Universitätsklinikum Leipzig

UNIVERSITÄT LEIPZIG
Medizinische Fakultät

Neues über die Tumorzelle – wissen wir mehr?

Dr. Ivonne Nel; Prof. Dr. med. Bahriye Aktas
Forschungslabor der
Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde
ivonne.nel@medizin.uni-leipzig.de

DKG KREBSGESELLSCHAFT | Zertifiziertes Gynäkologisches Krebszentrum

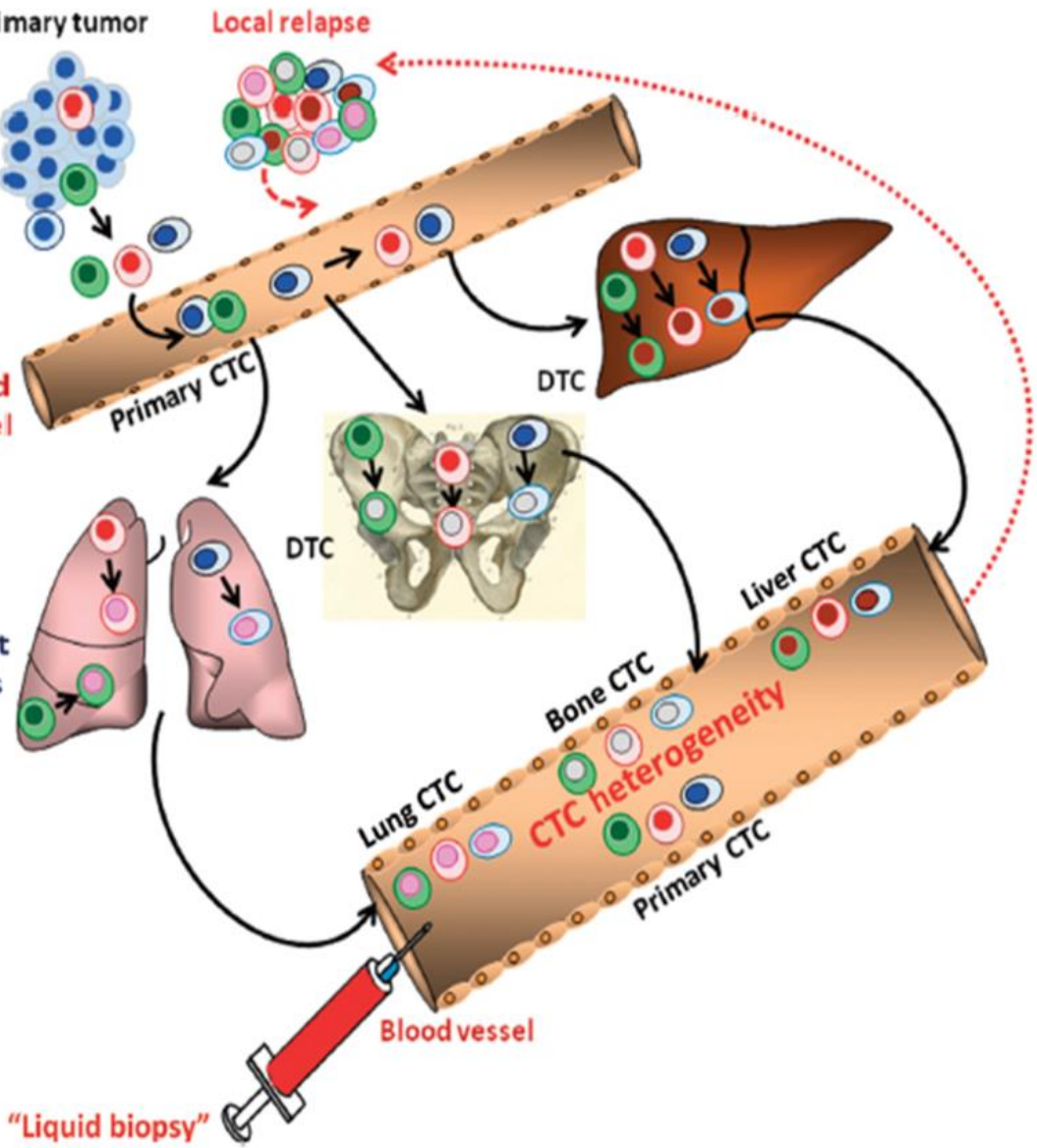
BRUSTZENTRUM

Hematogenous Spread

Micro-metastases

"Steady state"

Re-circulation



Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer. Alix-Panabières C, Pantel K. Clin Chem. 2013 Jan;59(1):110-8

CTCs und Spätrezidive bei ER+ Mammakarzinom

Association of Circulating Tumor Cells With Late Recurrence of Estrogen Receptor–Positive Breast Cancer

JAMA Network Open

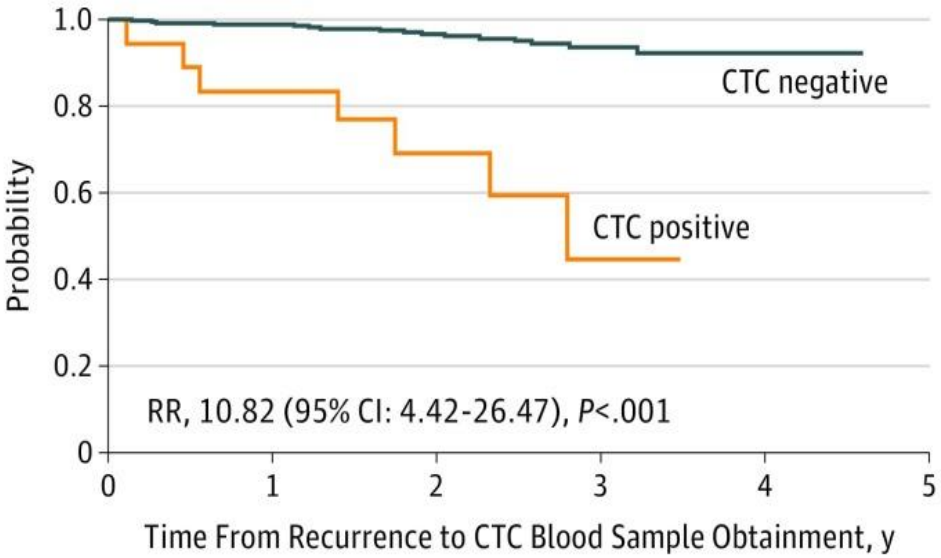
Sparano et al, JAMA Oncol. 2018 Dec; 4(12): 1700–1706.

ER+ ; 5 Jahre nach Erstdiagnose

13-fach erhöhtes Rezidiv-Risiko bei einem positiven CTC Event
(≥1 CTC in 7,5 ml Blut, CellSearch)

30% CTC-positiv 2,8 Jahre VOR Rezidiv

Rezidiv-Rate pro Personen-Jahr im Follow -Up:
21 % bei CTC+ vs. **2%** bei CTC-



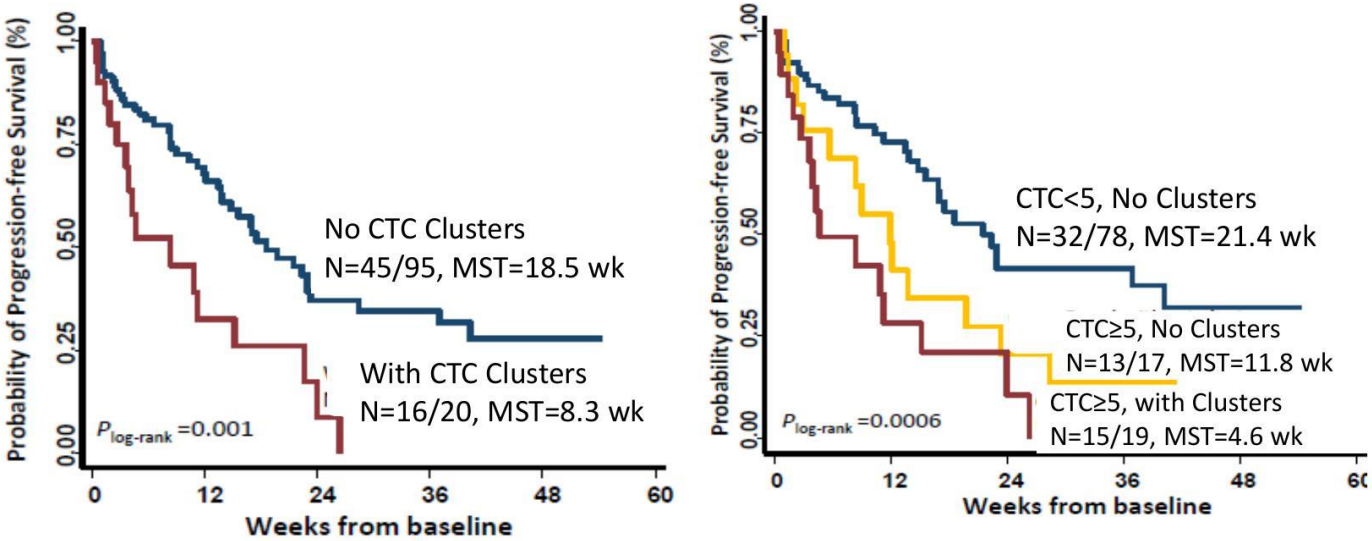
No. at risk						
CTC negative	335	306	211	102	16	0
CTC positive	18	13	7	3	0	0

CTCs waren nicht prädiktiv für ER- Patientinnen

-> Stratifizierung von ER+ Risiko-Patienten mittels *Liquid Biopsy Marker*

Sind CTC -Cluster die Übeltäter?

CTC Cluster sind mit ungünstigem PFS assoziiert

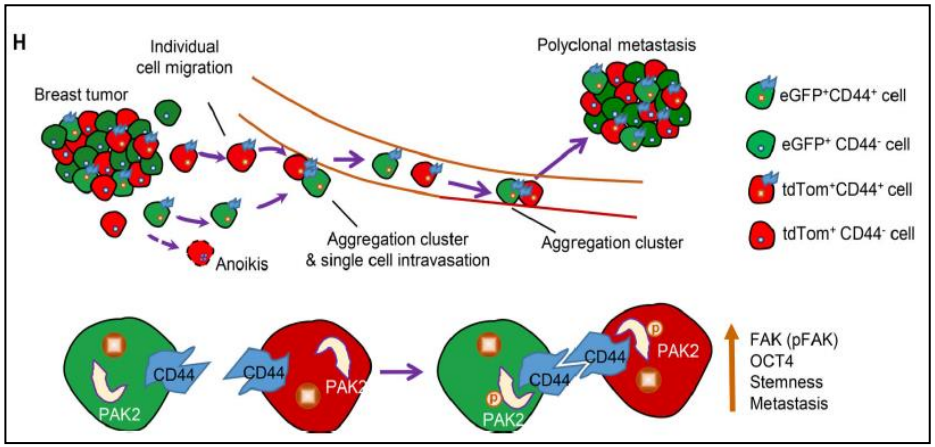


Kaplan-Meier estimates of probability of PFS in advanced-stage breast cancer

Massimo Cristofanilli *Int J Mol Sci.* 2016 Oct; 17(10): 1665

Wie entstehen CTC Cluster *in vivo*?

Homophilic CD44 interactions mediate tumor cell aggregation and polyclonal metastasis in patient-derived breast cancer models Liu et al, Cancer Discov. 2019 Jan; 9(1): 96–113.

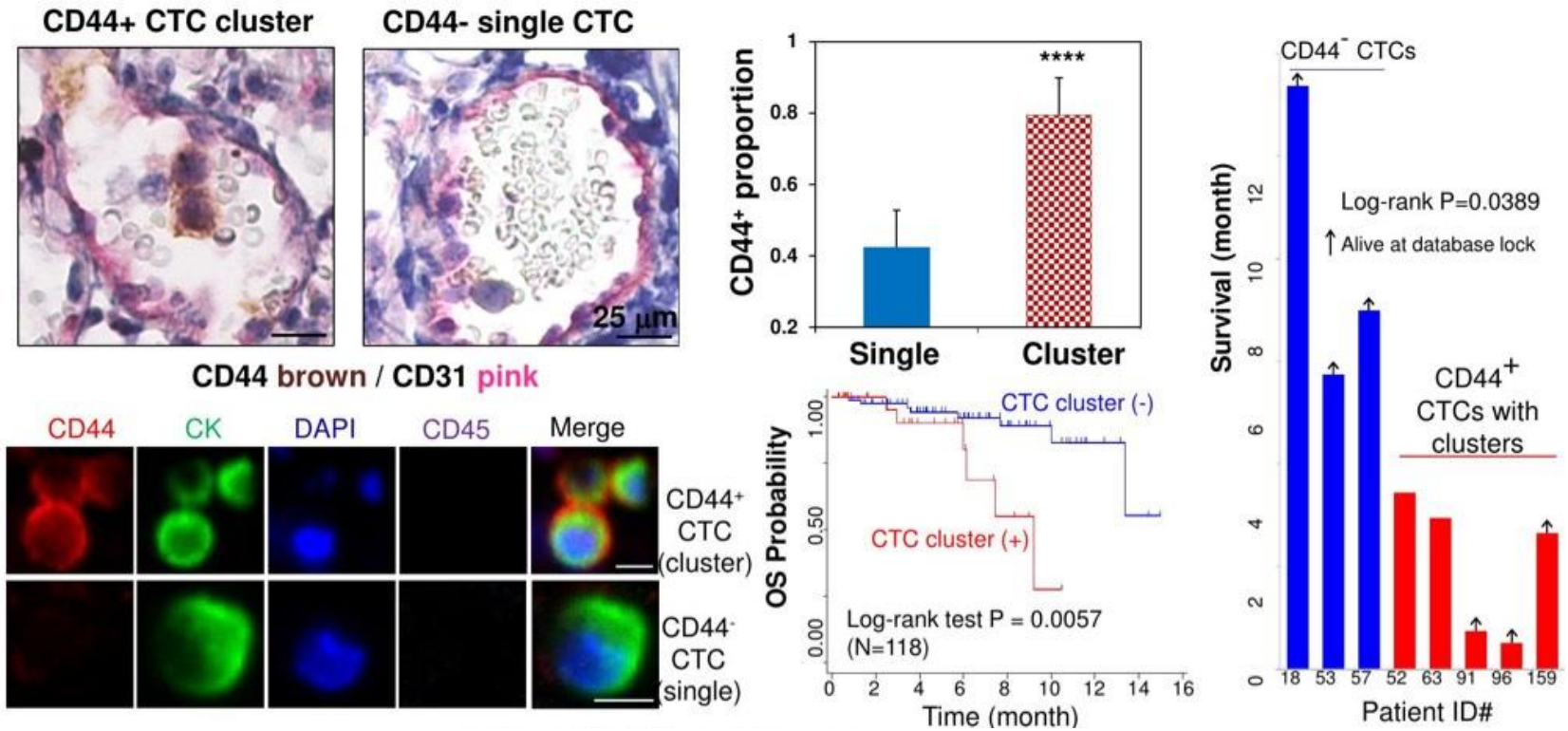


Erhöhtes Metastasierungspotential von CTC-Clustern vs. Einzel-CTCs

CTC-Cluster haben stammzellartige Eigenschaften (CD44)
und erhöhte Proliferation

Hypothese: CTC bilden Aggregate anstatt kollektiv abzusiedeln

Erhöhte CD44 Expression in CTC Cluster und kürzeres Überleben

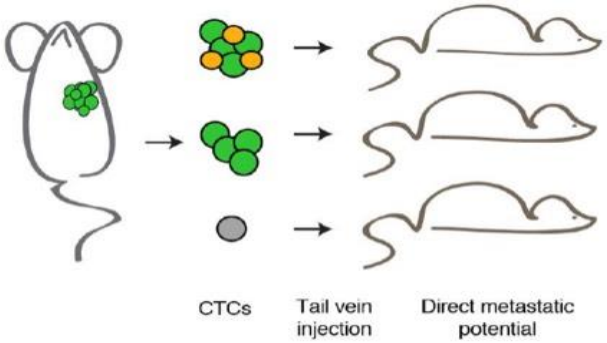


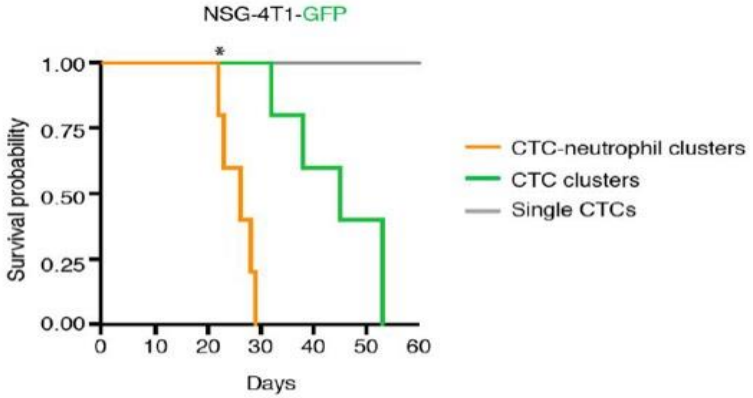
Neutrophils escort circulating tumour cells to enable cell cycle progression

RESEARCH LETTER

Barbara Maria Szczerba[1], Francesc Castro-Giner[1,2], Marcus Vetter[3,4], Ilona Krol[1], Sofia Gkountela[1], Julia Landin[4], Manuel C. Scheidmann[1], Cinzia Donato[1], Ramona Scherrer[1], Jochen Singer[2,5], Christian Beisel[5], Christian Kurzeder[3,6], Viola Heinzelmann-Schwarz[3], Christoph Rochlitz[4], Walter Paul Weber[6], Niko Beerenwinkel[2,5] & Nicola Aceto[1*]

CTC-Neutrophile Cluster mit höchster Metastasierungskompetenz

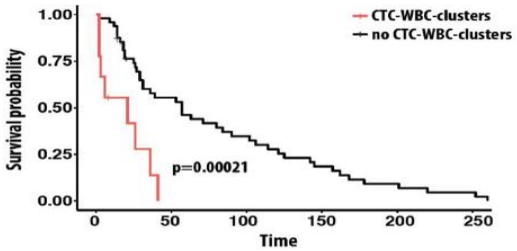


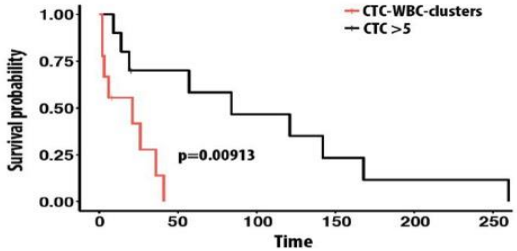


CTC-Neutrophile Cluster mit kürzerem PFS assoziiert

@San Antonio Breast
This presentation is the i

al., Nature, 2019





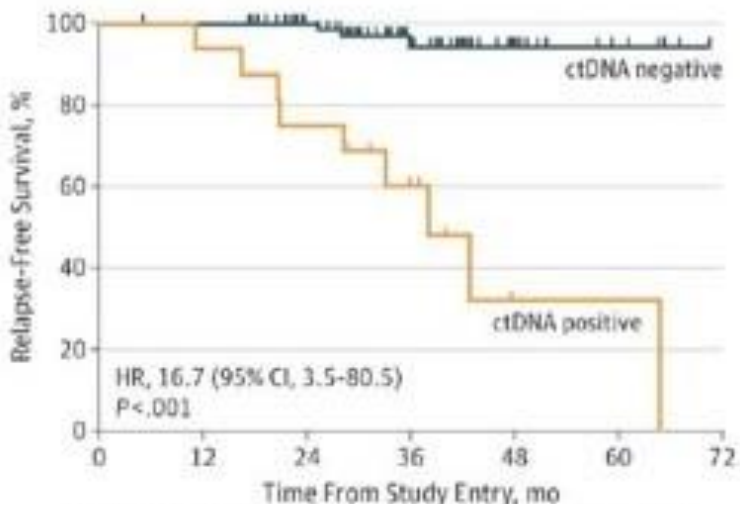
-> CTC Cluster sind Vorboten von Metastasen

Dynamisches Touch & Go

ctDNA als Surrogat-Marker

Brief Report

Assessment of Molecular Relapse Detection in Early-Stage Breast Cancer



Garcia-Murillas et al, JAMA Oncol. 2019;5(10)

ddPCR kann 1 mutierte DNA- Kopie unter >10‘000 wt Kopien detektieren

ctDNA nach NAC bzw. im Follow-Up mit Relapse assoziiert:

TNBC > HER2+ > ER+

Response-Marker für NAC bei HER2+ (NeoALLITO)

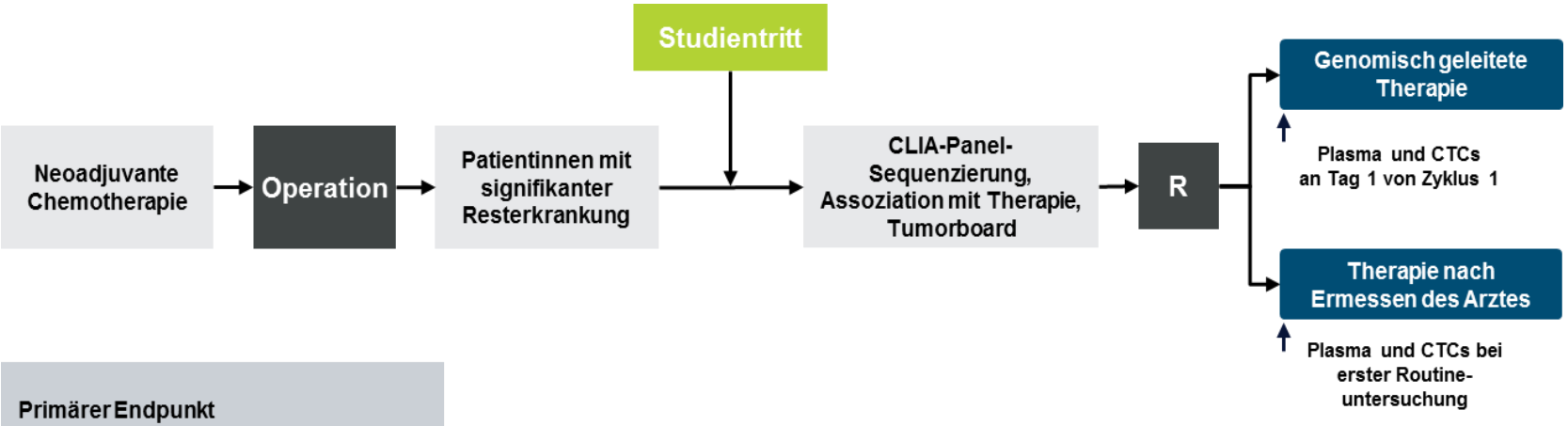
- Prädiktiv nach NAC bei TNBC BRE12-158 Trial

- Möglicher Marker für Therapie-Auswahl: PlasmaMATCH Trial

BRE12-158: ctDNA mit Rezidiv-Risiko bei frühem TNBC assoziiert

Radovich et al. | 2019 SABCS | GS5-02

-Randomisierte Phase II Studie
-Verbessern Genom-basierte Therapieentscheidungen nach NAC das Überleben?



Primärer Endpunkt

- 2-Jahres-DFS (N=196)

BRE12-158: ctDNA mit Rezidiv-Risiko bei frühem TNBC assoziiert

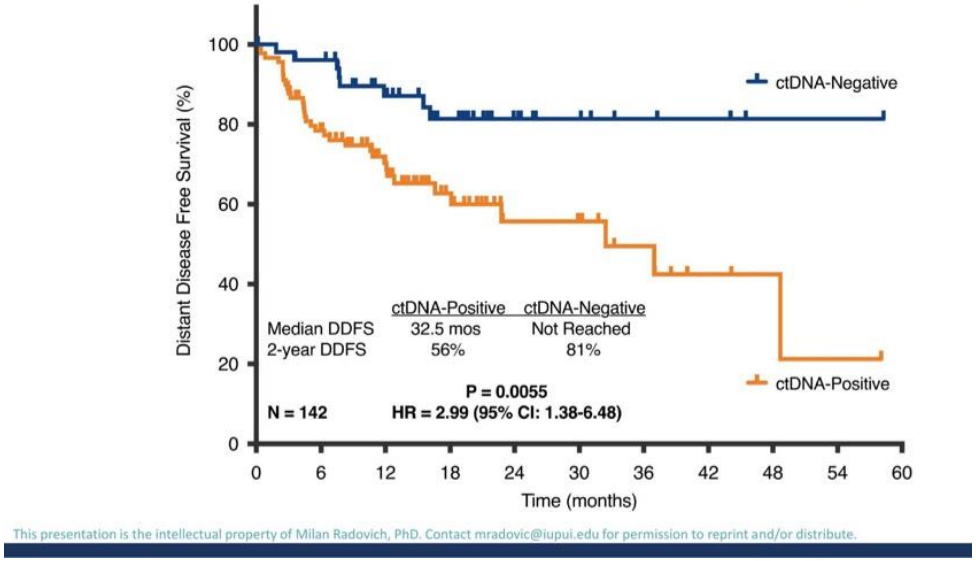
Charakteristika, N (%)	Alle eingeschlossenen Patientinnen (N=196)
Altersgruppe, Jahre	
≤45	71 (36)
46–60	87 (44)
61–75	36 (18)
≥76	2 (1)
Rasse	
Weiß	141 (72)
Schwarz	50 (26)
Asiatisch	3 (2)
Unbekannt	2 (1)
Ethnizität	
Hispanisch oder lateinamerikanisch	17 (9)
Nicht hispanisch oder lateinamerikanisch	175 (89)
Unbekannt	4 (2)

Charakteristika, N (%)	Alle eingeschlossenen Patientinnen (N=196)
Behandlungsarm	
Arm A	70 (36)
Arm B (randomisiert)	73 (37)
Arm B (zugewiesen)	48 (24)
Nicht randomisiert oder zugewiesen	5 (3)
Anatomisches Stadium	
I	45 (23)
II	100 (51)
III	50 (26)
Unbekannt	1 (1)
Lymphknotenbeteiligung	
Ja	90 (46)
Nein	104 (53)
Unbekannt	2 (1)
Tumorgröße bei Operation	
≤2 cm	88 (45)
2–5 cm	80 (41)
>5 cm	27 (14)

-ctDNA Sequenzierung mittels FoundationOne Liquid Assay:
70 Onco-Gene typisch für Brustkrebs

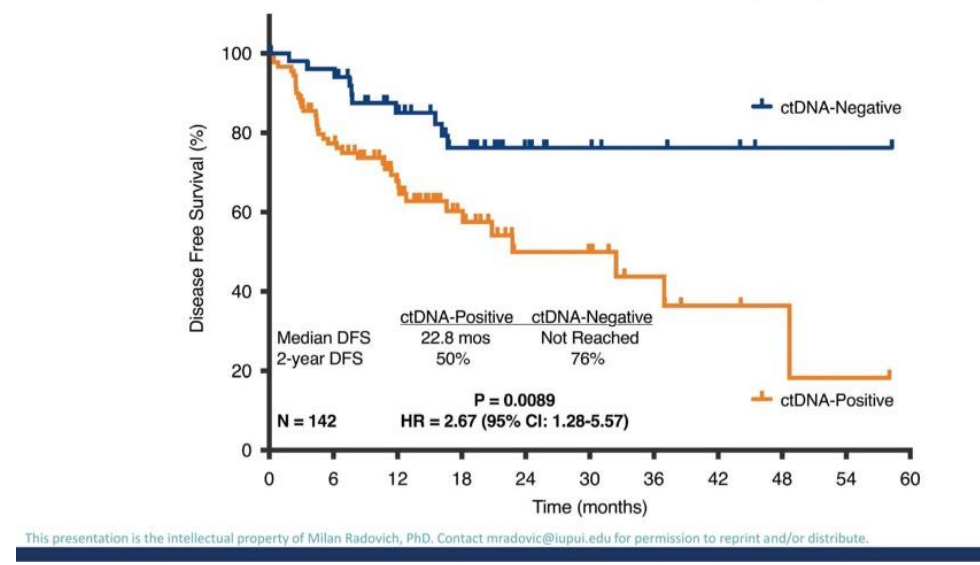
- CTC-Isolierung EpCAM-basiert:
CTC-positive wenn ≥1 CTC

BRE12-158: ctDNA und DDFS / DFS



- bei 63% mutierte ctDNA

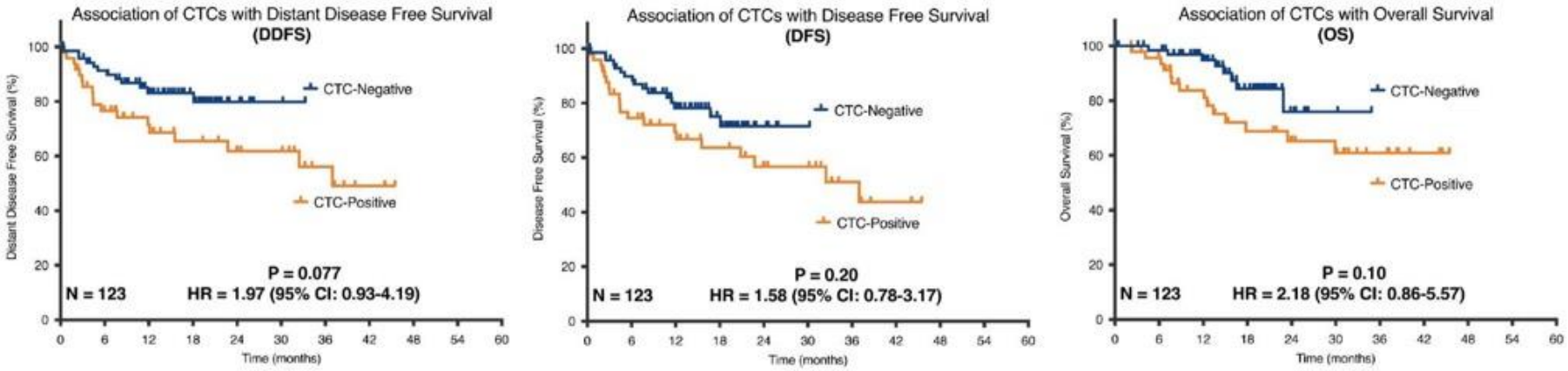
- nach 17,2 Monaten korreliert positive ctDNA mit schlechterem DDFS



- Wenn ctDNA positiv:
  3-fach erhöhtes Risiko für Fernrezidive;
  4x höhere Mortalität

- > *ctDNA bei TNBC nach NAC prädiktiv für Rezidive*

BRE12-158: CTCs und Outcome



-Positiver **CTC Status** tendiert zu schlechterem Outcome, nicht signifikant

-Steigende **CTC-Zahl** signifikant mit Outcome korreliert:

- DDFS: HR=1.08; 95% CI: 1.03-1.14; **p=0.0026**
- DFS: HR=1.10; 95% CI: 1.04-1.16; **p=0.00066**
- OS: HR=1.11; 95% CI: 1.04-1.19; **p=0.0019**

This presentation is the intellectual property of Milan Radovich, PhD. Contact mradovic@iupui.edu for permission to reprint and/or distribute.

EpCAM basiert nach Chemo
EMT ?!

!

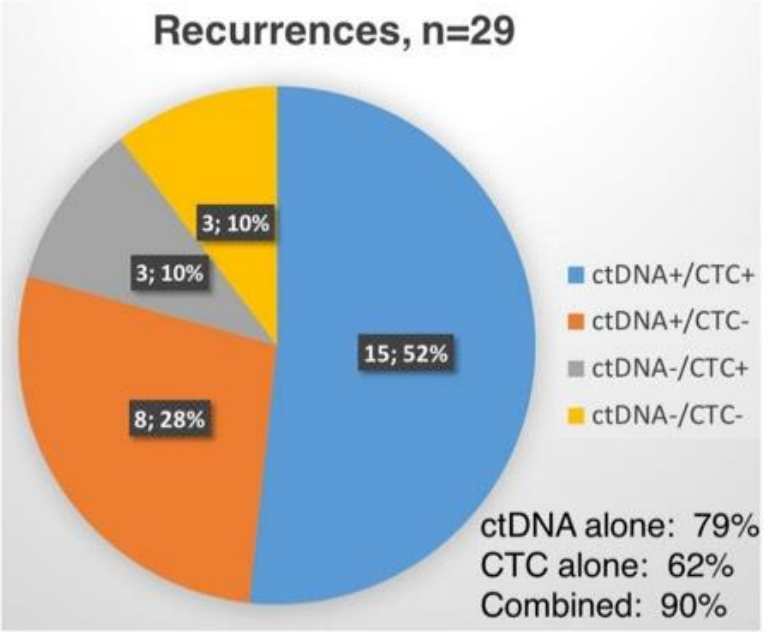
BRE12-158: ctDNA und CTCs sind komplementär für MRD

- Gepaarte Proben n=112;
  ctDNA und CTCs

- 29 Rezidive

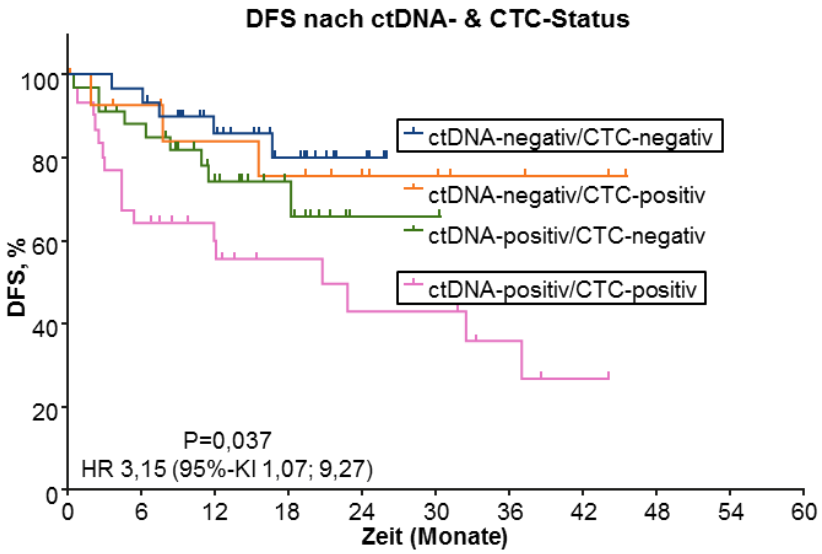
- Kein signifikanter Zusammenhang zw.
  CTC-positiv und ctDNA -positiv

- Erhöhte Sensitivität von 79% auf 90 %
  durch **Kombination ctDNA** mit CTCs



This presentation is the intellectual property of Milan Radovich, PhD. Contact mradovic@iupui.edu for permission to reprint and/or distribute.

BRE12-158: ctDNA & CTCs mit Überleben assoziiert



N=112	ctDNA-positiv/ CTC-positiv	ctDNA-negativ/ CTC-negativ
Medianes DFS	20,8 Monate	Nicht erreicht
2-Jahres-DFS	43%	80%

Mögliche Risiko-Stratifizierung mittels ctDNA bei TNBC mit MRD nach NAC

CTC Analyse und ctDNA liefern komplementäre Infos

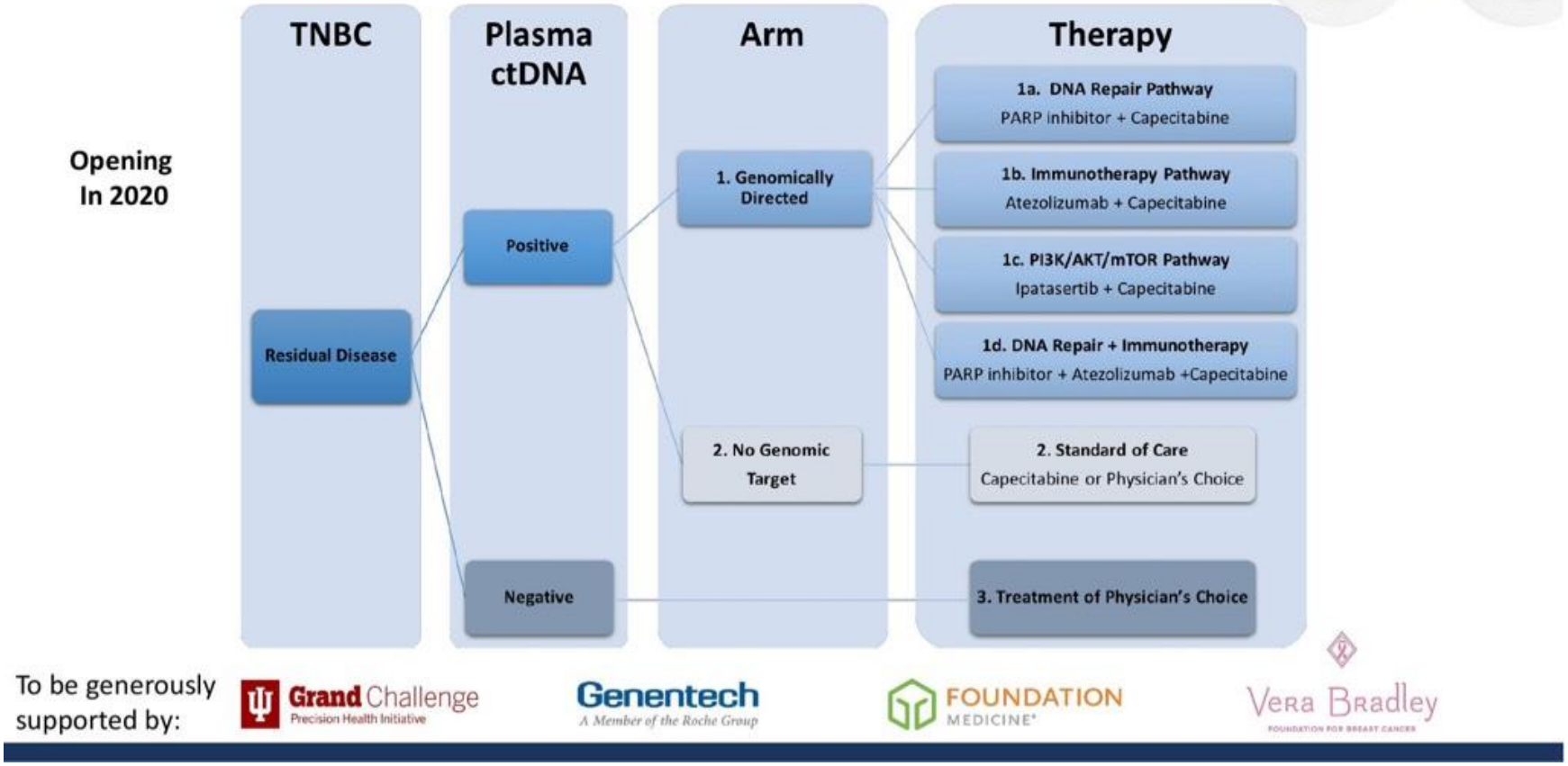
Keine ctDNA und keine CTCs mit besserem Outcome korreliert

-> *ctDNA & CTCs als unabhängiger Prädiktor für Rezidive bei frühem TNBC nach NAC*

Therapeutische Konsequenz?

BRE12-158: Ausblick

BRE18-334: A Phase II circulating tumor DNA enriched, genomically directed post-neoadjuvant trial for patients with residual triple negative breast cancer **PERSEVERE Trial**



San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

ICR The Institute of Cancer Research · in partnership with NIHR | Biomedical Research Centre at The Royal Marsden and the ICR · BREAST CANCER NOW · STAND UP TO CANCER · CANCER RESEARCH UK · The ROYAL MARSDEN NHS Foundation Trust

plasmaMATCH

Results from the plasmaMATCH trial: A multiple parallel cohort, multi-centre clinical trial of circulating tumour DNA testing to direct targeted therapies in patients with advanced breast cancer (CRUK/15/010)

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

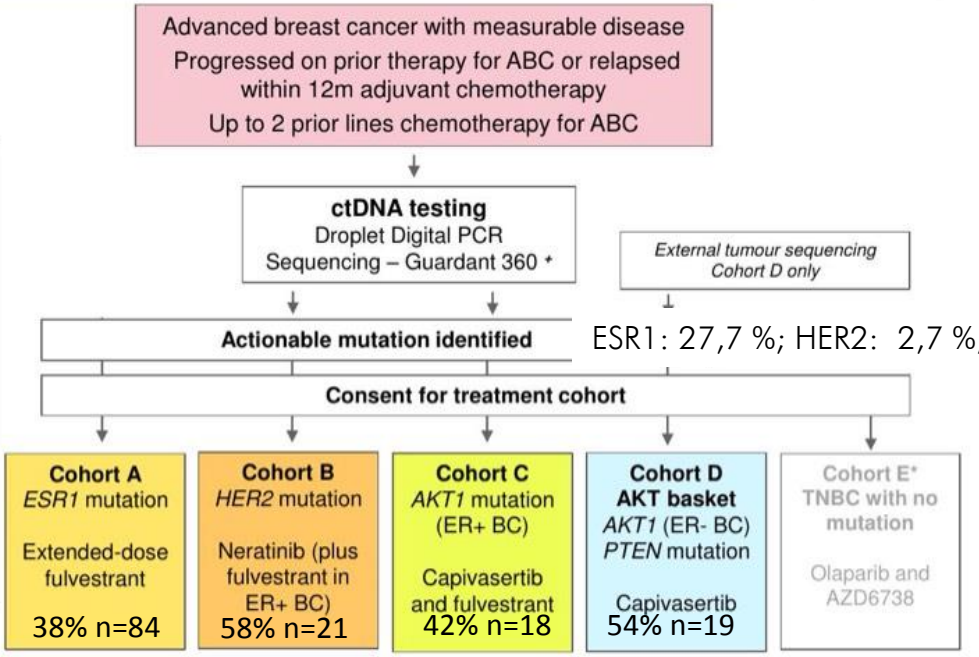
plasmaMATCH

Fortgeschrittenes Mammakarzinom

Seltene Mutationen

HER2 & AKT1 in 5% der Pat.
ESR1 bei AI Therapie

ctDNA gegeignet für Genotypisierung und Therapie-Auswahl?



ESR1: 27,7 %; HER2: 2,7 %; AKT1: 4,2 %

+ Prospective from part way through recruitment (n=364), retrospective in remaining patients (n=436) *Cohort E to be reported separately

This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

Clinical and pathological characteristics

		N=1051
Age (years) at registration, median (IQR)		56 (49, 65)
Metastatic at diagnosis, n (%)		146 (14)
Time (years) from diagnosis to registration, median (IQR)		6.0 (3.0, 11.8)
Phenotype*, n (%)	HR+, HER2-	676 (64)
	HR+, HER2+	65 (6)
	HR-, HER2+	36 (3)
	TNBC*	179 (17)
	Other/Unknown**	95 (9)
Disease sites, n (%)	Visceral	824 (78)
	Soft tissue/nodal	668 (64)
	Bone	638 (61)

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Prior treatment for advanced disease

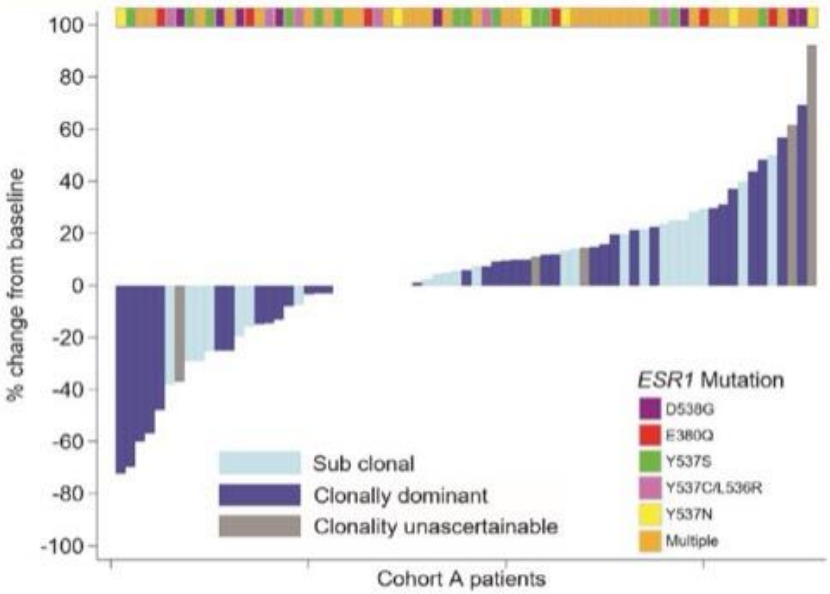
		N=1051
Previous chemotherapy for advanced disease, n (%)		727 (69)
Previous endocrine therapy for advanced disease, n (%)		685 (65)
Previous CDK 4/6 inhibitor received for advanced disease, n (%)		89 (8)
Previous lines received for advanced disease, n (%)	0	93 (9)
	1	275 (26)
	2+	683 (65)
Previous lines of chemotherapy received for advanced disease, n (%)	0	324 (31)
	1	345 (33)
	2+	382 (36)

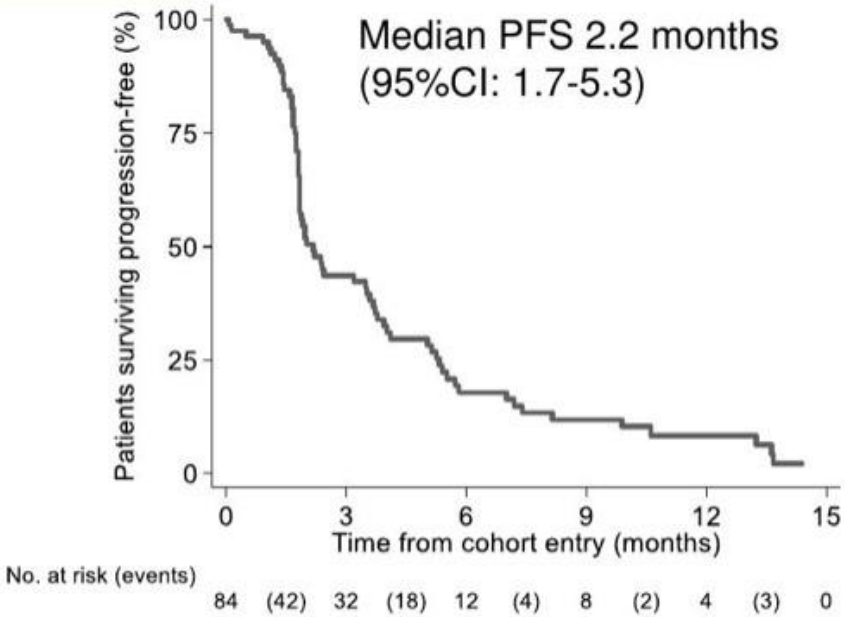
This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Cohort A: Extended dose fulvestrant with *ESR1* mutation

Confirmed response rate 8.1% (6/74, 95%CI:3.0-16.8);





Clonally dominant: RR=12.2% (5/41, 95%CI: 4.1-26.2)
Sub-clonal: RR=0% (0/27, 95%CI: 0-12.8)

Clonally dominant *ESR1* mutation – cumulative ESR1 allele fraction >50% maximum allele fraction in Guardant 360 sequencing

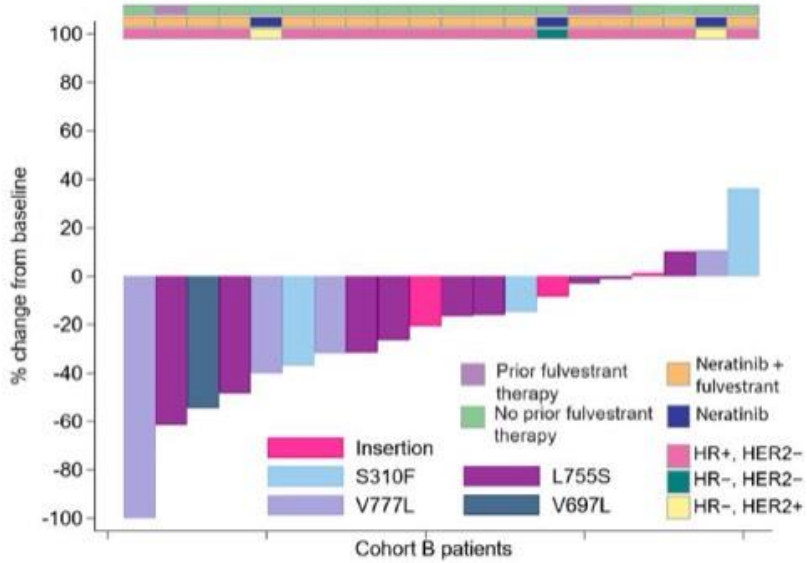
This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

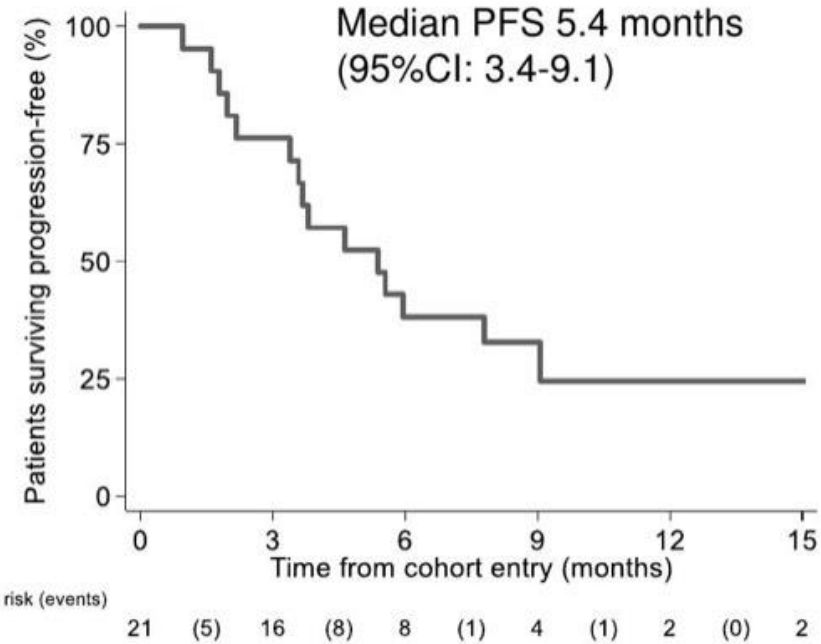
-> verlängertes Fulvestrant **nicht wirksam** bei ESR1 Mutation
-> stark vorbehandelte Patientinnen

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Cohort B: Neratinib ± fulvestrant with *HER2* mutation

Confirmed response rate 25.0% (5/20, 95%CI: 8.7-49.1)





First 16 patients: RR=25.0% (4/16, 95%CI: 7.3-52.4)
HR+, HER2-: RR=23.5 (4/17, 95%CI:6.8-49.9)

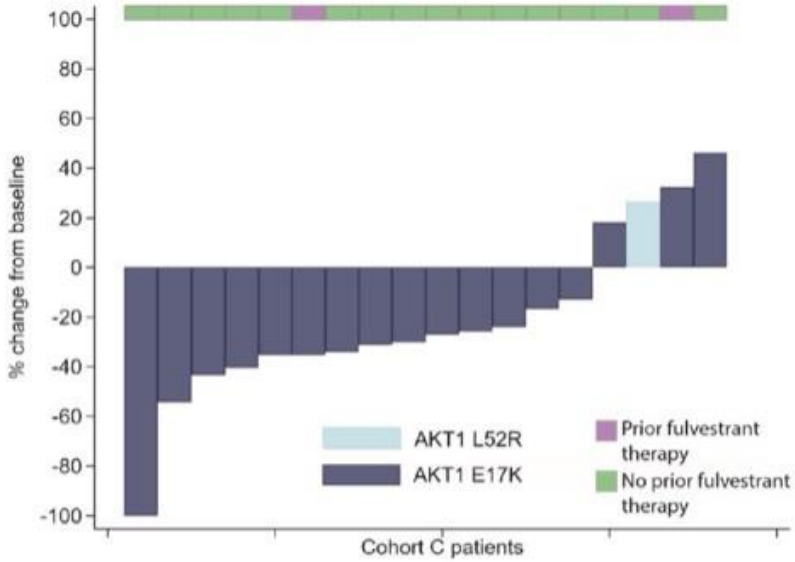
This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

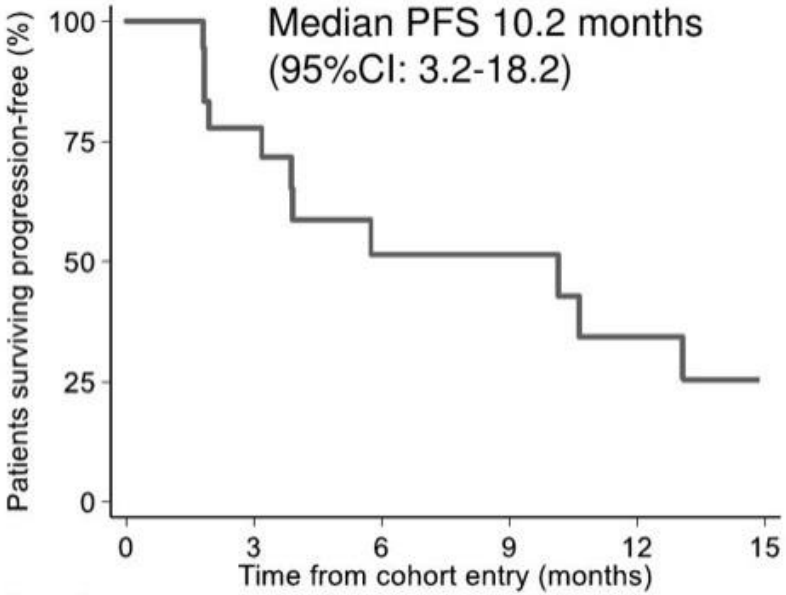
-> Neratinib±Fulvestrat **wirksam** bei HER2 Mutation

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Cohort C: Capivasertib + fulvestrant with *AKT1* mutation

Confirmed response rate 22.2% (4/18, 95%CI: 6.4-47.6)





No. at risk (events) 18 (4) 13 (4) 7 (0) 6 (2) 4 (1) 3

First 16 patients: RR=18.8% (3/16, 95%CI: 4.0-45.6)

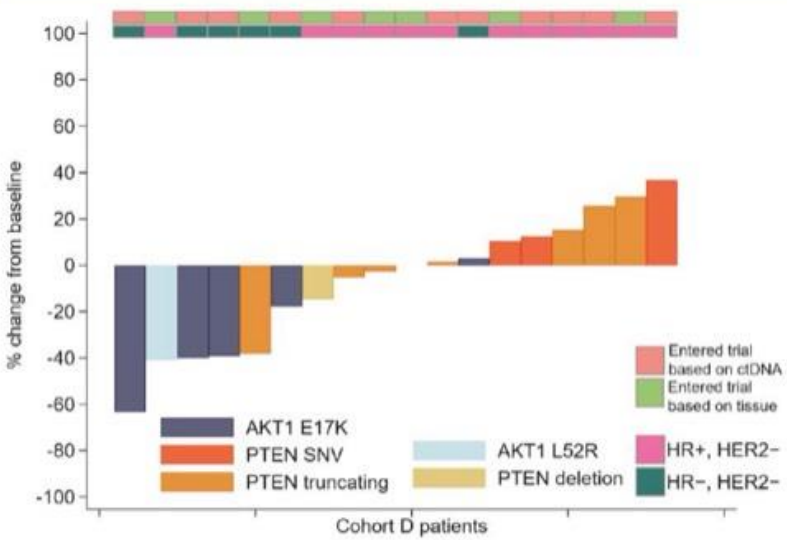
This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

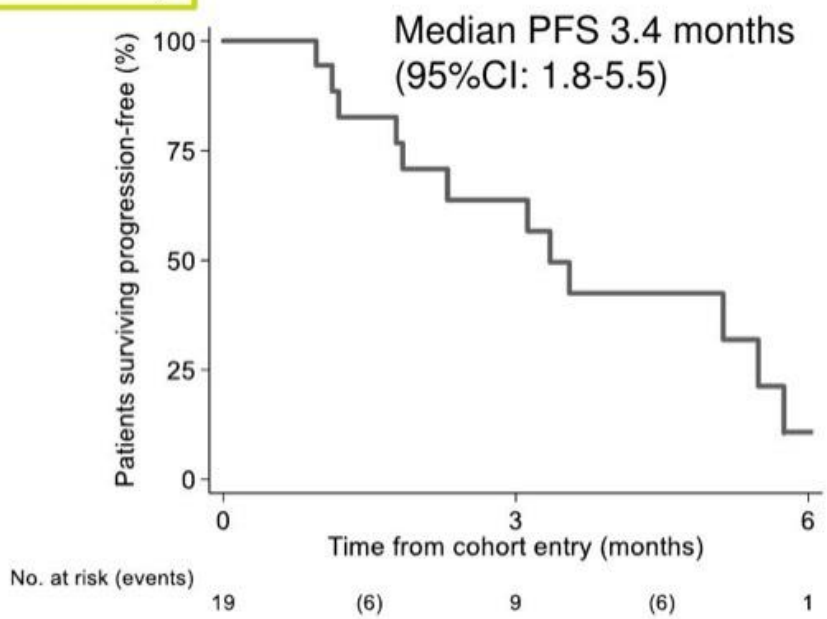
-> Capivasertib±Fulvestrant **wirksam** bei AKT1 Mutation

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Cohort D: Capivasertib with AKT activation basket

Confirmed response rate 10.5% (2/19, 95%CI: 1.3-33.1)





AKT1 mutation: RR=33.3% (2/6, 95%CI: 4.3-77.7)
PTEN mutation: RR=0% (0/13, 95%CI: 0-24.7)

This presentation is the intellectual property of the presenter. Contact them at nicholas.turner@icr.ac.uk for permission to reprint and/or distribute.

-> Capivasertib wirksam bei AKT1 Mutation,

aber NICHT bei PTEN Mutation

San Antonio Breast Cancer Symposium®, December 10-14, 2019

Conclusions

-ctDNA Analyse stellt eine einfache und effiziente Methode zur Tumor-Genotypisierung dar

-Patientinnen mit seltenen ctDNA -Mutationen können mit entsprechenden zielgerichteten Therapien wirksam behandelt werden:
-HER2 : Neratinib mit/ohne Fulvestrant
-AKT1 : Capivasertib mit/ohne Fulvestrant

-ESR1 Mutationen kein geeignetes Ziel bei der Behandlung stark vortherapierter Patientinnen mit erweiterter Dosis Fulvestrant (Klonale Dominanz)

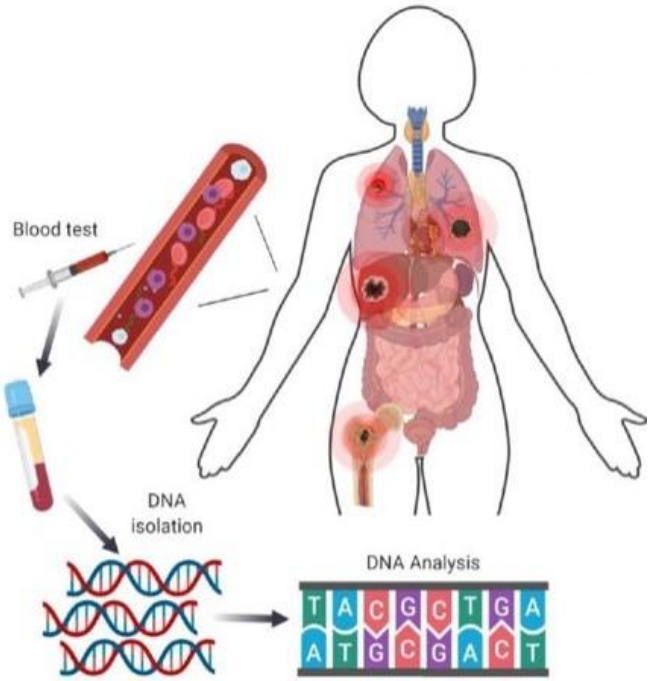
Zusammenfassung & Ausblick

CTCs:

heterogen, EMT, dual-positiv,
schwierige Detektion
aktuell kein quantitativer Test mit
therapeutischer Konsequenz

CTC-Cluster:

möglicherweise
prädiktiv für
Metastasierung



ctDNA :

minimal invasive
Genotypisierung mittels
Liquid Biopsy ;
personalisierte, auf
Mutations-Profil
abgestimmte Therapie

Danke für Ihre Aufmerksamkeit!