Московская Городская
Онкологическая Больница № 62
ДЕПАРТАМЕНТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ Г. МОСКВЫ

Поиск редких генетических аномалий – потенциальных мишеней для таргетной терапии у пациентов с НМРЛ

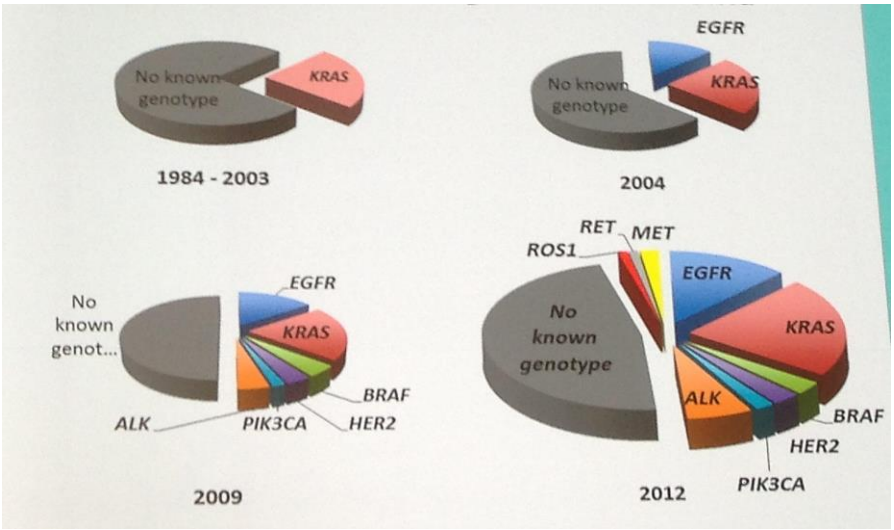
Гикало М.Б., Баринов А.А., Гагарин И.М., Демидова И.А.

Москва 07.04.2017

Немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ) – от исследований к ежедневной практике

- Объект пристального внимания исследователей с 2004г.
- Одна из наиболее полно охарактеризованных онкопатологий в проекте TCGA *(The Cancer Genome Atlas)*
- Исследование минимум 3 генетических маркеров для определения возможности назначения таргетной терапии *(EGFR, ALK, ROS1)*

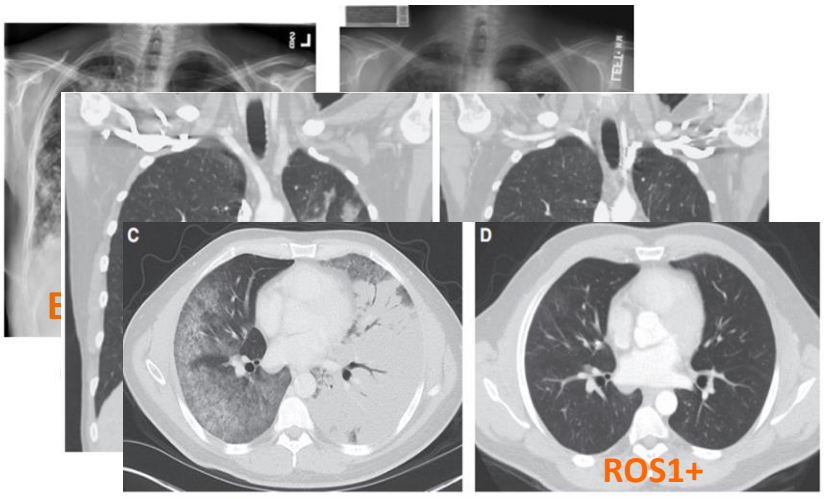
Открытие роли *EGFR* – переломный момент в исследовании НМРЛ



Meyerson M, IASLC 2013

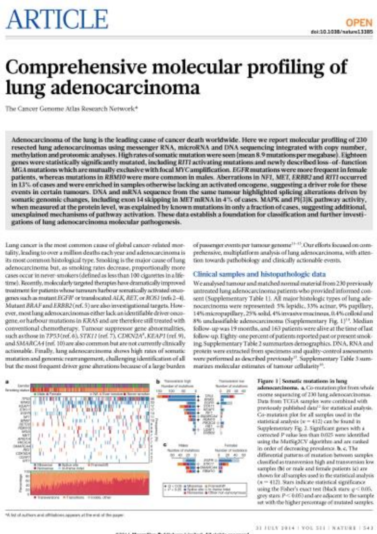
3

Клиническая эффективность таргетной терапии

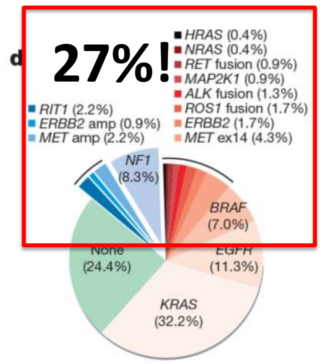


Pao&Miller, 2004; Kwak et al, NEJM 2010; Bergethon K, JCO 2012

4



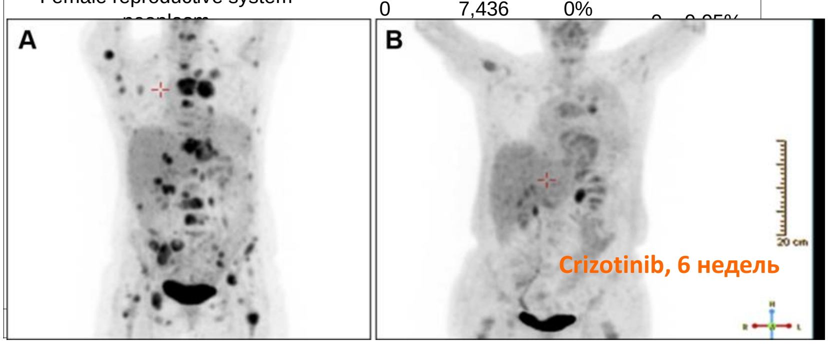
Аденокарцинома лёгкого в проекте TCGA *(The Cancer Genome Atlas , 2014)*



5

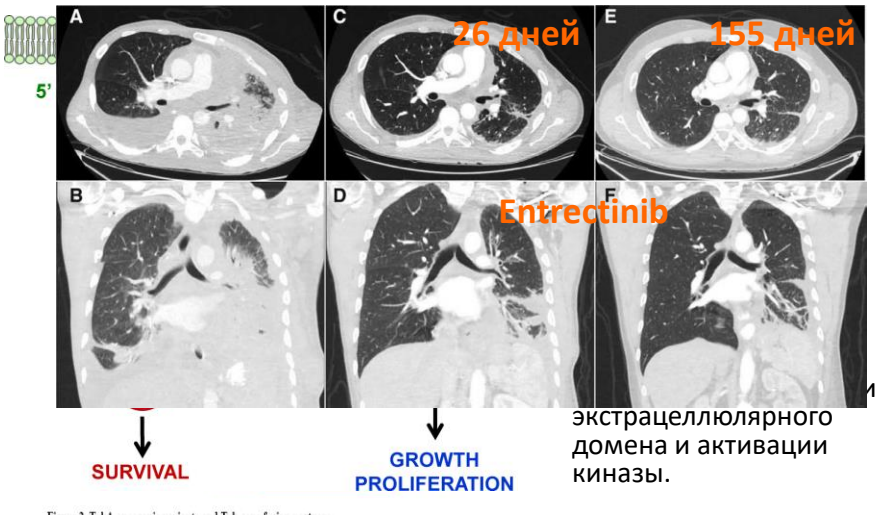
Частота встречаемости мутаций в 14-м экзоне MET

Заболевание	MET exon 14	Всего	Частота	Lower - Upper 95% CI
Аденокарцинома лёгкого	131	4,402	3.0%	2.5 – 3.5%
Другие новообразования в лёгком	62	2,669	2.3%	1.8 – 3.0%
Brain glioma	6	1,708	0.4%	0.1 – 0.8%
Tumors of unknown primary origin	15	3,376	0.4%	0.2 – 0.7%
Female reproductive system neoplasm	0	7,436	0%	0 – 0.05%



Frampton GM al. WLCC 2015

Перестройки NTRK1

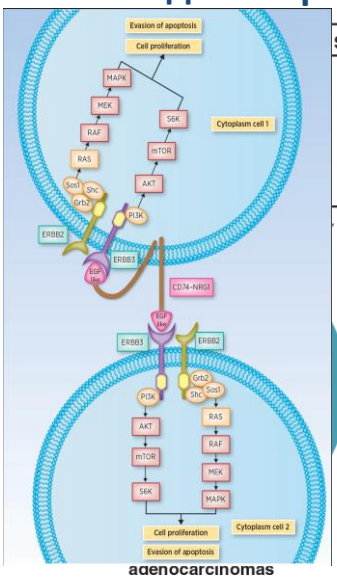


экстрацеллюлярного домена и активации киназы.

Doebele et al. Cancer Discovery 2015

7

NRG1. Инвазивная муцинозная аденокарцинома лёгкого



Stage	Smoking status	AD subtype
Ib	Never	Invasive mucinous
Ia	Never	Invasive mucinous
Ia	Never	Invasive mucinous
Ia	Never	Invasive mucinous
Ia	Never	Invasive mucinous

RET negative

adenocarcinomas

- NRG 1234 – факторы роста, запускающие активацию ERBB2-ERBB3 рецепторов.
- CD74–NRG1, SCL3A2–NRG1 способствуют неконтролируемой пролиферации клеток за счёт активации внутриклеточных сигнальных путей.

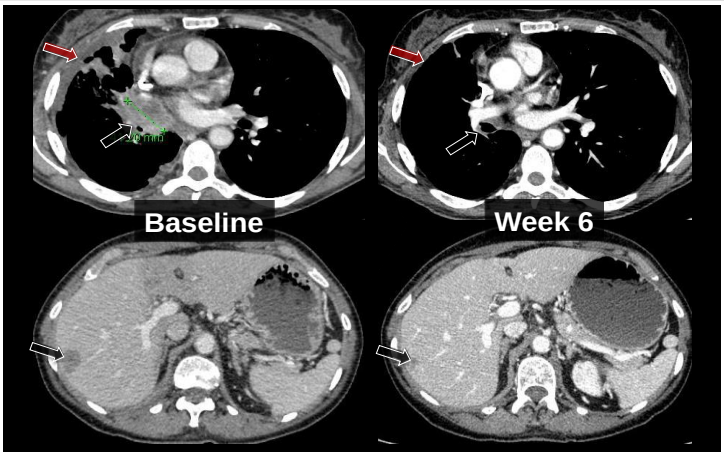
Fernández-Cuesta & Thomas, 2015

8

BRAF при НМРЛ

Carter et al / BRAF Mutation Detection by NGS

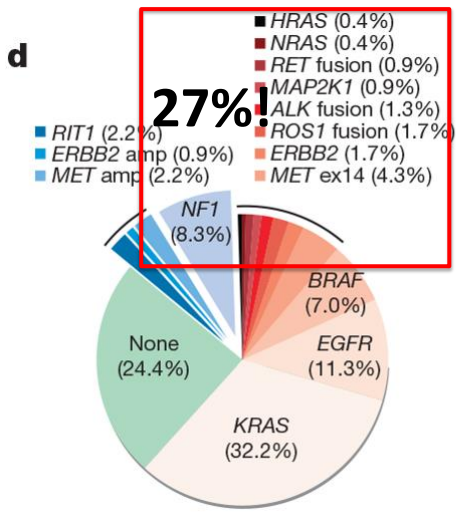
BRAFmut patient treated w Dabrafenib *(trial)*



J Carter et al, AJCP 2015 David M. Hyman et al, NEJM 2015 Courtesy of Roman Thomas and Fabrice Barlesi PLC 2014

9

Аденокарцинома лёгкого *(TCGA , 2014)*



TCGA 2014

Как отыскать иголку в стоге сена быстро и недорого ?

- **Как минимизировать время и затраты на молекулярную диагностику с максимальной пользой для пациента?**

- ПЦР, классическое секвенирование, ИГХ, FISH – недели и десятки тысяч рублей
- Полногеномное секвенирование – RUO, запредельно дорого
- Коммерческие панели – не ориентированы на реальные потребности пользователей
- **Существует острая необходимость разработки custom-панелей для NGS с учётом новых генетических маркеров**

11

Собственные исследования

- **I этап** – поиск редких генетических нарушений в группе пациентов с диагнозом аденокарцинома лёгкого с использованием рутинных методов.

- **II этап** – создание NGS-панели для таргетного ресеквенирования кДНК

12

Алгоритм исследования

- 200 пациентов с диагнозом аденокарцинома лёгкого
- EGFR- и ALK-негативные
- *FFPE и операционный материал*

I этап

- **KRAS ex 2**
- **BRAF ex 11, 15**

ПЦР, Sanger

- **HER2 ex 20**
- **MET ex 14**

FLA

- ***ROS1, RET, MET, NTRK1, NRG1, BRAF***

FISH

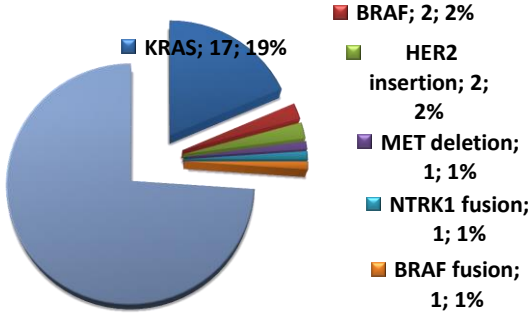
II этап

Создание панели для таргетного ресеквенирования кДНК

13

Предварительные результаты (n=92)

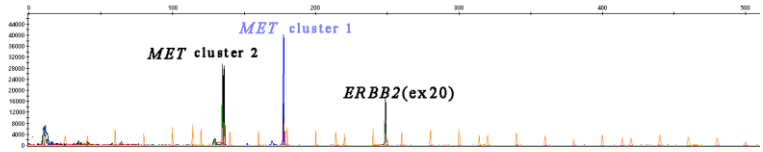
		Мужчины (n=62)	Женщины (n=30)
Возраст	**<60**	18 (29%)	8 (37%)
	≥60	44 (71%)	22 (63%)
Статус курения	**Курящий**	44 (71%)	4 (13%)
	Некурящий	18 (29%)	26 (87%)



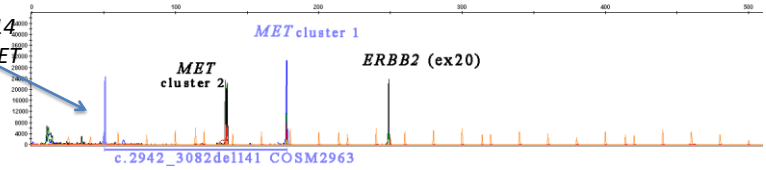
14

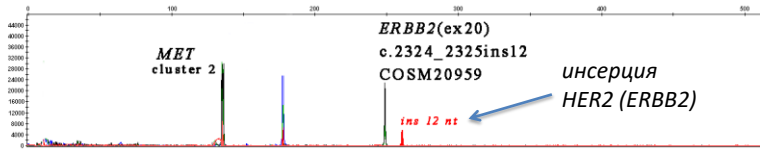
Результаты фрагментного анализа

wt



делеция 14 экзона MET

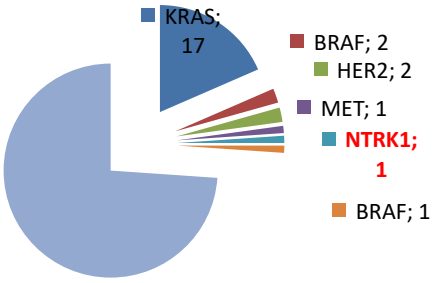


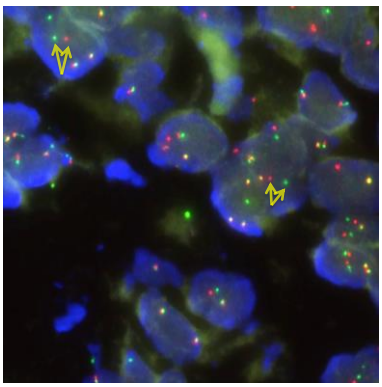


инсерция HER2 (ERBB2)

16

Перестройка NTRK1

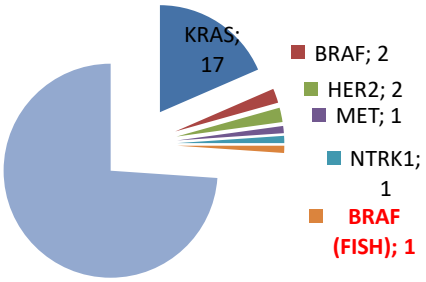


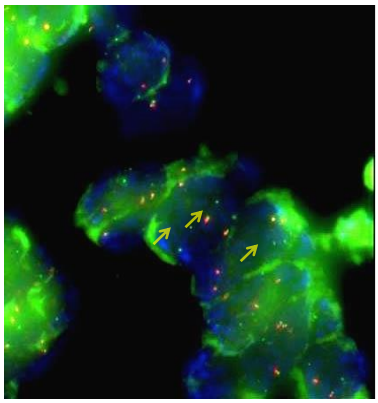


SureFISH NTRK1, Agilent Technologies

17

BRAF single green pattern





SureFISH 7q34 BRAF, Agilent Technologies

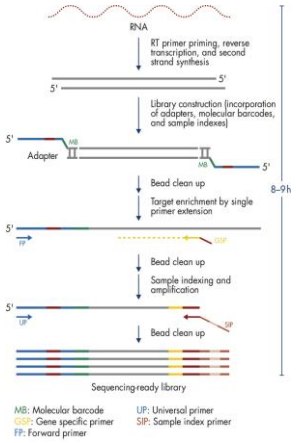
18

II этап исследований.
NGS-панели для таргетного ресеквенирования кДНК

- Состав панели. ALK, ROS1…
- Поиск известных или неизвестных партнёров транслокации?
- Возможность работать с РНК, выделенной из парафиновых блоков.
- Экономическая эффективность

19

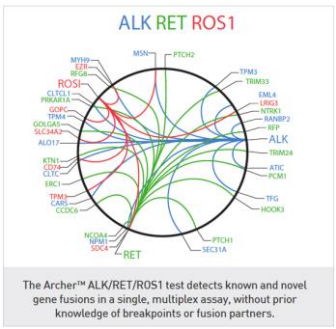
QIAseq Targeted RNA Panel. Human Lung Cancer Panel

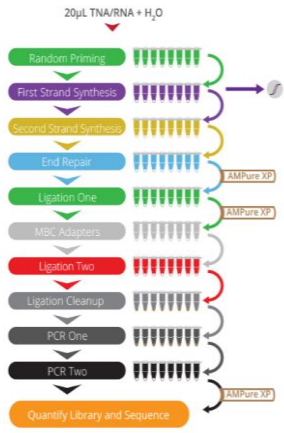


•23 транслокации
•ALK, ROS1, RET, NTRK1, NRG1

20

FusionPlex ALK, RET, ROS1 v2 Kit





Позволяет находить и анализировать неизвестных партнёров транслокации

21

Благодарю за внимание!