

<https://helda.helsinki.fi>

Ex vivo -mallit ja nestebiopsia yksilöllistetyssä syövänhoidossa

Kononen, Juha

2021

Kononen , J , Sundvall , M , Kontro , M & Rantala , J 2021 , ' Ex vivo -mallit ja nestebiopsia yksilöllistetyssä syövänhoidossa ' , Duodecim , Vuosikerta. 137 , Nro 13 , Sivut 1441-1448 .
< <https://www.duodecimlehti.fi/xmedia/duo/duo16314.pdf> >

<http://hdl.handle.net/10138/346218>

publishedVersion

Downloaded from Helda, University of Helsinki institutional repository.

This is an electronic reprint of the original article.

This reprint may differ from the original in pagination and typographic detail.

Please cite the original version.

Juha Kononen, Maria Sundvall, Mika Kontro ja Juha Rantala

Ex vivo -mallit ja nestebiopsia yksilöllistetyssä syövänhoidossa

Syövän tutkimus- ja hoitomenetelmät kehittyvät jatkuvasti yksilöllistetympään suuntaan. Syynä ovat molekyyliprofiloinnin menetelmien kehitys, siitä saatava tieto ja geenidiagnostiikkaan perustuvat lääkkeet. Hoidon valitsemiseksi tarvitaan ja käytetään yhä useammin vastetta ennakoivia biomarkkereita. Potilaskohtaiset ex vivo -syöpämallit mahdollistavat tulevaisuudessa yksilöllistetyn, systeemibiologian periaatteita hyödyntävän syövänhoidon tutkimuksen, biomarkkereiden identifioinnin ja uusien hoitostrategioiden testaamisen. Ex vivo -mallien avulla voitaneen ohjata myös suoraan hoidon valintaa, luultavasti ensin hematologisissa syöpätaudeissa. Nestebiopsiasta tehtävä molekyyliprofilointi mahdollistaa ajantasaisen geenidiagnostiikan, jolloin hoitojen aiheuttamassa evoluutiopaineessa alati tapahtuva syövän muuntuminen voidaan huomata. Jotta syövän systeemibiologisen perustutkimuksen havaintoja päästään hyödyntämään potilastyössä, tarvitaan kliiniseen työhön nivelytävää yksilöllistä syövänhoidon tutkimusta, koulutusta ja osaamista.

Syöpä on genomien sairaus: geenien toiminnan muutokset edeltävät syövän syntyä. In vitro-, ex vivo- ja koe-eläinmalleissa on selvitetty, miten erilaiset mutaatiot ja epigeneettiset muutokset transformoivat normaalisti käyttäytyvän solukon syöväksi. Syöpätutkimuksen yksi virstanpaalu on ihmisen kasvaingenomien laajamittainen sekvensointi, jonka avulla on tunnistettu useita syöpäsoluille ominaisia poikkeavuuksia ja syövän syntymekanismia. Hematologisissa syövissä ja kiinteissä kasvaimissa keskeisenä molekyylipoikkeavuutena on geneettinen muutos 1–5 tunnetussa syövän ajurigeenissä (1,2). Biologinen konteksti, kuten kudosten mikroympäristö ja immuunipuolustusjärjestelmän solujen aktiivisuus, vaikuttaa syöpäsolujen riippuvuuteen kustakin molekyyli muutoksesta. Tämä vaikeuttaa sekvensointitulosten tulkitsemista. Syövän klonaalinen heterogeenisuus sekä hoidon aiheuttama selektiopaine korostavat genetiikan merkitystä kasvainevoluution eri vaiheissa. Genomiikan kehitys, syövän biolo-

gian syvä ymmärrys ja translationaalisten tutkimusmallien avulla opittu tieto ovat johtaneet edistysaskeliin syöpätautien hoidossa: geenidiagnostiikkaan perustuvat hoidot ovat vakiintuneita muun muassa keuhkosyövässä, rintasyövässä, melanoomassa, akuuteissa ja kroonisissa leukemioissa sekä GIST-kasvaimis-

TIETOLAATIKKO. Systeemibiologian sanastoa.

Termi	Kuvaus
Genomi	Eliön täydellinen geeniperimä
Transkriptomi	Kaikki ilmentyvät RNA-molekyylit
Proteomi	Kaikki ilmentyvät proteiinit
Metabolomi	Kaikki biologisessa näytteessä havaittavat pienikokoiset molekyylit, joita syntyy proteomin tuottamien proteiinien katalysoimissa biokemiallisissa reaktioissa.
Lipidomi	Kaikki organismin lipidit
Immunomi	Geenit ja proteiinit, jotka spesifisesti ilmentyvät immuunipuolustusjärjestelmän soluissa ja vaikuttavat niiden toimintaan

sa. Syövän genomiprofiloinnilla voidaan löytää syöpäsolujen somaattisten muutosten lisäksi periytyviä muutoksia (Kankuri-Tammilehto ym. tässä numerossa).

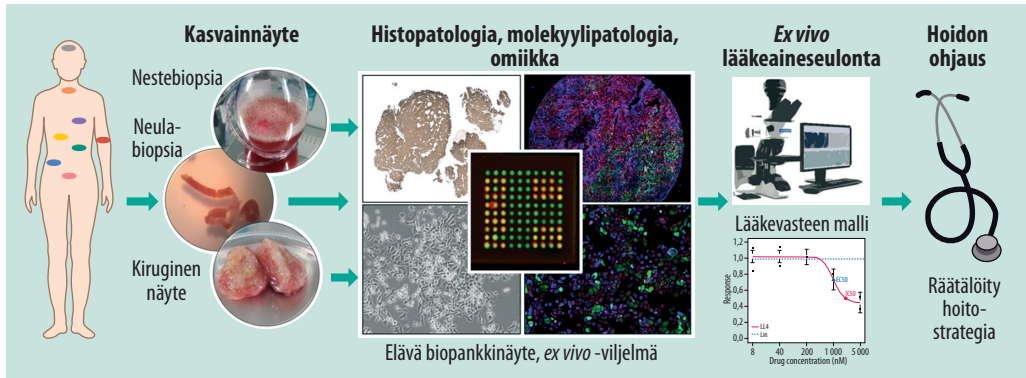
Huolimatta syöpägenomiikan kehityksestä ja geenidiagnostiikkaan perustuvien hoitojen lisääntyneestä käytöstä, etäpesäkkeitä lähettänyt syöpä on useimmiten parantumaton, kuolemaan johtava sairaus. Syöpä kehittää usein resistenssin hoidolle alkuvaiheen hyvästä hoitovasteesta huolimatta, eikä geenidiagnostiikkaan perustuva hoito aina tehoa. Pelkkä syöpägenomin sekvensointi ei riitä selvittämään syöpäsolujen toimintaa, sillä geenien luentaa säätelevät myös esimerkiksi epigeneettiset muutokset. On välttämätöntä ymmärtää syövän mikroympäristön, elimistön immuunipuolustusjärjestelmän ja syövän välisen tasapainon, sekä syöpäsolujen metabolomiikan ja proteomiikan merkitys. Näiden tekijöiden samanaikainen huomiointi on haastavaa, ja menetelmät syövän systeemibiologian ymmärtämiseksi ovat puutteellisia. Prekliinistä ja translationaalista tutkimusta tarvitaan valtavasti, jotta ymmärretään, miten sekvensoimalla saatuja tietoja tulkitaan potilaiden hoidon kehittämiseksi (3). Potilaskohtaiset funktionaaliset syöpämallit mahdollistavat systeemibiologian periaatteiden mukaisen tutkimuksen.

Potilaskohtaiset syöpäsoluviljelmät yksilöllistetyn syövänhoidon apuna

Syöpälääkkeiden kehityksen alkuvaiheessa hyödynnetään in vitro -viljeltyä syöpäkudosta ja syöpäsolulinjoja. Myöhäisen vaiheen kliinisissä lääketutkimuksissa todetut hoitovasteet ovat usein olleet pettymyksiä verrattuna prekliinisen tutkimuksen luomiin odotuksiin. Tälle on luultavasti monta selitystä, sillä 2D-soluviljelmät ovat kaukainen arvio syöpää sairastavasta ihmisestä. Yhtenä syynä tulosten poikkeavuuteen on pidetty sitä, että syöpäsolut adaptoituvat nopeasti viljelyolosuhteisiin, ja kauan kasvatetut soluviljelmät ovat geno- ja fenotyyppiltään jo huomattavasti muuntuneita verrattuna primäärisoluviljelmiin (4). Soluviljelymenetelmät ovat viime vuosina kehittyneet,

ja potilaasta irrotettuja syöpäsoluja pystytään useimmiten kasvattamaan ja ylläpitämään ainakin muutaman viikon ajan. Tämä mahdollistaa lääkevaikutuksien arvioimisen potilaskohtaisilla tuoreilla syöpämalleilla geneeristen, vuosia laboratorio-olosuhteissa kasvatettujen solulinjojen sijaan. Ex vivo -kasvatetut syöpäsolut saattavat muodostaa kolmiulotteisia rakenteita, ”organoideja”, ”sferoideja” tai ”tumoroideja”, joiden käyttäytyminen muistuttaa läheisemmin syöpäkasvainta kuin tasaisena mattona alustaan kasvava 2D-syöpäsoluviljelmä (5,6). Ex vivo -organoidimallit säilyttävät alkuperäisen kasvaimen genotyypin ja immunofenotyypin lyhytaikaisen viljelyn aikana paremmin kuin 2D-mallit (7,8). Usein viljeltyt solut mielletään homogeeniseksi massaksi, mutta tarkemmin tarkasteltuna solut koostuvat alapopulaatioista ja sisältävät esimerkiksi tyypillisiä piirteitä joko epiteelisolukosta tai mesenkymaalisesta tukisolukosta. Pitkään jatkuessaan näytteen viljely johtaa klonaaliseen selektioon, jossa ex vivo -olosuhteissa parhaiten selviytyvät solupopulaatiot rikastuvat. Immunofluoresenssifenotyyppityksellä voidaan arvioida syöpäkasvaimen eri solupopulaatioiden reagoimista lääkeainekäsittelyihin (9). Konseptuaalisesti potilaskohtainen ex vivo -syöpäsolumalli on houkutteleva (KUVA 1).

Lääketeollisuudessa kehitettyä automaatio-tekniologiaa hyödyntäen potilaskohtaiset syöpäsolut altistetaan sadoille lääkeaineille useissa konsentraatioissa, jonka jälkeen mitataan solujen elinkykyisyyttä. Näin saadaan annos-vaste-kuvaajat eri lääkeaineille ja tehottomat molekyylit erottuvat syöpäsolujen kasvua jarruttavista lääkkeistä (10). Lääkekäsittelyn jälkeen osa soluista voidaan käyttää molekyyliprofilointiin ja näin identifoida lääkkeiden todennäköiset vaikutusmekanismit. Lisäksi molekyyliprofiloinnin tulosten ja ex vivo -herkkyyden perusteella voidaan luoda hypoteeseja hoitovastetta ennakoivista tekijöistä (11). Koska ex vivo -asetelmassa seulotaan lääkevasteita kymmenien tai satojen molekyylien kirjastoista, kokeissa on havaittu odottamattomia, hyväksytyyn käyttöaiheen ulkopuolisia lääkevasteita, mikä johtaa uusien käyttökohteiden ja biologisten vaikutusmekanismien identifioimiseen aiemmin tutuil-



KUVA 1. Ex vivo -tutkimus osana yksilöllistetyn syövänhoidon ohjausta. Molekyyli- ja solubiologisten tutkimuksien yhteydessä potilaan kudospainotteesta eristetään eläsolunäyte. Näytteen solut altistetaan ex vivo -lääkeaineseulonnassa sadoille eri lääkeaineille ja elinkykymittauksen avulla arvioidaan potilaan kasvainsolujen lääkeväestölle lääkeherkkyyden mahdollisille hoidoille.

le lääkkeille (drug repositioning/repurposing) (12). Testaaminen ei rajoitu yhteen lääkeaineeseen kerrallaan, vaan lääkekombinaatioita voidaan tutkia kahden tai useamman lääkkeen yhdistelmänä etsien synergisiä tai additiivisia vaikutuksia. Suuret julkiset tietokannat, joihin kerätään sekä ex vivo -lääkeherkkyydestä että yksityiskohtaista tietoa tautisolukon profiloimista mahdollistavat tutkimustulosten hyödyntämisen myös tutkijoille, joilla edellä mainitut menetelmät eivät ole käytettävissä. Esimerkkinä tällaisesta tietokannasta on BEAT-AML, joka sisältää yksityiskohtaiset profiilintiedot noin 700 näytteestä akuuttia myelooista leukemiamia (AML) sairastavilta potilailta (13).

Kliinisen työn kannalta lupaavinta on, että ex vivo -mallit ovat ennustaneet kliinistä lääketehtoa tai resistenssiä ja testien perusteella räätälöidystä hoidosta on ollut hyötyä yksittäisille harvinaisille syöpiä sairastaville potilaille (12–15). Eteneviä kliinisiä lääketutkimuksia tarvitaan, jotta voidaan selvittää, missä syöpätyypeissä ex vivo -malleja voidaan käyttää lääkeväestöjen ennakoimiseen ja mitkä lääkeaineet soveltuvat näin testattaviksi.

Ex vivo -syöpäsolumallien tekeminen kiinteistä kasvaimista on vaikeaa, ja näytteenottoon liittyvät rajoitteet täytyy muistaa arvioidaessa mallin edustavuutta. Mitä suurempi määrä kudosta on ja mitä nopeammin syöpäsolukko jakautuu, sen todennäköisemmin ex vivo

-mallinnus onnistuu. Kirurgiset näytteet sopivat hyvin ex vivo -analyysiin mutta ovat metastasoineesta syövästä harvoin saatavissa. Biopsianäytteestä tehdyssä ex vivo -mallissa täytyy huomioida mahdollinen etäpesäkkeiden heterogeisuus. Askites- ja pleuraneste ovat helpommin saatavilla kuin kirurginen tai neulanäyte ja voivat sisältää suurenkin määrän sferoidirakenteita muodostavia syöpäsoluja. Esimerkiksi munasarjasyövästä usein irtoaa askitesnesteeseen paljon syöpäsoluja. Munasarjasyövän lääkeherkkyyttä ja lääkeväestöjen korreloimista genomimuutoksiin onkin tutkittu biopsioista ja askiteksesta luoduilla ex vivo -malleilla, jotka mahdollistavat esimerkiksi funktionaalisen DNA-virheenkorjausmekanismien ja platinaherkkyden osoituksen (14–16). Toisaalta askites- ja pleuraneste voivat olla pääosin reaktiivista ja sisältää mesenkyymisoluja ja vähän syöpäsolukkoa. Yksittäisissä raporteissa on kuvattu ex vivo -malleja verenkierrosta eristetyistä kiertävistä kasvainsoluista (17). Tämä on kuitenkin työläs prosessi eikä ole helposti sovellettavissa kliiniseen potilastyöhön.

Edellä kuvatuilla menetelmillä on rajoitteensa. Eri elatusnesteet saattavat muokata lääkeherkkyyttä ja johtaa joko väärin positiivisiin tai negatiivisiin tuloksiin. Solukuoleman arviointi on herkkä virheille. Analysoitavat solunäytteet sisältävät muitakin soluja kuin syöpäsoluja. Näytteen muut solupopulaatiot voivat muoka-

TAULUKKO 1. Parhaillaan rekrytoivat interventionaaliset ex vivo -tutkimukset. Menetelmäkehitykseen liittyviä havainnointitutkimuksia on lisäksi menossa useissa eri syöpätyypeissä.

NCT-numero	Syöpätyyppi	Tutkimus	Potilaiden määrä
NCT04349293	Kiinteät kasvainmet	Ex-vivo Evaluation of the Reactivity of the Immune Infiltrate of Cancers to Treatments With Monoclonal Antibodies Targeting the Immunomodulatory Pathways	150
NCT04298489	GIST	Drug Sensitivity Screening for Gastrointestinal Cancer	40
NCT03961737	Eturauhassyöpä	Study of the Response to Irradiation on Prostatic Explants ex Vivo, as a Predictive Factor of the Clinical Response to Irradiation of Prostate Cancers	92
NCT04267081	Akuutti myeloiininen leukemia	Study of Venetoclax in Combination With Azacytidine in AML Patients Selected Using Ex Vivo Drug Sensitivity Screening (VenEx)	100
NCT04470947	Hematologiset syövät	Comprehensive Genomic Profiling and Next Generation Functional Drug Screening for Patients With Aggressive Haematological Malignancies (EXALT-2)	150

ta tuloksia sen mukaan, kuinka suuren osuuden ne muodostavat koko näytteestä ja kuinka herkkiä tai resistenttejä ne ovat tutkitulle lääkeaineelle. Käyttämällä virtausytometriaa tai immunofluoresenssiin perustuvaa kohdennettua lääkeherkkyysmäärittystä voidaan tarkasti arvioida kunkin solupopulaation herkkyys tutkituille lääkkeille. Käytettävien menetelmien validatio kliinisissä tutkimuksissa on tärkeää, jotta ex vivo -menetelmiä voitaisiin ottaa kliiniseen käyttöön (**TAULUKKO 1**).

Ex vivo -mallinnuksen siirtyminen perustutkimuksesta kliiniseen käyttöön on ollut nopeampaa hematologisissa syövässä. Osin syynä on syöpäsolukon helpompi saatavuus ja ex vivo -viljelymenetelmien verrattainen yksinkertaisuus. Lisäksi esimerkiksi AML:ssä tautisolukon somaattisten mutaatioiden määrä on kohtalaisen vähäinen (2). Varhaisen vaiheen tutkimuksessa AML:ää sairastavilla potilailla ex vivo -analyysin perusteella valittu hoito hyödytti useimpia potilaita (ORR 88 %) ja hyöty kesti pidempään kuin aiemmalla empiirisesti valitulla hoidolla (18). Suomessa on meneillään Suomen Leukemiaryhmän etenevä monikeskustutkimus, jossa hyödynnetään ex vivo -herkkyysmäärittystä potilasvalinnassa (NCT04267081). Määrittystä käytetään uuden apoptoosimodulaattorin, venetoklaksin, hoidonvalintaan ja selvitetään millä soluviljely- ja ex vivo -vastemääritysmenetelmillä saavutetaan paras in vivo-/ex vivo -korrelaatio.

Mikroympäristön vaikutukset syöpäkudokseen ja niiden mallintaminen

Syöpäkudos poikkeaa normaaleista anatomisista rakenteista sekä makros- että mikroskooppisesti. Rakenteilla on yhteys syövän kasvu- ja leviämistapaan sekä lääkevästeisiin vaikuttamalla lääkeaineiden kudospenetranssiin ja kasvutekijöiden saatavuuteen kasvaimen sisällä. Kiinteiden kasvaimien solujen on saavutettava kyky kasvaa invasiivisesti ympäröiviin kudoksiin ja metastasoida. Näitä ominaisuuksia on ollut vaikea mallintaa.

On kehitetty ex vivo -viljelmämalleja, joissa syöpäsolukkoa kasvatetaan mikroympäristöä muistuttavassa matriksissa. Normaalkudosten kantasolujen erilaistumista pystytään käsittelemään ja ohjaamaan muodostamaan elimiä muistuttavia organoidirakenteita (19). Potilaskohtaista syöpäsolukkoa voidaan viljellä organoidikudospohjalla ja siten mallintaa syövän invaasiota verisuoniin ja metastasoitumista eri elimiin. Immuunipuolustusjärjestelmän soluja voidaan viljellä yhdessä syöpäsolukon kanssa. Tämä mahdollistaa kasvainsolukon ja immuunisolukon vuorovaikutuksen ymmärtämistä ja immuunisolujen aktivointia lääkkeiden avulla. Ex vivo -kasvatettuja solumalleja voidaan istuttaa koe-eläimiin, jossa ne muodostavat kasvaimia. Tällaiset PDX-hiirimallit mallintavat tarkemmin syöpäkasvaimia, sillä ne sisältävät

TAULUKKO 2. Artikkelissa käsiteltyjen eri ex vivo -syöpämallien keskeisimmät vahvuudet ja heikkoudet.

Malli	Vahvuudet	Heikkoudet
Organoidiviljelmä	Toistettavuus, useita yleisesti hyväksytyjä menetelmiä, kolmiulotteinen näyterakenne, solu-solukontaktit	Vaatii kirurgisen näytteen, mahdollinen vain osasta potilaita, työläs, mikroympäristön mallinnus haastavaa, käyttöaika rajoitettu viljelmän muuntumisen takia
Ksenograftimallit	Mikroympäristö	Hidas, työläs, huonosti skaalautuva, kallis, analyysimenetelmät
Soluviljelmä	Nopea, skaalautuva, toistettava, soveltuva useisiin syöpiin ja potilaisiin	Mikroympäristö ja 3D rakenne menetetään, mikroskopiaan perustuvat analyysimenetelmät monimutkaisia

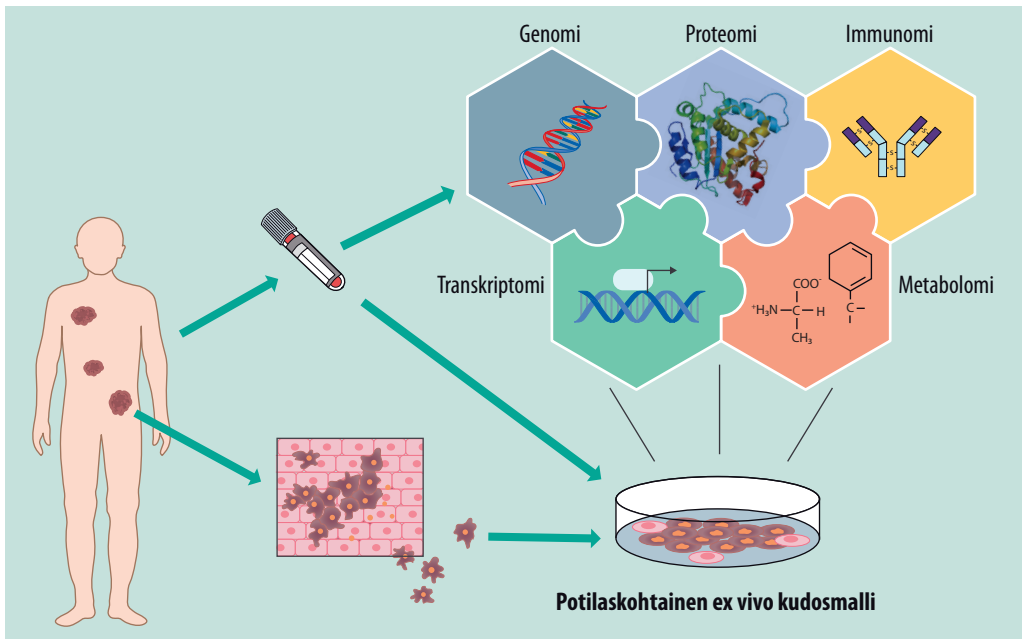
myös mikroympäristön. PDX-hiirimallin luominen on kuitenkin pitkäkestoinen ja kallis prosessi, eikä lääkeaineiden ja niiden yhdistelmien tehoa voi tutkia yhtä tehokkaasti kuin ex vivo -malleissa. Syövät kasvavat eri tavoin PDX-hiirimallissa, klonaalinen selektiopaine on erilainen kuin potilaissa, eikä kaikkia syöpiä saada lainkaan kasvamaan (20). Jotta syöpämallia voisi käyttää kliinisen päätöksenteon tukena pitää solujen irrotuksesta päästä profiilointituloksiin noin kahden viikon aikajänteellä, joka ei PDX-malleilla onnistu (TAULUKKO 2).

Potilaskohtainen syövän systeemibiologinen mallintaminen

Syövän systeemibiologinen mallintaminen, jossa huomioitaisiin genomien lisäksi transkriptomi, proteomi, metabolomi, lipidomi, ja immunomi on vasta alussa (KUVA 2). Yksittäisissä kokeissa on saatu esimakua multiomiikan hyödyntämisestä. Viime vuonna tutkijat raportoivat, kuinka liikunta vaikuttaa kymmenien tuhansien molekyylien ilmentymiseen ja kasvutekijäkaskadien aktivoitumiseen tarkasti säädellyllä tavalla. Tutkijat kuvasivat havaitsemiaan ilmiöitä lennokkaasti ”molekyylien ko-reografiaksi”, vaikuttuneina näymästä, jonka systeemibiologinen lähestyminen liikuntaan liittyviin molekyyliprosesseihin avasi (21). Kun tutkimusmenetelmät systeemibiologian mallintamiseen kehittyvät, tulee käsityksemme syövän luonteesta tarkentumaan ja mahdollistamaan uudentyyppisten hoitostrategioiden kehittämisen. Potilaskohtaiset ex vivo -syöpäsolumallit soveltuisivat syövän systeemibiologian koekentäksi hyvin, sillä lääkealtistuksen käynnistämää reaktiokaskadia voitaisiin ex vivo

-asetelmassa seurata molekyyli- ja solutasolla. Toistaiseksi syövän systeemibiologia on kaukana kliinisestä työstä. Sovelluksista lähimpänä on proteomiikan ja genomiikan yhdistävät biomarkerit, joita voidaan hyödyntää syövän varhaisessa detektiossa. Esimerkiksi Cancer-SEEK-nestebiopsi testi, joka yhdistää soluttoman DNA:n ja proteiniomarkerin mittauksen samasta verinäytteestä, pystyi identifioimaan 70–98 %:n herkkyydellä leikattavissa olevan syövän potilailla, joilla ei ollut testiä otettaessa oireita tai tiedossa olevaa kasvaintautia (22).

Geneettiset ja epigeneettiset tekijät muokkaavat solujen glukoosituotantoa, glukoosin ottoa solujen sisään, glykolyysin eri vaiheita sekä amino- ja rasvahappojen käyttöä. Tämä johtaa syöpäsolujen poikkeavaan metaboliiaan, joka onkin yksi syövän luonteenomaisista ominaisuuksista (23). Syöpäsolujen poikkeavaa glukoosimetaboliaa on hyödynnetty diagnostiikassa FDG-PET-kuvantamisessa, joka identifioi aggressiivisesti ja nopeasti kasvavat syövät tietokonetomografiaa herkemmin. Osa syövästä riippuu metaboliareittien toimintaa säätelevien entsyymien mutaatioista (24). Syöpämetabolian muuntamiseen perustuvia hoitoja on kehitetty pitkään, mutta vasta nyt ensimmäiset lääkkeet ovat osoittaneet tehoa. Isositraattidehydrogenaasi (IDH) on NADP+-riippuvainen entsyymi, joka katalysoi oksidatiivista dekarboksylaatiota, jossa isositraatista muodostuu alfa-ketoglutaraattia. IDH-mutaatiot häiritsevät entsyymitoimintaa ja aiheuttavat onkometaboliitti 2 -hydroksiglutaraatin kertymistä IDH-mutatoituneeseen soluun ja estävät solujen erilaistumisen. IDH-mutaatioita on kuvattu glioomissa, myeloomissa syövässä sekä kolangiokarsinoomissa (25). Mutatoitu-



KUVA 2. Potilaskohtainen ex vivo -kudomalli on monipuolinen koe-alusta systeemibiologisille lääkekokeille. Potilaasta irrotettuja kasvainsoluja voidaan altistaa lääkeainekäsittelyille, jonka jälkeen soluista voidaan tehdä perusteellinen molekyyliprofilointi. Solujen immunofenotyyppityksellä voidaan määrittellä ex vivo-mallin solutyypit (syöpäsolut, kasvaimen strooman solut, immuunisolut) ja korreloida lääkevästeet solutyypeittäin. Optimaalisessa tilanteessa solut muodostavat myös organoidirakenteita. Kudosnäytteen morfologiaa ja molekyylipatologisista tekniikoin tehtyä profilointia verrataan ex vivo -malliin, jotta varmistetaan ex vivo -mallin edustavuus. Samaan aikaan potilaasta otettavasta nestebiopsiasta voidaan tehdä geenidiagnostiikkaa sekä määrittää muita prognostisia ja prediktiviisiä biomarkkereita. Verinäytteen valkosoluja voidaan käsitellä ja seuloa, sekä testata immuunisolujen reagoitua ex vivo -viljeltyjen syöpäsolujen kanssa.

neeseen IDH-1- ja IDH-2-proteiiniin kohden-
netuilla lääkeaineilla (ivosidenibi, enasidenibi)
on saavutettu pitkäkestoisia vasteita AML:ssa
(26).

Nestebiopsiat syöpägenomin analysoinnissa ja sen muutosten seurannassa

Syövän kyky muovautua hoitojen aikana on
perustavanlaatuisen ongelma syövän hoidossa.
Syövän molekyylibiologista diagnostiikkaa tuli-
sijä ajatella jatkumona eikä kertaalleen hoidon
alkuvaiheessa tehtävänä toimenpiteenä. Las-
kimoverinäytteistä eli nestebiopsioista tehtävä
biomarkeritutkimus kuten kiertävien nukle-
iinihappojen osoitus, kiertävien kasvainsolu-
jen profilointi, metaboliittien ja kasvainsolut
kohdanneiden verihytaleiden analyysi on ol-
lut suuren kiinnostuksen kohteena (27). Me-

netelmällä on useita käyttömahdollisuuksia:
se mahdollistaa syöpägenomin muuntumisen
seurannan, syövän varhaisen diagnostiikan ja
jäännöstaudin osoituksen. Nestebiopsia saat-
taa edustaa heterogeenista kasvainta paremmin
kuin kudosisiopsia (28). Tällä hetkellä neste-
biopsian kliinistä käyttöä rajoittaa tutkimuksen
kallis hinta; teknisesti tutkimus useimmiten on-
nistuu silloin, kun kyseessä on aktiivista hoitoa
vaativa metastaattinen syöpätauti.

Nestebiopsiatulosten tulkinta ei kuitenkaan
ole ongelmatonta. Morfologinen konteksti
puuttuu nestebiopsiasta, eikä se siten täysin voi
korvata kudosisiopsiaa. Kun verenkierrosta et-
sitätään erittäin pieniä määriä DNA:ta, pienetkin
muutokset analyysitekniikassa tai näytteenotto-
ajankohdassa voivat vaikuttaa havaittujen va-
rianttien määrään (29). Kaikki nestebiopsiassa
havaitut variantit eivät välttämättä liity poti-
laan aktiiviseen syöpätautiin. Merkitykseltään

epäselvä klonaalinen hematopoiesi (clonal hematopoiesis of indeterminate potential, CHIP) on tila, jossa ikääntymisen myötä verta muodostaviin hematopoieettisiin kantasoluihin ilmaantuu hankinnaisia mutaatioita. Mutaatiot ovat usein samoja, joita todetaan pahanlaatuisien veritautien yhteydessä, ja tällaisia klooneja löydetään myös terveiltä ihmisiltä. CHIP-mutaatioita voidaan sikiä todeta myös nestebiopsiassa. Tällaiset somaattiset muutokset ovat yleisiä esimerkiksi *DNMT3*-, *TET2*- ja *ASXL1*-geeneissä mutta ovat joskus havaittavissa myös *TP53*-, *IDH 1/2*- ja *BRCA2*-geeneissä (30,31). Primaarikasvaimen sekvensointitulokset sekä moniammatillinen kasvainkokous auttavat arvioimaan nestebiopsiassa todettujen poikkeavuuksien kliinistä merkitystä.

Yksi mielenkiintoisimmista nestebiopsian kliinisistä sovelluksista olisi jäännöstaudin osoitus. Mikäli leikkauksen jälkeen verenkierrosta löytyy kasvainperäistä DNA:ta, taudin uusiutumisen riski on huomattavan suuri esimerkiksi suolisto- ja rintasyövässä (31). Nestebiopsiaa voitaisiin ehkä käyttää lisätekijänä osoittamaan liitännäishoidon tarve ja säästää osa potilaista solunsalpaajahoidoilta. Toistaiseksi näyttö adjuvanttihoitoa ohjaavista etenevistä kliinisistä tutkimuksista kuitenkin puuttuu.

Lopuksi

Tieto syövän biologiasta lisääntyy kasvavalla tahdilla, mutta usein tieteellisten löytöjen ja kliinisten sovellusten käyttöönoton välinen aika on pitkä. Perustutkimuksen näkökulmasta genomitiedon tärkeys syövän hoitostrategiassa on ollut selvä jo vuosikymmeniä. Syövän molekyyliprofiiloiminen NGS (next generation

Ydinasiat

- ▶ Syövän geenimuutoksia pitää tulkita biologisessa kontekstissa muun muassa mikroympäristön ja immuunipuolustusjärjestelmän toiminta huomioiden.
- ▶ Potilaskohtaiset ex vivo -syöpämallit mahdollistavat yksilöllistetyn, systeemibiologian periaatteita hyödyntävän syövänhoidon tutkimuksen.
- ▶ Syövän jatkuvan muuntuvuuden vuoksi geenidiagnostisia tutkimuksia kannattaa uusia kliinisen tilanteen muuttuessa.

sequencing) -menetelmin on nyt huomioitu eurooppalaisissa hoitosuosituksissa osana akuuttien ja kroonisten leukemioiden, ei-pienisoluisen keuhkosyövän, sappitiesyövän, eturauhassyövän sekä munasarjasyövän hoidon suunnittelua (32). Toisaalla tässä numerossa on käsitelty geenidiagnostiikkaan perustuvia hoitoja suomalaisen hoitokäytännön perspektiivistä. Todennäköisesti yhä useammassa syöpätyypissä otetaan käyttöön hoitoja, joiden optimaalinen hyödyntäminen vaatii ymmärrystä syövän ja immuunijärjestelmän biologiasta. Perustutkimuksen ja kliinisen potilastyön välistä kuilua voidaan kuroa moniammatillisissa kasvainkokouksissa käytävällä dialogilla. Nestebiopsia sekä potilaskohtaiset ex vivo -syöpämallit puolestaan mahdollistavat syövän dynaamisen seurannan ja prediktivisten biomarkkereiden kehityksen kannalta tärkeän genotyypin ja kliinisen vasteen yhdistämisen sekä systeemibiologisen otteen syövän hoitoon. ■

JUHA KONONEN, LT, ylilääkäri

Docrates Syöpäsairaala

MARIA SUNDVALL, dosentti, syöpätautien erikoislääkäri

Biolääketieteen laitos, Syöpätutkimusyksikkö, TY ja Läntinen Syöpäkeskus, Syöpäklinikka TYKS

MIKA KONTRO, dosentti, kliinisen hematologian ja sisätautien erikoislääkäri

HUS Syöpäkeskus, hematologian linja ja Suomen molekyyli lääketieteen instituutti, Helsingin yliopisto

JUHA RANTALA, FT, Lecturer

Oncology and Metabolism, University of Sheffield, Medical School ja CEO, Misvik Biology Oy

TEEMAN ERIKOISTOIMITTAJA

Panu Jaakkola

VASTUUTOIMITTAJA

Tuomas Mirtti

KIRJALLISUUTTA

1. Campbell PJ, Getz G, Korbel JO, ym. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* 2020;578:82–93.
2. Network TCGAR. Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *New Engl J Medicine* 2013;368:2059–74.
3. Boehm JS, Garnett MJ, Adams DJ, ym. Cancer research needs a better map. *Nature* 2021;589:514–6.
4. Hynds RE, Vladimirov E, Janes S. The secret lives of cancer cell lines. *Dis Model Mech* 2018;11:dmm037366.
5. Drost J, Clevers H. Organoids in cancer research. *Nat Rev Cancer* 2018;18:407–18.
6. Munne PM, Mariel, Juopperi I, ym. Kuinka pitää syöpä hengissä? *Duodecim* 2018;134:784–92.
7. Nanki Y, Chiyoda T, Hirasawa A, ym. Patient-derived ovarian cancer organoids capture the genomic profiles of primary tumours applicable for drug sensitivity and resistance testing. *Sci Rep* 2020;10:12581.
8. Goldhammer N, Kim J, Timmermans-Wielenga V, ym. Characterization of organoid cultured human breast cancer. *Breast Cancer Res* 2019;21:141.
9. Makela R, Arjonen A, Rahmanto AS, ym. Ex vivo assessment of targeted therapies in a rare metastatic epithelial–myoepithelial carcinoma. *Neoplasia* 2020;22:390–8.
10. Yadav B, Pemovska T, Szwajda A, ym. Quantitative scoring of differential drug sensitivity for individually optimized anticancer therapies. *Sci Rep* 2014;4:5193.
11. Kontro M, Kumar A, Majumder MM, ym. HOX gene expression predicts response to BCL-2 inhibition in acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2017;31:301–9.
12. Pemovska T, Johnson E, Kontro M, ym. Axitinib effectively inhibits BCR-ABL1(T315I) with a distinct binding conformation. *Nature* 2015;519:102–5.
13. Tyner JW, Tognon CE, Bottomly D, ym. Functional genomic landscape of acute myeloid leukaemia. *Nature* 2018; 562:526–31.
14. Nelson L, Tighe A, Golder A, ym. A living biobank of ovarian cancer ex vivo models reveals profound mitotic heterogeneity. *Nat Commun* 2020;11:822.
15. Lohse I, Azzam Dj, Al-Ali H, ym. Ovarian cancer treatment stratification using ex vivo drug sensitivity testing. *Anticancer Res* 2019;39:4023–30.
16. Tumiatu M, Hietanen S, Hynninen J, ym. A functional homologous recombination assay predicts primary chemotherapy response and long-term survival in ovarian cancer patients. *Clin Cancer Res* 2018;24:4482–93.
17. Lee HL, Chiou JF, Wang PY, ym. Ex Vivo expansion and drug sensitivity profiling of circulating tumor cells from patients with small cell lung cancer. *Cancers* 2020;12:3394.
18. Snijder B, Vladimer GI, Krall N, ym. Image-based ex-vivo drug screening for patients with aggressive haematological malignancies: interim results from a single-arm, open-label, pilot study. *Lancet Haematol* 2017;4:e595–606.
19. Kim J, Koo BK, Knoblich JA. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2020;21:571–84.
20. Okada S, Vaeteewoottacharn K, Kariya R. Application of highly immunocompromised mice for the establishment of patient-derived xenograft (PDX) models. *Cells* 2019;8:889.
21. Contrepois K, Wu S, Moneghetti KJ, ym. Molecular choreography of acute exercise. *Cell* 2020;181:1112–30.e16.
22. Cohen JD, Li L, Wang Y, ym. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science* 2018;359:926–30.
23. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next Generation. *Cell* 2011; 144:646–74.
24. Heiden MG, DeBerardinis RJ. Understanding the intersections between metabolism and cancer biology. *Cell* 2017; 168:657–69.
25. Bergaggio E, Piva R. Wild-type IDH enzymes as actionable targets for cancer therapy. *Cancers* 2019;11:563.
26. DiNardo CD, Stein EM, Botton S de, ym. Durable remissions with Ivosidenib in IDH1-mutated relapsed or refractory AML. *New Engl J Med* 2018;378:2386–98.
27. Isomursu A, Kononen J, Kuopio T. Circulating cell-free DNA as biomarker for cancer. *Duodecim* 2015;131:424–32.
28. Parikh AR, Leshchiner I, Elagina L, ym. Liquid versus tissue biopsy for detecting acquired resistance and tumor heterogeneity in gastrointestinal cancers. *Nat Med* 2019;25:1415–21.
29. Stetson D, Ahmed A, Xu X, ym. Orthogonal comparison of four plasma NGS tests with tumor suggests technical factors are a major source of assay discordance. *Jco Precis Oncol* 2019;3:1–9.
30. Jensen K, Konnick EQ, Schweizer MT, ym. Association of clonal hematopoiesis in DNA repair genes with prostate cancer plasma cell-free DNA testing interference. *Jama Oncol* 2021;7:107–10.
31. Ignatiadis M, Sledge GW, Jeffrey SS. Liquid biopsy enters the clinic — implementation issues and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol* 2021;18:297–312.
32. Mosele F, Remon J, Mateo J, ym. Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Ann Oncol* 2020;31:1491–505.

SIDONNAISUDET

Juha Kononen: Koulutus ja konsultointi: (Roche, Amgen, Bayer, Takeda, BMS), kongressikulut: (Roche, Merck)

Maria Sundvall: Apuraha (Suomen Akatemia, Sigrid Juseliuksen säätiö, Syöpäjärjestöt, Suomen Lääketieteen säätiö), luentopalkkio/asiatuntijapalkkio (BMS, Ipsen, Roche), korvaukset koulutus- ja kongressikuluista (Pfizer, Novartis, BMS, Pierre Fabre, Roche, Lilly)

Mika Kontro: Apuraha (AbbVie), luentopalkkio/asiatuntijapalkkio (AbbVie, Astellas, Celgene, Jazz Pharmaceuticals, Pfizer, Novartis), korvaukset koulutus- ja kongressikuluista (Celgene, BMS, Novartis, Pfizer)

Juha Rantala: Misvik Biology Oy:n perustaja ja omistaja. apuraha (Yorkshire Cancer Research, AstraZeneca).