

Technical University of Denmark



Novel Collagen Markers for Early Detection of Bone Metastases in Breast and Prostate Cancer Patients

Leeming, Diana Julie; Barkholt, Vibeke; Hägglund, Per; Jacobsen, Susanne

Publication date:
2010

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Leeming, D. J., Barkholt, V., Hägglund, P., & Jacobsen, S. (2010). Novel Collagen Markers for Early Detection of Bone Metastases in Breast and Prostate Cancer Patients. Kgs. Lyngby, Denmark: Technical University of Denmark (DTU).

DTU Library Technical Information Center of Denmark

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Sammendrag på dansk

Bryst- og prostatacancer spredt sig ofte til knoglerne, og defineres dermed som knoglemetastaser. Knoglemetastaser forekommer i mere end 50% af de patienter, hvor cancer sygdommen er i den avancerede fase. Følgeeffekter heraf er blandt andet voldsomme knoglesmerter, patologiske knoglefrakturer, hypocalcaemia samt ryggradskompressioner. Den mest fatale konsekvens er, at knoglemetastaser er uhelbredelige. Ifølge verdens sundhedsorganisation WHO er bryst- og prostatacancer den anden mest diagnosticerede cancer type i verden hos henholdsvis kvinder og mænd.

Detektion af knoglemetastaser foretages ved brug af visualiserings teknikker, såsom røntgenfotografi og technetium-99 knogleskanning. Teknikkerne er ikke følsomme nok og er begrænset til skanning to gange per år. Anvendelse af biokemiske markører til måling af protein fragmenter i blod eller urin ved hjælp af enzymlinket immunosorbent assay (ELISA) kan eventuelt forbedre mulighederne for at identificere patienter med knoglemetastaser på et tidligere stadium i forhold til brug af skanning alene. Hermed kan patient behandling forbedres væsentligt. Monitorering ved hjælp af biokemiske markører vil eventuelt være overlegen samt kunne anvendes som et supplement til den anvendte visualiserings teknik. Et antal eksisterende biokemiske markører har vist potentiale for detektion af knoglemetastaser. Målet i denne rapport var at udvikle nye sensitive kollagen type I biokemiske markører til evaluering af knoglemetastaser.

I rapporten præsenteres først en videre evaluering af en biokemisk markør, der blev udviklet forud for dette Ph.d arbejde. Studiet involverer en knogle resorptionsmarkør for knogle re-modellering af ung knogle matrice- den såkaldte ALPHA C-telopeptide af kollagen type I. ALPHA CTX-I var specifik for knoglemetastaser og ikke påvirket af den primære prostata-tumor.

Der blev udviklet ELISA'er til detektering af det N-terminale pro-peptid af kollagen type I (PINP) mod human og rotte species, som et mål for knogledannelse. Monoklonale antistoffer blev rejst mod et antal immunogene epitoper i den humane og rotte PINP sekvens. Disse blev screenet og de bedste blev udvalgt til videre karakterisering. Antistoffer til korresponderende epitoper i human og rotte PINP blev udvalgt og tekniske robuste assays blev udviklet. Disse assays blev evalueret med hensyn til deres prekliniske og kliniske værdi. Det blev verificeret at disse assays måler PINP og at markøren var statistisk relateret til såvel tilstedeværelse, som til antallet af knoglemetastaser i bryst- og prostatacancer patienter.

Dernæst anvendte vi hypotesen om at kombinere kollagen type I og proteaser, der er kendte for at være involveret i den "onde cirkel" i knoglemetastaser, dermed er med til at nedbryde knogle matricen til små fragmenter. Kollagen type I blev kløvet med relevante matrix metalloproteinaser (MMP'er) samt cathepsin K (Cat K). De dannede fragmenter, også kaldet neo-epitoper, blev identificeret ved hjælp af massespektroskopi. Neo-epitoper generet af MMP-2, -9, -13 og Cat K blev selekteret til antistof produktion. På nuværende tidspunkt er to ELISA assays blevet udviklet og evalueret med hensyn til relation til knoglemetastaser. Det viste sig, at begge assays ingen relation har til knoglemetastaser i bryst-, lunge- og prostatacancer patienter. Dog blev den ene markør vurderet i rotte lever fibrose modellen "galde kanals aflukning" (BDL), da det er velkendt at kollagen type I samt MMP-2 og -9 er opregulerede i lever fibrose. Det blev her vist at et MMP-2, -9, -13 generet kollagen type I fragment var forhøjet i uge 4 efter BDL operation i rotter sammenlignet med basis- og sham niveau.

To PINP ELISAs blev udviklet og evalueret i prekliniske og kliniske studier, der viste at markørerne er et mål for knogleformation og dermed kunne anvende til vurdering af knoglemetastaser. Derudover blev to MMP-2, -9 og -13 generede kollagen type I ELISA assays udviklet og evalueret. Det ene assay var anvendelig til evaluering af en anden ekstracellulær matrix relateret sygdom; lever fibrose.