

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO



centro hospitalar
do Porto

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Mestrado Integrado em Medicina

**As novas terapias para o cancro gástrico e a sua eficácia quando comparadas
com as terapias convencionais**

João Pedro Silva Pinto da Costa

Porto, 2017

ARTIGO DE REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar
Ano letivo 2016/2017

As novas terapias para o cancro gástrico e a sua eficácia quando comparadas com as terapias convencionais

João Pedro Silva Pinto da Costa¹

Orientação: Dra.^a Maria da Glória Silva Ferreira²

¹ Aluno do 6.º ano profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina; número de aluno: 201001324

Endereço eletrónico: jpedro_pdc@hotmail.com

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS) – Universidade do Porto

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto

² Especialista em Oncologia, Assistente Hospitalar em Oncologia no Centro Hospitalar do Porto-Hospital de Santo António (CHP-HSA), Assistente Graduada de Medicina Interna

Afiliação e Endereço: CHP-HSA e ICBAS (Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto)

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à minha orientadora, Dra Maria da Glória Silva Ferreira pela disponibilidade no decorrer deste trabalho.

À minha mãe, pois sem ela nunca tinha chegado onde cheguei.

Aos meus amigos, pelo apoio incondicional e paciência.

Resumo

Introdução: O cancro gástrico é actualmente o quinto principal cancro a nível mundial, assim como a terceira causa de morte por cancro, correspondendo a 7% dos casos e 9% das mortes. É um dos carcinomas mais comum na Ásia Oriental e na Europa. A sua incidência varia muito de acordo com o país, sendo Portugal o país da Europa Ocidental com maior taxa de mortalidade.

Objectivos: O âmbito desta revisão passa por investigar as terapêuticas emergentes, assim como as mais recentes referentes ao tratamento do carcinoma gástrico e comparar a sua eficácia em diferentes estadios do decorrer da doença, para além da comparação com os métodos de tratamento actualmente utilizados.

Desenvolvimento: As terapêuticas actuais podem ser divididas em cinco grupos, sendo estes cirurgia, quimioterapia, radioterapia, quimiorradioterapia, assim como terapia dirigida, sendo o tipo de terapia utilizada dependente grau de evolução da doença. Em estadios precoces a cirurgia é o *GOLD standard*, sendo curativa. Em casos muito precoces realiza-se por endoscopia. A terapia dirigida a HER2 é eficaz em cancro gástrico HER2 positivo, estando em estudo terapias combinadas, tal como estudos com cenário perioperatório. Novos tratamentos com resultados promissores incluem a modificação do microambiente tumoral por ativar a resposta imune de inibidores de *checkpoint* de PD-1/PD-L1, assim como modificação estromal pela inibição da metaloproteinase de matriz 9. Novos alvos terapêuticos incluem claudina 18.2 e reparação de danos de ADN. A terapia anti angiogénica não demonstrou até ao momento resultados promissores.

Conclusões: Com o conhecimento adquirido da base genética deste cancro, começam a surgir terapias dirigidas para genes específicos, melhorando o tratamento a nível de sobrevida e morbilidade. A heterogeneidade biológica continua a ser uma limitação. Algumas destas terapias mais recentes são promissoras, sendo precisos mais estudos na área para avaliar a sua eficácia.

Palavras Chave: Cancro Gástrico. Novas Terapias. Terapia Dirigida, Bio Marcadores, HER2, EVGF, EGFR, Claudina-18, MMP-9

Abstract

Introduction: Currently gastric cancer is the fifth most prevalent cancer worldwide, as well as the third cause of cancer related deaths, with 7% of reported cases and 9% of deaths. It is one of the most common cancers in Eastern Asia and Europe. The incidence varies according to the country studied, and Portugal is the Western European country with the highest mortality rate of gastric cancer.

Objectives: The aim of this review is to research the emerging therapies for the treatment of gastric cancer and to compare its effectiveness in different stages of the disease, as well as when compared with the currently used methods.

Results: The currently used therapies can be divided in five groups: surgery, chemotherapy, radiotherapy, chemoradiotherapy, and targeted therapy, and the type of therapy used varies according to the stage of the disease. In early stages the GOLD standard is surgery, as it is curative. In very early stages it is done endoscopically. Targeted HER2 therapy is effective in HER2 positive gastric cancer, and combined targeted therapies are being studied, as well as a perioperative setting. New treatments with promising results include tumor microenvironment modification by activation of immune response by PD-1/PD-L1 checkpoint inhibitors and stroma modification by matrix metalloproteinase-9 inhibition. New targets include Claudin 18.2 and DNA damage repair. Anti angiogenic therapy has not shown any promising results thus far.

Conclusion: With the acquired knowledge of the genetic basis of this cancer, targeted therapies to specific genes are starting to appear, improving both survival and mortality rates. The biologic heterogeneity is still a limitation. There are also many emerging therapies that show promise in the field, although more studies and trials are still needed to assess their efficacy.

Key Words: Gastric Cancer. Novel Therapies, Targeted Therapy, Bio-Markers, HER2, EVGF, EGFR, Claudin-18, MMP-9

Lista de abreviaturas

WHO	<i>World Health Organization</i>
CG	Cancro Gástrico
CGA	Cancro Gástrico em estadio avançado
MMP-9	Metaloproteinase de matriz 9
CLDN	Claudina
MSI-H	Alta instabilidade de ADN microssatélite
EBV	Vírus Epstein–Barr
HER-2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i>
EGFR	<i>Epidermal growth factor receptor</i>
RTK	Recetor Tirosina Cinase
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

Índice

Introdução.....	1
Metodologia.....	1
Objectivos.....	2
Desenvolvimento.....	2
Terapia Dirigida.....	4
Inibidores do recetor da Tirosina Cinase.....	4
Terapia Anti angiogénica.....	7
Terapia Imunológica.....	10
Reparação de Danos no DNA.....	12
Outras terapias dirigidas.....	13
Claudinas.....	13
Metalloproteinase de matriz 9.....	14
Conclusões e prospetos futuros	15
Referências Bibliográficas.....	17

Introdução

O cancro gástrico (CG) é atualmente o quinto principal cancro a nível mundial, assim como a terceira causa de morte por cancro, correspondendo a 7% dos casos e 9% das mortes. Relativamente à sua incidência, esta varia de acordo com o país em estudo, estando muito relacionada com vários fatores, entre estes o tabagismo, os diferentes tipos de alimentação, história familiar (que representa 10% dos casos com 1 a 3% devidos a síndromes hereditários), assim como infeções. Portugal é o país da Europa Ocidental com maior taxa de mortalidade por cancro gástrico, estando esta neoplasia muitas vezes associada à elevada prevalência de infeção por *Helicobacter Pylori* (considerada já um carcinogéneo classe I pela WHO). O cancro gástrico é ainda uma das neoplasias mais comuns na Ásia Oriental (nomeadamente Coreia do Sul e Japão, com taxas de incidência muito elevadas) e na Europa de Leste, apesar dos avanços no tratamento e melhoria do prognóstico.^[1-5]

Relativamente ao prognóstico, este tem sido historicamente atribuído a diferenças e variação na gestão clínica. Contudo estudos internacionais de Fase III sugerem que mesmo com o tratamento padronizado, o resultado terapêutico difere com base geográfica.^[6]

No ocidente registou-se um declínio contínuo da incidência, contudo a sobrevida relacionada com o estadio da doença é menor que na Ásia Oriental. Apesar das diferenças geográficas de prognóstico e incidência ainda não estarem totalmente esclarecidas, verifica-se que o carcinoma gástrico é duas vezes mais comum em homens do que em mulheres, tendo também maior incidência em indivíduos latinos, orientais e de raça negra. No Japão continua a ser a principal causa de morte oncológica. Estas diferenças poderão ser atribuíveis aos vários fatores decorrentes na carcinogénese, assim como no diagnóstico e estratégias terapêuticas.^[1-4]

Metodologia

Foram pesquisados artigos relevantes ao tema e à terapêutica dos últimos 10 anos na base de dados *PubMed* utilizando as seguintes palavras chave: cancro gástrico, tratamento, terapia dirigida, caracterização molecular. Foram também pesquisados individualmente na mesma base de dados estudos relativos aos fármacos mencionados.

Foram também consultadas *guidelines* internacionais e normas terapêuticas de alguns países, nomeadamente o Japão.

Como critérios de inclusão foram definidos: estudos, artigos de revisão e meta-análises escritos em inglês e português. Foi dada preferência a artigos publicados há menos de dez anos, embora artigos mais antigos tenham sido utilizados devido à sua relevância sobre o tema. Após leitura integral de alguns artigos e de alguns resumos foram escolhidas as publicações com maior interesse. Foi incluída bibliografia adicional dada a necessidade de estudar os artigos primários referidos nas revisões e meta-análises.

Objetivos

O âmbito desta revisão passa por investigar as terapêuticas emergentes, assim como as mais recentes referentes ao tratamento do carcinoma gástrico, comparar a sua eficácia em diferentes estadios do decorrer da doença e fazer a comparação com os métodos de tratamento atualmente utilizados, sendo neste caso mais aprofundada a terapêutica para CG em estadio avançado (CGA).

Desenvolvimento

Atualmente, a terapia convencional para o cancro gástrico é dividida em cinco grupos, sendo estes: cirurgia, quimioterapia, radioterapia, quimiorradioterapia, e terapia dirigida. Contudo o tipo de terapia difere muito tendo em conta o grau de evolução da doença, assim como a sua resposta ao tratamento. Existem também grandes diferenças entre dois grupos de países, sendo estes os Ocidentais e os da Ásia Oriental. Algumas destas diferenças irão ser abordadas ao longo desta revisão.^[4, 6]

Nos estadios precoces o *Gold Standard* a nível mundial é a cirurgia, passando geralmente por gastrectomia radical (total ou subtotal) uma vez que a ressecção micro e macroscópica do tumor é a única forma curativa de tratamento. Esta abordagem geralmente engloba os estadios IB a III. Ainda se encontra em debate a extensão de esvaziamento ganglionar, sendo que o dos gânglios D1 associada a quimiorradioterapia é utilizado nos países ocidentais, e D2 na Ásia Oriental.^[7, 8]

Relativamente a estadios muito precoces (T1a), é recomendado ressecção cirúrgica endoscópica como tratamento. Esta intervenção pode ser feita se o tumor estiver claramente confinado à mucosa, for bem diferenciado, o tamanho for menor que 2cm e sem ulceração. Nestes casos o risco associado de metastização para

gânglios linfáticos é virtualmente zero. Duas formas de ressecção mucosa estão disponíveis; ressecção mucosa endoscópica para lesões menores que 10 a 15mm com baixa probabilidade de lesão histológica avançada. Contudo as guidelines da *European Society of Gastrointestinal Endoscopy* recomendam dissecção submucosa endoscópica como tratamento de escolha para a maioria das lesões neoplásicas gástricas superficiais. Tumores em T1 que não preencham estes critérios, necessitam de tratamento cirúrgico, apesar de menos extenso que outros CG.^[9]

Relativamente a estadios mais avançados, a cirurgia não é tratamento curativo, sendo por isso utilizados um ou mais que um, dos outros quatro grupos disponíveis. Adicionalmente, o carcinoma gástrico em estadios precoces tem um prognóstico favorável, mas os estadios mais avançados são um desafio terapêutico em que mais de 50% dos pacientes apresentam recidivas. É também de salientar que o cancro gástrico é o tumor gastrointestinal mais quimiossensível, contudo o papel da quimioterapia como tratamento de suporte em estadios avançados só tem sido investigada nas últimas duas décadas.^[3, 10]

Uma vez que atualmente ainda não existe um “Gold Standard” bem estruturado para o tratamento de estadios avançados de cancro gástrico, a inclusão de pacientes em ensaios clínicos bem estruturados poderá ser considerada a melhor opção viável de tratamento.^[10]

Relativamente a CG localmente avançado, a quimioterapia peri operativa ou neoadjuvante nos países Ocidentais e a quimioterapia adjuvante na Ásia Oriental são os tratamentos padronizados. Quanto a quimioterapia nos pacientes com estadio IV de doença, o seu principal intuito é prolongar a sobrevida, controlar os sintomas, para que o doente tenha a melhor qualidade de vida possível.^[11]

Oxaliplatino ou cisplatino, juntamente com uma fluoropirimidina (5-Fluorouracilo, Capecitabina ou S-1) são o tratamento mais comum (padrão e tratamento de primeira linha). A adição de um terceiro fármaco aumenta a taxa de resposta e de sobrevida, contudo aumenta significativamente a toxicidade para o paciente e estes devem ser escolhidos cuidadosamente.^[12]

A resposta à quimioterapia tem geralmente uma curta duração e a sobrevida média em CG avançado (CGA) é cerca de 8 a 11 meses em países Ocidentais e 13 a 17 meses na Ásia Oriental. Existem também várias alterações genéticas somáticas que contribuem para a resistência à quimioterapia.^[13]

Baseado nos resultados dos ensaios clínicos ACTS-GC e CLASSIC é fortemente sugerida a quimioterapia com S-1 em terapia adjuvante após ressecção D2 por evidência de melhor benefício clínico para pacientes com CG.^[14, 15]

Relativamente a terapia dirigida, recentemente foram identificadas 22 alterações genómicas em CG (13 amplificações e 9 deleções), correspondendo a alvos já conhecidos (FGFR2, ERBB2), assim como genes que não tinham sido previamente detetados como estando amplificados (KLF5, GATA6). De salientar que genes relacionados com a sinalização RTK/RAS podem-se apresentar sobre expressos, particularmente os genes FGFR2, KRAS, ERBB2, EGFR e MET. Esta sobre expressão (que define cinco subgrupos distintos em que FGFR2 (9,3% dos tumores), KRAS (8,8%), EGFR (7,7%), ERBB2 (7,2%) e MET (4%)) é observada frequentemente e é mutuamente exclusiva nos recetores de tirosina cinase (RTK), sugerindo que até 37% dos pacientes com CG poderão ser potencialmente tratados com terapias dirigidas a RTK/RAS.^[16-19]

A rede do *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) redefiniu o CG em quatro classificações distintas tendo em conta mutações presentes, metilação de DNA, expressão génica, e alterações a nível de número de cópias de genes em questão. Estes grupos são: alta instabilidade microsatélite (MSI-H), instabilidade cromossómica, genómicamente estáveis e positivos para o Vírus Epstein–Barr (EBV).^[11, 19]

Um estudo analítico de >1600 CG sugere uma diferença na imunidade tumoral relativamente à função das células T entre pacientes Asiáticos e não Asiáticos, estando estes últimos enriquecidos em marcadores de células T e sinalização celular CTLA-4 quando comparados com pacientes Asiáticos. Foram também notadas diferenças significativas em marcadores de células inflamatórias como CD66b e CD68. Estas diferenças podem estar na base do resultado terapêutico diferente, em diferentes áreas geográficas, e poderão levar a ensaios clínicos futuros no âmbito da imunoterapia dirigida.^[6]

Terapia Dirigida

Inibidores do recetor da Tirosina Cinase

Até 60% dos carcinomas gástricos apresentam este subtipo de instabilidade cromossómica e estão dependentes de sinalização de RTK para crescimento e desenvolvimento. Destes, o *Human Epidermal Growth Factor Receptor-2* (HER-2), é

um alvo terapêutico significativo em 10 a 20% dos pacientes com CG, e até 30% de carcinomas da junção gastro esofágica apresentam amplificação gênica ou sobre expressão proteica. As proteínas da família de HER-2 desempenham a sua função ao nível da sobrevivência, adesão, migração, diferenciação, e crescimento celular, que se encontra diminuída ou amplificada em células cancerígenas. Este receptor é também um marcador preditivo, e o resultado do seu teste já gera informação clínica útil na decisão quanto ao tratamento adequado.^[2, 19-21]

No ensaio clínico *Trastuzumab for Gastric Cancer* (ToGA), que incluiu pacientes com CG avançado, maioritariamente metastático e HER2 positivo, tratados com trastuzumab (anticorpo monoclonal dirigido a HER2) mais quimioterapia tiveram um aumento significativo na sobrevida (13,8 vs. 11,1 meses, [HR] 0.74, $p=0.0046$), com sobrevida sem progressão da doença 6,7 vs. 5,5 meses [HR] 0.71, $p=0.0002$, e taxa global de resposta de 47% vs. 35%, $p=0.0017$. O benefício para a sobrevida foi mais marcado no subgrupo de tumores com imunohistoquímica (IHC) 2+/FISH+, ou IHC 3+, nos quais esta passou de 11,8 meses nos pacientes tratados apenas com quimioterapia para 16 meses (HR 0.68, IC 95%).^[11, 22]

Trastuzumab é recomendado associado à quimioterapia com capecitabine ou 5-FU e cisplatina em pacientes com CG HER2 positivo em estadio avançado, sendo este o tratamento padrão atual.^[11]

Apesar deste tratamento padrão para CGA HER2+, outras terapias dirigidas estudadas até à data não têm tido sucesso.

Lapatinib é um inibidor duplo de HER2 e EGFR que se mostrou eficaz no tratamento de cancro da mama HER2+ resistente a trastuzumab. Numa população sem critério de seleção e que não tinha sido tratada previamente, este fármaco demonstrou uma atividade mínima (7%) quando administrado como agente único. Outro estudo em que a população foi selecionada utilizando métodos moleculares para positividade de EGFR ou HER2, lapatinib demonstrou uma taxa de resposta global de 0%, em que a doença estável estava presente em 8% dos pacientes. Contudo têm surgido resultados mais encorajadores quando conjugado com capecitabine num cenário de tratamento de primeira linha para CG metastizado HER2+. Numa fase preliminar a taxa de resposta para esta combinação foi de 22%, e de doença estabilizada de 45%.^[18, 23]

Estudos de fase III utilizando lapatinib ou T-DM1 (trastuzumab-emtansine, um conjugado entre trastuzumab e o agente citotóxico DM1) falharam como tratamento de segunda linha, e não está atualmente padronizada outra opção de terapia dirigida

para além de trastuzumab. O estudo de fase II/III GATSBY verificou o efeito de T-DM1 como tratamento de segunda linha em CGA, mas não demonstrou qualquer melhoria de eficácia quando comparado a paclitaxel ou docetaxel (sobrevida média de 7,9 meses vs. 8,6; HR 1,13, $p=0,31$). Esta falência terapêutica não elimina HER2 como alvo terapêutico de segunda linha, estando já outros conjugados fármaco-anticorpo a ser desenvolvidos (DS-8201a).^[24-28]

Estudos de fase III de terapia combinada de lapatinib com paclitaxel como segunda linha (TyTan), assim como lapatinibe com capecitabina/oxaliplatino em pacientes ainda não tratados com CG Avançado com amplificação HER2 (LOGIC), foram ambos negativos.^[24, 29]

Apesar do prolongamento na sobrevida média de cerca de dois meses em ambos os estudos, esta melhoria não foi estatisticamente significativa, e por isso lapatinibe não está indicado como tratamento de CG HER2+.

No ensaio LOGIC, lapatinibe demonstrou sobrevida de 12,2 vs. 10,5 meses, HR 0.91; $p=0.3492$ e uma análise pré-planeada demonstrou benefício na sobrevida em Asiáticos (16,5 vs. 10,9 meses, HR: 0,68; $p=0,0261$) assim como em pacientes mais novos (12,9 vs. 9,0 meses, HR 0,69; $p=0,0141$). Verificou-se ainda que níveis de amplificação de HER2 se correlacionavam com o tempo livre de doença.^[30]

No ensaio TyTAN, a sobrevida inicial de 8,9 meses passou para 11 com a adição de lapatinic ao paclitaxel de segunda linha ($p=0,1044$) e pacientes com tumor de *score* imunohistoquímico de expressão HER2 3+ aparentemente beneficiaram da utilização de lapatinib com aumento de sobrevida, suportando um estudo adicional de inibidores EGFR/HER2.^[24]

Muito fica ainda por esclarecer sobre o papel de HER2 e outros RTK no CG. À medida que se aprofunda o papel de diferentes subtipos genómicos de CG, fica cada vez mais evidente que alterações genómicas recorrentes alteram a eficácia da terapia dirigida para HER2. E apesar de a maioria dos tumores HER2+ continuar a depender da via de sinalização HER2, alternativas de sinalização assim como a complexidade de CGs desafia o paradigma terapêutico de “um alvo, um fármaco”. Adicionalmente, a heterogeneidade de expressão HER2 pode afetar a eficácia da sua terapia dirigida.

Acrescento ainda que apesar de a ativação de mutações de vias medicáveis (como BRAF, KRAS, PIK3CA) são raras em cancro gástrico esporádico, há evidência que estas mutações poderão ser mais comuns no subgrupo de instabilidade microssatélite de CG. Um estudo recente demonstrou a presença de mutações dos oncogenes EGFR, KRAS, PIK3CA e MLK3 em 56% dos casos analisados, sendo que

a genotipagem de pacientes com este subtipo de CG poderá ser útil a identificar em pacientes que beneficiem de terapêutica dirigida.^[18, 19, 31]

Terapia Anti Angiogénica

Bevacizumab é um anticorpo monoclonal humanizado dirigido ao VEGF, mitogénio específico do endotélio e mais potente indutor de angiogénese na génese tumoral por aumentar a permeabilidade microvascular. Após o estudo AVAGAST não foi encontrada diferença significativa na sobrevida (12,1 meses com bevacizumab mais quimioterapia vs. 10,1 meses com placebo mais quimioterapia. [HR]=0,87; $p=0,1002$). Contudo tanto a sobrevida livre de doença (6,7 vs. 5,3 meses, [HR]=0,80; $p=0,0037$) como a taxa de resposta global (46,0% vs. 37,4%; $p=0,0315$) aumentaram significativamente. De salientar que análises pré planeadas a subgrupos demonstraram diferenças regionais na eficácia do tratamento. Contudo não foi claro se estas discrepâncias se deveram a diferenças genéticas de etnicidade, ou de diferenças de padrões de tratamento como recessão paliativa ou quimioterapia de segunda linha, o que pode fundamentar estudos futuros.^[2, 32, 33]

Dois estudos (REGARD e RAINBOW) que avaliaram o efeito de ramucirumab, um anticorpo monoclonal IgG1 anti VEGFR-2, demonstraram um aumento na sobrevida no tratamento de CG em segunda linha. O alvo do ramucirumab é o VEGFR-2, que inibe a proliferação de células endoteliais, assim como a ligação dos VEGF-A, C, e D. Adicionalmente, a qualidade de vida foi mantida por mais tempo e com atraso na deterioração funcional assim como dos sintomas associados.^[34-36]

Não ficou totalmente esclarecido se estes resultados inconsistentes indicam que ramucirumab é mais eficaz no tratamento do CG Avançado que bevacizumab. Devido à sua seletividade VEGFR2 ramucirumab tem vantagens potenciais sobre o bevacizumab, uma vez que esta tem efeito sobre VEGF-R1, -R2, e correceptores não catalíticos neuropilina 1 e 2 (por atuar sobre VEGF-A). A não modificação de VEGF-R1 por parte do ramucirumab leva a uma maior resposta do efeito inibitório de VEGF-R2, que pode ter um benefício acrescido relativamente à sua expressão em macrófagos, que é suprimida. Uma possível explicação (embora hipotética) seria que após quimioterapia de primeira linha com platinas, a biologia do CG muda e permite um melhor tratamento com agentes antiangiogénicos no tratamento de segunda linha. Considerando esta possibilidade, é interessante que um estudo de Fase II não demonstrou qualquer benefício na combinação de ramucirumab com FOLFOX (5-

fluoracilo, leucovorina e oxaliplatina), não tendo sido alcançados o objetivo primário de sobrevida sem progressão de doença (6,4 meses vs. 6,7, HR0,94) ou o objetivo secundário de sobrevida global (11,7 vs. 11,5), sendo a taxa de resposta global semelhante nestas duas situações (45,2% e 46,4%). Estes resultados levam a ponderar se uma adição deste fármaco a uma combinação de quimioterapia com fluoropirimidinas e platinos será uma boa combinação para a terapia antiangiogénica dirigida.^[37, 38]

Os resultados de tratamento com bevacizumab em primeira linha para CG metastizado foram baixos, e como tratamento curativo com a sua adição a terapia peri operatória (epirubicina, cisplatina e capecitabina) não alterou a sobrevida quando comparado com apenas quimioterapia.^[39]

Infelizmente, uma seleção de pacientes para terapia antiangiogénica com base em bio marcadores ainda não é suficiente. Um estudo prospetivo recente analisando os resultados do estudo REGARD demonstrou que nenhum dos bio marcadores testados (HER2, VEGF-C e D, e VEGFR1 e 3) se correlacionavam fortemente com a eficácia de ramucirumab. Já relativamente a ensaio AVAGAST, um estudo recente revelou que como bio marcador o nível basal de Ang-2 plasmático é prognóstico para a sobrevida em CG Avançado e tem uma forte associação com metástases hepáticas. Diferenças no prognóstico entre pacientes Asiáticos e não Asiáticos poderão em parte ser atribuídas a diferenças na resposta vascular mediada por Ang-2. É por isso necessário identificar bio marcadores que permitam distinguir pacientes que poderão ter benefício terapêutico clinicamente significativo^[6, 40, 41]

Na seleção de pacientes para segunda linha de tratamento no CG HER2+ é importante salientar que o benefício associado ao ramucirumab não difere com a expressão tumoral de HER2.^[40]

Devido a diferenças na biologia tumoral entre Asiáticos e não Asiáticos a eficácia e segurança de ramucirumab foram avaliadas em diferentes subgrupos (Japonês e Ocidental) no estudo RAINBOW. Concluiu-se que em ambos os grupos a segurança deste fármaco foi semelhante, apesar de em pacientes Japoneses haver maior incidência de neutropenia. Sobrevida sem progressão da doença e taxa de resposta global também melhoraram em ambas as populações, apesar de o aumento de sobrevida se encontrar limitado à população Ocidental.^[6, 32, 42, 43]

Outro fármaco a mencionar seria o Apatinib (inibidor de VEGFR2), que num estudo Chinês aumentou a sobrevida de pacientes com CG avançada refratária a dois ou

mais ciclos de quimioterapia, tendo padrões de segurança aceitáveis. Contudo este fármaco não é considerado economicamente viável.^[44, 45]

Regorafenib é um inibidor de tirosina cinase dirigido aos VEGFR, TIE2, KIT, RET, RAF-1, BRAF, BRAFV600E, PDGFR, e FGFR, que para além da sua atividade anti tumoral tem também uma ação antiangiogénica. INTEGRATE é um estudo internacional de Fase II em que pacientes foram selecionados de acordo com a sua região e terapia com quimioterapia prévia para CG avançada, e divididos em dois grupos (regorafenib vs. placebo) em que durante os 21 primeiros dias num ciclo de 28 recebiam regorafenib 160mg ou placebo via oral. Verificou-se que esta terapia foi eficaz a aumentar o tempo de sobrevida sem progressão de doença nos pacientes avaliados (2,6 meses vs. 0,9 com placebo; HR 0,40; $p < 0,001$), e que diferenças regionais tiveram maior efeito na Coreia do Sul. Contudo estes dados ainda necessitam de validação prévia pelo ensaio INTEGRATE II (NCT02773524) antes de regorafenib poder ser considerado como terapia para CG avançado.^[46, 47]

Outros recetores, como os de péptidos N-formil (FPR-1, FPR-2 and FPR-3) estão envolvidos na imunidade inata, inflamação e carcinogénese. Vários estudos sugeriram o papel dos FPRs na progressão de vários tipos histológicos tumorais, incluindo o CG para o qual foi descrita recentemente uma associação positiva com um polimorfismo FPR-1 específico. Foi também verificado que FPR-1 poderá funcionar como um inibidor da angiogénese no CG, sendo proposta a sua estimulação como um novo alvo terapêutico.^[48]

Outro estudo demonstrou que alta expressão de FPR-1 estava associada a estadios tumorais mais avançados e pior sobrevida. Uma regulação por *feedback* positivo no eixo de transdução de sinal AnxA1-FPR-1 foi um contributo importante para esclarecer o papel de FPR1 nas células tumorais, e que sugerem que a expressão de FPR-1 poderá ser usada como modelo preditivo de prognóstico, podendo também ser usado como alvo para atenuar a invasão tumoral.^[49]

Um outro estudo posterior refere que a inflamação crónica pode levar a uma ativação inadequada dos mecanismos de resolução inflamatória, principalmente conseguidos por mediadores especializados (SPMs, *specialized pro-resolving mediators*) através da atividade metabólica de lipoxigenases (ALOX5/15) sobre ácidos gordos poliinsaturados v-3 e v-6. A modulação genética ou farmacológica de FPR-1 em células de CG regula a expressão ALOX5/15 e produção de SPMs, o que diminui o potencial angiogénico destas células. Dietas ricas em ácidos gordos polinsaturados v-3 e v-6 também demonstraram aumentar a produção endógena de

SPMs. Estes dados implicam que as vias de SPMs e FPR-1 poderão ser usadas como marcadores prognósticos, e que dieta enriquecida com v-3 ou v-6 e usar FPR-1 ou SPMs como alvo terapêutico poderá ser explorado para a gestão do CG.^[50]

Terapia imunológica

Segundo o RCGA, o subtipo de CG EBV+ caracteriza-se por mutações PIK3CA e ARID1A recorrentes, elevada amplificação de *cell death-ligand-1 and -2 (PD-L1/L2)* no cromossoma 9p, e hipermetilação de DNA. Por outro lado, o subtipo de alta instabilidade microssatélite apresenta mutações frequentes em múltiplos genes incluindo *frameshifts* ou mutações missense, o que leva à expressão aumentada de novos antígenos. Este vírus tem muita relevância no CG na população Asiática.^[19, 51]

De um ponto de vista imunológico, CG em Asiáticos teve expressão de marcadores de células T (CD3, CD45RO, CD8) significativamente mais baixa, e maior expressão do fator imunossupressor de transcrição FOXP3 foi detetada em CG Japoneses. Por outro lado expressão de PD-L1 foi encontrada tanto em pacientes Asiáticos como em Ocidentais. Estudos mostraram que expressão de PD-L1 foi observada mais frequentemente em células do sistema imune que em células tumorais, sendo que a influência destes fatores imunológicos na eficácia de *immune checkpoint inhibitors* necessita avaliação em ensaios clínicos.^[6, 52, 53]

PD-1 é um recetor co-estimulatório expresso primariamente na superfície de células T ativas. A sua ligação com os seus ligandos (PD-L1 e 2) pode inibir a resposta de células T citotóxicas, o que contribui para o mecanismo de fuga de atividade anti tumoral induzida por células T. O bloqueio do *checkpoint* imune através de inibidores de antígeno 4 de linfócitos T citotóxicos (CTLA-4) e PD-1/PD-L1 demonstrou uma resposta anti tumoral clinicamente significativa para vários tumores sólidos.^[54]

Pembrolizumab é um anticorpo IgG4 monoclonal para PD-1. Num estudo de Fase 1b (KEYNOTE-012) pacientes com CGA PD-L1+ foram tratados com pembrolizumab. Foi aplicado um teste de rastreio imunohistoquímico para PD-L1 (anticorpo 22C3) considerando como positivo quando 1% ou mais das células cancerígenas ou estromais se encontram coradas, sendo a taxa de resposta global 22,2%. A redução do tamanho da lesão foi observada em 53% dos pacientes. Apesar de a sobrevida sem progressão de doença ser apenas de 1,9 meses, a taxa de sobrevida a seis meses foi de 69%. Foi interessante notar também que a média de sobrevida foi 11,4 meses apesar de que 67% dos pacientes tinham previamente sido

tratados. Não foi também encontrada diferença clinicamente significativa entre pacientes Asiáticos e não Asiáticos. Efeitos adversos do tratamento foram semelhantes aos de estudos anteriores em tumores sólidos. Ensaio clínico com pembrolizumab estão atualmente a ser efetuados em cada linha de terapia, incluindo ensaios de Fase II (KEYNOTE-059), Fase III (KEYNOTE-061) comparando este fármaco com paclitaxel em segunda linha, e um estudo de Fase III (KEYNOTE-062) como tratamento de agente único comparado com terapia combinada com fluoropirimidina +cisplatina ou placebo na primeira linha de pacientes com CGA PD-L1+ HER2-.^[55]

Nivolumab é um anticorpo IgG4 monoclonal anti-PD1. No ensaio de Fase I/II CheckMate-032 a sua taxa de resposta global foi de 14%, sobrevida sem progressão de doença de 1,4 meses, e sobrevida média de 5 meses. Aos 6 e 12 meses, sobrevida foi de 49% e 36% respetivamente. Comparado com pembrolizumab, nivolumab tem atividade semelhante em CG PD-L1+, sendo que em terapia dupla anti-PD-1 e anti CTLA-4 tem uma taxa de resposta maior.^[56]

A taxa de resposta mais elevada de monoterapia foi em pacientes PD-L1+ (27%), mas também houve melhoria em pacientes PD-L1- (12%). A maior taxa de resposta registada foi na combinação de nivolumab 1 mg/kg com ipilimumab 3 mg/kg, sendo 44% em pacientes PD-L1+ e 21% em PD-L1-. Esta última terapia teve uma sobrevida média de 6,9 meses e a taxa de sobrevida aos 12 meses de 24% em pacientes refratários a quimioterapia. Está atualmente a decorrer um ensaio clínico de Fase 3 sobre o uso de nivolumab 1 mg/kg com ipilimumab 3 mg/kg como tratamento de CG metastizado (Checkmate649).

Outro estudo de Fase III de utilização de nivolumab em CGA refratário a duas ou mais linhas de tratamento (ONO-4538-12) atingiu o seu objetivo principal (sobrevida). Neste, a taxa de sobrevida aos 6 meses foi de 46,4% vs. 34,7% , e aos 12 meses de 26,6% vs. 10,9% quando comparado com o grupo de controlo. Taxa de resposta verificada de 11,2% quando comparada com 0% no grupo de controlo ($p=0,0001$).^[57]

Num ensaio clinico de Fase I de pacientes Japoneses com CG, no qual a expressão de PD-L1 não foi verificada previamente, o anticorpo avelumab demonstrou uma taxa de resposta de 15% e sobrevida sem progressão de doença de 3 meses como tratamentos de terceira linha ou posteriores. Em estudos de Fase Ib na Coreia do Sul e países Ocidentais verificou-se uma taxa de resposta de 9% como manutenção de primeira linha e 9,7% como segunda linha. Estão ainda a decorrer

atualmente dois estudos de Fase III como terapia de manutenção após tratamento de primeira (JAVELIN Gastric 100; NCT02625610) e terceira linha (JAVELIN Gastric 300; NCT02625623).^[58, 59]

Apesar de não haver atualmente bio marcadores de pontos de controlo imune definitivamente estabelecidos, é sugerida uma associação em diferentes tipos de cancro entre efeitos terapêuticos e expressão de PD-L1, número de mutações somáticas e expressão de genes relacionados com imunidade, sendo que o seu papel no CGA não se encontra claramente esclarecido.^[55]

Tumores MSI-H têm milhares de mutações que poderão produzir novos antígenos que poderão por sua vez ser reconhecidos por células T e aparentemente parecem ser sensíveis a inibidores de verificação imune *immune checkpoint inhibitors* com uma taxa de resposta de cerca de 50% (exceto nos cancros colorretais). Quando o tratamento é por monoterapia, taxas de resposta rondam os 10 a 30%.^[60]

Contudo é importante desenvolver terapias combinadas para melhorar o prognóstico. Estas incluem uma combinação de inibidores PD-1 ou PD-L1 com quimioterapia, ou vírus oncolíticos para aumentar a imunidade local.

Terapia combinada com outros inibidores de verificação imune *immune checkpoint inhibitors* dirigida para CTLA-4, LAG-3 ou Tim-3 está também a ser avaliada. Está também a decorrer um estudo de fase I combinando estes inibidores com agentes antiangiogénicos usando ramucirumab e pembrolizumab.^[61]

Reparação de Danos no DNA

A patogénese do CG está também ligada a danos de ADN, inflamação por *Helicobacter pylori* e infeção por EBV, assim como a outros fatores do estilo de vida (obesidade, tabagismo, doença de refluxo gastro-esofágico). Sequenciação de genoma de CG em larga escala aponta que mutações somáticas em genes envolvidos na recombinação de ADN homólogo são comuns.^[19, 62, 63]

Definir bio marcadores que identifiquem subtipos de CG com deficiência em reparação de ADN é um fator crítico para se desenvolverem estudos que tenham como terapia alvo estes mecanismos, como é o caso do CG com mutação de BRCA. Uma vez que estas mutações são relativamente raras, é necessário identificar as mutações somáticas que conferem sensibilidade semelhante ao BRCA no CG a agentes que causem danos no ADN. Inibidores orais da polimerase poli-ADP-ribose

(PARP) sequestram a PARP inativa em cadeias únicas de ADN, impedindo a reparação e gerando um bloqueio na replicação de ADN.

Ataxia telangiectasia mutated (ATM) é um gene essencial para a manutenção de estabilidade do genoma. Estudos demonstram que a utilização de inibidores de PARP é eficaz, nomeadamente em células com défice de ATM com mutações recorrentes de TP53.^[64]

Ensaio de Fase II de segunda linha em CG metastizado demonstraram sobrevida de 13,1 meses em pacientes tratados com olaparib e paclitaxel, com benefícios marcados na população ATM- do estudo, que englobava cerca de 50% (sobrevida média não alcançada vs. 8,2 meses HR 0.35; $p = 0.002$). Contudo no estudo subsequente de Fase III (GOLD) os resultados não tiveram resultados tão marcados na sobrevida (HR 0,79; $p=0,0262$, sendo que é necessário $p<0.025$ para o estudo ser estatisticamente significativo). Esta diferença pode ser atribuída à seleção indevida de pacientes, assim como a correção estatística feita, devido a vários objetivos principais. Neste estudo a população foi selecionada baseada em mutações de TP53, sendo que apenas 18% da população era ATM-, sendo inadequado para mostrar eventual benefício de sobrevida estatisticamente significativo.^[65, 66]

De salientar que atualmente o olaparib não foi considerado como tratamento para CG, e estudos adicionais deverão ser restritos para neoplasias ATM-/TP53.

Outras terapias dirigidas

Claudinas

Junções apertadas (TJ's) são domínios membranares especializados da região mais apical de células epiteliais e endoteliais polarizadas. Claudinas são as proteínas principais de TJ e são expressas de um modo específico ao tecido. Estas vão regular a permeabilidade paracelular e estabelecer polaridade das células devido á sua função de vedação (*fence function*). Estudos recentes sugerem que claudinas são componentes funcionais e estruturais chave das TJ podendo desempenhar um papel fulcral na inflamação e génese tumoral.^[67]

A claudina-18 variante 2 (CLDN18.2) é uma proteína de TJ específica do estômago, e que é expressa por vários carcinomas incluindo o carcinoma gástrico, estando frequentemente *down-regulated*, sendo um potencial marcador para CG.

Contudo a sua função biológica, que pode estar envolvida no comportamento tumoral, nunca foi examinada totalmente.^[68]

O anticorpo monoclonal anti-CLDN18.2 IMAB362 ativa potencialmente o sistema de complemento e a toxicidade celular dependente de anticorpo. O estudo FAST investigou a expressão tumoral de CLDN18.2 e a sua terapia com IMAB362 em combinação com quimioterapia de primeira linha em CGA, tendo concluído que IMAB362 é um agente promissor neste tratamento.^[69]

CG associado ao EBV tem várias características clinicopatológicas de relevo também nesta linha de tratamento. Um estudo quantificou as claudinas 1, 3, 4, 7 e 18 juntamente com mucinas gástricas (MUC5AC e MUC6), intestinais (MUC2) e CD10. No CG associado a EBV foi observada uma alta frequência de expressão de CLDN18 (84%) e uma baixa frequência de expressão de CLDN3 (5%). Esta expressão correspondeu à do epitélio gástrico normal. Quase metade de CG associados a EBV mostraram expressão de mucinas gástricas, sendo que nos restantes não foi observada expressão de mucina ou CD10. Como demonstrado pela expressão de CLDN3 e CLDN18, CG EBV- consistia em grupos heterogêneos de quatro fenótipos de CLDN: gástrico, intestinal, misto e ainda um indiferenciado com expressão de mucina variável.^[63, 67, 70-72]

Estes resultados indicam que CG EBV+ é bastante homogêneo no que consta à diferenciação celular, e que há uma boa preservação da natureza e origem celular, sendo que estes poderão passar por um processo de carcinogênese diferente dos de CG EBV-.^[63]

Metalloproteinase de matriz 9

Metalloproteinases de matriz têm sido consideradas alvos promissores na terapia do cancro devido à *up-regulation* apresentada em tumores e à capacidade de degradar componentes da matriz extracelular. MMP-9 é uma enzima extracelular envolvida na remodelação de matriz, crescimento tumoral, angiogénese e génese de metástases^[73]

Polimorfismos da MMP9 estão associadas com história familiar de CG. Rastreios para estes genótipos, associados aos antecedentes familiares poderão identificar indivíduos com risco aumentado de desenvolver CG.^[74]

Estudos pré-clínicos demonstram que a inibição de MMP-9 altera o microambiente tumoral e permite maior penetração de quimioterapia assim como

aumenta a atividade imune anti tumoral. Um estudo de combinação de Andecaliximab (anticorpo monoclonal inibidor de MMP-9) com FOLFOX foi recentemente publicado, em que a média de sobrevida sem progressão de doença foi 7,4 meses, com duração de resposta média de 9,4 meses e taxa de resposta global de 50%. Dos pacientes analisados, 75% não tinham recebido terapia prévia com quimioterapia e a sua sobrevida sem progressão teve 12 meses como mediana, com duração de resposta de 11 meses e taxa de resposta 57%. Observou-se uma diminuição de colagénio com a terapia continuada. De momento Andecaliximab está a ser utilizado num estudo de Fase II como primeira linha de tratamento de CG em terapia combinada com FOLFOX (NCT02545504).

Conclusões e prospetos futuros

Durante vários anos não houve alternativas terapêuticas para o tratamento do cancro gástrico avançado/metastizado. Os resultados de ensaios clínicos de fase 3 e outros variados estudos envolvendo fármacos com ação molecular dirigida não foram conclusivos. Apesar deste facto, algum progresso começa a surgir, embora a sua utilização na prática clínica ainda seja precoce.

Com o conhecimento adquirido da base genética deste cancro, começam a surgir terapias dirigidas para genes específicos, aparentemente melhorando o tratamento, quer a nível de sobrevida quer de morbilidade. Uma enorme limitação continua a ser, contudo, a heterogeneidade biológica patente entre diferentes indivíduos, o que é inerente ao cancro gástrico.

É esperado que a imunoterapia tenha grande relevância no futuro, sendo que fármacos Anti-PD-1 e anti-PD-L1, tanto em monoterapia como em terapia combinada com anti-CTLA-4 apresentam resultados promissores, aguardando-se continuação de ensaios clínicos. Foi também apresentado o primeiro estudo com resultados positivos com nivolumab, e estão a decorrer ainda vários estudos em todas as linhas de tratamento. Porém, continua por esclarecer que subgrupo de CG terá os maiores benefícios.

O progresso atingido com fármacos anti-angiogénicos, nomeadamente dirigidos a VEGFR2 (ramucirumab), foi limitado. Contudo, é preciso aguardar por dados de primeira linha, sendo que a integração deste agente em tratamentos multimodais, assim como a combinação com outras terapias recentes pode ter

interesse para a realização de estudos futuros. Outros recetores como de péptidos N-formil (FPR-1, FPR-2 e FPR-3) parecem ser também um alvo promissor para terapêuticas futuras, assim como as vias de SPMs.

Outras terapias emergentes passam por dirigir a terapia a TJ, nomeadamente claudina 18,2, sendo este um alvo promissor para terapia futura. Outro alvo potencial seria a inibição de MMP-9 para modificação de estroma tumoral.

Uma outra aplicação futura destas novas terapias poderia também passar pela sua implantação ao nível dos estadios precoces, possivelmente diminuindo a necessidade de cirurgia curativa e por conseguinte a morbilidade e mortalidade associadas a este procedimento, aumentando a qualidade de vida dos doentes.

Referências Bibliográficas

1. Ghosn M, Tabchi S, Kourie HR, Tehfe M. Metastatic gastric cancer treatment: Second line and beyond. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 3069-3077.
2. Lee JH, Kim KM, Cheong JH, Noh SH. Current management and future strategies of gastric cancer. *Yonsei Med J* 2012; 53: 248-257.
3. Choi YY, Noh SH, Cheong JH. Evolution of Gastric Cancer Treatment: From the Golden Age of Surgery to an Era of Precision Medicine. *Yonsei Med J* 2015; 56: 1177-1185.
4. Stewart BaW, C.P. World Cancer Report 2014. International Agency for Research on Cancer, WHO 2014.
5. Morais S, Ferro A, Bastos A et al. Trends in gastric cancer mortality and in the prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Portugal. *Eur J Cancer Prev* 2016; 25: 275-281.
6. Lin SJ G-BJ, Tan IB, et al. Signatures of tumour immunity distinguish Asian and non-Asian gastric adenocarcinomas. *Gut* 2015; 1721-1731.
7. Macdonald JS SS, Benedetti J, Hundahl SA, Estes NC, Stemmermann GN. Chemoradiotherapy after surgery compared with surgery alone for adenocarcinoma of the stomach or gastroesophageal junction. *N Engl J Med* 2001; 725-730.
8. Macdonald JS BJ, Smalley S, Haller D, Hundahl S, Jessup J,. Chemoradiation of resected gastric cancer: a 10-year follow-up of the phase III trial INT0116 (SWOG 9008). *J Clin Oncol* 2009.
9. Pimentel-Nunes P, Dinis-Ribeiro M, Ponchon T et al. Endoscopic submucosal dissection: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guideline. *Endoscopy* 2015; 47: 829-854.
10. Caponigro F, Facchini G, Nasti G, Iaffaioli RV. Gastric cancer. Treatment of advanced disease and new drugs. *Front Biosci* 2005; 10: 3122-3126.
11. Smyth EC, Verheij M, Allum W et al. Gastric cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2016; 27: v38-v49.
12. Mohammad NH, ter Veer E, Ngai L et al. Optimal first-line chemotherapeutic treatment in patients with locally advanced or metastatic esophagogastric carcinoma: triplet versus doublet chemotherapy: a systematic literature review and meta-analysis. *Cancer Metastasis Rev* 2015; 34: 429-441.
13. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 2013; 499: 214-218.
14. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med* 2007; 357: 1810-1820.
15. Sasako M, Sakuramoto S, Katai H et al. Five-year outcomes of a randomized phase III trial comparing adjuvant chemotherapy with S-1 versus surgery alone in stage II or III gastric cancer. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4387-4393.
16. Deng N, Goh LK, Wang H et al. A comprehensive survey of genomic alterations in gastric cancer reveals systematic patterns of molecular exclusivity and co-occurrence among distinct therapeutic targets. *Gut* 2012; 61: 673-684.
17. Kwak EL, Ahronian LG, Siravegna G et al. Molecular Heterogeneity and Receptor Coamplification Drive Resistance to Targeted Therapy in MET-Amplified Esophagogastric Cancer. *Cancer Discov* 2015; 5: 1271-1281.
18. Smyth EC, Cunningham D. Targeted therapy for gastric cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2012; 13: 377-389.
19. Network CGAR. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014; 513: 202-209.
20. Hudis CA. Trastuzumab--mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med* 2007; 357: 39-51.

21. Maron SB, Catenacci DVT. Update on Gastroesophageal Adenocarcinoma Targeted Therapies. *Hematol Oncol Clin North Am* 2017; 31: 511-527.
22. Bang YJ VCE, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 687-697.
23. Iqbal S, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM et al. Southwest Oncology Group study S0413: a phase II trial of lapatinib (GW572016) as first-line therapy in patients with advanced or metastatic gastric cancer. *Ann Oncol* 2011; 22: 2610-2615.
24. Satoh T, Xu RH, Chung HC et al. Lapatinib plus paclitaxel versus paclitaxel alone in the second-line treatment of HER2-amplified advanced gastric cancer in Asian populations: TyTAN-a randomized, phase III study. *J Clin Oncol* 2014; 32: 2039-2049.
25. Lorenzen S, Riera Knorrenschild J, Haag GM et al. Lapatinib versus lapatinib plus capecitabine as second-line treatment in human epidermal growth factor receptor 2-amplified metastatic gastro-oesophageal cancer: a randomised phase II trial of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie. *Eur J Cancer* 2015; 51: 569-576.
26. Kang YK SM, Ohtsu A, et al. A randomized, open-label, multicenter, adaptive phase 2/3 study of trastuzumab emtansine (T-DM1) versus a taxane (TAX) in patients (pts) with previously treated HER2-positive locally advanced or metastatic gastric/gastroesophageal junction adenocarcinoma (LA/MGC/GEJC). *J Clin Oncol* 2016.
27. Tamura K SK, Naito Y, et al. Single Agent Activity of DS-8201a, a HER2-Targeting Antibody-Drug Conjugate, in Breast Cancer Patients Previously Treated with T-DM1: Phase 1 Dose Escalation. *Ann Oncol* 2016.
28. Ogitani Y, Aida T, Hagihara K et al. DS-8201a, A Novel HER2-Targeting ADC with a Novel DNA Topoisomerase I Inhibitor, Demonstrates a Promising Antitumor Efficacy with Differentiation from T-DM1. *Clin Cancer Res* 2016; 22: 5097-5108.
29. Hecht JR BY, Qin SK et al. Lapatinib in Combination With Capecitabine Plus Oxaliplatin in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Advanced or Metastatic Gastric, Esophageal, or Gastroesophageal Adenocarcinoma: TRIO-013/LOGiC—A Randomized Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology* 2016; 443-451.
30. Press MF EC, Gagnon RC, et al. HER2 status in advanced or metastatic gastric, esophageal, or gastro-esophageal adenocarcinoma for entry to the TRIO-013/LOGiC trial of lapatinib. *Mol Cancer Ther* 2017; 228-238.
31. Corso G, Velho S, Paredes J et al. Oncogenic mutations in gastric cancer with microsatellite instability. *Eur J Cancer* 2011; 47: 443-451.
32. Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E et al. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976.
33. Shen L, Li J, Xu J et al. Bevacizumab plus capecitabine and cisplatin in Chinese patients with inoperable locally advanced or metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer: randomized, double-blind, phase III study (AVATAR study). *Gastric Cancer* 2015; 18: 168-176.
34. Fuchs CS, Tomasek J, Yong CJ et al. Ramucirumab monotherapy for previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (REGARD): an international, randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2014; 383: 31-39.
35. Al-Batran SE, Van Cutsem E, Oh SC et al. Quality-of-life and performance status results from the phase III RAINBOW study of ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Ann Oncol* 2016; 27: 673-679.
36. Wilke H, Muro K, Van Cutsem E et al. Ramucirumab plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel in patients with previously treated advanced gastric or gastro-oesophageal junction

adenocarcinoma (RAINBOW): a double-blind, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15: 1224-1235.

37. Yoon HH, Bendell JC, Braiteh FS et al. Ramucirumab combined with FOLFOX as front-line therapy for advanced esophageal, gastroesophageal junction, or gastric adenocarcinoma: a randomized, double-blind, multicenter Phase II trial. *Ann Oncol* 2016; 27: 2196-2203.
38. Javle M, Smyth EC, Chau I. Ramucirumab: successfully targeting angiogenesis in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 5875-5881.
39. Cunningham D, Stenning SP, Smyth EC et al. Peri-operative chemotherapy with or without bevacizumab in operable oesophagogastric adenocarcinoma (UK Medical Research Council ST03): primary analysis results of a multicentre, open-label, randomised phase 2-3 trial. *Lancet Oncol* 2017; 18: 357-370.
40. Fuchs CS, Tabernero J, Tomášek J et al. Biomarker analyses in REGARD gastric/GEJ carcinoma patients treated with VEGFR2-targeted antibody ramucirumab. *Br J Cancer* 2016; 115: 974-982.
41. Hacker UT, Escalona-Espinosa L, Consalvo N et al. Evaluation of Angiopoietin-2 as a biomarker in gastric cancer: results from the randomised phase III AVAGAST trial. *Br J Cancer* 2016; 114: 855-862.
42. Lordick F JY. Clinical impact of tumour biology in the management of gastroesophageal cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016; 13: 348-360.
43. Shitara K, Muro K, Shimada Y et al. Subgroup analyses of the safety and efficacy of ramucirumab in Japanese and Western patients in RAINBOW: a randomized clinical trial in second-line treatment of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2016; 19: 927-938.
44. Chen HD, Zhou J, Wen F et al. Cost-effectiveness analysis of apatinib treatment for chemotherapy-refractory advanced gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2017; 143: 361-368.
45. Li J, Qin S, Xu J et al. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Trial of Apatinib in Patients With Chemotherapy-Refractory Advanced or Metastatic Adenocarcinoma of the Stomach or Gastroesophageal Junction. *J Clin Oncol* 2016; 34: 1448-1454.
46. Aprile G, Macerelli M, Giuliani F. Regorafenib for gastrointestinal malignancies : from preclinical data to clinical results of a novel multi-target inhibitor. *BioDrugs* 2013; 27: 213-224.
47. Pavlakis N, Sjoquist KM, Martin AJ et al. Regorafenib for the Treatment of Advanced Gastric Cancer (INTEGRATE): A Multinational Placebo-Controlled Phase II Trial. *J Clin Oncol* 2016; 34: 2728-2735.
48. Prevede N, Liotti F, Visciano C et al. The formyl peptide receptor 1 exerts a tumor suppressor function in human gastric cancer by inhibiting angiogenesis. *Oncogene* 2015; 34: 3826-3838.
49. Cheng TY, Wu MS, Lin JT et al. Formyl Peptide receptor 1 expression is associated with tumor progression and survival in gastric cancer. *Anticancer Res* 2014; 34: 2223-2229.
50. Prevede N, Liotti F, Illiano A et al. Formyl peptide receptor 1 suppresses gastric cancer angiogenesis and growth by exploiting inflammation resolution pathways. *Oncoimmunology* 2017; 6: e1293213.
51. Cui J, Yin Y, Ma Q et al. Comprehensive characterization of the genomic alterations in human gastric cancer. *Int J Cancer* 2015; 137: 86-95.
52. Böger C, Behrens HM, Mathiak M et al. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. *Oncotarget* 2016; 7: 24269-24283.
53. Kawazoe A, Kuwata T, Kuboki Y et al. Clinicopathological features of programmed death ligand 1 expression with tumor-infiltrating lymphocyte, mismatch repair, and Epstein-Barr virus status in a large cohort of gastric cancer patients. *Gastric Cancer* 2017; 20: 407-415.
54. Ribas A. Releasing the Brakes on Cancer Immunotherapy. *N Engl J Med* 2015; 373: 1490-1492.

55. Muro K, Chung HC, Shankaran V et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 717-726.
56. Janjigian YY BJ, Calvo E, et al. CheckMate-032: Phase I/II, open-label study of safety and activity of nivolumab alone or with ipilimumab in advanced and metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2016.
57. Kang YK ea. Nivolumab as salvage treatment after 2nd or later line chemotherapy for advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer: A doubleblinded, randomized phase III trial. *Gastrointestinal Cancers Symposium* 2017.
58. Yamada Y NT, Iwasa S, et al. A phase I dose expansion trial of avelumab, an anti-PD-L1 antibody, in Japanese patients with advanced gastric cancer. *J Clin Oncol* 2015.
59. Chung HC AH, Wyrwicz L, et al. Avelumab in patients with advanced gastric or gastroesophageal junction cancer from JAVELIN solid tumor phase Ib trial: Analysis of safety and clinical activity. *J Clin Oncol* 2016.
60. Diaz LA, Le DT. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* 2015; 373: 1979.
61. Herbst RS BJ, Isambert N, et al. A phase 1 study of ramucirumab plus pembrolizumab in patients with advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma, non-small cell lung cancer, or urothelial carcinoma: Phase 1a results. *Journal of Clinical Oncology* 2016.
62. Secrier M, Li X, de Silva N et al. Mutational signatures in esophageal adenocarcinoma define etiologically distinct subgroups with therapeutic relevance. *Nat Genet* 2016; 48: 1131-1141.
63. Shinozaki A, Ushiku T, Morikawa T et al. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: a distinct carcinoma of gastric phenotype by claudin expression profiling. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 775-785.
64. Lavin MF. Ataxia-telangiectasia: from a rare disorder to a paradigm for cell signalling and cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 759-769.
65. Bang YJ, Im SA, Lee KW et al. Randomized, Double-Blind Phase II Trial With Prospective Classification by ATM Protein Level to Evaluate the Efficacy and Tolerability of Olaparib Plus Paclitaxel in Patients With Recurrent or Metastatic Gastric Cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 3858-3865.
66. Bang Y BN, Chin K, et al. Olaparib in combination with paclitaxel in patients with advanced gastric cancer who have progressed following first-line therapy: Phase III GOLD study. *Ann Oncol* 2016; 1-36.
67. Oshima T, Shan J, Okugawa T et al. Down-regulation of claudin-18 is associated with the proliferative and invasive potential of gastric cancer at the invasive front. *PLoS One* 2013; 8: e74757.
68. Sanada Y, Oue N, Mitani Y et al. Down-regulation of the claudin-18 gene, identified through serial analysis of gene expression data analysis, in gastric cancer with an intestinal phenotype. *J Pathol* 2006; 208: 633-642.
69. Lordick F SM, Al-Batran S, et al. Claudin 18.2 – a novel treatment target in the multicenter, randomized, phase II FAST study, a trial of epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without the anti-CLDN18.2 antibody IMAB362 as 1st line therapy in advanced gastric and gastroesophageal junction cancer. *ESMO Asia Annual Meeting* 19 December 2016.
70. Matsusaka K, Ushiku T, Urabe M et al. Coupling CDH17 and CLDN18 markers for comprehensive membrane-targeted detection of human gastric cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 64168-64181.
71. Sahin U, Koslowski M, Dhaene K et al. Claudin-18 splice variant 2 is a pan-cancer target suitable for therapeutic antibody development. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7624-7634.

72. Zhang SJ, Feng JF, Wang L et al. miR-1303 targets claudin-18 gene to modulate proliferation and invasion of gastric cancer cells. *Dig Dis Sci* 2014; 59: 1754-1763.
73. Coussens LM, Fingleton B, Matrisian LM. Matrix metalloproteinase inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science* 2002; 295: 2387-2392.
74. Okada R, Naito M, Hattori Y et al. Matrix metalloproteinase 9 gene polymorphisms are associated with a multiple family history of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2017; 20: 246-253.