

Tillykke med de 30 år

Tænk at tiden er gået så hurtigt !



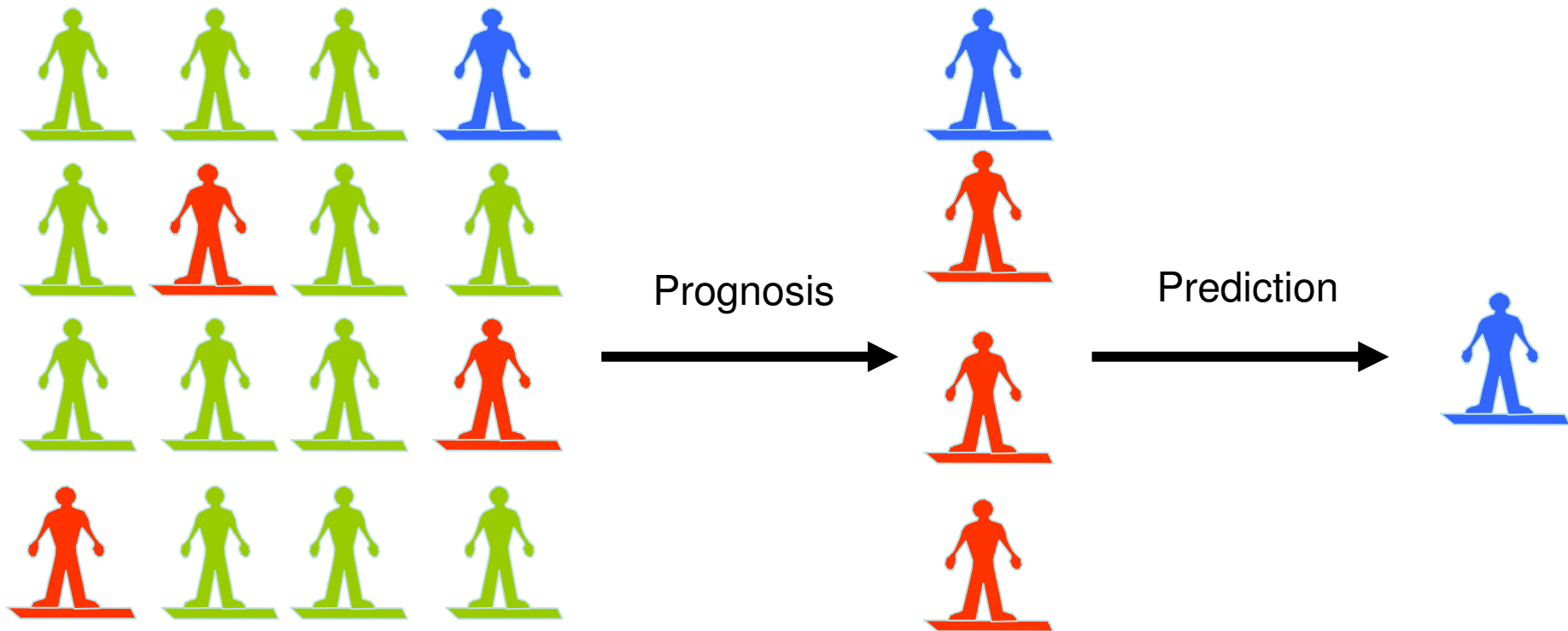
**Af alle protokollerede primære brystkræft patienter,
der blev diagnosticeret og behandlet i 2002,
er 78% i live uden recidiv 5 år efter.**



Hvordan sikre vi os at disse tal bliver forbedret over de næste 5-10 år ?



- **Bedre selektion af patienter til adjuverende behandling (prognostiske markører)**
- **Bedre selektion af patienter til specifikke behandlinger (prædiktive markører)**



Prognostic biomarker: Indicates the likely course of the disease in an untreated individual.

Predictive biomarker: Identifies subpopulations of patients who are most likely to respond to a given therapy



**Vores forskningsfokus har de sidste 20 år været proteaser,
deres receptorer og endogene hæmmere**



Vi har primært fokuseret på brystkræft og på tyk-og endetarmskræft



Vi startede for ca 10 år siden med at interessere os for Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 1 (TIMP-1) som er en endogen protease hæmmer. TIMP-1 har dog også andre funktioner, herunder hæmning af apoptose (programmeret celledød).



Baseret på vores viden om TIMP-1 rejse vi følgende hypoteser:

- 1. Højt indhold af TIMP-1 i en tumor vil være associeret med en dårlig prognose for patienten (TIMP-1 hæmmer at cellerne dør)**
- 2. Højt indhold af TIMP-1 i en tumor vil være associeret med manglende effekt af kemoterapi (kemoterapi inducerer celle død (apoptose), mens TIMP-1 hindrer dette).**



Hvordan udvikles en ny
prædiktiv/
prognostisk faktor?



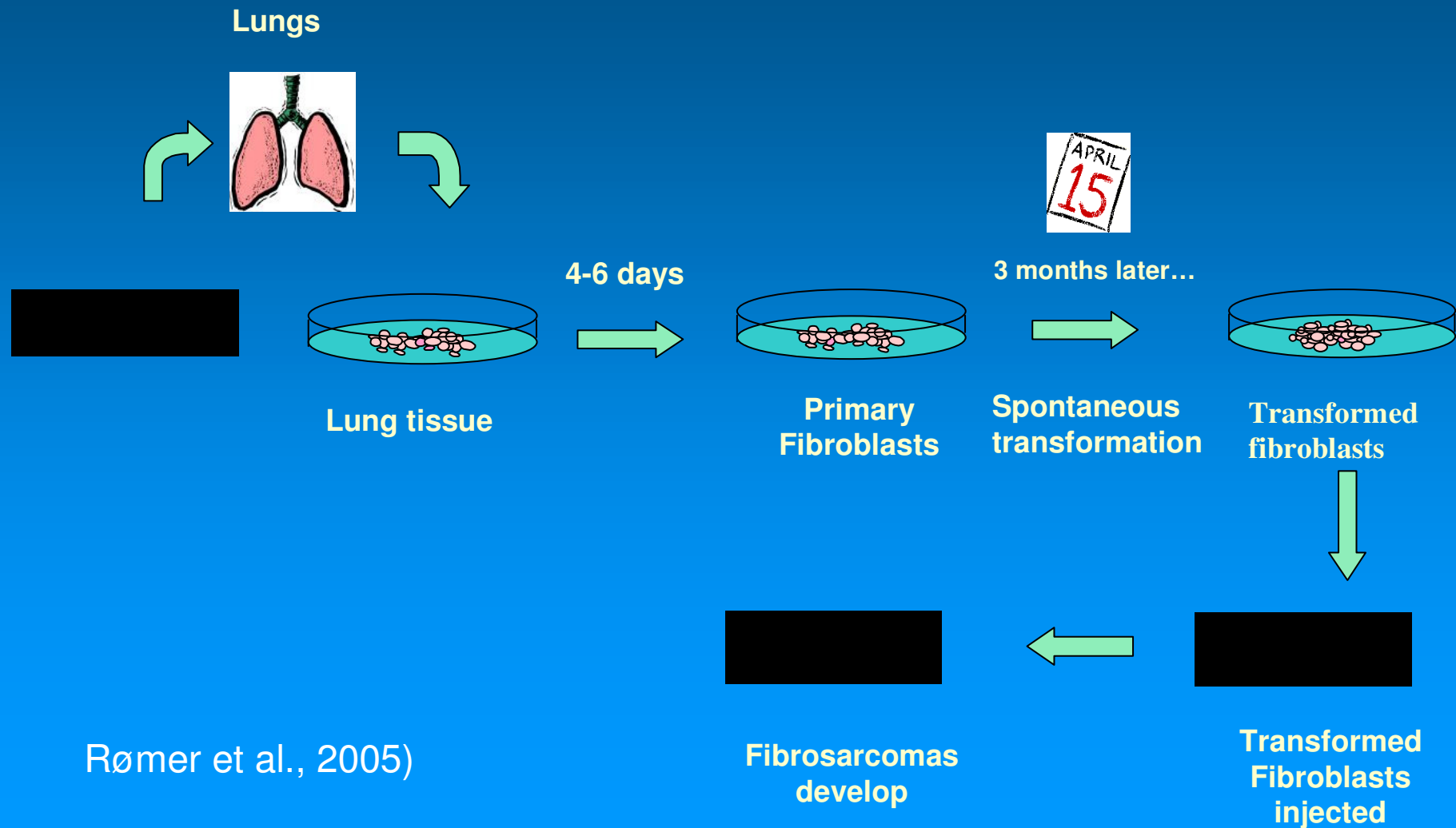
- **Rejse hypoteser**
- **Udvikle model systemer**
- **Udvikle reagenser (analyse metoder)**
- **Kliniske undersøgelser med stigende kompleksitet og styrke**



Højt indhold af TIMP-1 i en tumor vil være associeret med manglende effekt af kemoterapi (kemoterapi inducerer celle død (apoptose), mens TIMP-1 hindrer dette).

TIMP-1 som prædiktiv markør ?

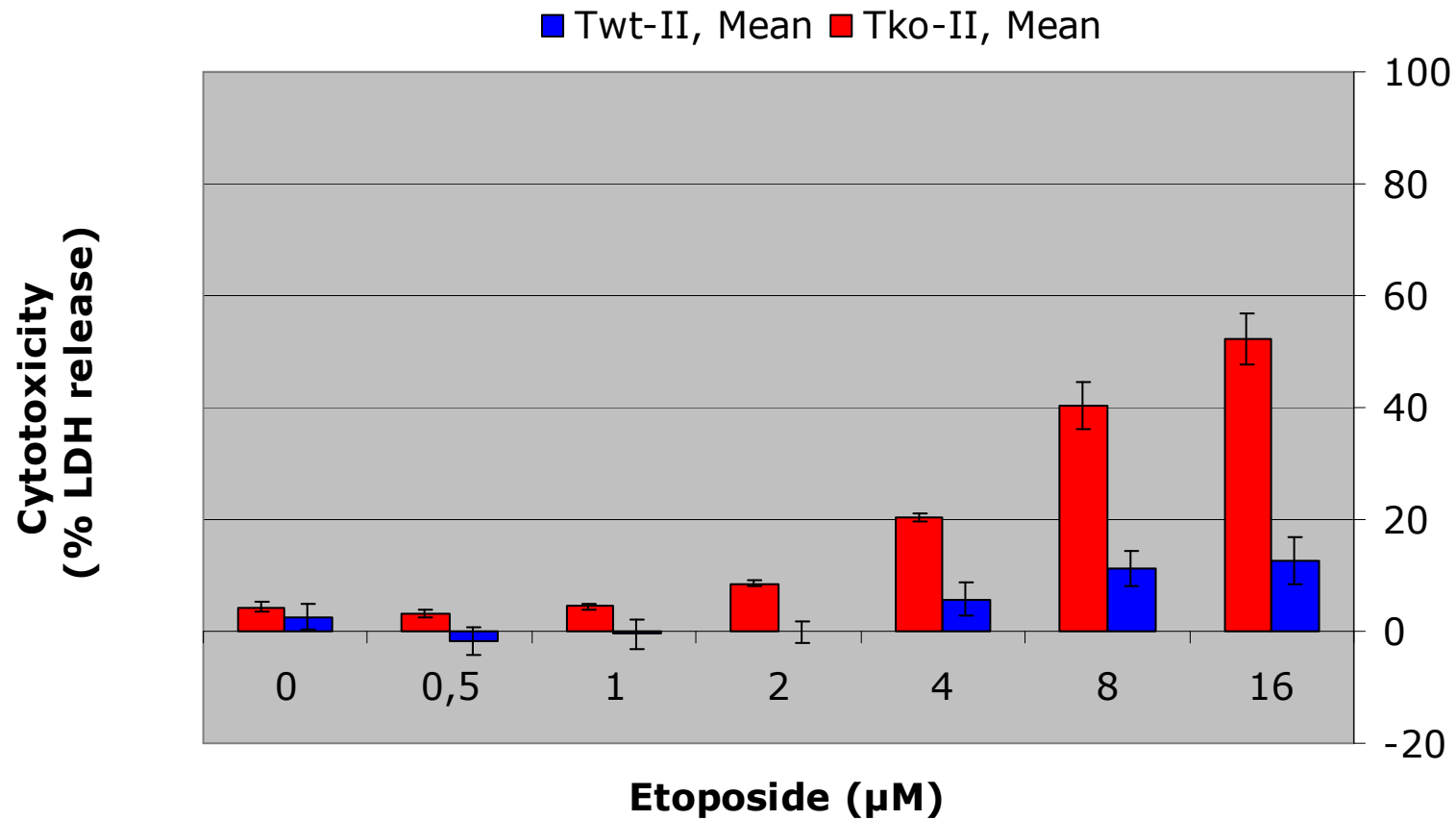
Experimental design



Rømer et al., 2005)

PREDICTING RESPONSE TO CHEMOTHERAPY

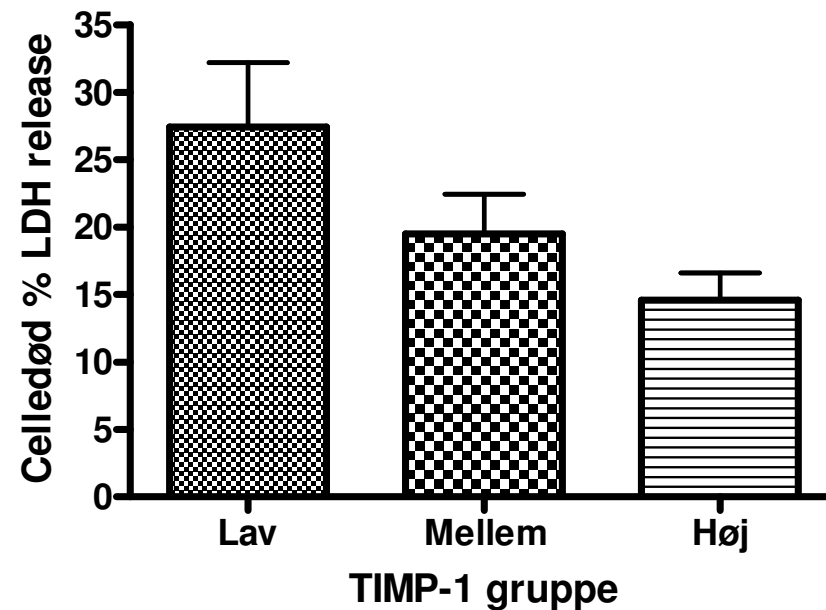
NR108 Twt-II and Tko-II exposed to Etoposide for 48 hrs.





MCF-7 humane brystkræft celle transfektanter

Uge 38



Würtz, Schrohl et al



Udvikling af analyser og metoder

- **Antistoffer (mono- og polyklonale)**
- **ELISA (protein)**
- **Western Blotting (protein)**
- **MS (protein incl variantformer)**
- **Immun histokemi (protein)**
- **In situ hybridisering (mRNA)**
- **qRT-PCR (mRNA og DNA)**
- **FISH**
- **Cellebaserede analyser**



Surface Plasmon Resonans (SPR)

Kinetics:

Ka

VT-1	9.8×10^{-8}
VT-2	6.6×10^{-8}
VT-3	IgA
VT-4 (ELISA)	2.3×10^{-13}
VT-5 (IP)	2.4×10^{-9}
VT-6	Linear epitope
VT-7 (IHC)	Linear epitope
VT-8	3.8×10^{-9}

Breast cancer study

- **173 patients with metastatic breast cancer**
- **TIMP-1 determined by ELISA in primary tumor extracts (frozen tumors)**
- **TIMP-1 values correlated with objective response to chemotherapy.**

PREDICTING RESPONSE TO CHEMOTHERAPY IN BREAST CANCER

TIMP-1	High (N=18)	Low (N=156)
Complete/ partial response	0%	41%
No change/ progressive disease	100%	59%

N=174

**Objective response rates according to
tumour tissue TIMP-1 levels.**

Chemotherapy CMF or CAF. Schrohl et al., Clin Cancer Res 2006



**ER TIMP-1 KONCENTRATIONEN OGSÅ PRÆDIKTIV
FOR EFFEKT AF ADJUVERENDE BEHANDLING ?**



- Adjuvant treatment of premenopausal lymph node positive breast cancer patients
- 102 untreated case control patients
- 99 antracycline treated patients
- TIMP-1 extracted from frozen tumors
- TIMP1 concentration dicotomized by the median
- Overall survival

Study performed in collaboration with John Foekens, Rotterdam

Unpublished data



Det kan være problematisk at få frisk frosset tumor væv til sin analyser.

Derfor har vi undersøgt om vi kan opnå prediktiv værdi af TIMP-1 ved anvendelse af immunhistokemi



Vi har udført immunhistokemi (IHC) på i alt 647 paraffinsnit fra tumorer fra patienter, der indgik i DBCG89D. Heraf havde 290 modtaget CEF og 357 CMF.

Vi anvendte VT-7 anti-TIMP-1 antistoffet til IHC.

De farvede snit blev evalueret af to patologer der ikke havde kendskab til patient forløbene.

Snittene blev scoret for:

- + TIMP-1 immunoreaktivitet i tumor cellerne**
- TIMP-1 immunoreaktivitet i tumor cellerne**

Alle data blev sendt til DBCG sekretariatet for statistisk analyse

DBCG 89D; Design

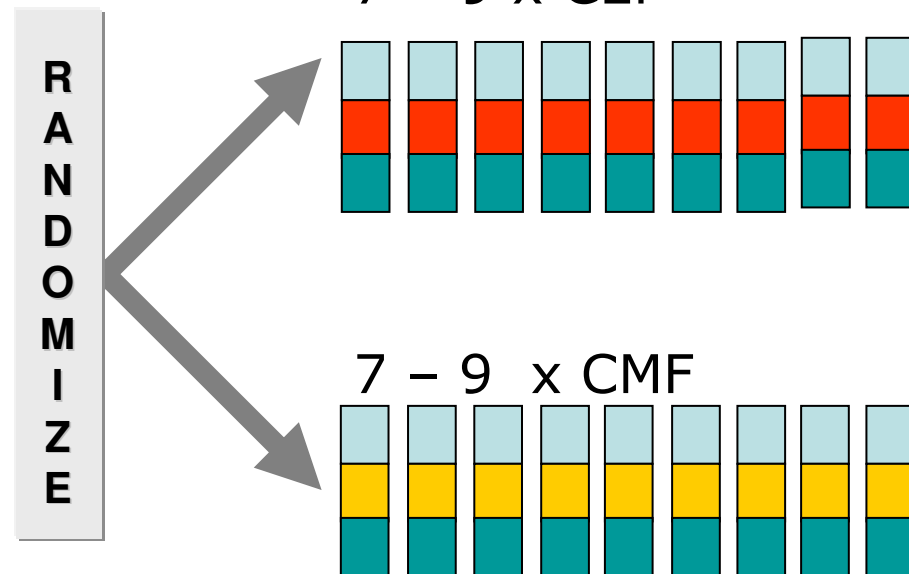
Patient selection

- Premenopausal, high risk, node negative
- Premenopausal, node positive, ER-/PgR negative or unknown
- Postmenopausal, node positive, ER-/PgR negative

Stratification

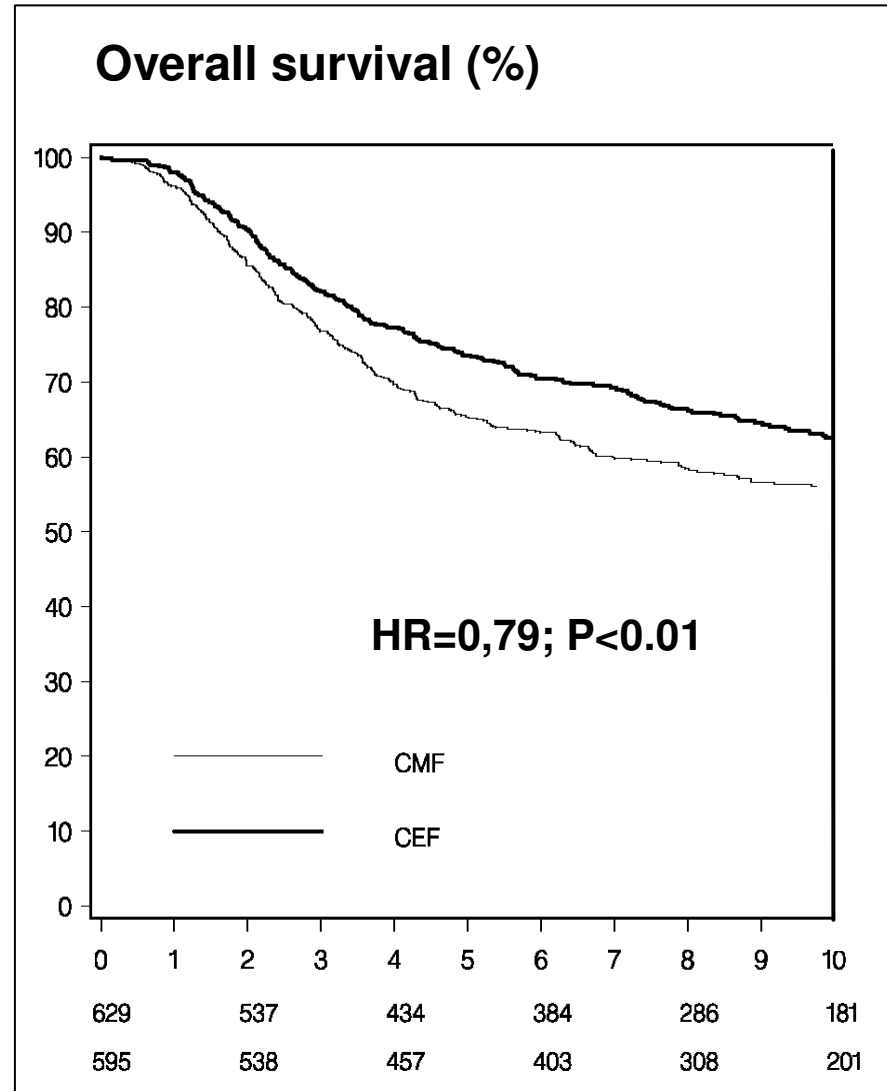
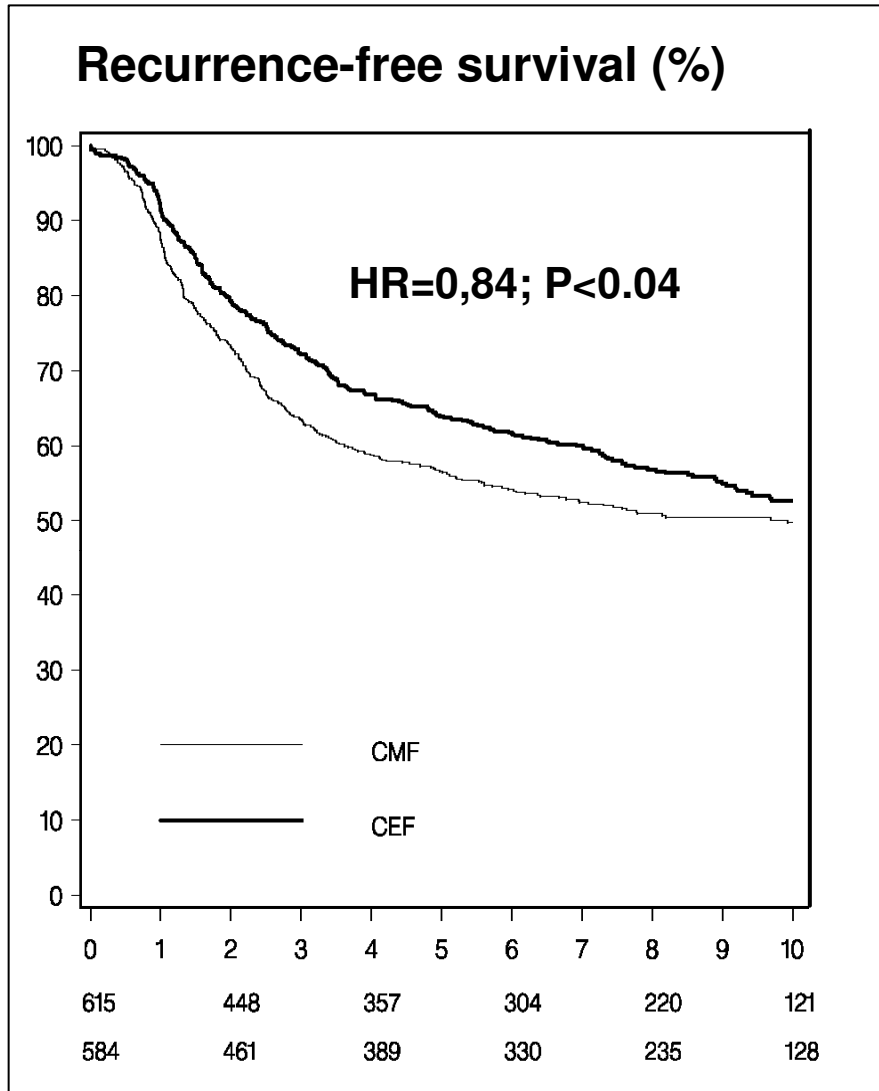
- Center and
- Treatment Group

N=1224



C: cyclophosphamide 600 mg/m²
F: 5-fluorouracil 600 mg/m²
M: methotrexate 40 mg/m²
E: epirubicin 60 mg/m²

DBCG-89D

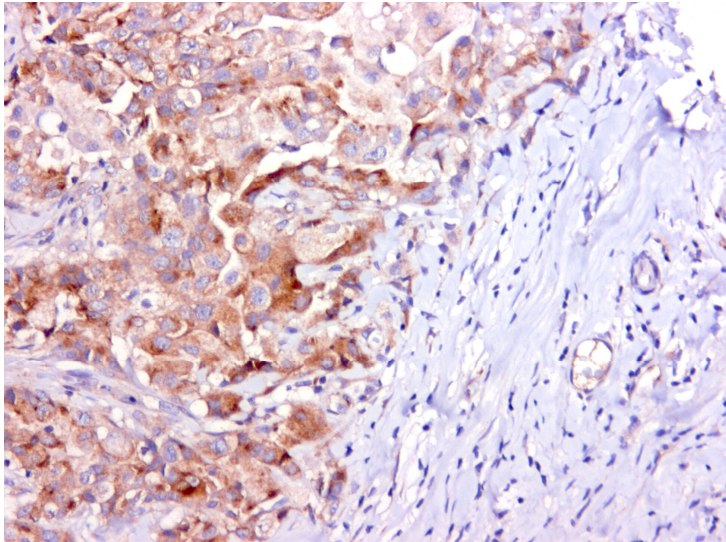




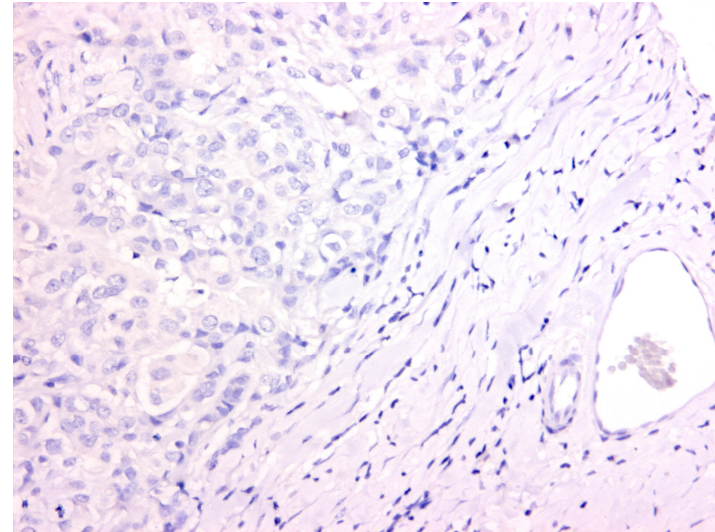
Immunhistokemisk farvning med VT7 anti-TIMP-1 monoklonalt antistof (Sørensen et al., Tumor Biology, 2005)

216/290 (74%) CEF behandlede patienter havde + TIMP-1 immunoreaktivitet i tumor cellerne
271/357 (76%) CMF behandlede patienter havde + TIMP-1 immunoreaktivitet i tumor cellerne

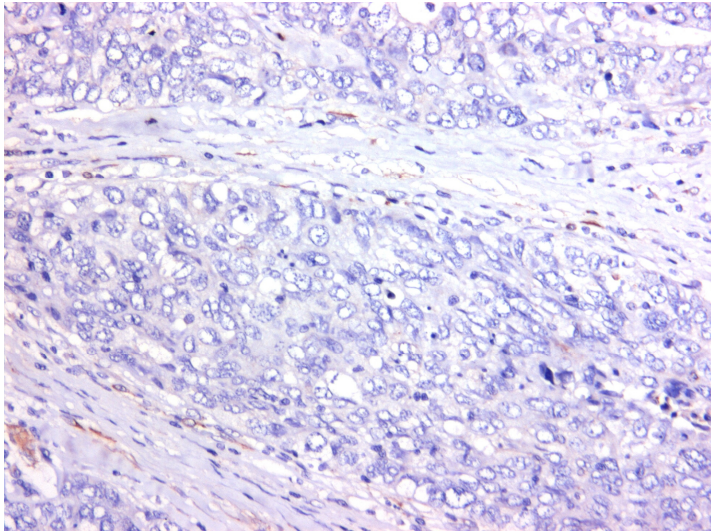
TIMP-1 IHC



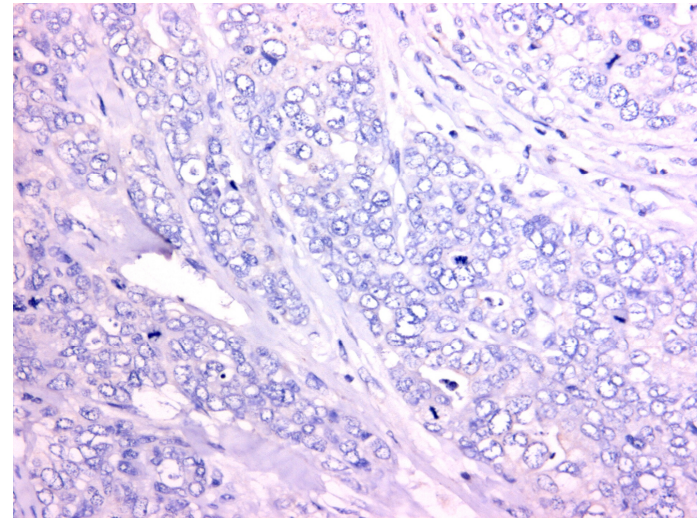
Tumor A. VT-7 positiv.



Tumor A. Negativ kontrol.



Tumor B. VT-7 negativ.



Tumor B. Negativ kontrol.

Unpublished data



Hvad er næste skridt ?

Retrospektiv validering af TIMP-1 resultaterne i SBG-2000-1

**Retrospektiv validering af TIMP-1 resultaterne i internationalt studium
hvor patienterne randomiseres mellem CEF og CMF**

**Annette Bartels
Anne-Sofie Schrohl
Sidse Würtz
Irene Sørensen
Nanna Sørensen
Pernille Bræmer Hertel
Pernille Usher
Ulrik Lademann**

**Gro Willemoe
Eva Balslev
Maj-Britt Jensen
John Foekens
Maxime Look
Fritz Rank
Bent Ejlersen
Henning Mouridsen**

**Tak til:
Fonden: A Race Against Breast Cancer
Kræftens Bekæmpelse
Dansk Center for Translationel Brystkræft Forskning
FØSU
DK2FISH**

og

DBCg !!!!