edetä vastakkaiseen aivopuoliskoon corpus callosumin kautta. Sairastuneiden ikä on yleensä 45-70 vuotta. Glioblastooma voi syntyä suoraan primaarina kasvaimena (primaari glioblastooma) tai kehittyä alemman graduksen astrozytoomasta, jolloin puhutaan sekundaarisesta glioblastoomasta. Sekundaariset glioblastoomat ovat harvinaisempia (n. 5 %) ja niitä esiintyy enemmän nuorilla

potilailla, sairastuneiden keski-ikä on 45 vuotta (Oghaki ym. 2004). Sekundaariset glioblastoomat muodostavat geneettisesti primaareista glioblastoomista eroavan entiteetin (kaavio 1).

Glioblastooman oireet liittyvät kallonsisäisen paineen nousuun ja niitä voi olla mm. pahoinvointi ja päänsärky. Myös epileptiset kohtaukset ovat yleisiä, niitä esiintyy noin kolmanneksella potilaista. (Louis ym. 2007)

Invasiivisen luonteensa takia glioblastooman kirurginen kokonaispoisto on käytännössä mahdotonta. Leikkauksesta, sädehoidosta ja kemoterapiasta huolimatta yli 50 % potilaista kuolee ensimmäisen vuoden aikana (Louis ym. 2007) ja viisivuotisen ennuste on alle 10 % (Stupp ym. 2009).

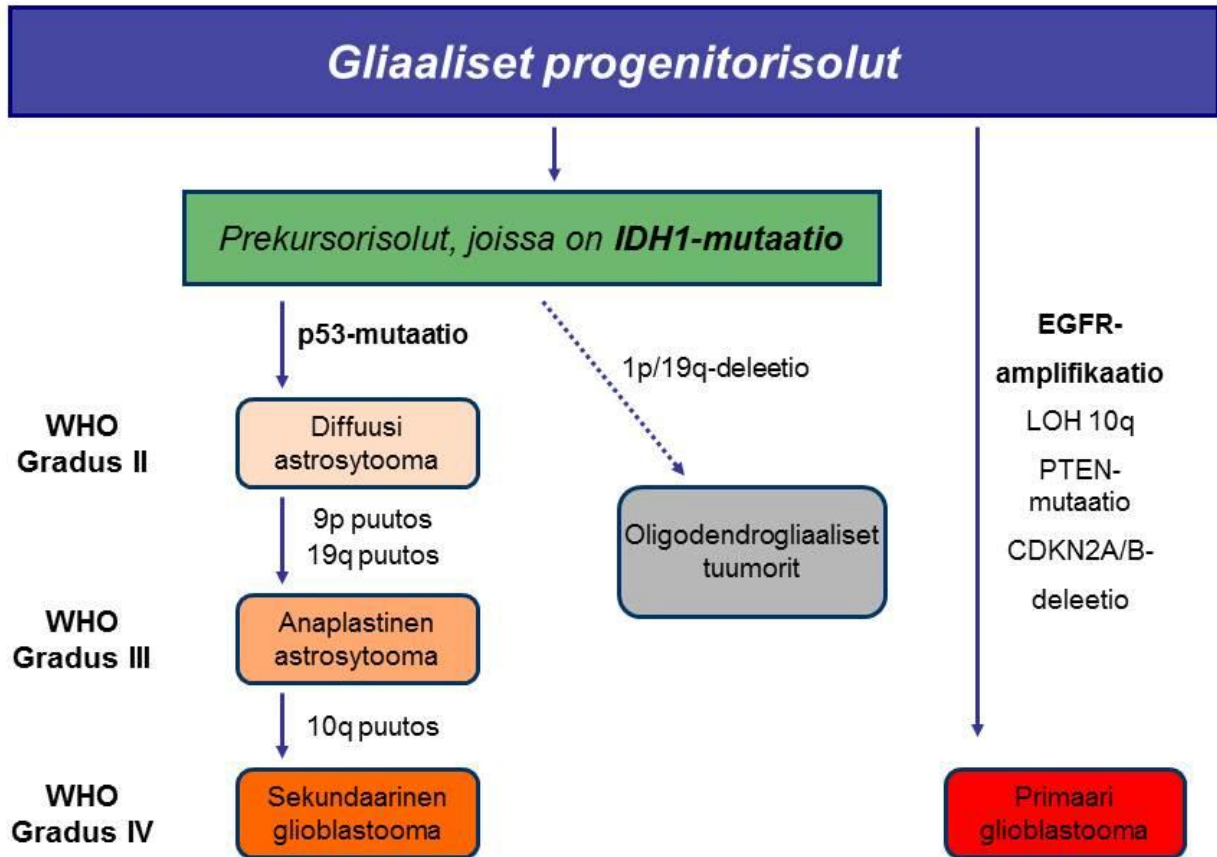
Histologisesti glioblastooman erottaa alemman graduksen astrozytoomista nekroosin ja mikrovaskulaarisen proliferaation ilmeneminen. Siinä ilmenevät näin keskeiset diffuusien astrozytoomien histologiset kriteerit: tuma-atypia, mitosikuviot, mikrovaskulaarinen proliferaatio ja nekroosi. Glioblastoomat ovat histologisesti hyvin kirjava joukko kasvaimia ja niille on määritetty useita eri variantteja: glioblastooma jossa on oligodendrogliaalinen komponentti (GBM-O), pienisolainen glioblastooma, jättisoluglioblastooma ja gliosarkooma.

1.2 Diffuusisti infiltroivien astrozytoomien hoito

Diffuusisti infiltroivien astrozytoomien hoitoon kuuluvat operatiivinen kasvaimen poisto, sädehoito ja kemoterapia. Lähtökohtaisesti kaikki kasvaimet leikataan, mutta sädehoidon ja kemoterapian käyttö riippuu kasvaimen pahanlaatuisuudesta. Graduksen II diffuusissa astrozytoomassa pyritään mahdollisimman täydelliseen kasvaimen poistoon ja seurantaan ilman säde- ja solunsalpaajahoitoa, mutta niitäkin saatetaan käyttää tapauskohtaisesti riippuen potilaan muista ennustetekijöistä (Pignatti ym. 2002). Graduksen III ja IV astrozytoomissa potilaille annetaan leikkauksen lisäksi sädehoitoa, jonka hyöty on osoitettu elinajan pidentämisessä ja uusinnan myöhentämisessä (Laperriere ym. 2002). Graduksen III kasvaimissa kemoterapiaa ei yleensä käytetä lukuun ottamatta uusivia kasvaimia, jolloin hoitona on temotsolomidi. Glioblastoomien (gradus IV) hoitoon kuuluu leikkauksen jälkeinen säde- ja temotsolomidoihin yhdistäminen ja tätä seuraava jaksoittainen temotsolomidilääkitys, jonka on osoitettu pidentävän elinaikaa ja vähentävän taudin etenemistä (Stupp ym. 2005, Preusser ym. 2011). Parantuneen diagnostiikan ja hoitomahdollisuuksien ansiosta maligneja astrozytoomia sairastavien potilaiden ennuste on parantunut huomattavasti kuluneen kahdenkymmenen vuoden aikana.

1.3 Syövän synty

Syövässä erilaiset DNA-muutokset johtavat solun normaalin toiminnan häiriintymiseen ja solun malignisoitumiseen. Lisäksi syöpäsolu kykenee muokkaamaan ympäristöään mm. lisäämällä verisuonten muodostumista ja inaktivoimalla puolustusjärjestelmän toimintaa. Weinberg ja Hanahan kuvasivat Cell-lehdessä (2000) syöpäsolun geenimuutosten liittyvän kuuden poikkeavan ominaisuuden hankintaan: 1) syöpäsolu kykenee jakautumaan ilman ulkoisten kasvusignaalien tukea, 2) syöpäsolu hankkii vastustuskyvyn kasvua estäville signaaleille, 3) syöpäsolu kykenee välttämään apoptoosin, 4) syöpäsolu kykenee ohittamaan solun "jakautumislaskurin", 5) syöpäsolu käynnistää angiogeneesin ja myös ylläpitää sen ja 6) syöpäsolu kykenee kudosisnvaasioon ja metastasointiin. Äskettäin Weinberg ja Hanahan kirjoittivat uuden syövän syntyä koskevan katsauksen (2011) ja laajensivat listaa vielä neljällä uudella kohdalla: 7) Immuunijärjestelmän vasteen ohittaminen tai väistäminen, 8) solujen aineenvaihdunnan ja energiatuotannon muuttaminen, 9) genomin epästabiilisuus ja mutaatiot ja 10) kasvaimen kasvua edistävät tulehdukset.



Kaavio 1. Yleisimmät diffuusien astrozytoomien onkogeneesiin liittyvät molekyylipatologiset muutokset. Lyhennökset: EGFR, epidermaalinen kasvutekijäreseptori; LOH, loss of heterozygosity (heterotsygotian menetys); PTEN, phosphatase and tensin homolog (fosfaasi- ja tensiinihomologi); CDKN2A/B, cyclin-dependent kinase inhibitors 2A ja 2B (sykliinistä riippuvaiset kinaasi-inhibiittorit 2A ja 2B); IDH1, isositraattidehydrogenaasi 1. Tässä katsauksessa käsiteltävät tekijät on lihavoitu. Kaavio on mukailtu artikkelista Molecular Diagnostics of Gliomas (Nikiforova ja Hamilton 2011).

Tässä katsauksessa käsiteltävät molekyylipatologiset muutokset liittyvät syövän syntymekanismiin ja edellä kuvattuihin syöpäsolun ominaisuuksiin. EGFR:n eli epidermaalisen kasvutekijän reseptorin geenimonistuma liittyy edellä mainittuun kohtaan 1 (syöpäsolu kykenee jakautumaan ilman ulkoisten kasvusignaalien tukea), IDH1-mutaatio kohtaan 8 (solujen aineenvaihdunnan ja energiatuotannon muuttaminen) ja p53-proteiinin poikkeava ekspresio kohtaan 3 (syöpäsolu kykenee välttämään apoptoosin). MIB-1-värjäyksellä värjättävän Ki-67-antigeenin rooli syövän synnyssä on vielä epäselvä, mutta sen ilmenemisen solun tumissa tiedetään liittyvän vahvasti soluproliferaatioon (Gerdes ym. 1983), joka puolestaan on useiden edellä kuvattujen syöpäsolun ominaisuuksien lopputulos. Kaaviossa 1 on havainnollistettu käsiteltävien molekyylien suhdetta muihin keskeisiin molekyylipatologisiin muutoksiin diffuusisti infiltroivissa astrozytoomissa.

2 MOLEKYYLIPATOLOGISET ENNUSTETEKIJÄT DIFFUUSISTI INFILTROIVISSA ASTROSYTOOMISSA

2.1 IDH1

IDH1 eli isositraattidehydrogenaasi 1 on sytoplasmisen entsyyminä, joka katalysoi isositraatin oksidatiivista karboksylaatiota α -ketoglutaraatiksi. Reaktion koentsyyminä toimii nikotiiniamidiadeniininukleotidifosfaatti eli NADP⁺ joka pelkistyy reaktiossa muotoon NADPH.

Isositraattidehydrogenaasi 1 eli IDH1-proteiinia koodavan geenin mutaation yhteys aivokasvaimiin tuli esiin vuonna 2008 julkaistussa glioblastoomien (WHO gradus IV gliooma) genomilaajuudessa profiloinnissa (Parsons ym. 2008), jossa etsittiin aikaisemmin tuntemattomia glioblastoomien geenimuutoksia. 12 prosentista tutkittujen 22 glioblastooman genomista löytyi mutaatio IDH1-proteiinia koodaavasta, kromosomissa 2q33 sijaitsevasta geenistä. Erityisesti näitä mutaatioita löytyi nuorilta ja sekundaarista glioblastoomaa sairastavilta potilailta ja näillä potilailla havaittiin muita glioblastoomia sairastavia potilaita parempi ennuste.

Sen jälkeen kun IDH1-mutaation havaittiin liittyvän aivokasvaimiin, sen esiintyvyyttä eri glioomissa on tutkittu useissa eri tutkimuksissa (Yan ym. 2009, Hartmann ym. 2009, Watanabe ym. 2009, Balls ym. 2008) ja niissä kaikissa on päädytty hyvin samankaltaisiin lopputuloksiin: IDH1-mutaatiota esiintyy n. 60-80 prosentissa graduksen II diffuuseja astrozytoomia ja graduksen III anaplastisia astrozytoomia, sekä jopa 88 prosentissa sekundaarisia glioblastoomia. IDH1-mutaatio on yleinen myös oligodendroglioomissa ja oligoastrozytoomissa, joissa sitä esiintyy n. 70-80 prosentissa kasvaimista. Tutkimuksissa todettiin IDH1-mutaation olevan huomattavasti harvinaisempi primaareissa glioblastoomissa (n. 5 %).

IDH1-mutaatio tapahtuu onkogeneesin aikaisessa vaiheessa ja sen jälkeisten tapahtumien kuten p53-mutaation ja 1p/19q-delektion on ajateltu johtavan kasvaimen kehitystä joko astrozyttiseen tai oligodendrosyyttiseen suuntaan (Watanabe ym. 2009 ja kaavio 1).

IDH1-mutaation on osoitettu tutkimuksissa olevan vahvasti yhteydessä potilaan selviytymiseen ja sairastumisikään. Yan ym. (2009) kuvasivat sairastumisiän mediaanin olevan IDH-mutatoituneilla gradus III anaplastisista astrozytoma sairastavilla potilailla 34 vuotta, kun ei-mutatoituneilla se oli 56 vuotta ja vastaavasti gradus IV glioblastoomissa v 32 vs. 59 vuotta ($p < 0.001$). IDH-mutaatiot olivat myös yhteydessä parempaan ennusteeseen verrattuna wild-type IDH-proteiinin kasvaimiin, potilaiden mediaani selviytymisaika oli 31 vs. 15 kuukautta gradus IV glioblastoomissa ja 65 vs. 20 kuukautta gradus III anaplastisissa astrozytomaissa. Myös Hartmann ym. (2010) totesivat IDH1-mutaation olevan yksittäisistä prognostisista tekijöistä kaikista merkittävin ja liittyvän potilaan suotuisaan ennusteeseen ja alhaisempaan ikään.

IDH-mutaatioilla saattaa olla myös prediktivistä arvoa, sillä äskettäin julkaistussa tutkimuksessa (SongTao ym. 2012) havaittiin IDH-mutatoituneiden sekundaaristen glioblastoomien reagoivan paremmin temozolomidihoidolle. Erityisen hyvä hoitovaste oli tuumoreissa, joissa oli lisäksi ns. MGMT-promooterin metylaatio, mutta IDH-mutaatiot ennustivat parempaa hoitotulosta myös itsenäisesti.

Mutatoituneen IDH1-proteiinin värjäykseen on kehitetty tekniikka (Capper ym. 2009), jolla on mahdollista osoittaa IDH1-mutatoituneet proteiinit parafiiniin valetuista näytteistä. Tämä mahdollistaa IDH1-mutaatioiden määrittämisen kliinisissä patologian laboratorioissa ja sitä voidaan käyttää rutiinisti diagnostisena ja prognostisena työkaluna. Koska aikaisemman tutkimustiedon perusteella tiedetään, mitkä kasvaimet yleensä ilmentävät IDH1-mutaatiota, voidaan värjäystä käyttää erotusdiagnostiikassa esim. WHO gradus I pilosyyttisen astrozytoman ja WHO gradus II diffuusin astrozytoman sekä gradus III anaplastisen astrozytoman ja gradus IV primaarin glioblastooman välillä (Capper ym. 2010).

IDH1-mutaation rooli onkogeneesissä on vielä epäselvä, mutta mutaation on osoitettu liittyvän kahden eri tuumorigeneesiä mahdollisesti suosivan reitin aktivoitumiseen. Yleisin IDH1-mutaatio on entsyymin aktiivisessa kohdassa R132 H, jossa arginiinin tilalle on vaihtunut histidiini (Parsons ym. 2008). Tämä johtaa entsyymin normaalin toiminnan estymiseen ja lopputuotteen, α -ketoglutaraatin pitoisuuden laskuun. Zhao ym. (2009) totesivat α -ketoglutaraatin pitoisuuden laskun johtavan puolestaan hypoksiaa indusoivan tekijä alfan (HIF-1 α) pitoisuuden kasvuun. HIF-1 α toimii soluissa transkriptiofaktorina ja vaikuttaa useiden geenien toimintaan, lisäten tuumorin kasvua hypoksisissa olosuhteissa (Semenza 2010). HIF-1 α lisää mm. heat shock proteiini 27:n ja

hiilihappoanhydraasi IX:n transkriptiota, joilla molemmilla tiedetään olevan vaikutusta tuumoreiden synnyssä (Whitlock ym. 2005, Semenza 2010).

Toinen IDH1-mutaation onkogeneesiin mahdollisesti vaikuttava tekijä liittyy entsyymien muuttuneeseen toimintaan. Dang ym. (2009) osoittivat mutatoituneen IDH1-entsyymien katalysoivan α -ketoglutaratin pelkistymistä 2-hydroksiglutaratiksi (2HG) ja IDH1-mutatoituneiden tuumorisolujen 2HG:n pitoisuuksien olevan tavallista korkeampia. 2HG:n korkeiden pitoisuuksien on aikaisemmin osoitettu liittyvän tuumorigeneesiin synnynnäistä 2HG-metabolian anomaliaa sairastavilla potilailla, joten 2HG:n pitoisuuden kasvu voisi osaltaan selittää IDH1-mutaation osuutta tuumorigeneesissä (Dang ym. 2009).

2.2 EGFR

EGFR:n eli epidermaalisen kasvutekijäreseptorin signalointi on aktivoitunut useissa eri syövässä. Aivokasvaimista EGFR-signaalipolun muutoksia nähdään erityisesti glioblastoomissa, joissa se on yleisin amplifikoitunut geeni (Louis ym. 2007).

EGFR eli epidermaalinen kasvutekijäreseptori (toiselta nimeltään ErbB1) on transmembraaninen tyrosiinikinaasireseptori ja kuuluu ErbB-reseptorien perheeseen. EGFR-proteiinia koodaava geeni sijaitsee kromosomissa 7. Normaalitylanteessa EGFR aktivoituu ulkoisen ligandin, kuten epidermaalisen kasvutekijän eli EGF:n tai transformoivan kasvutekijän eli TGF- α :n läsnäollessa (Yarden ja Slwkowski 2001). Ligandin sitoutuminen reseptoriin saa aikaan reseptorin autofosforylaation ja monimutkaisen solunsisäisen signaalijärjestelmän aktivoitumiseen, yleisimpinä signaalireitteinä mm. MAPK- ja Akt-signaloinnit. Signaalipolku johtaa muutoksiin solun geenien transkriptiossa, suosien solun jakautumista. Tämä johtaa mitogeneesiin ja angiogeneesiin lisääntymiseen ja vähentyneeseen apoptoosiin. (Yarden ja Slwkowski 2001)

EGFR-signaalipolun lisääntyminen on yleistä erityisesti primaareissa glioblastoomissa, joissa lisääntynyt signaalipolun aktiivisuus on todettavissa n. 40 prosentissa tapauksista (Louis ym. 2007). Yleensä aktivoituminen johtuu EGFR-geenin monistumisesta ja siihen liittyvästä EGFR:n yliexpressiosta, mutta mukana voi olla myös geenin mutaatio. Noin puolella tapauksista, joissa EGFR-geeni on monistunut, on todettavissa myös yleisin geenin mutatoitunut muoto, EGFRvIII. EGFRvIII-mutatoituneessa reseptorissa on 267 aminohapon deleetio ekstrasellulaaridomeenissa ja

tämä johtaa reseptorin konstitutionaaliseen eli rakenteelliseen aktivaatioon ilman ulkoista ligandia. Ulkoinen ligandi ei pysty kiinnittymään mutatoituneeseen reseptoriin. (Gan ym. 2009)

EGFR-monistumat on mahdollista havaita esimerkiksi valomikroskoopilla suorittamalla kromogeeni-in-situ hybridisaatio. Siitä on näin hyötyä rutiinidiagnostiikassa. EGFR-monistuman löytyminen astroosyyttisestä tuumorista on vahva viite glioblastoomasta, vaikka muut histologiset kriteerit eivät täyttisikään (Nikiforova ja Hamilton 2011).

EGFR-monistuman ja mutaation rooli prognostiikassa on epäselvä, mutta ne saattavat liittyä aggressiivisempaan tuumorin käyttäytymiseen (Jansen ym. 2010). EGFR-muutoksien esiintyminen on kuitenkin huomattavasti yleisempää vanhoilla potilailla, joten se saattaa selittää EGFR-muutosten liittymistä huonompaan ennusteeseen. Srividya ym. (2009) raportoivatkin EGFR:n prognostisen arvon olevan ikä-riippuvainen. Toisaalta osassa tutkimuksia EGFR-muutosten ei havaittu ollenkaan liittyvän potilaan prognoosiin (Newcomb ym. 1998, Stark ym. 2003) Ruano ym. (2009) puolestaan havaitsivat yhtäaikaisen EGFR- ja p53-muutosten vaikuttavan heikentävästi primaaria glioblastoomaa sairastavien potilaiden ennusteeseen ($p < 0.01$). Yhtäaikaiset EGFR-signaalipolun muutokset ja p53-mutaatiot ovat kuitenkin harvinaisia.

EGFR-kohdennettuja täsmälääkkeitä on yritetty kehittää jo pitkään, mutta niiden käyttö on osoittautunut haasteelliseksi (Weller ym. 2012). Periaatteessa EGFR ja erityisesti sen mutatoitunut muoto EGFRvIII ovat erinomainen täsmälääkityksen kohde, sillä EGFRvIII-mutaatiota esiintyy lähes ainoastaan glioomissa. Tyrosiinikinaasi-inhibiittoreiden käyttö hoitomuotona on osoittautunut kuitenkin haastavaksi ja tulokset ovat olleet huonoja (Halatsch ym. 2006). Hoidon on kuitenkin osoitettu tehoavan silloin, kun potilaan toinen syöpägeeni PTEN on intakti (Nikiforova ja Hamilton 2011). Myös rokotuksia mutatoitunutta EGFRvIII-reseptoria vastaan on kokeiltu. Lisää tutkimuksia täsmälääkkeistä tarvitaan niiden yleistämiseksi kliiniseen käyttöön.

2.3 p53

p53 on kromosomissa 17p13.1 sijaitseva tuumorisuppressorigeeni ja sen koodaama p53-proteiini on tärkeä solunjakautumisen ja apoptoosin säätelijä. Normaalisissa solussa p53-proteiini aktivoituu DNA-vaurion ilmaantuessa ja pyrkii pysäyttämään solusyklin G1-faasiin. Vaihtoehtoisesti p53 voi lisätä apoptoosia DNA-korjauksen epäonnistuttua. p53-mutaatiot ovat yleisiä, niitä tavataan noin puolessa kaikista ihmisten syövästä (Nozaki ym. 1999).

p53-proteiinin kyky estää solun jakautumista perustuu sen toimintaan transkriptiofaktorina. Monet solun genotoksisten ja sytotoksisten tapahtumien aikaansaamat stressisignaalit kykenevät aktivoimaan soluissa olevan p53-proteiinin post-translacionaalisesti, jolloin sen puoliintumisaika pitenee ja konformaatio muuttuu aktiiviseen muotoon (Levine ym. 2006). p53 on genomin stabiilin rakenteen säilyttämisen kannalta keskeinen tekijä, sillä se on solun pääasiallinen reitti DNA-vaurioiden tunnistamisessa.

Aktivoitunut p53-proteiini toimii transkriptiofaktorina ja sen toiminta vaikuttaa satojen geenien toimintaan (Levine ym. 2006). Tunnettuja p53-proteiinin kohdegeenejä ovat mm. p21Waf1/Cip1 ja CDKN1A (Furnari ym. 2007, Louis ym. 2007). Lisäksi p53-proteiini pystyy aktivoimaan muita transkriptioon vaikuttavia proteiineja muodostaen näin monimutkaisen solua kontrolloivan järjestelmän (Nozaki ym. 1999). Aktivoituneen p53-proteiinin vaste riippuu laukaisevasta stressisignaalista (Levine ym. 2006). Tuumorisuppression kannalta keskeistä on p53-proteiinin kyky pysäyttää solusykli solunjakautumisen G1-vaiheeseen vahingoittuneen DNA:n korjausta varten ja vaurioiden jo tapahduttua aktivoita solun apoptoosia (Nozaki ym. 1999).

p53-mutaatiot ovat yleisiä diffuusisti infiltroivissa astrozytoomissa ja erityisesti sekundaarisissa glioblastoomissa, joissa p53-mutaatioita on yli 65 prosentissa tapauksista (Louis ym. 2007). Primaareissa glioblastoomissa mutaatiot ovat huomattavasti harvinaisempia ja p53-mutaatioiden ajatellaankin liittyvän pahanlaatuistuvien astrozytoomien onkogeneettiseen polkuun (kaavio 1). p53-proteiinin toiminta voi estyä geenin pistemutaation tai 17p-kromosomin puutoksen takia ja se on onkogeneesissä aikaisen vaiheen tapahtuma (Furnari ym. 2009). p53-mutaatio johtaa mutatoituneen p53-proteiinin kertymiseen soluihin, ja tämä on mahdollista todeta immunohistokemiallisella värjäyksellä.

p53-mutatoituneet solut pääsevät jakautumaan hallitsemattomasti ja ohittamaan apoptoosin (Nozaki ym. 1999). Koska p53-proteiinin toiminta kytkeytyy moniin solun geneettisiin toimintoihin, voi p53-proteiinin normaalin toiminnan puute olla seurausta myös jonkun sitä säätelevän geenipolun poikkeavasta toiminnasta; esimerkiksi MDM2-geenin yliekspressio voi johtaa p53-proteiinin toiminnan menetykseen ja lisääntyneeseen soluproliferaatioon (Louis ym. 2007). MDM2-yliekspressio on yleistä primaareissa glioblastoomissa, joissa sitä esiintyy n. 50 prosentissa tapauksista (Louis ym. 2007).

p53-mutaation vaikutus potilaan ennusteeseen on epäselvä ja tutkimustulokset ovat ristiriitaisia. Osa tutkimuksista (Jaros ym. 1992, Soini ym. 1994) on raportoinut p53-muutosten liittyvän huonompaan ennusteeseen, mutta monissa tutkimuksissa assosiaatiota p53-muutosten ja prognoosin välillä ei ole löydetty (Newcomb ym. 1998, Stark ym. 2003, Srividya ym. 2010). Toisaalta Birner ym. (2002) havaitsivat p53-mutaation liittyvän parempaan ennusteeseen primaaria glioblastoomaa sairastavilla potilailla. p53- ja EGFR-muutokset liittyvät erilaisiin geneettisiin polkuihin (kaavio 1), mutta samaan aikaan esiintyessään niiden on raportoitu huonontavan potilaan ennustetta (Ruano ym. 2009).

p53-proteiinin immunohistokemiallinen värjäys on kliinisessä käytössä patologian laboratorioissa ja sitä voidaan käyttää erotusdiagnostisena työvälineenä, sillä graduksen I pilosyyttisissä astrozytöomissa ei esiinny p53-mutaatioita eikä p53-proteiinin kertymistä soluihin (Haapasalo ym. 1993) ja oligodendrogliaalisissa tuumoreissa värjäytyminen on harvinaisempaa (Gupta ym. 2005). Värjäys tunnistaa sekä normaalin wild-type-proteiinin yliekspression että mutatoituneen proteiinin, jolloin värjäytyminen normaalissa immunohistokemiassa ei suoraan tarkoita p53-mutaatiota (Haapasalo ym. 1993).

2.4 Ki-67 / MIB-1

Gerdes ym. (1983) kuvasivat ensimmäistä kertaa Ki-67-vasta-aineen, jolla he pystyivät osoittamaan tumissa ekspressoituvan Ki-67-proteiinin ja sen yhteyden proliferoiviin soluihin. Samalla ymmärrettiin Ki-67-värjäyksen käytön mahdollisuudet proliferoivia soluja etsittäessä.

Ki-67-geeni sijaitsee kromosomin 10 pitkässä haarassa (Fonatsch ym. 1991). Ki-67-proteiinin tarkka toiminta on useista tutkimuksista huolimatta epäselvää, mutta sen on havaittu

ekspressoituvan eri tavoin riippuen solusyklin vaiheesta. Lepotilassa (G0) olevat solut eivät ekspressoi Ki-67-proteiinia ollenkaan ja sen ilmeneminen on heikkoa G1-vaiheen aikana ja S-vaiheen alussa. S-vaiheen aikana sen ekspressoituminen kuitenkin lisääntyy ja on suurimmillaan mitoosin aikana (G2-M-vaiheet). (Gerdes ym. 1983) Koska Ki-67-proteiini ekspressoituu jakautuvissa mutta ei lepotilassa olevissa soluissa, on sen histologisella värjäyksellä mahdollista etsiä proliferoivia soluja.

Ki-67-vasta-ainevärjäyksen käytännön heikkoutena oli aluksi sen käytön rajoittuminen tuorekudosnäytteisiin ja jääleikkeisiin. Cattoretti ym. (1992) kuitenkin löysivät sille ekvivalentin MIB-1-proteiinin, jonka on mahdollista värjätä Ki-67-proteiinia myös formaliinilla fiksoiduista ja parafiiniin valetuista näytteistä. Nykyään MIB-1-vasta-aine on patologian laboratorioissa laajasti käytössä kasvaindiagnostiikassa. MIB-värjäyksestä johdettu MIB-1-proliferaatioindeksi voidaan määrittää mittaamalla värjäytyminen prosentteina kaikkien tumien pinta-alasta tai tumien määrästä. Indeksien määrittämiseen on olemassa erilaisia menetelmiä, esimerkiksi erityiset kuva-analyysilaitteet, internet-pohjainen ImmunoRatio-ohjelma sekä morfometriset menetelmät.

Useat tutkimukset (Sallinen ym. 1994, Wakimoto ym. 1996, Hsu ym. 1997, Eneström ym. 1998, Neder ym. 2004) ovat osoittaneet MIB-proliferaatioindeksin yhteyden astrozytoomien WHO:n mukaiseen graduukseen. MIB-proliferaatioindeksi nousee kasvaimen pahanlaatuisuuden mukaan; diffuusisti infiltroivissa astrozytoomissa se on matalin graduksen II kasvaimissa ja korkein glioblastoomissa (gradus IV). Vuonna 2006 julkaistussa katsauksessa (Johannessen ja Torp 2006), jossa koottiin yhteen 16 MIB-1-värjäystä käsittelevää tutkimusta, arvioitiin keskimääräiseksi MIB-1-proliferaatioindeksiksi graduksen II, III ja IV kasvaimille 3, 12 ja 16. Arvoissa oli kuitenkin eri tutkimusten välillä ja yksittäisten tutkimustenkin sisällä suurta vaihtelua. Tilastollisesti merkitsevä ero havaittiin erityisesti matalan graduksen II ja korkeampien gradus III ja IV kasvainten välillä.

MIB-1-proliferaatioindeksi korreloi myös potilaan ennusteeseen ja sen itsenäinen prognostinen arvo on osoitettu useissa eri tutkimuksissa (Sallinen ym. 1994, Wakimoto ym. 1996, Schiffer ym. 1997, McKeever ym. 1998). Esimerkiksi Schiffer ym. (1997) havaitsivat graduksen II astrozytoomien sisällä merkittävän selviytymiseron MIB-1-proliferaatioindeksin mukaan, yli 8 prosentin proliferaatioindeksi liittyi huomattavasti heikompaan selviytymiseen (1062 päivää alle 8 proliferaatioindeksillä ja 1686 yli 8 proliferaatioindeksillä, $p=0.0066$). Myös monissa muissa tutkimuksissa on raportoitu tietty MIB-1-proliferaatioindeksin arvo, jonka ylittävillä kasvaimilla on

muita huonompi ennuste. Tämä arvo vaihtelee tutkimuksesta riippuen välillä 1,5-15,3, eli vaihtelu on suurta ja johtopäätösten tekeminen vaikeaa (Johannessen ja Torp 2006).

MIB-1-proliferaatioindeksin prognostisesta arvosta on saatu myös kyseenalaistavia tuloksia ja osassa tutkimuksista se ei ole osoittautunut itsenäiseksi prognostiseksi tekijäksi multivarianalyysissä (Ambroise ym. 2011). Lind-Landström ym. (2012) eivät puolestaan havainneet 109 gradus II diffuusin astrozytooman aineistossa yhteyttä MIB-1-proliferaatioindeksin ja potilaan selviytymisen välillä ollenkaan.

MIB-1-proliferaatioindeksin käyttö diagnostiikassa ja prognostiikassa on hyödyllistä, mutta tarkkoja johtopäätöksiä yksittäisestä tuloksesta ei voi tehdä proliferaatioindeksien suuren vaihtelun ja osin ristiriitaisten tutkimustulosten takia. Gradus IV glioblastooman proliferaatioindeksi saattaa toisinaan olla hyvin matala ja vastaavasti graduksen III anaplastisen astrozytooman korkea. Suurta vaihtelua voivat selittää kasvainten heterogeenisuus, näytteenotto kohta, värjäystekniikka ja vaihtelevat mittausmenetelmät (Johannessen ja Torp 2006). Yhdistettynä kasvaimen histologiaan ja potilaan tietoihin MIB-1-proliferaatioindeksin määrittäminen on kuitenkin järkevä ja paljon käytetty työväline.

3 TULEVAISUUDEN NÄKYMIÄ

Äskettäin julkaistussa katsauksessa (Weller ym. 2012) koottiin yhteen tulevaisuuden hoitomahdollisuuksia glioblastoomien osalta. Siinä missä hoitopäätökset ovat aikaisemmin perustuneet pitkälti potilaan ikään ja toimintakykyyn, saattaa tulevaisuudessa olla mahdollista räätälöidä hoito potilaskohtaisesti kasvaimen geneettisen profiilin mukaan. Katsauksessa mainitut hoitomahdollisuudet on käsitelty alla IDH1:n, EGFR:n ja p53:n osalta.

IDH1-mutatoitunut entsyymi saa entsyymaattisesti uuden aktiivisuuden tuottaen 2-hydroksiglutaraattia, jonka on osoitettu olevan onkogeneesiä suosiva (Dang ym. 2009). Äskettäin on lisäksi havaittu hypoteettinen linkki 2-hydroksiglutaraatin ja DNA-metylaation välillä, jolloin syöpäsolun muuttuneella metaboliolla olisi vaikutusta myös epigenetiikkaan (Weller ym. 2012). Uusi lupaava lääkityksen kohde voisikin olla mutatoituneen entsyymin toimintaan vaikuttaminen. IDH1-mutaation diagnosoiminen saattaa myös helpottaa tulevaisuudessa, sillä mutaation aiheuttama

2-hydroksiglutaraatin pitoisuuden nousun määrittäminen verinäytteestä tai magneettiresonanssispektroskopian avulla on tutkinnan alla.

EGFR-amplifikaatioon ja erityisesti EGFRvIII-mutaatioon vaikuttavat hoidot kinaasi-inhbiittoreilla eivät vielä ole osoittautuneet halutun tehokkaiksi, ja toistaiseksi EGFR:n kliininen arvo on ollut lähinnä diagnostinen. Uusi lupaava tapa vaikuttaa EGFRvIII-mutatoituneisiin soluihin on käyttää immunoterapiaa, ja tutkimuksia rokotteista on jo olemassa (Sampson ym. 2010). Rokotuksen toiminta perustuu elimistön oman humoraalisen immuunivasteen aktivoimiseen käyttämällä EGFRvIII-spesifistä epitooppia, jolloin elimistö pystyy tunnistamaan EGFRvIII-mutatoituneet tuumorisolut ja tuhoamaan ne. Lisätutkimuksia tarvitaan rokotteiden ottamiseksi kliiniseen käyttöön.

Myös p53-yliekspressioon saattaa tulevaisuudessa olla mahdollista vaikuttaa immunogeenisesti rokotteita käyttämällä (Lambeck ym. 2007). Toinen tapa vaikuttaa p53-mutatoituneisiin soluihin on geeniterapia: virusvektoria käyttämällä on soluihin mahdollista palauttaa toimiva p53-geeni, joka vähentää solun onkogeneettisiä ominaisuuksia. Adenovirusvektorin käyttöä p53-geenin palauttamisessa on jo tutkittu (Lang ym. 2003), mutta toistaiseksi se ei ole yltänyt kliiniseen käyttöön. Yksi tapa vaikuttaa p53-mutatoituneiden solujen toimintaan voisi olla käyttää molekyylijä, jotka kykenisivät palauttamaan p53:n aktiiviseen konformaatioon mutaatiosta huolimatta.

Tuumorinsisäinen vaihtelu vaikeuttaa kuitenkin yksittäisen kasvaimen geneettistä profilointia ja täsmälääkityksen antamista, sillä yhdestä kohdasta otettu biopsia ei paljasta kaikkia tuumorin geenimuutoksia ja ne voivat olla hyvin vaihtelevia eri tuumorin alueilla (Gerlinger ym. 2012). Näin tiettyyn geenimuutokseen kohdistuva hoito saattaa toimia vain osassa tuumoria, jolloin hoidolle reagoimaton osa tuumorista valikoituu ja jatkaa kasvamistaan. Useat biopsiat tuumorin eri kohdista ja kasvaimen geneettisen kehityksen seuraaminen pidemmällä aikavälillä voisivat antaa työkaluja heterogeenisten geneettisten ja epigeneettisten muutosten tunnistamiseen.

Tulevaisuudessa on joka tapauksessa tärkeää jatkaa uusien geenimuutosten sekä diagnostisten, prognostisten ja prediktivisten molekyylipatologisten markkereiden etsimistä ja yhä tarkempaa yksittäisen kasvaimen geneettisen profiilin selvittämistä. Koska onkogeneesi on monivaiheinen prosessi ja solu hankkii useita uusia ominaisuuksia, olisi tärkeää tunnistaa mahdollisimman monet onkogeneesin taustalla olevista geenimuutoksista ja pyrkiä vaikuttamaan niihin kuhunkin täsmälääkityksellä. Tällaisella hoidolla olisi ainakin teoriassa mahdollista pysäyttää kasvaimen kasvu ja päästä lähemmäksi parantavaa hoitoa, jota ei nykyään vielä ole saatavilla.

LÄHDELUETTELO

Ambroise MM, Khosla C, Ghosh M, Mallikarjuna VS ja Annapurneswari S. Practical value of MIB-1 index in predicting behavior of astrocytomas. *Indian J Pathol Microbiol* 2011;54:520-5.

Balss J, Meyer J, Mueller W, Korshunov A, Hartmann C ja von Deimling A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol* 2008;116:597-602.

Birner P, Piribauer M, Fischer I, ym. Prognostic relevance of p53 protein expression in glioblastoma. *Oncol Rep* 2002;9:703-7.

Capper D, Weissert S, Balss J, ym. Characterization of R132H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors. *Brain Pathology* 2010;20:245-54.

Capper D, Zentgraf H, Balss J, Hartmann C ja von Deimling A. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. *Acta Neuropathol* 2009;118:599-601.

Cattoretti G, Becker MH, Key G, ym. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992;168:357-63.

Dang L, White DW, Gross S, ym. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature* 2009;462:739-44.

Enestrom S, Vavruch L, Franlund B ja Nordenskjold B. Ki-67 antigen expression as a prognostic factor in primary and recurrent astrocytomas. *Neurochirurgie* 1998;44:25-30.

Fonatsch C, Duchrow M, Rieder H, Schluter C ja Gerdes J. Assignment of the human Ki-67 gene (MK167) to 10q25-qter. *Genomics* 1991;11:476-7.

Furnari FB, Fenton T, Bachoo RM, ym. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment. *Genes Dev* 2007;21:2683-710.

Gan HK, Kaye AH ja Luwor RB. The EGFRvIII variant in glioblastoma multiforme. *Journal of Clinical Neuroscience* 2009;16:748-54.

Gerdes J, Schwab U, Lemke H ja Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *International Journal of Cancer* 1983;31:13-20.

Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, ym. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N Engl J Med* 2012;366:883-92.

Gupta M, Djalilvand A ja Brat DJ. Clarifying the diffuse gliomas: an update on the morphologic features and markers that discriminate oligodendroglioma from astrocytoma. *Am J Clin Pathol* 2005;124:755-68.

Haapasalo H, Isola J, Sallinen P, Kalimo H, Helin H ja Rantala I. Aberrant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: association with proliferation. *Am J Pathol* 1993;142:1347-51.

Halatsch ME, Schmidt U, Behnke-Mursch J, Unterberg A ja Wirtz CR. Epidermal growth factor receptor inhibition for the treatment of glioblastoma multiforme and other malignant brain tumours. *Cancer Treat Rev* 2006;32:74-89.

Hanahan D ja Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.

Hanahan D ja Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144:646-74.

Hartmann C, Hentschel B, Wick W, ym. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol* 2010;120:707-18.

Hartmann C, Meyer J, Balss J, ym. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2009;118:469-74.

Hsu DW, Louis DN, Efird JT ja Hedley-Whyte ET. Use of MIB-1 (Ki-67) immunoreactivity in differentiating grade II and grade III gliomas. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 1997;56:857-65.

Jansen M, Yip S ja Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurology* 2010;9:717-26.

Jaros E, Perry RH, Adam L, ym. Prognostic implications of p53 protein, epidermal growth factor receptor, and Ki-67 labelling in brain tumours. *Br J Cancer* 1992;66:373-85.

Johannessen AL ja Torp SH. The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas. *Pathology Oncology Research* 2006;12:143-7.

Lambeck A, Leffers N, Hoogeboom BN, ym. P53-specific T cell responses in patients with malignant and benign ovarian tumors: implications for p53 based immunotherapy. *International Journal of Cancer* 2007;121:606-14.

Lang FF, Bruner JM, Fuller GN, ym. Phase I trial of adenovirus-mediated p53 gene therapy for recurrent glioma: biological and clinical results. *Journal of Clinical Oncology* 2003;21:2508-18.

Laperriere N, Zuraw L, Cairncross G ja Cancer Care Ontario Practice Guidelines Initiative Neuro-Oncology Disease Site, Group. Radiotherapy for newly diagnosed malignant glioma in adults: a systematic review. *Radiotherapy & Oncology* 2002;64:259-73.

Levine AJ, Hu W ja Feng Z. The P53 pathway: what questions remain to be explored?. *Cell Death & Differentiation* 2006;13:1027-36.

Lind-Landstrom T, Habberstad AH, Sundstrom S ja Torp SH. Prognostic value of histological features in diffuse astrocytomas WHO grade II. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology* 2012;5:152-8.

Louis D, Ohgaki H, Wiestler O, Cavenee W (editors) (2007); WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Lyon: IARC Press.

McKeever PE, Strawderman MS, Yamini B, Mikhail AA ja Blaivas M. MIB-1 proliferation index predicts survival among patients with grade II astrocytoma. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 1998;57:931-6.

Neder L, Colli BO, Machado HR, Carlotti CG, Jr, Santos AC ja Chimelli L. MIB-1 labeling index in astrocytic tumors--a clinicopathologic study. *Clin Neuropathol* 2004;23:262-70.

Newcomb EW, Cohen H, Lee SR, ym. Survival of patients with glioblastoma multiforme is not influenced by altered expression of p16, p53, EGFR, MDM2 or Bcl-2 genes. *Brain Pathology* 1998;8:655-67.

Nikiforova MN ja Hamilton RL. Molecular diagnostics of gliomas. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:558-68.

Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, ym. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progression. *Neuro-oncology* 1999;1:124-37.

Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, ym. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 2004;64:6892-9.

Parsons DW, Jones S, Zhang X, ym. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807-12.

Pignatti F, van den Bent M, Curran D, ym. Prognostic factors for survival in adult patients with cerebral low-grade glioma. *Journal of Clinical Oncology* 2002;20:2076-84.

Preusser M, de Ribaupierre S, Wohrer A, ym. Current concepts and management of glioblastoma. *Ann Neurol* 2011;70:9-21.

Ruano Y, Ribalta T, de Lope AR, ym. Worse outcome in primary glioblastoma multiforme with concurrent epidermal growth factor receptor and p53 alteration. *Am J Clin Pathol* 2009;131:257-63.

Sallinen PK, Haapasalo HK, Visakorpi T, ym. Prognostication of astrocytoma patient survival by Ki-67 (MIB-1), PCNA, and S-phase fraction using archival paraffin-embedded samples. *J Pathol* 1994;174:275-82.

Sampson JH, Heimberger AB, Archer GE, ym. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Journal of Clinical Oncology* 2010;28:4722-9.

Schiffer D, Cavalla P, Chio A, Richiardi P ja Giordana MT. Proliferative activity and prognosis of low-grade astrocytomas. *J Neurooncol* 1997;34:31-5.

- Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010;29:625-34.
- Soini Y, Niemela A, Kamel D, ym. p53 immunohistochemical positivity as a prognostic marker in intracranial tumours. *APMIS* 1994;102:786-92.
- SongTao Q, Lei Y, Si G, ym. IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma. *Cancer Science* 2012;103:269-73.
- Srividya MR, Thota B, Arivazhagan A, ym. Age-dependent prognostic effects of EGFR/p53 alterations in glioblastoma: study on a prospective cohort of 140 uniformly treated adult patients. *J Clin Pathol* 2010;63:687-91.
- Stark AM, Hugo HH, Witzel P, Mihajlovic Z ja Mehdorn HM. Age-related expression of p53, Mdm2, EGFR and Msh2 in glioblastoma multiforme. *Zentralbl Neurochir* 2003;64:30-6.
- Stupp R, Hegi ME, Mason WP, ym. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncology* 2009;10:459-66.
- Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, ym. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352:987-96.
- Wakimoto H, Aoyagi M, Nakayama T, ym. Prognostic significance of Ki-67 labeling indices obtained using MIB-1 monoclonal antibody in patients with supratentorial astrocytomas. *Cancer* 1996;77:373-80.
- Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P ja Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 2009;174:1149-53.
- Weller M, Stupp R, Hegi M ja Wick W. Individualized targeted therapy for glioblastoma: fact or fiction?. *Cancer Journal* 2012;18:40-4.
- Whitlock NA, Agarwal N, Ma JX ja Crosson CE. Hsp27 upregulation by HIF-1 signaling offers protection against retinal ischemia in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46:1092-8.
- Yan H, Parsons DW, Jin G, ym. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009;360:765-73.
- Yarden Y ja Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2001;2:127-37.
- Zhao S, Lin Y, Xu W, ym. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1alpha. *Science* 2009;324:261-5.

Gliomien diagnoosi ja ennuste – molekyyli diagnostiikan mahdollisuudet

Gliomat ovat aivojen tukisolukasvaimia ja primaarisista aivokasvaimista yleisimpiä. Diffuusion gliomien hoito perustuu kasvaimen kirurgiseen poistoon sekä säde- ja solunsalpaajahoittoon. Diagnoosi tehdään kasvaimen histopatologisesta tutkimuksesta, jota voidaan nykyisin täydentää molekyyliagnostisilla tutkimuksilla. Esitämme Tampereen yliopistollisessa sairaalassa vuosina 1983–2009 hoidettujen gliomapotilaiden ennustetta kuvaavia uusia menetelmiä, joista tärkeimpiä ovat *IDH*-mutaation ja 1p/19q-kodeleation osoitukset. Tulevaisuudessa voi olla mahdollista räätälöidä hoitoa potilaskohtaisesti gliomien profiloinnin perusteella.

Uusia gliomatapauksia todetaan Suomessa vuosittain noin kuusi 100 000:ta henkilöä kohhti (1). Gliomapotilaiden hoito on keskittynyt Suomessa yliopistosairaaloihin, joissa toimii eri lääketieteen erikoisalojen muodostamia neuro-onkologisia työryhmiä. Niihin kuuluu tavallisesti neurokirurgi, onkologi, hemat-onkologi, neurologi, neuropatologi ja neuro-radiologi. Tyypillisesti potilaan kliininen oire (esimerkiksi ensimmäinen epileptinen kohta) herättää epäilyn kasvaimesta, mikä johtaa kuvantamistutkimuksiin (magneettikuvaus tai tietokonetomografia). Kuvantamislöydöksen perusteella pohditaan alustavaa diagnoosia ja leikkaushoidosta päättää neurokirurgi. Varsinaisen (histopatologisen) diagnoosin tekee neuropatologi neurokirurgisessa leikkauksessa otetuista kudoksetäytöksistä. Onkologi tekee diagnostisen tiedon perusteella päätöksen aikuispotilaiden säde- ja solunsalpaajahoidosta, hemat-onkologi lapsipotilaiden (1, 2).

Tampereen yliopistollisessa sairaalassa leikataan vuosittain noin 200 primaarista keskus-

hermostokasvainta, joista 37 % on gliomia. Yleisimpiä ovat astrozyttiset kasvaimet (28 %) ja toiseksi yleisimpiä oligodendrogliaalset kasvaimet (7 %). Gliomat ovat lasten yleisin aivokasvainryhmä (3). Tässä katsauksessa keskitytään aikuisten tavallisimpiin gliomiin eli diffuusisti infiltroiviin astrozytoomiin, joiden erilaistumisaste gradus (G) on II–IV ja oligodendrogliaaliin kasvaimiin, eli oligodendrogliooniin ja oligoastrozytoomiin (G II–III). Näistä kaikista käytetään yhteisnimitystä diffuusit gliomat.

Histopatologinen jaottelu

Maailman terveysjärjestön (WHO) keskushermostokasvainluokitus on esitetty **TAULUKOSSA 1**. Gliomat eli aivojen tukisolukasvaimet jaotellaan histologisen solutyyppin mukaan astrozytoomiin, oligodendrogliooniin ja ependymoomiin. Lisäksi kasvaimet jaetaan histologisen erilaistumisasteensa mukaan (G I–IV) (2).

Diffuusisti infiltroivien astrozytoomien, diffuusin astrozytooman (G II) ja anaplastisen astrozytooman (G III), erottelussa käytetään mitosiaktiivisuuden arviointia. Diffuusisti infiltroivissa (G IV) astrozytoomissa eli glioblastoomissa esiintyy lisäksi nekroosia ja poikkeavaa verisuonten proliferaatiota. Jos glioblastooman tiedetään kehittyneen matalamman erilaistumisasteen gliomasta, sitä kutsutaan sekundaariseksi glioblastoomaksi (4). Tavallista on, että diagnoosi saadaan jo ensimmäisessä leikkauksessa, jolloin sitä kutsutaan primaariseksi glioblastoomaksi. Näitä on TAYS:n keskushermostotuumoreista 19 %.

Anaplastisissa oligodendroglioomissa (G III) on runsasta mitosiaktiivisuutta ja poikkeavaa verisuonten proliferaatiota, mikä erot-



TAULUKKO 1. Maailman terveysjärjestön keskushermostokasvainten luokituksen pääryhmät ja yleisimmän ryhmän, neuroepiteliaalisten tuumoreiden alaryhmät (2).

Kasvain	Erilaistumisaste (G)
Neuroepiteliaaliset tuumorit	
<i>Astrozytoomat</i>	
Diffuusi astrozytooma	II
Anaplastinen astrozytooma	III
Glioblastooma	IV
Pilosityttinen astrozytooma	I
Pleomorfinen ksantoastrozytooma	II
<i>Oligodendroglioomat</i>	
Oligodendrogliooma	II
Anaplastinen oligodendrogliooma	III
<i>Sekamuotoiset glioomat</i>	
Oligoastrozytooma	II, III
<i>Ependymoomat</i>	
Ependymooma	II
Anaplastinen ependymooma	III
Myksoapillaarinen ependymooma	I
Subependymooma	I
<i>Suonipunoksen tuumorit</i>	
Papillooma	I
Karsinooma	III
<i>Neuronaaliset ja sekamuotoiset neuronaalis-gliaaliset tuumorit</i>	
	I–III
<i>Käpylisäkkeen tuumorit</i>	
	I–III
<i>Embryonaaliset tuumorit</i>	
Medulloblastooma	IV
Supratentoriaalinen primitiivinen neuroektodermaalinen tuumori (PNET)	IV
Aivokalvojen tuumorit	
Aivo- ja paraspinaalisten hermojen tuumorit	
Lymfoomat ja hematologiset tuumorit	
Itusolutuumorit	
Sellan seudun tuumorit	
Etäpesäkkeet	

taa ne erilaistumisasteen II tuumoreista. Oligoastrozytoomissa on oligodendrogliaalisen komponentin lisäksi selvästi erottuva astrozytoomakomponentti. Näissä sekamuotoisissa kasvaimissa erilaistumisasteet II ja III eroavat toisistaan samojen periaatteiden mukaan kuin ”puhtaissa” oligodendroglioomissa (2).

Ennuste

Tuloksemme perustuvat vuosina 1983–2009 TAYS:n neurokirurgian klinikassa leikattujen glioomapotilaiden kasvainnäytämateriaaliin ja kliinisiin tietoihin (KUVA 1). Diffuusien gliomien ennuste on pitkän tutkimusjakson aikana kohentunut (5).

Vaikka histopatologia antaa yleiskäsityksen gliomien morfologiasta, kasvainten feno- ja genotyypinen heterogeisuus vaikeuttaa diagnostiikkaa ja hoidonmäärittystä (6). Erilaiset kantasolut (progenitori- eli esisolut) ovat ilmeisen keskeisiä gliomien synnyssä. Uudet syöpäsolujen genomia käsittelevät tutkimukset korostavat niiden geneettistä heterogeisuutta (7).

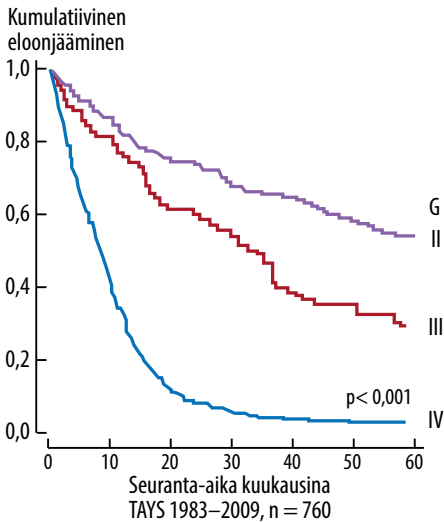
Vakiintuneet molekyylipatologiset markerit

EGFR. Epidermaalisen kasvutekijän reseptori (EGFR, ErbB1) on solukalvon läpäisevä tyrosiinkinasaasireseptori, joka kuuluu ErbB-reseptoriperheeseen. EGFR-proteiinia koodaava geeni sijaitsee kromosomissa 7. Normaalisti EGFR aktivoituu ulkoisen ligandin, kuten EGF:n läsnäollessa. Ligandin sitoutuminen reseptoriin saa aikaan reseptorin autofosforylaation ja solunsisäisten signaalijärjestelmien aktivoitumisen. Tämä johtaa muutoksiin geenien transkriptiossa, solunjakautumisessa, angiogeneesissä ja apoptoosissa (8).

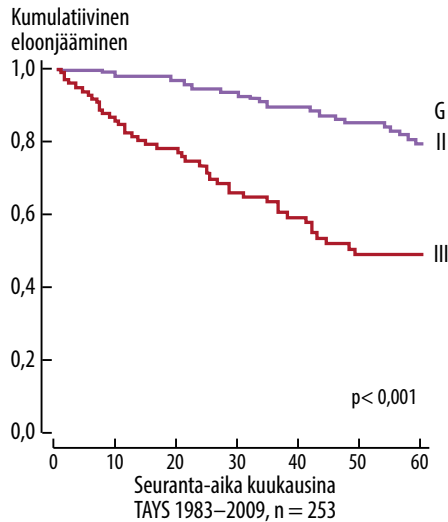
EGFR:n signaali on aktivoitunut useissa eri syövässä. Primaarisissa glioblastoomissa se on yleisin monistunut geeni, ja sen lisääntyneen aktiivisuuden on todettavissa noin 40 %:ssa tapauksista (2). Yleisin mutatoitunut muoto EGFRvIII löydetään noin puolessa näistä tapauksista. EGFRvIII-mutaatio johtaa reseptorin rakenteelliseen aktivaatioon ilman ulkoista ligandia (8).

EGFR-monistumat on mahdollista havaita kromogeeni- tai fluoresenssihybridisaation in situ (CISH tai FISH) avulla. EGFR-monistuman astrozyttisessä tuumorissa on vahva viite glioblastoomasta, vaikka histologiset kriteerit eivät täytyisikään. EGFR-monistuman ja -mutaation merkitys on gliomien ennusteen

A. Astrozytoomat, G II–IV



B. Oligodendrogliaaliset kasvaimet, G II–IV



KUVA 1. A) Diffuusisti infiltroivaa astrozytoomaa sairastavien potilaiden ennuste erilaistumisasteen mukaan. Kahden vuoden kuluttua erilaistumisasteen IV glioblastoomapotilaista on elossa alle 10 % (log rank -testi). **B)** Oligodendrogliaalista kasvainta sairastavien potilaiden ennuste erilaistumisasteen mukaan (log rank -testi). Oligodendroglioomat ja oligoastrozytoomat on esitetty yhdessä. Erilaistumisasteen II kasvaimia sairastavista 80 % ja erilaistumisasteen III kasvaimia sairastavista 50 % on elossa viiden vuoden kuluttua.

kannalta epäselvä, mutta astrozytoomissa ne voivat liittyä aggressiiviseen käyttäytymiseen. Erilaistumisasteen III astrozytoomissa EGFR-monistuma ennustaa lyhyttä elinaikaa (2, 9).

p53 on kasvunrajoitegeeni, joka on tärkeä solunjakautumisen ja apoptoosin säätelijä DNA-vauriossa. *p53*-mutaatioita tavataan jopa puolessa kaikista ihmisten syövästä (10). *p53*-mutaatiot ovat yleisiä diffuusisti infiltroivissa astrozytoomissa ja sekundaarisissa glioblastoomissa, jälkimmäisissä jopa yli 65 %:ssa tapauksista (KUVA 2). Primaarisissa glioblastoomissa mutaatiot ovat harvinaisempia. *p53*-mutaatio on varhainen tapahtuma syövän synnyssä, ja se johtaa mutatoituneen *p53*-proteiinin kertymiseen soluihin (2, 4). Astrozytoomapotilailla ei ole havaittu mutaation yhteyttä elinaikaan (2).

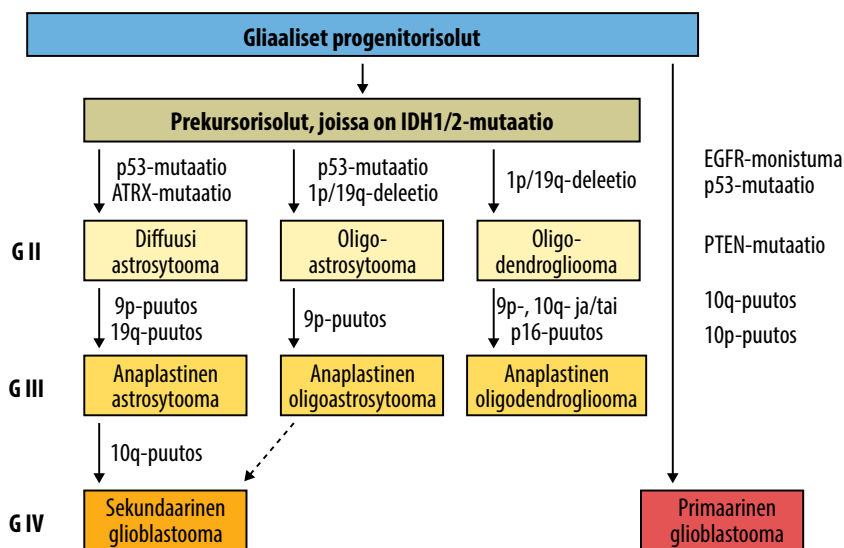
p53-proteiinin immunohistokemiallista värjäystä voidaan käyttää erotusdiagnostiikassa. Erilaistumisasteen I pilosyyttisissä astrozytoomissa ei esiinny *p53*-mutaatioita, ja oligodendrogliaalisisissa tuumoreissa ne ovat harvinaisia (6, 11). Positiivinen *p53*-värjäytyminen ei kuitenkaan suoraan osoita *p53*-mutaatiota, koska normaalin villin tyypin proteiinin yli-

ilmentyminen voi myös aiheuttaa tumavärjäytymisen (11).

Uudet molekyylipatologiset markerit

IDH-mutaatiot. Isositraattidehydrogenaasi 1 (IDH1) on sytoplasmassa ja peroksisomeissa esiintyvä entsyymi, joka on osa sitruunahappokiertoa. IDH1-proteiinia koodaavan geenin mutaatio löydettiin vuonna 2008 julkaistussa genomilaajuisessa profiloinnissa 12 %:sta glioblastoomista (12). *IDH1*-mutaatiota kantavat potilaat olivat nuoria, ja heillä oli parempi ennuste kuin niillä, joilla mutaatiota ei ollut. Lähes kaikki *IDH*-mutatoituneet tuumorit olivat sekundaarisia glioblastoomia. *IDH2*-mutaatiot ovat harvinaisempia kuin *IDH1*-mutaatiot, mutta myös niillä on tärkeä merkitys gliomien synnyssä.

Matalan erilaistumisasteen diffuusit astrozytoomat, oligoastrozytoomat ja oligodendroglioomat ovat todennäköisesti peräisin yhteisistä kantasoluista, joissa on *IDH1*- tai *IDH2*-mutaatio (KUVA 2). *IDH*-mutaatiot ovat gliomien varhaisimpia mutaatioita. Niiden



KUVA 2. Diffuusien gliomien synty ja tyypillisimmät geneettiset poikkeamat (2, 4). Merkillepantavaa on sekundaaristen glioblastoomien kehittyminen isositraattidehydrogenaasi (*IDH*)-mutaatioiden kautta, kun taas primaareissa glioblastoomissa on *EGFR*-monistumia. G = erilaistumisaste

jälkeen *p53*-mutaation myötä kasvaimet etenevät sekundaarisiksi glioblastoomiksi. Vaihtoehtoisesti primaarisissa glioblastoomissa *EGFR*-, *p53*- ja *PTEN*-reitit häiriintyvät, eikä yhteyttä *IDH*-mutaatioihin ole (4). Oligodendrogliaalissa kasvaimissa *IDH*-mutaatiot ovat varhaisia ja edeltävät yleistä 1p/19q-kodeleetiota.

IDH1-mutaatio osoittaa luotettavasti diffuusit erilaistumisasteen II–III gliomat ja sekundaariset glioblastoomat, ja sitä voidaan käyttää gliomien erotusdiagnostiikassa. Primaarisissa glioblastoomissa ja pilosyyttisissä astrozytomoissa mutaatio on harvinainen, ependymoomista se näyttää puuttuvan (13, 14).

IDH1-mutaatio on suotuisa ennustetekijä glioblastoomapotilailla (4, 12, 14). Erilaistumisasteen II ja III astrozytomoissa se toimii itsenäisenä ennustetekijänä (14). Myös oligodendrogliomissa *IDH-1*-mutaatio ennustaa pidempää elinaikaa (KUVA 3) (15). Mutatoitunut *IDH1-R132H*-proteiini voidaan osoittaa immunohistokemiallisesti.

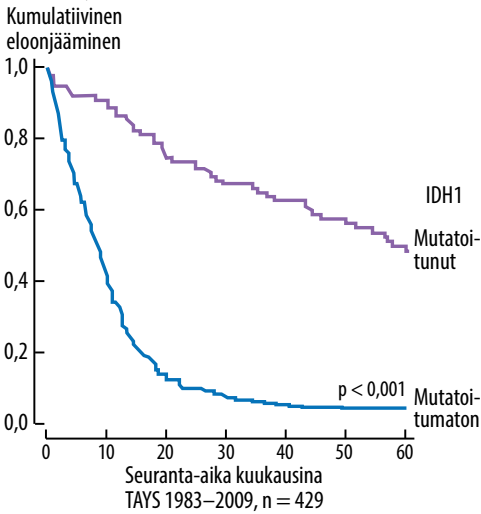
Vastikään julkaistiin *IDH1*-mutaation aiheuttama CIMP-fenotyyppi (CpG island methylator phenotype) (16). Tämä *IDH1*-mutaation seuraus voi aiheuttaa geenien metylaatiota. Tästä esimerkkinä toimii *MGMT*-geenin metylaatio.

1p/19q-kodeleetio. Oligodendroglioomiin liittyvät samanaikaiset deleetiot kromosomeissa 1 ja 19 (1p/19q-kodeleetio). Histologinen jaottelu ”puhtaisiin” oligodendroglioomiin, sekamuotoisiin oligoastrozytomiin ja ”puhtaisiin” astrozytomiin on vaikeaa. 1p/19q-kodelektion määrittäminen erottaa oligodendroglialaiset kasvaimet astrozyttisistä kasvaimista, joissa ei ole kodeleetiota. 1p/19q-kodeleetiota esiintyy 50–80 %:ssa kasvaimista, jotka on diagnosoitu oligodendrogliomiksi (6, 17).

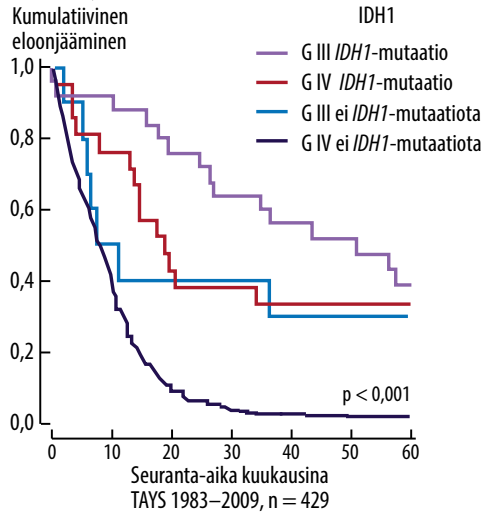
1p/19q-kodelektion esiintyvyys vaihtelee tuumorin erilaistumisasteen mukaan. Kodeleetiota on arviolta 80–90 %:ssa erilaistumisasteen II ja 50–70 %:ssa asteen III oligodendrogliomista. 1p/19q-kodeleetioita esiintyy vain 20–30 %:ssa oligoastrozytomoista. Yksinään esiintyvä 1p- tai 19q-deleetio on yleisempi oligoastrozytomoissa ja astrozytomoissa kuin oligodendrogliomissa (6, 17).

Täydellinen 1p/19q-kodeleetio on sekä prognostinen että prediktivinen markkeri. Se on kääntäen verrannollinen *p53*-mutaatioihin, 10q-deleetioihin ja *EGFR*-monistumiin oligodendrogliaalissa kasvaimissa, ja siihen liittyy suotuisa ennuste, erityisesti potilailla, joita on hoidettu PCV-solunsalpaajalääkityksellä (KUVA 4) (16, 18, 19). Oligoastrozytomial-

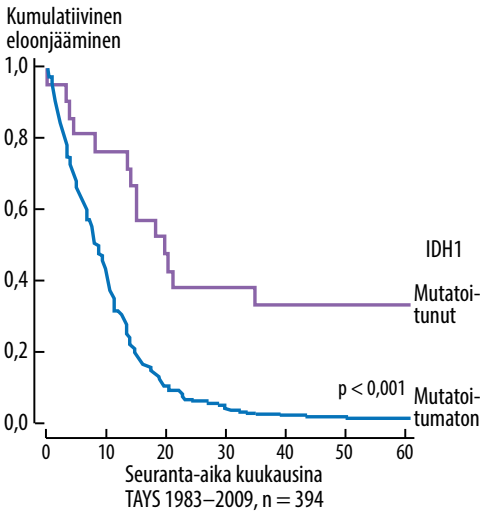
A. Astrozytoomat, G II–IV



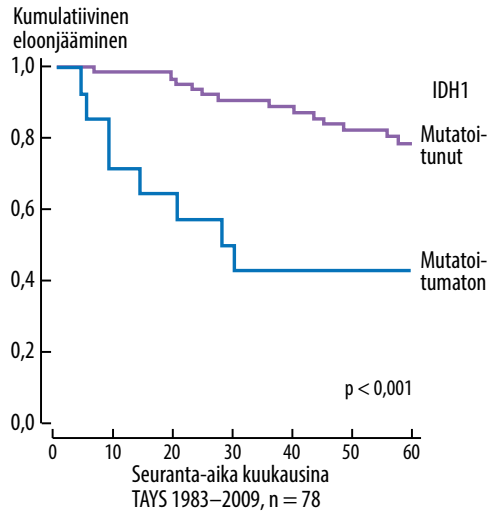
B. Astrozytoomat, G III–IV



C. Glioblastooma



D. Oligodendrogliaaliset kasvaimet, G II–III



KUVA 3. A) *IDH1*-mutaatiostatus erilaistumisasteen II–IV astrozytoomissa. B) *IDH1*-mutaatiostatus erikseen erilaistumisasteen III ja IV astrozytoomissa. Erityisen merkillepantavaa on *IDH*-mutatoinnuttien (G III) potilaiden ennuste, joka on huonompi kuin *IDH*-mutatoinnuttien (G IV) potilaiden ennuste. Vastaavanlainen havainto on julkaistu aiemmin (26). Glioblastoomissa (KUVA C) ja oligodendrogliaalisisissa kasvaimissa (KUVA D) *IDH1*-mutaatio ennustaa pidempää elinajanodotetta. G = gradus

kodelektion ennustearvo on epäselvä. Oligoastrozytoomat ovat heterogeeninen kasvainryhmä, jossa 1p/19q-tila ja *IDH1*-mutaatiot näyttävät olevan merkittäviä tekijöitä (20).

MGMT-metylaatio. Alkylivoivaa solunsalpaajahoitoa on käytetty pahanlaatuisten gliomien hoidossa jo pitkään. Alkylivoiva temotsolomidi metyloi pääasiassa guaniin nukleotidin O⁶-positiota ja johtaa solukuolemaan (17). Soluilla on temotsolomidin vaiku-

tuksia vastustava DNA:n korjausmekanismi, MGMT (O⁶-metyyliguaaniini-DNA-metyyli-transferaasi). Glioblastoomien ensisijainen mekanismi MGMT:n ilmentymisen vaimentamiseksi on MGMT-geenin promoottori-alueen metylaatio (21).

MGMT-geeni on metyloitunut 41–45 %:ssa glioblastoomista (22). Näissä kasvaimissa se ennustaa hyvää solunsalpaajahoitotulosta. Toisaalta ne potilaat, joiden kasvainten

YDINASIAT

- ▶ Diffuusien gliomien diagnostiikkaan on saatu uusia molekyylipatologisia menetelmiä, joita voidaan osin hyödyntää myös syöpähoitojen suunnittelussa.
- ▶ Tärkeimpiä uusia molekyylipatologisia menetelmiä ovat *IDH*-mutaation ja 1p/19q-kodelektion osoittamiset kasvaimesta.
- ▶ Laajan geneettisen profiloinnin perusteella räätälöity hoito lienee syövän hoitomalli tulevaisuudessa.

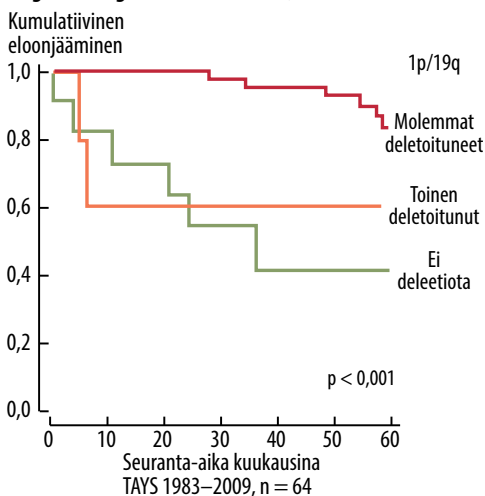
MGMT on metyloimaton, hyötyvät temotsolomidihoidosta, joskin vähemmän (17). MGMT-metylaatio ennustaa myös suotuisaa sädehoitovastetta, ja se voikin olla merkki ennusteeltaan suotuisasta glioblastoomasta ylipäänsä. Tulos on samansuuntainen myös lasten glioblastoomissa (17).

Anaplastisten oligodendrogliaalisten kasvaimien MGMT-metylaatio korreloi voimakkaasti 1p/19q-kodelektion esiintymisen kanssa: 1p/19q-tilaltaan normaalien kasvainten metylaatio on vähäistä ja MGMT-metylaatio on myös anaplastisten oligodendrogliaalisten suotuisa ennustetekijä (17, 23, 24).

Molekyylidiagnostiikka hoidon suunnittelussa

Erityisesti kasvaimen *IDH1*-mutaatioiden, 1p19q-kodelektion ja MGMT-metylaation

Oligodendrogliaaliset kasvaimet, G II–III



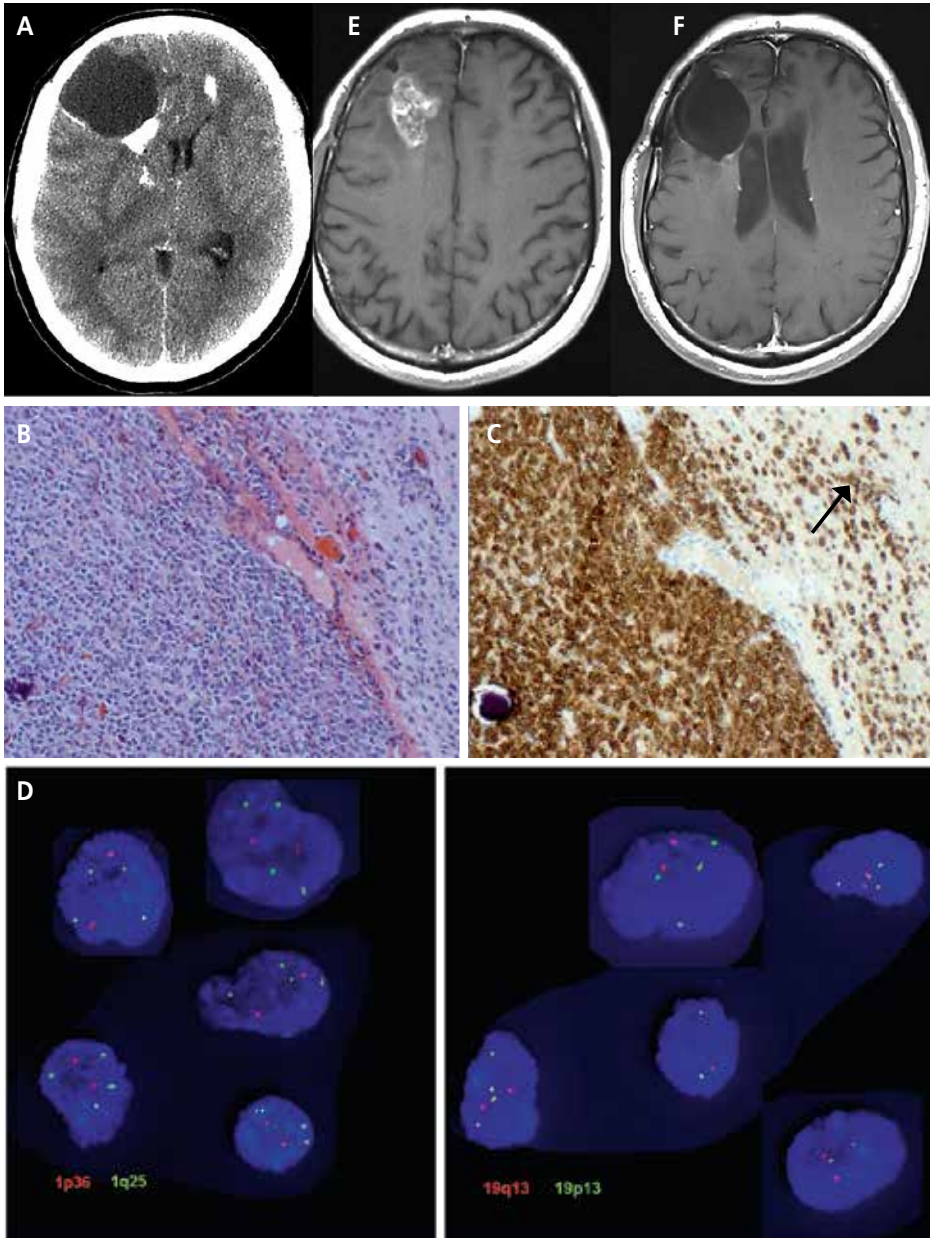
KUVA 4. 1p/19q-kodelektio ennustaa oligodendrogliaalisten potilaiden eloonjäämistä. Potilailla, joilla on kodelektio, on paras ennuste (log rank -testi). G = erilaistumisaste

määritykset tuovat arvokasta lisätietoa aivokasvainpotilaiden hoidon suunnitteluun. Selkein hoitoa ohjaava vaikutus on erilaistumisasteen III oligodendrogliaalisten 1p19q-kodelektiolla. Näitä potilaita kannattaa sädehoidon lisäksi hoitaa solunsalpaajilla (15, 19, 24). Kasvaimen *IDH1*-tilan ennustearvo voi tukea päätöksentekoa tilanteissa, joissa pohditaan hoidon tehostamista tai keventämistä. MGMT-metylaatiotilasta voi puolestaan olla apua etenkin iäkkäiden (yli 65-vuotiaiden) astrozytomaapotilaiden (G III–IV) hoitomuotoa valittaessa. Temotsolomidista vaikuttavat

TAULUKKO 2. Aivokasvainten molekyylidiagnostiikka Tays:ssa ja Fimlab-laboratoriossa.

Kasvain	Epigenetiikka	Kromosomi	Geeni	Proteiini
AII		1p/19q		IDH1
AIII	MGMT	1p/19q	<i>EGFR</i>	IDH1
GBM	MGMT		<i>EGFR</i>	IDH1
OAI		1p/19q		IDH1
OAI		1p/19q		IDH1
GBM-O	MGMT	1p/19q	<i>EGFR</i>	IDH1
OII		1p/19q		IDH1
OIII		1p/19q		IDH1

All = G II astrozytoma, OA = oligoastrozytoma, GBM-O = glioblastooma, jossa oligodendrogliaalinen komponentti, O = oligodendrogliooma.



KUVA 5. A) Aiemmin terveen 39-vuotiaan miehen pitkäaikaisen päänsäryn selvittelyssä tehty pään varjoainetehosteinen tietokonetomografia (TT), jossa nähdään oikean otsalohkon kystinen ja varjoainetta lataamaton kasvain. Valkoiset täplät ovat kasvaimen kalkkia molemmissa otsalohkoissa. **B)** Potilaalle tehtiin kasvaimen osapoisto. Kasvaimesta otetussa histologisessa näytteessä havaittiin runsassoluinen oligodendrogliaalinen kasvain, erilaistumisasteen III oligodendrogliooma. **C)** IDH1-mutaatiospesifisessä värjäyksessä havaittiin vahvasti positiivisen, runsassoluisen kasvainmassan vieressä myös yksittäisiä, infiltroivia IDH1-positiivisia soluja (nuoli). **D)** FISH-tutkimuksessa havaittiin 1p19q-kodeleetio. Testialueiden koettimet

1p36 ja 19q13 on leimattu punaisella ja verrokki-alueiden 1q25 ja 19p13 vihreällä fluoresenssivärillä. Kodeleetio näkyy suhteellisena siten, että deleetio-positiivisessa tumassa havaitaan kaksi punaista testialueen hybridisaatiosignaalia, kun vastaavasti vihreitä verrokki-alueen signaaleja havaitaan neljä. Potilas sai 60 Gy:n sädehoidon. **E)** Aivojen magneettikuvauksessa (MK) 24 kk myöhemmin nähdään varjoainetta lataava uusiutunut kasvain oikeassa otsalohkossa. Potilas sai kuvauksen jälkeen solunsalpaajia, ja hänet leikattiin 4 v ja 4 kk ensimmäisen leikkauksen jälkeen. **F)** Potilaan MK 7 v ja 3 kk ensimmäisen TT:n jälkeen. Uusiutunutta kasvua ei ole. Potilas on hyväkuntoinen, neurologisesti oireeton ja seurannassa.

TAULUKKO 3. Aineistomme 226 diffuusisti infiltoineen astroosytoman itsenäiset ennustetekijät Coxin suhteellisen vaaran regressiomallissa.

	p-arvo	riskisuhde	95,0 %:n luottamusväli riskisuhteelle	
			alaraja	yläraja
IDH1	0,002	0,306	0,144	0,651
Gradus	0,005	1,723	1,179	2,517

IDH1 (mutaatio / ei mutaatiota) ja proliferaatiosuhde (Ki-67/MIB-1) (alle 5, 5–10, yli 10), sisällytetty malliin, WHO:n gradus II–IV, EGFR-monistumat (kyllä/ei), p53 (negatiivinen/positiivinen).

TAULUKKO 4. Aineistomme 32 diffuusin oligodendrogliaalisen tuumorin itsenäiset ennustetekijät Coxin suhteellisen vaaran regressiomallissa.

	p-arvo	riskisuhde	95,0 %:n luottamusväli riskisuhteelle	
			alaraja	yläraja
IDH1	0,017	0,049	0,004	0,584
Gradus	0,014	21,223	1,1839	244,897

IDH1 (mutaatio / ei mutaatiota), proliferaatiosuhde (Ki-67/MIB-1) (alle 5, 5–10, yli 10) sisällytetty malliin, WHO:n gradus II–III, 1p/19q-kodeleetio (kodeleetio, toinen deletoitunut, ei deleetiota).

hyötyvän erityisesti ne iäkkäät potilaat, joiden kasvaimessa MGMT on metyloitunut (25).

TAYS:ssa diffuusien glioomien diagnostiikassa käytettävät analyysit on esitetty **TAULUKOSSA 2**. Monimuuttuja-analyysit osoittavat, että IDH1-mutaatiotila ja histologinen erilaistumisaste ovat tutkimusmenetelmistä ennusteen kannalta tärkeimmät (**TAULUKOT 3** ja **4**). Astroosytomat ja oligodendrogliaaliset kasvaimet voidaan jakaa pelkästään histologisen erilaistumisasteen, 1p19q-kodeleetion ja IDH1-mutaatiotilan mukaan erilaisiin prognostisiin ja joissain tilanteissa myös prediktiviin ryhmiin. **KUVASSA 5** esitetään esimerkkinä potilastapaus.

Lopuksi

TAYS:n glioomapotilaiden pitkäaikaistulokset eivät kerro kasvainten nykyistä ennustetta vaan kuvastavat eri biomarkkereiden toimivuutta diagnostiikassa ja ennusteen arvioinnissa. Tulevaisuudessa voidaan geneettisen profiiloinnin mukaan räätälöidä kasvaimen hoitoa entistä potilaskohtaisemmin (7). Glioomissa esiintyvä vaihtelu vaikeuttaa kuitenkin yksittäisen kasvaimen geneettistä määrittämistä ja hoidon suunnittelua, sillä yhdestä kohdasta otettu näyte ei paljasta kaikkia geenimuutoksia. Ai-

noastaan yhteen geenimuutokseen, esimerkiksi gliooman IDH1-mutaatioon, suunniteltu hoito saattaa toimia vain osassa syöpäsoluista. Tämä on havaittu monissa uusissa yksittäisiin geenimuutoksiin kohdistuvissa syöpähoidoissa. Laajan geneettisen profiiloinnin perusteella räätälöity terapia lienee tulevaisuudessa syöpävän hoitomalli. Nykyinen molekyyli diagnostiikka on tätä ajatellen glioomissa vasta lähtökuopissaan. ■

JOONAS HAAPASALO, LT, neurokirurgian erikoistuva lääkäri

TAYS, neurokirurgian vastuuyksikkö ja Fimlab Laboratoriot Oy

ANTTI HYARTT, LK, tohtorikoulutettava

MINJA SALMI, LK, tohtorikoulutettava

HANNU HAAPASALO, dosentti, patologian erikoislääkäri, osastonylilääkäri

Tampereen yliopisto, lääketieteen yksikkö ja Fimlab Laboratoriot Oy

KRISTIINA NORDFORS, LT, lastentautien erikoistuva lääkäri

TAYS, lastentautien vastuualue ja Fimlab Laboratoriot Oy

SIRPA-LIISA LAHTELA, LL, syöpätautien erikoislääkäri

TAYS, syövänhoidon vastuualue

MARKETTA KÄHKÖNEN, FT, dosentti, vastaava sairaalageneetikko

Fimlab Laboratoriot Oy

PAULI HELÉN, dosentti, neurokirurgian erikoislääkäri, ylilääkäri

TAYS, neurokirurgian vastuuyksikkö

KIRJALLISUUTTA

1. Focus Oncologie, Aivokasvaimet. Syöpäsäätiön julkaisusarja, no 12, 2011.
2. Louis D, Ohgaki H, Wiestler O, ym. toim. WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. Lyon: IARC Press 2007.
3. Nordfors K, Lohi O, Haapasalo H, ym. Lasten aivokasvaimet. Duodecim 2013; 129:235–43.
4. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. Clin Cancer Res 2013;19:764–72.
5. Mäenpää H. Gliooma kuriini. Duodecim 2010;126:1669–75.
6. Theeler BJ, Yung WK, Fuller GN, ym. Moving toward molecular classification of diffuse gliomas in adults. Neurology 2012;79:1917–26.
7. The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. Nature 2008;455:1061–8.
8. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. Nat Rev Mol Cell Biol 2001;2:127–37.
9. Järvelä S, Helin H, Haapasalo J, ym. Amplification of the epidermal growth factor receptor in astrocytic tumours by chromogenic in situ hybridization: association with clinicopathological features and patient survival. Neuropathol Appl Neurobiol 2006;32:441–50.
10. Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, ym. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progression. Neuro Oncol 1999;1:124–37.
11. Haapasalo H, Isola J, Sallinen P, ym. Aberrant p53 expression in astrocytic neoplasms of the brain: association with proliferation. Am J Pathol 1993; 142:1347–51.
12. Parsons DW, Jones S, Zhang X, ym. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. Science 2008;321:1807–12.
13. Ichimura K, Pearson DM, Kocialkowski S, ym. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. Neuro Oncol 2009;11:341–7.
14. Sanson M, Marie Y, Paris S, ym. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. J Clin Oncol 2009; 27:4150–4.
15. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ, ym. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. J Clin Oncol 2013;31:344–50.
16. Turcan S, Rohle D, Goenka A, ym. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. Nature 2012;483:479–83.
17. Jansen M, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. Lancet Neurol 2010;9:717–26.
18. Ino Y, Betensky RA, Zlatescu MC, ym. Molecular subtypes of anaplastic oligodendroglioma: implications for patient management at diagnosis. Clin Cancer Res 2001;7:839–45.
19. Cairncross G, Wang M, Shaw E, ym. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. J Clin Oncol 2013;31:337–43.
20. Jiang H, Ren X, Cui X, ym. 1p/19q codeletion and IDH1/2 mutation identified a subtype of anaplastic oligoastrocytomas with prognosis as favorable as anaplastic oligodendrogliomas. Neuro Oncol 2013;15:775–82.
21. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, ym. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. N Engl J Med 2000;343:1350–4.
22. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, ym. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. N Engl J Med 2005;352:997–1003.
23. Mølleman M, Wolter M, Felsberg J, Collins VP, Reifenberger G. Frequent promoter hypermethylation and low expression of the MGMT gene in oligodendroglial tumors. Int J Cancer 2004;113:379–85.
24. van den Bent MJ, Dubbink HJ, Sanson M, ym. MGMT promoter methylation is prognostic but not predictive for outcome to adjuvant PCV chemotherapy in anaplastic oligodendroglial tumors: a report from EORTC brain tumor group study 26951. J Clin Oncol 2009;27:5881–6.
25. Wick W, Platten M, Meisner C, ym. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. Lancet Oncol 2012;13:707–15.
26. Hartmann C, Hentschel B, Wick W, ym. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. Acta Neuropathol 2010;120:707–18.

SIDONNAISUDET

Joonas Haapasalo: Apuraha (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri EVO, Suomen Neurokirurginen Yhdistys, Maire Taposen säätiö), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Medtronic, Ethicon Biosurgery)

Antti Hyartt: Apuraha (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri)

Minja Salmi: Apuraha (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri EVO)

Kristiina Nordfors: Apuraha (Nona ja Kullervo Väreän säätiö, Pirkanmaan sairaanhoitopiiri EVO), työsuhde (Pirkanmaan sairaanhoitopiiri)

Sirpa-Liisa Lahtela: Luentopalkkio (Oy Eli Lilly Finland Ab), koulutus/kongressikuluja yrityksen tuella (Roche Oy, Pfizer Oy, Mundipharma Oy)

Marketta Kähkönen: Ei sidonnaisuuksia

Pauli Helen: Ei sidonnaisuuksia

Hannu Haapasalo: Apuraha (EVO (PSHP))

Tämä on Mitä opin -artikkeli. Artikkeleihin liittyvät interaktiiviset kysymykset löydät lehden verkkosivustolta www.duodecimlehti.fi

Summary

Diagnosis and prognosis of gliomas – current prospects of molecular diagnostics

Gliomas are tumors of the support cells of the brain and the most common of the primary brain tumors. Treatment of diffuse gliomas is based on surgical excision of the tumor and on radiotherapy and chemotherapy. The diagnosis is made in histopathological examination of the tumor, which today can be complemented with examinations involving molecular diagnostics. The most important new methods predicting the prognosis of glioma patients include demonstrations of the IDH mutation and the 1p/19q co-deletion. Profiling of gliomas may in the future allow tailoring of therapy in a patient-specific manner.