

Detalus genomo tyrimas diagnozuojant plaučių vėžį

COMPREHENSIVE GENOMIC PROFILING IN DIAGNOSTIC OF LUNG CANCER

SKAIDRIUS MILIAUSKAS
LSMU MA Pulmonologijos klinika

Santrauka. Diagnozuojant plaučių vėžį, būtina morfologiškai patvirtinti diagnozę, įvertinti ligos stadiją. Išplitusio plaučių vėžio gydymas turi būti individualizuotas atsižvelgiant ir į genetinius pokyčius. Detalus genomo tyrimas – tai molekulinis diagnostikos metodas, leidžiantis nustatyti daugines genomo pažaidas žinomuose vėžiniuose genuose ir padėti parinkti atitinkamą vaistą. *FMI FoundationOne*® genomo tyrimo metu nustatomos visų tipų genomo mutacijos, įskaitant bazių porų pakaitas, intarpus ir iškritas, kopijų skaičiaus pokyčius ir tam tikrų genų persitvarkymus: nustatomos mutacijos, susijusios su taikinių terapijos poreikiu; įvertinami klinikiniai žymenys, susiję su atsaku į gydymą skiriant imunoterapiją; pateikiama informacija apie galimus klinikinius tyrimus.

Reikšminiai žodžiai: plaučių vėžys, naujos kartos sekoskaita, detalus genomo tyrimas.

Summary. Diagnosis of lung cancer should be confirmed morphologically and TNM stage must be established. Now systemic treatment of lung cancer should be personalized on the basis on tumor molecular properties, specifically on targeting driver genomic alterations. *FMI FoundationOne*® – comprehensive genomic profiling. It covers all genomic alterations, identifies genomic alterations, highlights their clinical relevance, and provides a quality controlled report to help physicians identify targeted treatment options.

Keywords: lung cancer, next generation sequencing, comprehensive genomic profiling.

IVADAS

Plaučių vėžys yra viena labiausiai paplitusių pasaulyje onkologinių ligų, lemianti didelį mirtingumą. 2012 m. diagnozuota 1,8 milijono naujų plaučių vėžio atvejų, o tai sudaro 12,9 proc. visų vėžio atvejų [1]. 58 proc. visų naujų šios ligos atvejų diagnozuota besivystančiose šalyse [2]. 2008 m. nuo plaučių vėžio mirė 1,375 mln. žmonių: 0,948 mln. vyrų ir 0,427 mln. moterų. Nors vyrų sergamumo ir mirtingumo nuo plaučių vėžio rodikliai daugelyje šalių, išskyrus Azijos, mažėja, moterų mirtingumas nuo šios ligos didėja [3]. Žinoma, kad 90 proc. plaučių vėžio atvejų nulemia rūkymas [4]. Metimas rūkyti – vienintelė veiksminga plaučių vėžio profilaktikos priemonė. Kitų efektyvių priemonių, padedančių sumažinti tikimybę susirgti plaučių vėžiu arba jo išvengti, nėra.

Diagnozuojant plaučių vėžį, būtina morfologiškai patvirtinti diagnozę (nustatyti tikslų histologinį tipą), įvertinti ligos išplitimą (nustatyti TNM stadiją). Taip reikia įvertinti paciento funkcinę bei vidaus organų būklę, esamas gretutines ligas. Mažiausiai 80 proc. atvejų nustatomas nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys [2]. Dar visai neseniai (2000 m.) pakakdavo nustatyti, ar plaučių vėžys yra nesmulkiųjų, ar smulkiųjų ląstelių. Šiuo metu išplitusio plaučių vėžio medikamentinio gydymo parinkimui to nepakanka. Anksčiau daugeliui nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžiu sergančių pacientų

gydymui buvo taikoma tik chemoterapija. Tobulėjant moksliniams tyrimams ir atsirandant naujoms gydymo galimybėms, tapo aišku, kad gydymas turi būti individualizuotas atsižvelgiant ir į genetinius pokyčius [5–9]. Dabar privalomas ir molekulinis genetinis tyrimas, ieškant plaučių vėžį sukeliančių mutacijų.

GENETINIS TYRIMAS, ATLIEKAMAS SERGANTIESIEMS PLAUČIŲ VĖŽIU

Šiuo metu klinikinėje praktikoje, esant plaučių adenokarcinomai, daugelyje šalių nustatomos šios plaučių vėžį sukeliančios mutacijos: endotelio augimo veiksnio receptoriaus (angl. *Epidermal Growth Factor Receptor*, EGFR) geno mutacijos (būna 10–35 proc.), anaplastinės limfomos kinazės (angl. *Anaplastic Lymphoma Receptor Tyrosine Kinase*, ALK) geno translokacijos (3–7 proc.), taip pat ROS 1 onkogeno translokacijos (1 proc.), BRAF geno mutacijos. Nustačius šias mutacijas, esant sisteminio gydymo poreikiui, skiriamas atitinkamas vaistas. Pavyzdžiui, esant aktyvuojančiai EGFR geno mutacijai, rekomenduojamas pirmos eilės gydymas EGFR tirozino kinazės inhibitoriais (erlotinibu, erlotinibu ir bevacizumabu, gefitinibu arba afatinibu). Nustačius rezistentinę EGFR geno mutaciją T790M, rekomenduojamas gydymas osimertinibu (trečios kartos EGFR tirozino kinazių inhibitoriumi), ALK geno translokaciją – gydymas krizotinibu, ceritinibu,

Pulmonologija ir alergologija

alektinibu. Rečiau tiriami RET (angl. *Ret Proto-Oncogene*), ERBB2 (angl. *Erb-b2 Receptor Tyrosine Kinase 2 Gene*), MET (angl. *Mesenchymal-Epithelial Transition Factor*) genai. KRAS (angl. *Kirsten Rat Sarcoma*) mu-

tacijų sukeltam vėžiui (15–25 proc. adenokarcinomų) gydyti šiuo metu patvirtintos taikinių terapijos nėra [10–13]. Esant plaučių adenokarcinomai, plaučių vėžį sukeliančios mutacijos nustatomos 60 proc. atvejų.

FOUNDATION ONE

Roche

Atraskite daugiau gydymo galimybių savo pacientams

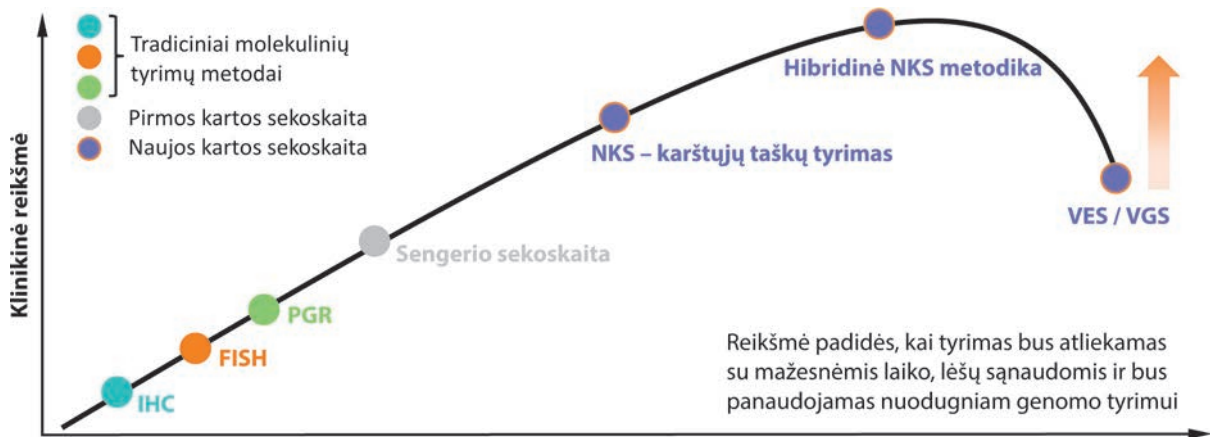
FOUNDATION MEDICINE

FMI FOUNDATIONONE® DETALUS GENOMO TYRIMAS

Genomo tyrimai leidžia aptikti esamus dezoksiribonukleino rūgšties (DNR) pokyčius, kurie skatina naviko augimą [14, 15]. Tyrimų metu gauta informacija ir unikali genomo savybės padeda gydytojams nuspręsti, koks medikamentinio gydymo būdas gali būti tinkamiausias kiekvienam pacientui. Nustatyta šimtai vėžį lemiančių genų, o kiekviename iš jų gali būti ne viena mutacija. Genomo pokyčių skaičius ir jų derinys lemia tai, jog kiekvieno paciento vėžys yra unikalus. Dabar plačiai klinikinėje praktikoje naudojami tradiciniai genominiai vėžio tyrimai nustato tik vieną arba nedidelį skaičių su vėžio atsiradimu susijusių mutacijų arba tik specifinio tipo mutacijas (lentelė) [12, 15]. Naujos kartos sekoskaita (angl. *Next Generation Sequencing*) leidžia atlikti platų molekulinį plaučių vėžio tyrimą. I paveiksle pavaizduota molekulinio vėžio tyrimų metodologijos istorija [16, 18, 19].

Detalus genomo tyrimas (angl. *Comprehensive Genomic Profiling*) – tai molekulinis diagnostikos metodas, leidžiantis nustatyti daugines genomo pažaidas žinomuose vėžiniuose genuose ir padėti parinkti atitinkamą vaistą, naudojant kliniškai validuotą platformą. Paskelbta duomenų, rodančių, kad detalus genomo tyrimas keičia plaučių vėžio gydymo strategiją. Rozenblum su bendraautoriais atliko tyrimą, į kurį įtraukė 101 tiriamąjį, sergantį nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžiu (vidutinis amžius – 63 metai; pasiskirstymas pagal lytį: 53 proc. moterų, 47 proc. vyrų; 45 proc. niekada nerūkė; 85 proc. nustatyta adenokarcinoma) [17]. 51,5 proc. atvejų detalus genomo tyrimas atliktas prieš pirmos eilės gydymą, o kitiems – esant gydymo nesėkmei. 50 proc. tirtų atvejų rastos genomo pažaidos, lėmusios tolesnę gydymo taktiką: 18 proc. EGFR, 9 proc. RET, 8 proc. ALK, 6 proc. MET, 5 proc. ERBB2. 15 tiriamųjų rastos EGFR/ALK mutacijos, nors įprastinių tyrimų metu jos nenustatytos. Gydymo strategija pakito 43 sergantiesiems (42,6 proc.). Bendrasis atsakas į gydymą buvo 65 proc. (pilnas – 14,7 proc., dalinis – 50 proc.).

Atliekant detalų genomo tyrimą, taip pat nustatoma naviko mutacijų našta (angl. *Tumor Mutational Burden*), kuri rodo mutacijų skaičių koduojančioje sekoje vienoje genomo megabazėje. Nustatyta, kad didesnė naviko mutacijų našta



1 pav. Molekulinio vėžio tyrimų metodologijos istorija.

Santrumpos: FISH – fluorescencinė in situ hibridizacija; IHC – imunohistocheminis tyrimas; NKS – naujos kartos sekoskaitos; PGR – polimerazės grandininės reakcijos; RNA – ribonukleino rūkštis; VES – viso egzomo sekoskaita; VGS – viso genomo sekoskaita.

Lentelė. Įprastinių molekulinio tyrimo metodų ir detalus genomo tyrimo palyginimas

Įprastiniai molekuliniai tyrimo metodai IHC / FISH / PGR	Detalus genomo tyrimas
Tiria iš anksto apibrėžtas mutacijas nedideliame genų kiekyje Negali nustatyti visų genomo pažeidimo klasių Reikia daug pakartotinių tyrimų, siekiant nustatyti kliniškai reikšmingas genomo pažeidas	Tiria platų spektrą vėžį sukeliančių genų Nustato daugelį genomo pažeidimo klasių įvairiuose genuose Vieno tyrimo metu ištiria kliniškai reikšmingas genomo pažeidas

Santrumpos: IHC – imunohistochemija (angl. *Imunohistochemistry*), FISH – fluorescencinė in situ hibridizacija (angl. *Fluorescence in situ hybridization*), PGR – polimerazės grandininė reakcija (angl. *Polymerase chain reaction*).

susijusi su geresniu atsaku į imunoterapiją.

FMI FoundationOne® yra patvirtintas detalus genomo tyrimas, kurio metu gaunama informacija apie visą 315 su vėžiu susijusių genų seką bei apie tam tikrus intronus, kurie yra 28 genuose ir kurie dažnai pakinta sergant solidiniais piktybiniais navikais. *FMI FoundationOne*® tyrimo metu nustatomos visų tipų genomo mutacijos, įskaitant bazių porų pakaitas, tarpus ir iškritas, kopijų skaičiaus pokyčius ir tam tikrų genų persitvarkymus (2 pav.), taip pat kliniškai reikšmingos mutacijos, kurios dažnai lemia gydymo parinkimą: 1) nustatomos mutacijos, susijusios su taikinių terapijos poreikiu; 2) įvertinami klinikiniai žymenys, susiję su atsaku skiriant imunoterapiją; 3) pateikiama informacija apie galimus klinikinius tyrimus. Tyrimo jautrumas – 95–99 proc., specifiškumas – 99 proc. Rezultatai pateikiami patogiai išdėstytoje ir suprantama



2 pav. Mutacijų tipai, nustatomi atliekant detalų genomo tyrimą

Genomic Findings Detected	FDA-Approved Therapies (in patient's tumor type)	FDA-Approved Therapies (in another tumor type)	Potential Clinical Trials
Tumor Mutational Burden TMB-Intermediate; 12 Muts/Mb	Atezolizumab Durvalumab Nivolumab Pembrolizumab	Avelumab	Yes, see clinical trials section
ALK G1202R	None	None	Yes, see clinical trials section
CDKN2A p16INK4a loss and p14ARF loss exons 2-3	None	None	None
FRS2 amplification - equivocal	None	None	None
KEAP1 W450*	None	None	None
MCL1 amplification - equivocal	None	None	None
Microsatellite status MS-Stable	None	None	None
SMARCA4 E566*	None	None	None
TET2 E1162*	None	None	None
TP53 S127F	None	None	None

3 pav. *FMI FoundationOne* tyrimo atsakymo pavyzdys

mai parašytoje ataskaitoje, pabrėžiant duomenis apie nustatytas mutacijas, kurios yra svarbios konkrečiam pacientui, taip pat pateikiant informaciją apie taikinių terapijos bei klinikinių tyrimų galimybes, kad pacientas ir gydytojas galėtų priimti sprendimą dėl tolesnių gydymo būdų. 3 pav. pateikiamas atsakymo pavyzdys (pacientui nustatytas IV stadijos adenokarcinoma be įprastiniais molekuliniais tyrimo metodais nustatytų mutacijų). Šiuo konkrečiu atveju galima skirti imunoterapiją.

APIBENDRINIMAS

Naujos kartos sekoskaitos pagrindu atliekamas detalus genomo tyrimas nustato kliniškai reikšmingus genominius pokyčius, kurie gali likti nenustatyti tradiciniais molekuliniais metodais. Platesnis šio tyrimo naudojimas, esant plaučių vėžiui, turi didelę reikšmę priimant klinikinius sprendimus ir parenkant gydymą.

LITERATŪRA

1. **International Agency for Research on Cancer.** GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Available at: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx?cancer=lung (Accessed 08 14 2018).
2. **Pao W, Hutchinson KE.** Chipping away at the lung cancer genome. *Nat Med.* 2012; 6;18(3):349-51.
3. **Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA.** Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin Chest Med.* 2011; 32(4):605-44.
4. **Proctor RN.** The history of the discovery of the cigarette-lung cancer link: evidentiary traditions, corporate denial, global toll. *Tob Control.* 2012; 21(2):87-91.
5. **Shlomi D, Amir O, Gottfried M, Bar J, Biran H, Ilouze M, et al.** Better selection model for EML4-ALK fusion gene test in patients with non-smallcell lung cancer. *J Cancer Ther.* 2013; 4(8A):54-8.
6. **Bar J, Cyjon A, Flex D, Sorotsky H, Biran H, Dudnik J, et al.** EGFR mutation testing practice in advanced non-small cell lung cancer. *Lung.* 2014; 192(5):759-63.
7. **Pekar-Zlotin M, Hirsch FR, Soussan-Gutman L, Ilouze M, Dvir A, Boyle T, et al.** Fluorescence in situ hybridization, immunohistochemistry, and next-generation sequencing for detection of EML4-ALK rearrangement in lung cancer. *Oncologist.* 2015; 20(3):316-22.
8. **Tan DS, Yom SS, Tsao MS, Pass HI, Kelly K, Peled N, et al.** The International Association for the Study of Lung Cancer consensus statement on optimizing management of EGFR mutationpositive non-small cell lung cancer: status in 2016. *J Thorac Oncol.* 2016; 11(7):946-63.
9. **Kris MG, Johnson BE, Berry LD, Kwiatkowski DJ, Iafrate AJ, Wistuba II, et al.** Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA.* 2014; 311(19):1998-2006.
10. **Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, Shaw AT, Solomon B, Maki RG, et al.** Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2010; 363 (18):1693-703.
11. **Paez JG, Jänne PA, Lee JC, Tracy S, Greulich H, Gabriel S, et al.** EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science.* 2004; 304(5676):1497-500.
12. **Naidoo J, Drilon A.** Molecular diagnostic testing in nonsmall cell lung cancer. *Am J Hematol Oncol.* 2014; 10(4):4-11.
13. **Korpanty GJ, Graham DM, Vincent MD, Leighl NB.** Biomarkers that currently affect clinical practice in lung cancer: EGFR, ALK, MET, ROS-1, and KRAS. *Front Oncol.* 2014; 4:204.
14. **Thomas F, Desmedt C, Aftimos P, Awada A.** Impact of tumor sequencing on the use of anticancer drugs. *Curr Opin Oncol.* 2014; 26(3):347-56.
15. **Frampton GM, Fichtenholtz A, Otto GA, Wang K, Downing SR, He J, et al.** Development and validation of a clinical cancer genomic profiling test based on massively parallel DNA sequencing. *Nat Biotechnol.* 2013; 31(11):1023-31.
16. **Dong L, Wang W, Li A, Kansal R, Chen Y, Chen H, et al.** Clinical Next Generation Sequencing for Precision Medicine in Cancer. *Curr Genomics.* 2015; 16 (4):253-63.
17. **Rozenblum AB, Ilouze M, Dudnik E, Dvir A, Soussan-Gutman L, Geva S, et al.** Clinical Impact of Hybrid Capture-Based Next-Generation Sequencing on Changes in Treatment Decisions in Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2017; 12(2):258-68.
18. **Netto GJ, Saad RD, Dysert PA 2nd.** Diagnostic molecular pathology: current techniques and clinical applications, part I. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2003; 16(4):379-83.
19. **Matos LL, Trufelli DC, de Matos MG, da Silva Pinhal MA.** Immunohistochemistry as an important tool in biomarkers detection and clinical practice. *Biomark Insights.* 2010; 5:9-20.