

Biomarkers in gliomen

Biomarkers in glioma

J. Duerinck¹, dr. B. Neyns²

Samenvatting

Tot op heden worden beslissingen in de behandeling van gliomen vooral genomen op basis van klinische, radiologische en histopathologische kenmerken. De laatste jaren is er belangrijke vooruitgang geboekt in de moleculaire typering van hersentumoren. Klassieke moleculaire markers van gliomen zoals p53 en EGFR hebben beperkte betekenis voor het therapeutisch beleid. Drie recent geïdentificeerde moleculaire markers hebben zich wel een plaats verworven bij het bepalen van het klinisch beleid, met name de 1p/19q chromosomale codeletie, de MGMT-promotor methylatiestatus en de IDH-1 mutatiestatus. Deze biomarkers laten een meer accurate subclassificatie toe met prognostische en predictieve waarde.

(*Tijdschr Neurol Neurochir* 2015;116:53-56)

Summary

Until recently, clinical decision-making in glioma was largely based on clinical, radiological and histological features. In recent years significant progress has been made in the molecular analysis of brain tumors. The clinical interest of classical molecular markers such as p53 or EGFR is limited, but three recently identified molecular markers have demonstrated significant clinical relevance: 1p/19q codeletion, MGMT-methylation status and IDH-1 mutation. The biomarkers allow for a more thorough diagnostic work-up and add additional prognostic and therapeutic value.

Inleiding

De classificatie van de Wereldgezondheidsraad (World Health Organization, WHO) classificatie maakt een onderscheid tussen de verschillende types van hersentumoren op basis van histopathologische criteria en kent een graad van kwaadaardigheid toe (graad 1 tot graad 4) op basis van morfologische kenmerken van anaplasie. Deze typering geeft een diagnose alsook een hieraan gekoppelde prognose. Moleculaire markers maken het mogelijk gliomen met een gelijkwaardig histologisch aspect verder diagnostisch maar eveneens prognostisch onder te verdelen. Bovendien zijn ze minder onderhevig aan interobserver variabiliteit. Een marker is diagnostisch wanneer hij informatie verschaft over het al dan

niet aanwezig zijn van een ziekte. Een prognostische marker is indicatief voor een gunstiger natuurlijk verloop van de ziekte, onafhankelijk van de toegediende therapie. Een predictieve marker voorspelt een betere respons op een bepaalde therapie. Het verschil is van belang gezien predictieve markers het therapeutisch beleid kunnen sturen, terwijl dit voor louter prognostische markers niet het geval is. De moleculair-genetische biomarkers die steeds meer hun weg vinden naar de klinische neuro-oncologiepraktijk zijn de isocitraat dehydrogenase-1 (IDH-1) mutatie, 1P/19q chromosomale codeletie en de O⁶-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) methylatiestatus.

¹neurochirurg, Dienst Neurochirurgie, Universitair Ziekenhuis Brussel, ²oncoloog, Dienst Medische Oncologie, Universitair Ziekenhuis Brussel, België.

Correspondentie graag richten aan: J. Duerinck, neurochirurg, Dienst Neurochirurgie Universitair Ziekenhuis Brussel, Laarbeeklaan 101, 1090 Jette, België, tel: +32 2 477 5514, e-mailadres: johnny.duerinck@uzbrussel.be.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: biomarkers, glioma, IDH-1 mutatie, MGMT-methylatie, moleculaire diagnostiek, 1p/19q codeletie.

Keywords: biomarkers, glioma, IDH-1 mutation, MGMT-methylation, molecular diagnostics, 1p/19q codeletion.

Ontvangen 12 mei 2014, geaccepteerd 31 oktober 2014.

IDH-1/2 mutaties

Mutaties in het IDH-1-gen treden het meest frequent op in codon 132. De mutatie resulteert in de expressie van een gemuteerd IDH-proteïne dat zorgt voor de omzetting van alfa-ketoglutaraat tot 2-hydroxyglutaraat (2-HG). Deze oncometabool remt verschillende enzymen wat leidt tot histon- en DNA-hypermethylatie, veranderde celdifferentiatie en activatie van enzymen betrokken in de degradatie van Hypoxia-induced factor (HIF). De aanwezigheid van de IDH-mutatie wijst op een specifiek pad van tumorigenese dat verschilt van dat van pilocytair astrocytomen of primaire glioblastomen. De mutatie, initieel beschreven als zijnde exclusief voor gliomen, werd inmiddels ook vastgesteld bij sommige vormen van acute myeloïde leukemie, adenocarcinomen van de borst, cholangiocarcinomen en bepaalde sarcomen.¹

Bepaling van de IDH-1 mutatiestatus is mogelijk via immunohistochemie (enkel voor de IDH1-R132H-mutant, die 90% van de IDH-1 mutaties uitmaakt) of DNA-mutatieanalyse.

De IDH-status heeft in de klinische praktijk zijn nut op diagnostisch vlak: het maakt het mogelijk diffuse gliomen te onderscheiden van reactieve gliose of andere tumorale entiteiten zoals centraal neurocytoom, tanocytair ependymoom of pilocytair astrocytoom. In geval van glioblastoom kan de IDH-status aangeven of het gaat om een primair dan wel een secundair glioblastoom, wat een belangrijke prognostische waarde heeft. In een gepoolde analyse van 382 WHO-graad 3 en 4 tumoren bleek de IDH-1 status zelfs een betere voorspeller van overleving dan de histologische graad.² Er bestaat momenteel geen duidelijkheid omtrent de predictieve waarde van de IDH-1 mutatie zodat aan de IDH-mutatiestatus bij glioblastomen geen therapeutische beslissingen gekoppeld worden. De IDH-mutatiestatus identificeert wel een groep van patiënten met een anaplastische oligodendrogliale tumor waarbij een voordeel werd gezien voor adjuvante behandeling met procarbazine, CCNU en vincristine (PCV)-chemotherapie.^{3,4}

1p/19q codeletie

De 1p/19q chromosomale codeletie is gevolg van een ongebalanceerde translocatie tussen de volledige arm 19p en 1q. De codeletie komt in principe niet voor bij astrocytomen waar dan weer wel de p53 mutatie voorkomt. Deze genetische afwijkingen geven een beeld van genetische veranderingen in de tumorigenese die verschillend is tussen oligodendrogliomen en astrocytomen. Er is een sterke correlatie tussen IDH-1

mutatie en 1p/19q-codeletie in die zin dat alle 1p/19q-cogedeleteerde tumoren ook IDH-mutant zijn. De 1p/19q-codeletie wordt het vaakst bepaald aan de hand van Fluorescentie in situ hybridisatie (FISH). De 1p/19q-codeletie wordt steeds meer beschouwd als diagnostische marker voor oligodendrogliomen en oligoastrocytomen. Ze onderscheidt een groep van tumoren die een betere prognose hebben en een hogere gevoeligheid vertonen aan cytotoxische chemotherapie zoals nitrosourea en temozolomide.

Uit twee fase III-studies waarbij de chemocombinatie PCV werd toegevoegd aan post-operatieve radiotherapie bij patiënten met anaplastisch oligodendroglioom of oligoastrocytoom bleek het belangrijkste overlevingsvoordeel toe te behoren aan de 1p/19q-cogedeleteerde tumoren.^{5,6} Ook in laaggradige gliomen is er een sterke prognostische waarde: mediane overleving is 12 tot 15 jaar in geval van 1p/19q codeletie en 5 tot 8 jaar wanneer de codeletie afwezig is.⁷ Er is eveneens evidentie dat 1p/19q codeletie predictief is voor de gevoeligheid aan temozolomide. Of deze gevoeligheid geëxtrapoleerd kan worden naar een mogelijk overlevingsvoordeel dient nog bevestigd te worden in lopende gerandomiseerde studies.

MGMT-methylatiestatus

Het O⁶-methylguanine DNA-methyltransferase (MGMT) is een DNA-herstelproteïne dat de alkylering van O⁶-guanine ongedaan maakt en op deze manier schade door alkylerende chemotherapeutica zoals temozolomide of nitrosourea herstelt. Hypermethylatie van de MGMT-genpromotor leidt tot verminderde expressie van het MGMT-proteïne. De MGMT-methylatiestatus kan bepaald worden via immunohistochemie doch deze methode heeft een belangrijke interobserver variabiliteit en is niet gevalideerd voor gebruik in de klinische praktijk. Bepaling van de epigenetische activatiestatus via methylatiespecifieke PCR (MSP) of pyrosequencing van bisulfietgemodificeerd DNA zijn meer betrouwbare methoden. Patiënten met methylatie van de MGMT-genpromotor bleken gevoeliger voor alkylerende agentia hetgeen conceptueel past bij een afwezige expressie van het DNA-herstelproteïne.⁸ Een retrospectieve analyse van de MGMT-promotor methylatiestatus wees op een sterke correlatie tussen deze biomarker en de therapeutische meerwaarde van temozolomide wanneer toegevoegd aan radiotherapie in de eerstelijns therapie van glioblastoom.⁹ Hier bleek wel dat MGMT-methylatiestatus een kwantitatieve marker is:

Tabel 1. Overzicht van klinisch gebruikte biomarkers (aangepast uit¹⁹)

	MGMT-promotor methylatie	1p/19q-codeletie	IDH1-mutatie
Biologisch gevolg	verminderde herstelfunctie voor alkylatieschade aan DNA	onduidelijk	verhoogde concentratie 2-hydroxyglutaraat
Manier van bepaling	MSP of pyrosequencing	FISH	immunohistochemie, DNA-sequencing
Frequentie van voorkomen			
pilocytair astrocytoom	>10%	0%	0%
Pleiomorf xanthoastrocytoom	10-20%	0%	0%
diffuus astrocytoom	40-50%	15%	70-80%
oligodendroglioom/ oligoastrocytoom	60-80%	30-60%	70-80%
anaplastisch astrocytoom	50%	15%	50-70%
anaplastisch oligodendroglioom oligoastrocytoom	70%	50-80%	50-80%
Glioblastoom	35-45%	<5%	5-10%
Diagnostische rol	geen	sterke associatie met oligodendrogliale morfologie	exclusief voor gliomen, differentieel diagnose tussen glioom en gliose of andere tumoren
Prognostische rol	marker van gunstige prognose	marker van gunstige prognose	positief onafhankelijk van histologie
Predictieve rol	predictief voor gevoeligheid van het glioblastoom aan alkylerende chemotherapie	anaplastische gliomen: belangrijke predictieve waarde voor chemotherapie	onduidelijk

ook bij patiënten zonder methylatie van de genpromotor was een voordeel te zien van temozolomide. Bovendien zijn er geen gekende therapeutische alternatieven voor ongemethyleerde patiënten (cfr. negatieve resultaten van studies met dose-dense temozolomide en cilengitide) zodat kennis van de methylatiestatus op dit moment niet kan leiden tot therapeutische beslissingen.^{10, 11} De gerandomiseerde fase II-studie 26082 van de EORTC waarbij radiotherapie met concomitante en adjuvante temsirolimus vergeleken wordt met chemoradiotherapie in patiënten met een nieuw gediagnosticeerd GBM zonder methylatie van de MGMT-genpromotor, kan mogelijk bij een gunstig studie-resultaat de weg openen naar een op MGMT-methylatiestatus gebaseerde therapiekeuze.¹²

Bij oudere patiënten (>65jaar) met een glioblastoom wезen twee onafhankelijk uitgevoerde klinische studies die radiotherapie vergeleken met temozolomide in monotherapie op een duidelijke predictieve waarde van de MGMT-methylatiestatus voor temodal-chemotherapie,

maar eveneens op een slechtere prognose voor MGMT-ongemethyleerde patiënten wanneer hen temodal werd toegediend in plaats van radiotherapie.^{13,14} Verdere plaatsbepaling van MGMT-methylatiestatus bij de behandeling van oudere patiënten met glioblastoom zal volgen uit de resultaten van de EORTC 26062-studie, die kort schema radiotherapie met of zonder temozolomide evalueert bij oudere patiënten met een nieuw gediagnosticeerd GBM.¹⁵

Ook bij anaplastische gliomen heeft de methylatiestatus een prognostische waarde en is deze gecorreleerd aan de IDH1/2-mutatiestatus en de 1p/19q-status. Een mogelijk predictieve waarde voor toediening van temozolomide wordt onderzocht in de EORTC CATNON-studie.¹⁶

Conclusie

Biomarkers krijgen steeds meer een vaste plaats in de diagnostiek en behandeling van gliomen. De MGMT-promotermethylatiestatus zou potentieel de vaakst toepasbare marker kunnen zijn om het therapeutisch

beleid bij glioblastoom op af te stemmen; het ontbreken van geldige therapeutische alternatieven voor ongemethyleerde patiënten maakt dat momenteel nog geen klinische beslissingen gekoppeld kunnen worden aan kennis van de methylatiestatus. Indien bij oudere patiënten vanwege de beperkte draagkracht voor monotherapie wordt gopteerd, wordt in geval van een ongemethyleerde MGMT-genpromotor best voor radiotherapie gekozen en in geval van een gemethyleerde genpromotor voor temozolomide.

De IDH1/-2-mutatie, en binnen deze subgroep nog meer uitgesproken bij aanwezigheid van een 1p/19q-codeletie, onderscheidt een groep van anaplastische gliomen die een betere natuurlijke prognose hebben en een overlevingsvoordeel ondervinden bij adjuvante behandeling met PCV-chemotherapie.

De IDH-1-mutatieanalyse heeft momenteel in de klinische praktijk ook zijn nut in diagnostiek, aangezien deze het mogelijk maakt te differentiëren tussen diffuse gliomen en reactieve gliose of andere tumorale entiteiten zoals centraal neurocytroom, tanycytair ependymoom of pilocytair astrocytroom.

Ten slotte is er nog een belangrijke taak weggelegd voor de uniformisering en kwaliteitscontrole van de verschillende testplatformen waarmee deze moleculaire veranderingen worden opgespoord. Voor de IDH-1-mutatiebepaling is de meest kostenefficiënte manier om in eerste instantie immunohistochemie uit te voeren, wat een zeer hoge positief-predictieve waarde heeft voor de meest voorkomende mutatie, en in geval de test negatief blijkt, bijkomende DNA-sequentieanalyse uit te voeren teneinde ook de meer zeldzame mutaties op te sporen.¹⁷ Wat betreft de MGMT-methylatiestatus hebben zowel MSP als pyrosequencing aangetoond betrouwbaar en reproduceerbaar te zijn^{10,18} Een belangrijke bijkomende complexiteit is echter dat de testresultaten een bimodale verdeling kennen en dat het definiëren van een 'cut-off'-waarde tussen positief en negatief (noodzakelijk voor klinische besluitvorming) getoetst dient te worden aan de uitkomst van een prospectief onderzoek op een voldoende grote groep. Gelet op de complexiteit van het toekennen van klinisch betekenis aan MGMT-testing lijkt het de auteurs aanbevelenswaardig om enkel een prospectief gevalideerde gestandaardiseerde test te hanteren (companion diagnostics).

Referenties

1. Fathi AT, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) mutation in breast adenocarcinoma is associated with elevated levels of serum and urine 2-hydroxyglutarate. *Oncologist* 2014;19(6):602–7.
2. Hartmann C, et al. 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(6):707–18.

3. Cairncross JG, et al. Benefit From Procarbazine, Lomustine, and Vincristine in Oligodendroglial Tumors Is Associated With Mutation of IDH. *J Clin Oncol* 2014;32(8):783–90.
4. Erdem-Eraslan L, et al. Intrinsic molecular subtypes of glioma are prognostic and predict benefit from adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in combination with other prognostic factors in anaplastic oligodendroglial brain tumors: a report from EORTC study 26951. *J Clin Oncol* 2013;31(3):328–36.
5. Cairncross G, et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol* 2013; 31(3):337-43.
6. Van den Bent MJ, et al. 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(3):344-50.
7. Ricard D, et al. Primary brain tumours in adults. *Lancet* 2012;379(9830):1984–96.
8. Esteller M, et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000;343(19):1350-4.
9. Hegi ME, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005;352(10):997–1003.
10. Gilbert MR, et al. Dose-dense temozolomide for newly diagnosed glioblastoma: a randomized phase III clinical trial. *J Clin Oncol* 2013;31(32):4085–91.
11. Soffietti R, et al. What have we learned from trials on antiangiogenic agents in glioblastoma? *Expert Rev Neurother* 2014;14(1):1-3.
12. Radiation Therapy and Concurrent Plus Adjuvant Temozolomide (CCI-779) Versus Chemo-Irradiation With Temozolomide in Newly Diagnosed Glioblastoma Without Methylation of the MGMT Gene Promoter - A Randomized Multicenter, Open-Label, Phase II Study - EORTC 26082-22081. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00482677>.
13. Wick W, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(7):707–15.
14. Malmström A, et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2012;13(9):916–26.
15. Radiation Therapy With or Without Temozolomide in Treating Older Patients With Newly Diagnosed Glioblastoma Multiforme - EORTC 26062. Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00482677>.
16. Radiation Therapy With or Without Temozolomide in Treating Patients With Anaplastic Glioma - CATNON trial Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00626990?term=CATNON&rank=1>
17. Loussouarn D, et al. Comparison of immunohistochemistry, DNA sequencing and allele-specific PCR for the detection of IDH1 mutations in gliomas. *Int J Oncol* 2012;40(6):2058–62.
18. Preusser M, et al. Clinical Neuropathology practice news 1-2014: Pyrosequencing meets clinical and analytical performance criteria for routine testing of MGMT promoter methylation status in glioblastoma. *Clin Neuropathol* 2014;33(01):6–14.
19. Weller M, et al. Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon. *Lancet Oncol* 2013;14(9):e370–9.