

Histološka diagnostika raka dojk

dr. Barbara Gazič, dr. med., specialistka patologije
Oddelek za patologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška 2,
Ljubljana

Izveček

Diagnozo raka dojk postavi patolog na osnovi mikroskopskega pregleda vzorca tkiva. Neinvazivni rak ali karcinom *in situ* je z bazalno membrano omejen na lobularno enoto ali duktus in ne zaseva. Invazivni rak se preko bazalne membrane širi v stromo, lahko pa se razširi po limfnih žilah v bezgavke ali po krvnih žilah v oddaljene organe. Zadnja klasifikacija tumorjev dojk Svetovne zdravstvene organizacije deli invazivne rake v invazivni karcinom brez drugih specifičnih lastnosti (80 % vseh karcinomov dojk) in petnajst specialnih tipov, med katerimi je najpogostejši invazivni lobularni karcinom (10-15 % vseh karcinomov dojk). Pri načrtovanju zdravljenja raka dojk se odločamo na podlagi klasičnih napovednih dejavnikov, ki jih s histološkim pregledom tkiva določa patolog in jih poda v standardiziranem histološkem izvidu, za določene tipe rakov pa so za odločitev o načinu zdravljenja pomembne tudi nekatere molekularne preiskave. Poleg histološkega tipa patolog določi histološki gradus, velikost tumorja, prizadetost pazdušnih bezgavk, prisotnost invazije v limfne in/ali krvne žile, status estrogenskih in progesteronskih receptorjev, proliferacijski indeks in status *HER2*. Na podlagi velikosti tumorja in prizadetosti pazdušnih bezgavk ter ustreznih preiskav za zamejitev bolezni določimo patološki stadij TNM, ki je pomemben za odločitev o načinu zdravljenja posamezne bolnice in omogoča, da v kliničnih študijah med seboj primerjamo podobne skupine bolnic z rakom dojk.

Histološka klasifikacija tumorjev dojk

Maligne tumorje dojk v grobem razdelimo v dve glavni skupini: karcinome in sarkome.

Karcinomi oz. 'raki' so maligni tumorji, ki vzniknejo iz epitelijske komponente tkiva dojke. Epitelijsko komponento tvorijo celice, ki obdajajo lobule in duktuse žleznega parenhima. Karcinomi predstavljajo daleč največjo skupino izmed vseh malignih tumorjev dojk. Sarkomi so redki maligni tumorji dojk, ki vzniknejo iz stromalne komponente (vezivnega tkiva) parenhima dojke. Stromalno komponento tvorijo miofibroblasti, maščevje, živci in krvne žile. Sarkomi predstavljajo manj kot 1 % primarnih malignih tumorjev dojk. Posebna oblika tumorjev dojk so filodni tumorji, ki so fibroepitelijski tumorji z benigno, mejno maligno ali maligno mezenhimsko in benigno epitelijsko komponento.

Rak dojk je ime za heterogeno skupino epiteljskih tumorjev, ki se med seboj razlikujejo po morfologiji, imunohistokemičnih in molekularnih lastnostih, klinični sliki, odzivu na zdravljenje in prognozi. Razlikovati moramo neinvazivni in invazivni rak dojk.

Neinvazivni rak ali karcinom *in situ* je 'preinvazivni' karcinom, ki je omejen z intaktno bazalno membrano. Tumorske celice proliferirajo znotraj preeksistentnih lobulov oz. duktusov. Glede na mesto vznika in tip tumorskih celic razlikujemo duktalni karcinom *in situ* (DCIS) in lobularni karcinom *in situ* (LCIS). Tudi karcinom *in situ* je heterogena bolezen, ki se loči po morfologiji, molekularnih lastnostih, stopnji malignosti in verjetnosti za prehod v invazivni karcinom. Ker pa neinvazivni karcinomi ne zasevajo, jih zdravimo kirurško in z obsevanjem.

Invazivni rak se širi zunaj lobulov in duktusov preko bazalne membrane in infiltrira stromo v okolici, lahko pa se razširi po limfnih žilah v bezgavke ali po krvnih žilah v oddaljene organe. Klasifikacija tumorjev dojk Svetovne zdravstvene organizacije deli invazivne rake v invazivni karcinom brez drugih

specifičnih lastnosti, ki ga v praksi velikokrat še vedno imenujemo invazivni duktalni karcinom (80 % vseh karcinomov dojk), in petnajst specialnih tipov, med katerimi je najpogostejši invazivni lobularni karcinom (10-15 % vseh karcinomov dojk). Invazivni duktalni karcinom in invazivni lobularni karcinom se po svoji morfologiji večinoma precej razlikujeta. Lobularni karcinom raste običajno izrazito disociativno in multifokalno, od duktalnega karcinoma pa se razlikuje tudi po svojih imunohistokemičnih in molekularnih lastnostih. Drugi specialni tipi, kot so mucinozozni karcinom, tubularni karcinom, invazivni mikropapilarni karcinom in metaplastični karcinom, imajo značilno histološko sliko in prognozo, različno pa je tudi njihovo zdravljenje.

Rak dojke pri moških in otrocih/adolescentih

Rak dojke se lahko pojavi tudi pri moških in otrocih. Delež raka dojke pri moških je manj kot 1 % vseh karcinomov dojk, rak pa je lahko invaziven ali *in situ*. Histološka slika raka dojke pri moških je identična histološki sliki raka pri ženskah, večinoma pa gre za invazivni duktalni karcinom.

Tumorji dojke pri otrocih/adolescentih so redki. Lahko so benigni, kot na primer juvenilni fibroadenom, ali pa maligni, najpogostejši je sekretorni karcinom. Pri otrocih moramo zato vedno misliti tudi na možnost sekundarnega tumorja, kot sta limfom ali rabdomiosarkom. Zasevki v dojki so pri otrocih precej pogostejši od primarnih tumorjev.

Histološka diagnostika raka dojke

Za opredelitev sprememb v dojki patolog dobi v preiskavo debeloigelnno biopsijo (stebričast vzorec spremembe v dojki) ali ekscizijo (kirurško odstranjen manjši del dojke s spremembo). Na podlagi tkivnega vzorca igelne biopsije patolog opredeli spremembe oz. določi tip tumorja, spremembe pa na osnovi klasifikacije 'B' uvrsti tudi v ustrezno kategorijo 'B'. Klasifikacija 'B' vključuje kategorije od 1 do 5 in deli lezije v dojki na benigne (B2), na lezije nejasnega malignega potenciala (B3), lezije, ki so sumljive za karcinom (B4), in maligne lezije (B5). Predoperativna diagnostika s pomočjo debele igle omogoča tudi načrtovanje systemskega zdravljenja karcinoma dojke še pred kirurškim

posegom in lahko vpliva na načrt kirurškega posega. Kadar so spremembe zelo globoko v dojki, blizu stene prsnega koša, jih pogosto ne moremo doseči z debelo iglo. V takšnih primerih je kirurška ekscizija edini način, s katerim lahko dobimo ustrezen tkivni vzorec za histološko diagnozo.

Napovedni dejavniki raka dojk

Napovedni dejavniki poteka bolezni bolnic z rakom dojk so tiste lastnosti primarnega tumorja, na podlagi katerih lahko predvidimo naravni potek bolezni brez zdravljenja. Od napovednih dejavnikov, ki napovedujejo potek bolezni (prognostični dejavniki), ločimo napovedne dejavnike, ki so povezani z odgovorom na določeno sistemsko zdravljenje (prediktivni dejavniki).

Pri načrtovanju zdravljenja raka dojk se odločamo na podlagi klasičnih napovednih dejavnikov, ki jih s histološkim pregledom tkiva določa oz. meri patolog in jih poda v standardiziranem histološkem izvidu. Klasični napovedni dejavniki so histološki tip tumorja, stopnja diferenciacije tumorja oz. histološki gradus, velikost tumorja, prizadetost pazdušnih bezgavk ter status hormonskih receptorjev (estrogenskih in progesteronskih) in onkogeno oz. onkoproteina *HER2*. Standardiziran histološki izvid vsebuje tudi informacijo o proliferacijski aktivnosti tumorja, proliferacijski indeks MIB-1, ki pa ni klasični napovedni dejavnik, ker ne poznamo dovolj objektivne metode za njegovo ponovljivo določanje. Na podlagi velikosti tumorja, prizadetosti pazdušnih bezgavk in prisotnosti oddaljenih zasevkov lahko določimo stadij bolezni. V zadnjem času postajajo vse pomembnejši tudi novejši prognostični in prediktivni dejavniki. Imunohistokemično določamo izražanje PD-L1 na tumorskih in imunskih celicah strome na metastatskih trojno negativnih tumorjih za odločitev o zdravljenju z zaviralci imunskih nadzornih točk, za določitev verjetnosti ponovitve zgodnjih, hormonsko odvisnih rakov dojk, pa vzorec tumorskega tkiva pošljemo na dodatne molekularne preiskave v tujino.

Histološki gradus

S histološkim gradusom opredelimo stopnjo malignosti tumorja. Tumorji nizkega gradusa so bolje diferencirani in v splošnem manj agresivni od tumorjev visokega gradusa, ki so slabo diferencirani in imajo agresivnejši

potek. Gradus določamo vsem invazivnim karcinomom dojk, tudi na vzorcih debeloigelnih biopsij, kadar je v vzorcu dovolj tumorskega tkiva. Gradus je pomemben napovedni dejavnik, ki močno korelira s preživetjem bolnic z rakom dojk in napoveduje tudi odgovor na sistemsko zdravljenje, zato je ključnega pomena pri načrtovanju zdravljenja

Poznamo več različnih sistemov gradiranja. Eden izmed njih je Elston-Ellisova modifikacija določanja stopnje diferenciacije po Scarff-Bloom-Richardsonu (Nottingham Histological grading score), pri katerem patolog oceni delež žleznih formacij, jedrne značilnosti oz. jedrni 'pleomorfizem' in število mitoz. Vsako izmed naštetih lastnosti patolog oceni s točkami 1–3, točke sešteje in na podlagi vsote točk uvrsti tumor v eno izmed treh kategorij: gradus 1 (3–5 točk, dobro diferenciran), gradus 2 (6–7 točk, zmerno diferenciran) ali gradus 3 (8–9 točk, slabo diferenciran).

Stadij

Tumorski stadij

Najpogostejši sistem določanja stadija (razširjenosti) raka je klasifikacija TNM (T – velikost tumorja, N – prizadetost bezgavk, M – prisotnost oddaljenih zasevkov oz. metastaz). S kombinacijo različnih kategorij T, N in M ločimo pet stadijev (stadij 0, I, II, III in IV). Določitev stadija je pomembna za odločitev o načinu zdravljenja posamezne bolnice in omogoča, da v kliničnih študijah med seboj primerjamo podobne skupine bolnic z rakom dojk.

Patološki stadij T in N določimo na podlagi makroskopskega in mikroskopskega pregleda kirurškega vzorca ekscizije ali resekcije dojke in varovalne bezgavke ali disekcije pazdušnih bezgavk. Stadij T določimo glede na velikost invazivnega karcinoma, ki jo patolog izmeri pri mikroskopskem pregledu tumorja oz. makroskopskem pregledu pri večjih tumorjih. Pri multiplih invazivnih tumorjih upoštevamo velikost največjega tumorja. Večkrat moramo za določitev ustrezne kategorije T korelirati rezultate makroskopske, mikroskopske in slikovne preiskave.

Za pravilno določitev kategorije N moramo vzorčiti vse bezgavke na način, ki omogoča histološko identifikacijo vseh zasevkov, večjih od 0,2 cm. Kategorijo

M največkrat opredelimo na osnovi radioloških preiskav, posamezne metastaze pa potrdimo tudi s histološko preiskavo.

Vse pomembnejša postaja predoperativno (neoadjuvantno) zdravljenje raka dojk, ki za določitev najverjetnejšega stadija TNM pred kirurškim posegom in pred sistemskim zdravljenjem zahteva korelacijo rezultatov kliničnih, slikovnih in histoloških preiskav. Stadij po neoadjuvantnem zdravljenju določamo na tkivnih vzorcih po definitivni kirurgiji (yT, yN). Stadij pred in po zdravljenju je pomemben napovedni dejavnik preživetja pri bolnicah z rakom dojk. Učinkovitost predoperativnega zdravljenja in breme rezidualne bolezni ocenjujemo na podlagi histološke preiskave tkiva dojke in bezgavk po zdravljenju in s pomočjo računalniške aplikacije, na podlagi mikroskopskih meritev in ocen, izračunamo RCB ('residual cancer burden').

Invazija limfnih in krvnih žil

Invazija limfnih in /krvnih žil je povezana z večjo verjetnostjo zasevkov v bezgavkah, hkrati pa je tudi samostojen napovedni dejavnik za ponovitev bolezni in zato vpliva na odločitev o zdravljenju. Bolnice z invazijo limfnih/krvnih žil in zasevki v bezgavkah imajo slabšo napoved poteka bolezni v primerjavi z bolnicami, pri katerih so prisotni zgolj zasevki ali samo invazija limfnih/krvnih žil.

Prizadetost pazdušnih bezgavk

Prizadetost pazdušnih bezgavk je najpomembnejši samostojni prognostični dejavnik za večino karcinomov dojk. Prisotnost zasevkov v pazdušnih bezgavkah močno korelira z velikostjo tumorja. Preživetje se niža z vsako prizadeto pazdušno bezgavko. Prizadetost pazdušnih bezgavk je hkrati znak večje verjetnosti za razsoj bolezni, kirurška odstranitev bezgavk pa glede na sedanje raziskave nima večjega vpliva na preživetje.

Na preživetje vplivajo zasevki (imenujemo jih tudi makrozasevki), ki so večji od 0,2 cm v najdaljšem premeru. Večino zasevkov lahko identificiramo v bezgavkah, ki jih pravilno vzorčimo tako, da jih narežemo na 2-mm rezine, vklopimo v parafin v pravilnem zaporedju in iz vsakega bloka pregledamo po eno reprezentativno rezino HE. Za dokaz mikrozasevkov (večji od 0,2 mm in manjši od 2 mm) in izoliranih tumorskih celic so potrebne dodatne

imunohistokemične preiskave, njihova prisotnost v pazdušnih bezgavkah pa bistveno ne vpliva na prognozo.

Tumorske celice se iz dojke drenirajo v eno ali dve bezgavki v pazduhi, le izjemoma v bezgavke druge regije. Te bezgavke imenujemo varovalne bezgavke in jih kirurg lahko identificira med operacijo s pomočjo ustreznega barvila ali kontrasta in pošlje na histološko preiskavo. Če v varovalni bezgavki ni tumorja, je velika verjetnost, da ga ni niti v drugih pazdušnih bezgavkah. Manj kot 10 % bolnic ima namreč ob negativni varovalni bezgavki zasevke v drugih, nevarovalnih pazdušnih bezgavkah. Intramamarne bezgavke so le redko varovalne bezgavke, seveda pa jih moramo, če so v njih zasevki, prišteti k pazdušnim bezgavkam pri določanju stadija. Biopsija varovalne bezgavke je učinkovita metoda za ugotavljanje prizadetosti pazdušnih bezgavk pri bolnicah z rakom dojke. Kirurška odstranitev vseh pazdušnih bezgavk pri bolnicah brez zasevkov v varovalnih bezgavkah oz. z minimalno prizadetostjo varovalnih bezgavk (izolirane tumorske celice ali mikrozasevki) ni potrebna.

Estrogenski receptorji, progesteronski receptorji in *HER2*

V rutinski obravnavi bolnic z invazivnim rakom dojke imajo trije molekularni označevalci, estrogenski receptorji (ER), progesteronski receptorji (PR) in humani receptor epidermalnega rastnega faktorja 2 (*HER2*), ključno vlogo in jih določamo rutinsko na vseh invazivnih karcinomih. Vsi trije so prognostični in prediktivni dejavniki. Natančno določanje statusa ER, PR in *HER2* je ključnega pomena za uspešno zdravljenje.

ER je jedrni transkripcijski faktor, ki ga aktivira hormon estrogen in nato stimulira rast normalnega epitelija dojke. Na enak način spodbuja tudi rast tumorskih celic. ER določamo imunohistokemično. S pomočjo mikroskopskega pregleda patolog oceni delež pozitivnih jeter tumorskih celic. Približno 80 % invazivnih karcinomov dojke izraža ER, delež pa variira od 1 do 100 %. Status ER je močan prediktivni dejavnik odgovora na hormonsko zdravljenje in to je tudi glavni razlog, da ga določamo na vseh invazivnih karcinomih.

Tudi PR določamo imunohistokemično. ER regulirajo izražanje PR. PR aktivira hormon progesteron, PR pa nato stimulirajo tumorsko

proliferacijo. PR izraža 60–70 % vseh invazivnih karcinomov dojk, delež pozitivnih jeder pa prav tako, kot pri ER, varira od 1 do 100 %. Obstaja neposredna korelacija med deležem tumorskih celic, ki izražajo hormonske receptorje, in odgovorom na hormonsko zdravljenje.

Gen *HER2* na kromosomu 17 kodira receptor za rastni faktor na površini normalnih epitelijskih celic dojke. Gen *HER2* je pomnožen (amplificiran) v 15 % invazivnih karcinomov dojk. Posledica amplifikacije gena je višja ekspresija proteina *HER2*, posledica je več receptorjev za rastni faktor in hitrejša proliferacija tumorskih celic. Status *HER2* določamo imunohistokemično in/ali s fluorescenčno hibridizacijo *in situ* (FISH). Za določanje statusa *HER2* obstajajo natančne smernice, ki jih moramo upoštevati, da bi zagotovili kar se da natančne rezultate preiskave in uspeh zdravljenja. Povezava med statusom *HER2* in izidom bolezni je precej kompleksna. *HER2*-pozitivni tumorji dobro odgovorijo na zdravljenje s tarčnimi zdravili, ki se vežejo na protein *HER2* na površini tumorske celice (npr. trastuzumab in lapatinib). Glavni namen določanja statusa *HER2* je iskanje bolnic z invazivnim karcinomom dojk, ki so primerne za zdravljenje s tarčnimi zdravili. *HER2*-pozitivni tumorji imajo močno pozitivno sklenjeno membransko imunohistokemično reakcijo (IHK 3+) v več kot 10 % celic in/ali amplifikacijo gena *HER2*, ki jo dokažemo s preiskavo FISH. Pozitivni so tudi tumorji, ki imajo srednje močno pozitivno sklenjeno membransko imunohistokemično reakcijo (IHK 2+) in amplifikacijo gena *HER2*. Tumorji, ki so imunohistokemično negativni ali imajo šibko membransko imunohistokemično reakcijo (0 ali 1+) imajo praviloma normalno število genov *HER2* in so *HER2*-negativni.

Vsem primarnim invazivnim karcinomom moramo torej rutinsko določiti status ER, PR in *HER2*. Ker se status pri majhnem deležu bolnic s ponovitvijo bolezni lahko spremeni, moramo status hormonskih receptorjev in *HER2* določiti tudi na recidivnem tumorju/zasevkih.

MIB-1

Proliferacijski označevalec MIB-1 (tudi Ki-67) je nehistski jedrni protein, ki je prisoten v vseh fazah celičnega cikla, od G1 do M, v mirujočih celicah (G0) pa ni izražen. Dokažemo ga imunohistokemično. Ocenjujemo delež pozitivnih tumorskih celic. Nekatere študije so nedvomno dokazale, da je MIB-1

neodvisen napovedni dejavnik slabšega preživetja bolnic z rakom dojk in negativnimi pazdušnimi bezgavkami. Ker je metoda semikvantitativna in subjektivna, saj ni jasnih protokolov za vrednotenje rezultatov, MIB-1 ni splošno sprejet napovedni dejavnik. Kljub subjektivnosti metode pa ga številni kliniki uporabljajo pri odločitvi o zdravljenju določenih invazivnih karcinomov dojk in ga zato v mnogih evropskih državah, tudi v Sloveniji, določamo rutinsko in rezultat zapišemo v histološki izvid.

LIMFOCITI, KI INFILTRIRAJO TUMOR (TIL)

V zadnjih nekaj letih so študije dokazale, da so limfociti, ki infiltrirajo tumorsko tkivo (TIL), pomemben prediktivni napovedni dejavnik odgovora na neoadjuvantno kemoterapijo pri bolnicah s trojno negativnim rakom dojk in *HER2*-pozitivnim rakom dojk. Popoln patološki odgovor na neoadjuvantno kemoterapijo je tem verjetnejši, čim višji je delež TIL. Posamezne študije so prediktivni napovedni pomen TIL za odgovor na neoadjuvantno zdravljenje dokazale tudi pri hormonsko odvisnem raku. Patolog na podlagi mikroskopskega pregleda po standardizirani metodi oceni TIL: glede na delež tumorske strome, ki jo zajemajo limfociti, granulociti in makrofagi, opredeli TIL kot blag (0–10 % infiltrirane tumorske strome), zmeren (11–59 % infiltrirane tumorske strome) ali izrazit (≥ 60 % infiltrirane tumorske strome). Ocena je semikvantitativna in subjektivna, še zlasti na vzorcih debeloigelne biopsije, kjer meja med intratumorsko stromo in okolico velikokrat ni jasna.

PD-1/PD-L1

Imunoterapija z zaviralci imunskih nadzornih točk PD-1/PD-L1 je v zadnjem desetletju botrovala zelo uspešnemu zdravljenju nekaterih tumorjev, ki so neodzivni na konvencionalno sistemsko zdravljenje, kot sta npr. maligni melanom in nedrobnocelični pljučni rak. Posamezne novejša klinična raziskave pa so potrdile njeno učinkovitost tudi pri zdravljenju metastatskega raka dojk, predvsem trojno negativnega. Zaradi visokih stroškov zdravljenja z zaviralci PD-1/PD-L1 in možnih neželenih učinkov bo treba poiskati zanesljive prediktivne dejavnike odgovora na imunoterapijo, da bomo lahko zdravili le tiste bolnike z rakom dojk, pri katerih bo takšno zdravljenje učinkovito. Zaenkrat je edini prediktivni dejavnik imunohistokemično določanje izražanja PD-L1 na tumorskih in imunskih celicah, ki ga določamo patologi z

mikroskopskim pregledom tumorskega tkiva. Reakcijo ocenimo semikvantitativno in rezultat v histološkem izvidu zapišemo kot delež pozitivnih tumorskih in/ali imunoloških celic.

MOLEKULARNE PREISKAVE

Za zgodnje hormonsko odvisne *HER2*-negativne rake pri odločitvi glede zdravljenja s kemoterapijo upoštevamo tudi specifične molekularne lastnosti tumorja. Patolog izbere ustrezen vzorec s tumorskim tkivom, ki ga nato pošljemo v tujino na molekularne preiskave. Na osnovi t. i. genskega podpisa tumorja (angl. gene expression signature) lahko ugotovimo, ali ima bolnica nizko ali visoko tveganje za ponovitev bolezni. Bolnicam, ki imajo glede na genski podpis tumorja nizko tveganje za ponovitev, kemoterapija ne prinaša dobrobiti, zato jih s kemoterapijo ne zdravimo, bolnice z visokim tveganjem za ponovitev pa imajo dokazano dobrobit kemoterapije in poleg hormonskega zdravljenja prejmejo tudi kemoterapijo.

Pri bolnicah z napredovalim hormonsko odvisnim *HER2*-negativnim tumorjem vzorec tumorja pošljemo na molekularno preiskavo za določitev mutacij v genu *PIK3CA*. Mutacije v genu *PIK3CA* izboljšajo odzivnost na zdravljenje z zaviralci signalne poti PI3K/AKT/mTOR.

Literatura:

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board eds (2019). WHO classification of Tumours 5th Edition. Breast Tumours. Lyon: IARC, 2019.
2. Edge SB, Byrd DR, eds (2010). AJCC cancer staging manual. 7th edition. Springer: New York.
3. Čufer T. Vpliv lastnosti primarnega raka dojk na kraj in čas razsoja pri bolnicah z rakom dojke stadijev I in II. Doktorsko delo. Ljubljana: medicinska fakulteta, 1995.
4. Elston CW, Ellis IO. Assessment of histologic grade. In: Elston CW, Ellis IO, eds. Systemic pathology. 3rd ed. The Breast. Churchill Livingstone: Edinburgh.
5. Weiss JR, Moysich KB, Swede H. Epidemiology of male breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 20:26.
6. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Eswahani S, Lederer B et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol* 2018; 40:50.
7. Wein L, Luen SJ, Savas P, Salgado R and Loi S. Checkpoint blockade in the treatment of breast cancer: current status and future directions. *Br J Cancer* 2018; 4:11.