

## MERMAID III - Status på Forskningen august 2018

Det er nu tre år siden forskningen i MERMAID III blev påbegyndt, og takket være mange og betydningsfulde donationer i den periode forløber forskningen planmæssigt.

I "MERMAID III - Udfordringen i æggestokkræft: Screening, tidlig diagnose og identifikation af kvinder med høj risiko" arbejder forskerne på at finde en metode/metoder at diagnosticere æggestokcancer i et tidligt stadie, fordi sygdommen ofte først viser sig i et sent stadie. Kun 40 %, der får sygdommen, overlever. 90 % i de tidlige stadier, men kun 5-10 % i et fremskredent stadie. Ved at kunne identificere alle kvinder allerede i det tidligste stadium vil overlevelsen være helt oppe på 90 %.

Forskningen varetages af tre professorer, der leder hver deres delprojekt, hvor de - fra forskellige vinkler - forsøger at finde metoder til tidlig diagnosticering.

### **Tidlig diagnostisk og langtidsoverlevelse - Early detection and long-term survival**

**Forskningsleder: Professor Susanne Krüger Kjær, Rigshospitalet og Kræftens Bekæmpelses Center for Kræftforskning.**

Forskerne har arbejdet med celleprøverne, der tidligere er indsamlet fra livmoderhalsen på mere end 150 kvinder med kræft i æggestokkene samt fra raske kontrol-kvinder. Dette er et samarbejde med Johns Hopkins Medical Center i Baltimore, USA - bl.a med professor Bert Vogelstein, som er en af verdens førende forskere inden for patologi og molekylær medicin.

Vi har nu afsluttet analyserne af alle celleprøverne, som er blevet testet for genforandringer (mutationer) i flere forskellige gener, som er udvalgt a priori på baggrund af deres relation til risiko for æggestokkræft.

Resultaterne, som er publiceret i det anerkendte amerikanske tidsskrift, viser at man kunne identificere genmutationer hos omkring 35% af kvinderne med kræft i æggestokkene i et tidligt stadie (hvor overlevelsen er størst), mens disse mutationer kun blev fundet hos 1% af kvinderne uden cancer. Vi har yderligere testet blodprøver for cirkulerende DNA (arvemateriale) fra kræftsvulsten og vi finder at dette er tilstede hos 43% af patienterne. Når man kombinerede blodprøve med celleprøve-resultaterne, kunne man identificere helt op til 63% af kvinderne med

æggestokcancer.

Resultaterne demonstrerer potentialet for mutations-baseret diagnostik af kvinder med æggestokkræft i et stadie hvor sandsynligheden for helbredelse er størst.

Artiklen er publiceret i: Sci Transl Med. 2018 Mar 21;10(433)  
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29563323>)

Forskerne er gået videre med at analysere faktorer, der influerer på overlevelsen efter kræft i æggestokkene. Flere studier tyder på at brug af dagligdags medicin kan spille en rolle for overlevelsen hos kvinder, som er blevet diagnosticeret med æggestokkræft. I denne sammenhæng har vi undersøgt betydningen af brug af aspirin, af de såkaldte non-aspirin NSAID (non-aspirin non-steroidal anti-inflammatory drugs) (f.eks. Ibuprofen, Ipren) og af statiner (kolesterol-sænkende medicin). Da æggestokkræft består af flere specifikke undertyper, var det formålet at se specifikt på disse undertyper.

Vi finder at et intensivt brug af NSAIDs er associeret med en forbedret overlevelse efter den hyppigste type af æggestokkræft, mens brugen af aspirin ikke signifikant ændrede overlevelsen. Ligeledes finder vi at brug af statiner forbedrede overlevelsen efter nogle undertyper af æggestokkræft (endometriode, clear celle).

Resultaterne er publiceret tre artikler (i henholdsvis British Journal of Cancer, Gynecologic Oncology og International Journal of Cancer):

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29315293>)

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29960709>)

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28411390>)

### **Biomarkers and/or prognostic markers**

**Forskningsleder: Professor Claus Høgdall, Rigshospitalet.**

I denne del af forskningen undersøger forskerne biologisk materiale (blod og væv) fra kvinder med kræft i æggestokkene. Der anvendes de nyeste teknikker (molekylære analyser) med henblik på at identificere biomarkører, som er karakteristiske for sygdommen.

En biomarkør kan bidrage til at påvise kræftsygdommen i det tidlige sygdomsforløb, således at patienten kan helbredes. Ved hjælp af en biomarkør, som kan forudsige behandlingseffekt, kan patienterne tilbydes en personlig mere effektiv behandling som f.eks. biologisk behandling.

### **MikroRNA**

Ændringer af biomarkør niveauerne for 1756 forskellige mikroRNA er undersøgt i kræftvævet fra 200 patienter. (MikroRNA, er små molekyler, som spiller en meget vigtig rolle i regulering af generne i cellen.)

Dette arbejde har resulteret i 4 videnskabelige artikler som er publiceret, 1 artikel som er indsendt og 1 artikel som er under udarbejdelse. Desuden har resultaterne været præsenteret nationalt samt internationalt på kongresser som henholdsvis mundtlige præsentationer og posters.

Forskerne har etableret et samarbejde med Klinisk Immunologisk afd. Region Syd, Næstved sygehus, hvor de undersøger mikroRNA i blodprøver og væv fra de samme patienter, således at de kan se:

1. Om mikroRNA niveauerne er ens i væv og blod og om det har klinisk betydning.
2. Om niveauændringer i blod mellem patienter med henholdsvis æggestokkræft, godartede knuder og raske personer, er forskellige og kan adskille patienterne.

Ændringerne forventes at forbedre muligheden for at skelne mellem patienter med æggestokkræft, godartede svulster eller andre godartede tilstande. I fremtiden kan det bidrage til hurtigere og mere korrekt behandling fra starten, hvilket igen vil medføre bedre overlevelse og færre komplikationer. Når de endelige godkendelser er modtaget vil analyserne udføres.

#### DNA-methylering/ epigenetic

DNA-methylering (bestemmelse af antal methylgrupper koblet til DNA molekylet, som har betydning for regulering af generne / epigenetic) er yderligere et område som der indgår i projektet. Der er blevet lagt en detaljeret plan for projektets udførsel, herunder antallet af patienter, udvælgelseskriterier, typen af prøver der skal inkluderes, hvilke typer analyser der skal køres og hvilken type statistiske beregninger der er relevante. Projektet er planlagt således, at vi har mulighed for at finde biomarkører både til diagnostik og screening samt prædiktions af kemo-resistens. For nuværende er alt materiale indsamlet og analyser pågår. Den oversigtsartikel som skal beskrive eksisterende viden om DNA-methylering og æggestokkræft er under udarbejdelse.

#### P53 autoantistoffer og mutationer

Samarbejdet med professor R. Bast, fra MD. Anderson, USA, en af verdens førende forskere inden for æggestokkræft markører forsætter. Samarbejdet omhandler vævs - og blodundersøgelser hvor fokus vil være på p53, som er et gen involveret i udvikling af kræft. De fundne ændringer kan have betydning for den fremtidige behandling af kvinder med æggestokkræft. De første resultater har været oralt præsenteret ved GAP\* konferencen i Stockholm foråret 2018, og samarbejdet er yderligere styrket og udvidet til også at omhandle andre gener og teknikker. Nuværende skal sekventering af P53 genet færdiggøres hvorefter resultater vil blive skrevet sammen.

\*Globale akademiske programmer (GAP) hos MD Anderson Cancer Center, Houston, USA, består af et globalt netværk af førende kræft bekæmpende søsterinstitutioner med det fælles mål om at afslutte kræft.

#### Female adnexal tumors of probable Wolffian origin (FATWO)

Der er yderligere etableret et samarbejde med Filippo Frassetto, Italien, hvor formålet er at karakterisere FATWO æggestokkræft). Der er udført exom sekventering og databearbejdning pågår for nuværende. Samarbejdet har allerede resulteret i en publiceret artikel.

#### Annexin og S100

Der er ligeledes etableret samarbejde med en forskergruppe i Australien, Adelaide om biomarkørerne Annexin og S100. Analyserne er udført og artikel er under udarbejdelse. Der er publiceret en oversigtsartikel om de to biomarkører.

#### Next-Generation Sequencing (NGS)

Der er nu ansat en molekylær biolog til at udføre exom sekventering (undersøgelser af alle kodende områder i generne) for at beskrive de forskellige genændringer i de undergrupperne af æggestoks kræft. Formålene er at finde genetiske årsager til æggestokkræft mhp. udvælgelse af højrisiko patienter og forebyggelse, udvikle nye behandlinger samt finde nye prognostiske biomarkører som kan forudsige effekt af behandling. Ultimativt vil dette medføre at den enkelte patient kan tilbydes den mest optimale individualiserede behandling. Teknikkerne er implementeret og vil snarest gå i gang på relevant patientmateriale.

#### PDL-1

PD-L1, eller programmeret celledødligand-1, er i nogle kræfttyper en vigtig kræftbiomarkør og et mål for immunterapi. Den målrettede blokade af PD-L1 har i andre kræftformer vist at genoprette antitumor respons. PDL-1 er yderst mangelfuldt undersøgt hos æggestokkræft patienter.

Vi har i verdens største undersøgelse undersøgt PDL-1 i væv fra 376 patienter med æggestoks kræft. Immunhistokemisk analyse er udført og resultaterne har være præsenteret på 2017 ESMO kongressen. Nuværende er der på de samme patienter analyseret for gen ekspressionsprofiler og disse resultater er antaget til præsentation på ESMO i år.

European Society For Medical Oncology

#### Publikationer perioden 2017- aug 2018

I ovenstående periode er der publiceret 13 internationale artikler med relation til æggestokkræft og en primær forfatter fra dette MERMAID delstudium. I samme periode er der publiceret 8 artikler fra vores internationale samarbejdsgruppe Ovarian Cancer Association (OCAC) med medforfattere fra dette MERMAID delstudium.

#### **The infection theory**

**Forskningsleder: Professor dr.med., Jan Blaakær, Syddansk Universitet, Odense, og Odense Universitetshospital.**

Her søger forskerne, ved anvendelse af fintfølende molekylærbiologiske analysemetoder, at afklare om æggestokkræft kan skyldes en bakterie eller en virus, som det er tilfældet med livmoderhalskræft, som i dag kan forebygges med vaccine.

I sommeren 2016 udkom den første artikel med titlen:

"High-risk HPV is not associated with epithelial ovarian cancer in a Caucasian population".  
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27418945>)

Forskerne havde ikke forventet, at der ville være en årsagssammenhæng mellem HPV virus og æggestokkræft, men da HPV virus er kendt for at være kræftfremkaldende i en række andre sammenhænge, ville de ikke risikere at overse en eventuel sammenhæng mellem HPV virus og æggestokkræft.

Dette skal specielt ses på baggrund af professor Robert Kurman's publikation fra John Hopkins Hospital, Baltimore af 'celleforandringer', såkaldte carcinoma in situ-forandringer i æggelederen, som mulig årsag til æggestokkræft.

Det er tilsvarende forandringer, carcinoma in situ, der opstår før udviklingen af livmoderhalskræft. Da professor Kurman ikke har kunnet forklare, hvordan disse forandringer opstår i æggelederen, er det oplagt at eftersøge et infektiøst agens.

Denne del af Mermaid III er forløbet som planlagt og i den næste publikation har vi undersøgt Cytomegalovirus (CMV) og Epstein Barr virus (EBV) og deres mulige sammenhæng med æggestokkræft. Vi fandt ikke en årsagssammenhæng med CMV, men 5% var positive for EBV. På grund af de få positive EBV fund, mente vi, det var nødvendigt også at undersøge en tilsvarende aldersmatchet kontrolgruppe for at være sikker på, vi ikke overser en eventuel årsagssammenhæng. Denne kontrolgruppe er nu indsamlet takket være en grundig gennemgang af vore nationale registre. Denne del tog lidt længere tid end forudset, da der ikke findes så mange æggestokke fjernet på en godartet indikation, men publikationen er nu færdiggjort og indsendt til publikation.

Det afsluttende trin i infektionsteorien er en bredere søgning efter genetisk materiale fra bakterier og andre vira i tumorvæv ved hjælp af Next-Generation Sequencing (NGS) teknologi, en teknologi, som bestemmer rækkefølgen af baserne i vores arvmasse (DNA). NGS kan på samme måde vise tilstedeværelsen af vira og bakterier i kræftvæv og udviklingen har nu gjort det muligt, også økonomisk. Studiet er påbegyndt i 2017, og vi har sammensat det panel af mikroorganismer, der skal anvendes i NGS. Apparatur og panel samt tekniker er således klar på Herlev Hospital og vi regner med at kunne afslutte studiet senest med udgangen af 2018.

Forskergruppen har besluttet også at undersøge det genitale mikrobiom (bakteriesammensætning) i forbindelse med udviklingen af æggestokkræft. Undersøgelsen af det vaginale mikrobioms rolle i udviklingen af gynækologisk kræft er i sin vorden, men resultater fra de første studier tyder på en mulig sammenhæng. I de første studier ser det ud som om mikrobiomets sammensætning kan have betydning for udvikling af gynækologisk kræft, om end der for æggestokkræft kun foreligger et enkelt studie. Vi er derfor ved at udarbejde en tillægsprotokol til vores oprindelige protokol "Infektionsteorien ved æggestokkræft", der skal godkendes af styregruppen i Mermaid. Undersøgelsen udføres i samarbejde med professor Michael Kemp, afdelingen for klinisk mikrobiologi, Syddansk Universitet i Odense.

## **Koordinering, donationer og varighed**

Forskningen i de tre delprojekter i MERMAID III koordineres af professor Bent Ottesen, Projektdirektør på Rigshospitalet.

**Styregruppe: Alexandra Christina grevinde af Frederiksborg (Æresmedlem) • Ole Steen Andersen  
• Kristian Engsig • Susanne Krüger Kjær • Jørgen Horwitz • Stephan Treschow (Formand)  
• Helle Ulrichsen • Peter Vagn-Jensen (Æresmedlem)**

MERMAID III er MERMAID projektets til dato største forskningsprojekt med et budget på DKK 40 mio., hvoraf ca. 85 % nu er kommet ind i form af donationer og tilsagn.

Forskningen i MERMAID III forventes at pågå i de kommende fem-seks år.  
I løbet af den tid vil vi holde vores donatorer informeret om udviklingen i den vigtige forskning.

Læs mere på MERMAID's Hjemmeside: [www.mermaidprojektet.dk](http://www.mermaidprojektet.dk).