

# ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫХ АНТИГЕНОВ ПРИ ПЕРВИЧНОЙ И ДИССЕМИНИРОВАННОЙ МЕЛАНОМЕ КОЖИ

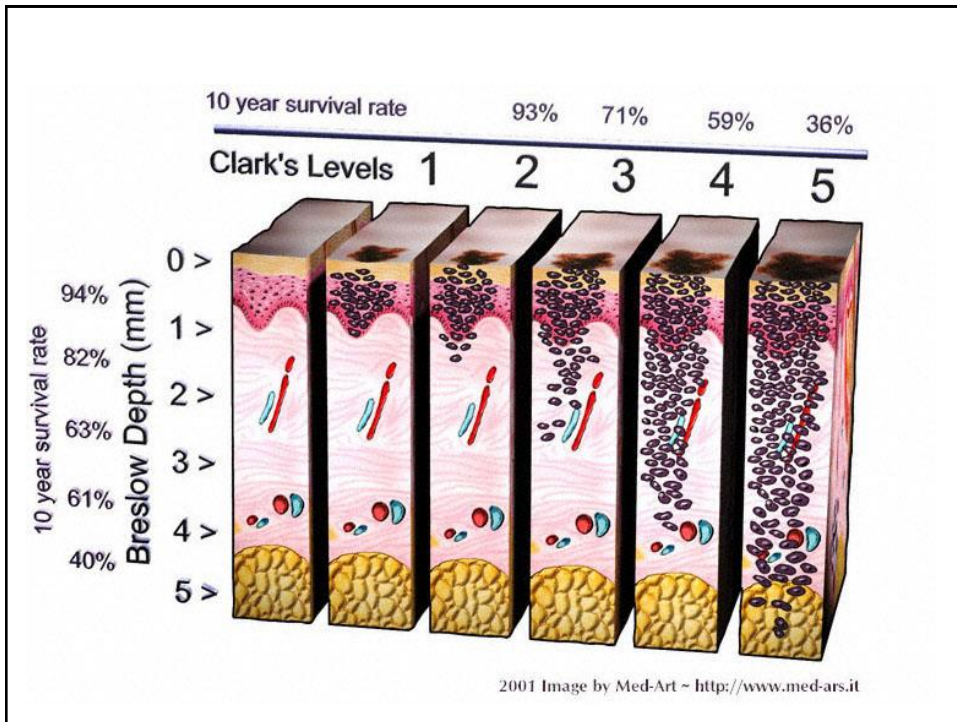
Утяшев И.А.

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»  
Минздрава России  
Москва

## РАКОВО-ТЕСТИКУЛЯРНЫЕ АНТИГЕНЫ (РТА)

- Открыты Thierry Voont и соавт. в 1991 г.
- Более 100 семейств, свыше 150 отдельных генов\*
- Экспрессированы во ВСЕХ злокачественных опухолях (и в некоторых иммуно-привелегированных органах: яички, плацента, головной мозг и др.)
- Функции в клетке неизвестны
- «Универсальные» опухолевые антигены

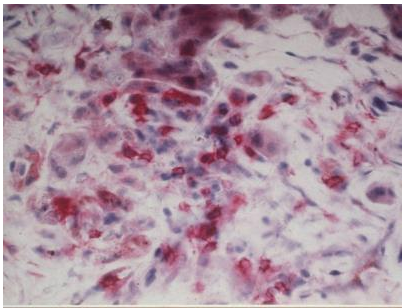
\*<http://www.cta.lncc.br>



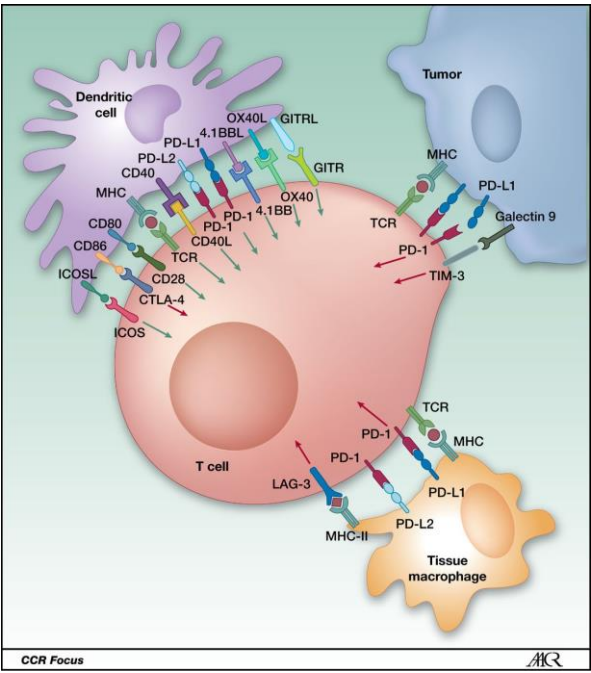
## УСПЕХИ В ЛЕЧЕНИИ мМК

Вариант терапии	Непосредственная эффективность	Долгосрочная эффективность
Химиотерапия	Не более 20-30%	5%
Таргетная терапия	50-70%	48 мес. – 28% (вемурафениб) 24 мес. – 42% (дабрафениб) 36 мес. – 45% (дабра + траме)
Иммуно-онкологическая терапия	21-57.6%	3 года и далее плато до 10 лет – 21% (ипи) 4 года – 32% (ниво) 2 года – 53% (пембро)

# CD8+ цитотоксические лимфоциты



# Регрессия меланомы



## Эффективность иммунотерапии меланомы

Показатель	Ипи N = 4846	Ниво N = 107	Пембро N = 655	Ипи + ниво N = 945
ЧОО	10-19%	31%	34%	57,6%
ПО	2%	10%	10%	12%
Медиана ВБП	2,9 мес	3,7 мес	5,2 мес	11,5 мес
Медиана ОВ	10,1 мес	17,3 мес	24,4 мес	НД
1-летняя ОВ	46%	63%	67%	НД
2-летняя ОВ	24%	48%	50%	НД
3-летняя ОВ	21%	42%	40%	–
5-летняя ОВ	20 %	34%	–	–
10-летняя ОВ	17 %	–	–	–
Медиана ответа	14,4	22,3	28,2	НД

Suzanne L. Topalian et al. Survival, Durable Tumor Remission, and Long-Term Safety in Patients With Advanced Melanoma Receiving Nivolumab doi: 10.1200/JCO.2013.53.0105; Adil Daud et al. Long-term efficacy of pembrolizumab (pembro; MK-3475) in a pooled analysis of 655 patients (pts) with advanced melanoma (MEL) enrolled in KEYNOTE-001. J Clin Oncol 33, 2015 (suppl; abstr 9005); J. Larkin et al. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma N Engl J Med 2015;373:23-34. Long GV, et al. Lancet. 2015;386:444-451; Robert C, et al. ECC 2015 [abstract 3301]; Larkin J, et al. ASCO 2015 [abstract 9006], Atkinson V, SMR 2015; C Robert, et al. J Clin Oncol 34, 2016 (suppl; abstr 9503)

Почему иммунотерапия работает  
не у всех пациентов?

Возможно, это обусловлено низкой  
иммуногенностью опухоли?

## ГИПОТЕЗА

Экспрессия РТА может быть  
связана с прогнозом меланомы  
КОЖИ

## ЦЕЛЬ

Определение прогностического значения  
экспрессии генов РТА при первичной и  
диссеминированной меланоме кожи.

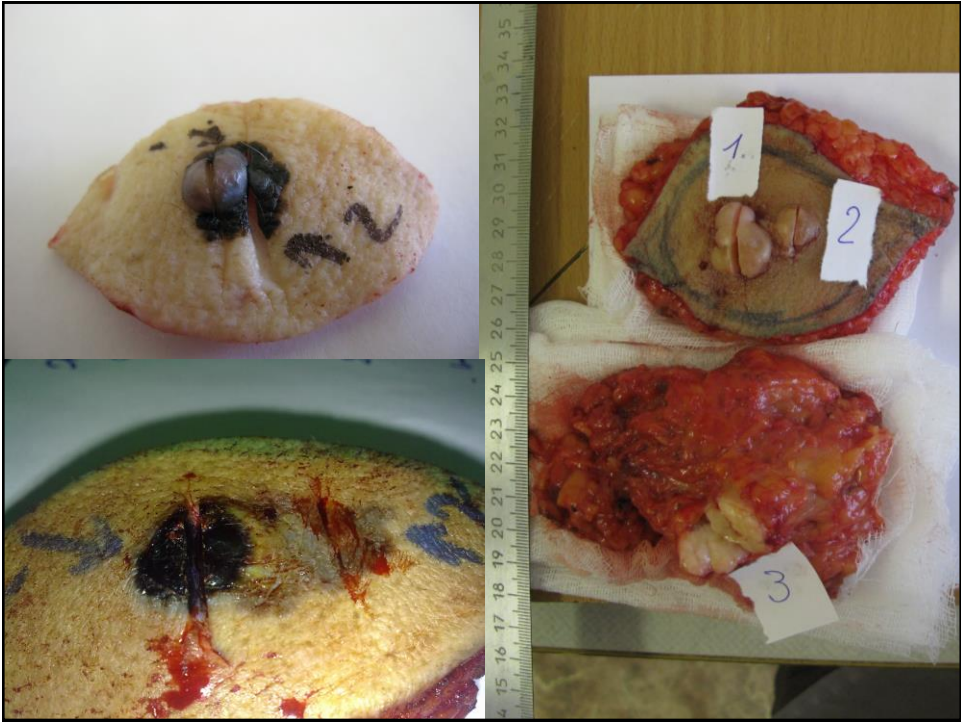
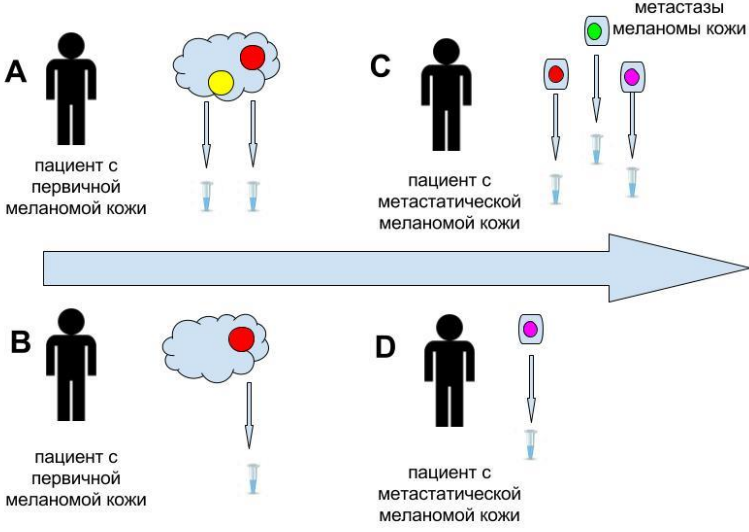
## ЗАДАЧИ

1. Определить профиль экспрессии 12 генов РТА в образцах первичной и метастатической МК.
2. Сравнить профили экспрессии генов РТА в образцах первичной и метастатической МК.
3. Определить гетерогенность экспрессии генов РТА внутри:
  - А) первичной МК,
  - Б) среди разных метастазов одного пациента,
  - В) между первичной МК и метастазами МК у одного и того же пациента.
4. Определить прогностическое значение (влияние на ОВ и БРВ) экспрессии РТА в образцах первичной МК.
5. Определить прогностическое значение (влияние на ОВ) экспрессии РТА в образцах метастазов МК.

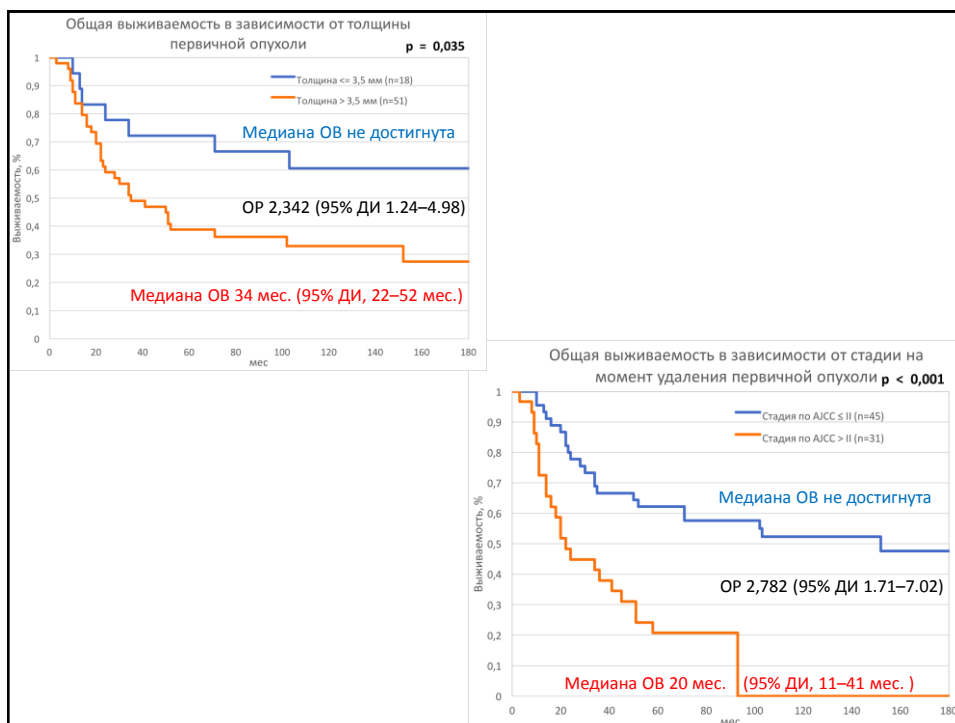
## Материалы и методы

- 145 образцов первичной и метастатической меланомы от 81 пациента:
  - от 59 пациентов с первичной МК взято 65 образцов первичной меланомы кожи (от 6 пациентов – 2 образца первичной МК)
  - от 49 пациентов с метастазами МК взято 80 образцов метастазов меланомы кожи (от 28 пациентов – 1 образец, от 21 пациента по 2 и более образцов мтс)
  - 27 пациентов – первичная МК + мтс МК
- Хирургическое удаление первичной опухоли или мтс – 65 образцов
- ТАБ мтс в л/у – 23 образца
- Медиана наблюдения 58 мес.

# Материалы и методы

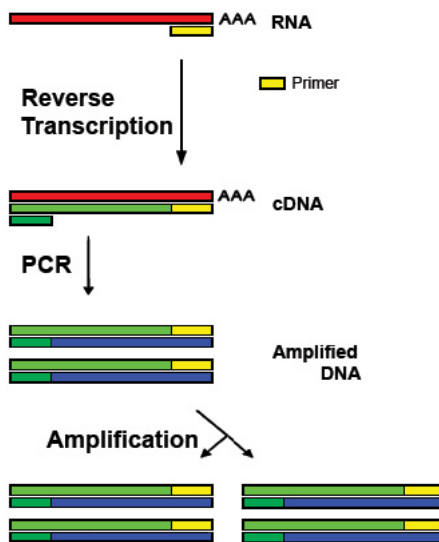


	ПЕРВИЧНАЯ МК (N=59)	МЕТАСТАТИЧЕСКАЯ МК (N=49)
ПОЛ	М 27 (46%) Ж 32 (54)	М 22 (45%) Ж 27 (55%)
ВОЗРАСТ (95% ДИ)	Средн. 52,4 (48,3–56,5) Мин. 15 Макс. 83 Медиана 50,0 лет	Средн. 51,4 (47,7–55,0) Мин. 23 Макс. 82 Медиана 50,0 лет
ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПЕРВ	ГПШ 2 (3%) Тулов. 24 (41%) Верх./Нижн. Кон. 26 (44%) Акрал. 7 (12%)	ГПШ 2 (4,1%) Тулов. 24 (49,0%) Верх./Нижн. Кон. 16 (32,7%) Акрал. 5 (10,2%) Невыявлен. (без ВПО) 2 (4,1%)
ТОЛЩИНА (95% ДИ)	Средн. 8,4 мм (6,9–9,9) Мин. 0,6 мм Макс. 25 мм медиана 7,0 мм	Средн. 7,1 мм (5,6–8,5) Мин. 0,6 мм Макс. 21 мм медиана 6,0 мм
ИЗЪЯВЛЕНИЕ	Есть 46 (78%) Нет 10 (17%) Неизвестно 3 (5%)	Есть 30 (61%) Нет 9 (18%) Неизвестно 10 (20%)
СТАДИЯ	in situ-0 (0%) IA-1 (1,7%) IB-3 (5,1%) IIA-1 (1,7%) IIB-9 (15,5%) IIC-21 (35,6%) IIIA-0 (0%) IIIB-4 (6,8%) IIC-18 (30,5%) IV-1 (1,7%) нет данных 1 (1,7%)	in situ-0 (0%) IA-1 (2,0%) IB-1 (2,0%) IIA-3 (6,1%) IIB-3 (6,1%) IIC-12 (24,5%) IIIA-0 (0%) IIIB-4 (8,2%) IIC-16 (32,7%) IV-4 (8,2%) нет данных 5 (10,2%)
АДЬЮВАНТН	Не было 40 (49%) ИФН-альфа 2b 28 (35%) Химиотерапия 8 (10%), Вакцина 2 (2%) Нет данных 3 (4%)	Не было 18 (37%) ИФН-альфа 2b 24 (49%) Химиотерапия 4 (8%), Вакцина 2 (4%) Нет данных 1 (2%)
ЛОКАЛИЗАЦИЯ МТС		Сателлит 1 (2%) Рецидив 2 (4%) Метастаз в л/у 40 (82%) Мтс в мягкие ткани 6 (12%)





## ОБРАТНО-ТРАНСКРИПТАЗНАЯ ПЦР



АМЛИКОН	ГЕНТЫ	ТИП ПРАЙМЕРА	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ НУКЛЕОТИДОВ В ПРАЙМЕРЕ 5' - 3'	РАЗМЕР АМЛИКОНА
GAPDH	Глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа	справый	ACСАСАСГСАТСССАТАС	452
		обратный	ТССАССАСССГТГТГТГА	
S100B	Кальций-связывающий белок S100	справый	AGСССССАТGGССТГТГАС	257
		обратный	ССАГСГСГВАССГТАССВGG	
		справый	АТТ СТG GAA GGG AGG GAG AC	206
		обратный	СGT GGC AGG CAG TAG TAA CC	
TYR	Тирозиназа	справый	AGCTTCAGGCAGAGTTCCTC	290
		обратный	GGTATGCTTTGCTAAGTGAAGTGG	
		справый	АТТ GAT TTT GCC CAT GAA GC	286
		обратный	GGC GTT CCA TGG CAT AAA GA	
MLANA	Melan-A = Mart 1	справый	GCTCATCCGCTTGTGAT	190
		обратный	АТАAGCAAGTGGAGCAATGG	
		справый	ААGATGCTCACTCACTAТGТТАСС	363
		обратный	GGTGTCTCCCTGGCTTAAAGGTG	
MG-A3	MAGEA2, MAGEA3, MAGE A6, MAGE A12	справый	СССАТАССАТАТАСТАСССТС	223
		обратный	ААТАСГССААТТТСВAGAGACTC	
		справый	GTTCСССГВАСAGAGTCAТ	746
		обратный	GGGATCCСССАGATACGT	
BAGE	BAGE	справый	GCCAAТTAAAGGTCСGGGATCTC	211
		обратный	TCGGCCGССАТТАСТGСТСС	
CTAG1B	NY-ESO-1 = CTAG1A, CTAG1B, CTAG2	справый	CTCTCATGAGTCCCTGCTC	209
		обратный	CTCTTCAGGCAАААСААТ	
GAGE 1-8	GAGE1, GAGE 2, GAGE 4, GAGE 5, GAGE 6, GAGE 7, GAGE 8	справый	GGCCTAGACCАAGAGCGTACGTAG	212
		обратный	GTGACCCTGTCTGGCTATCAGC	
GAGE 4-7	GAGE4, GAGE5, GAGE6, GAGE7	справый	GGCCTAGACCАAGGCGTATGATC	212
		обратный	GTGACCCTGTCTGGCTATCAGC	
MAGEA1	MAGEA1	справый	GGGCCAAGACCCTGTGATACCTG	212
		обратный	ATGCCAAGACCAGTGCАAGGAC	
MAGEA10	MAGEA10	справый	GTTTAGTGAAGCCTCGAGTGCATG	192
		обратный	TAGCCCTTAGAAGATTAТGCTTAGG	
MAGEA4	MAGEA4	справый	TTCCTGВACTTCGGCAAGCCTC	204
		обратный	TGTCCCTCCATGCAATGTGCC	
		справый	ТАAGTTCATACCCАAGACTGGTGC	
MAGEB1	MAGEB1	справый	ААСАAGTGAACAATTCCTGAGTTC	346
		обратный	AGTGGACCCTGATGACTCTAТGTC	
MAGEC1	MAGEC1	справый	CCGGTACTAGGTAATGTCTCCGC	271
		обратный	GAATGTCTGGGAGTTCAT	
		справый	GTCTGGCCAGCTCAAT	
MG-A12-236	MAGE A2, MAGE A3, MAGE A6, MAGEA12,	справый	ТССАAGGGCCCTATGAAACCAG	197
		обратный	GGATGGGCTATATACACAGAG	
MG-A2	MAGEA2, MAGEA3, MAGEA6, MAGEA12	справый	ТССАAGGGCCCTATGAAACCAG	233
		обратный	GGATGGGCTATATACACAGAG	

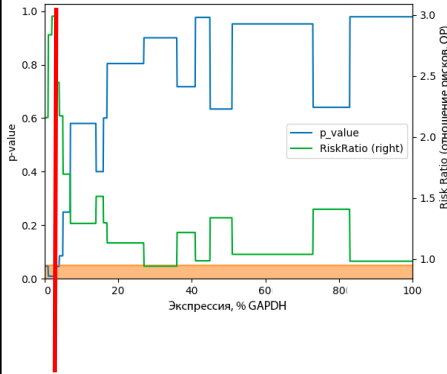
## ПАРАМЕТРИЧЕСКАЯ ОПТИМИЗАЦИЯ ЧИСЛЕННЫМИ МЕТОДАМИ

Вычисление уровня экспрессии РТА, при котором ОР максимально и р - достоверно

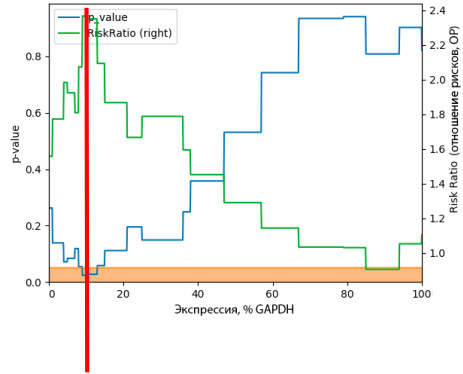
GAGE-1-8	<= 2,6 % (n=31) > 2,6 % (n=22)	3,454	1,624-7,345	0,004
----------	-----------------------------------	-------	-------------	-------

MG-A12-236	<= 9,5 % (n=25) > 9,5 % (n=28)	2,367	1,088-5,146	0,023
------------	-----------------------------------	-------	-------------	-------

Отношение рисков (ОР) и значение р в зависимости от экспрессии GAGE-1-8

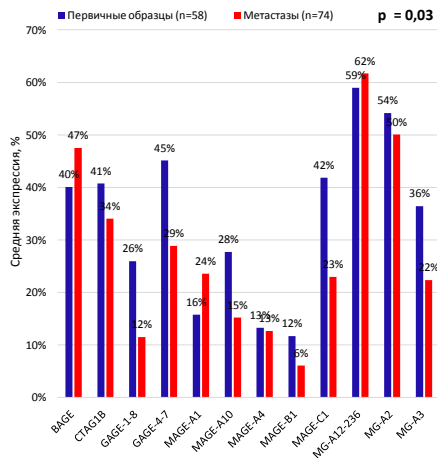


Отношение рисков (ОР) и значение р в зависимости от экспрессии MG-A12-236

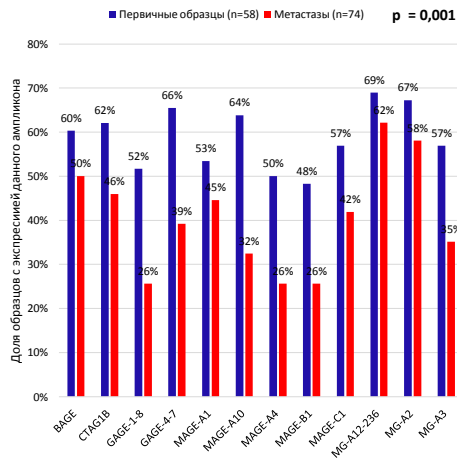


## Гетерогенность экспрессии генов РТА первичная МК vs метастатическая МК

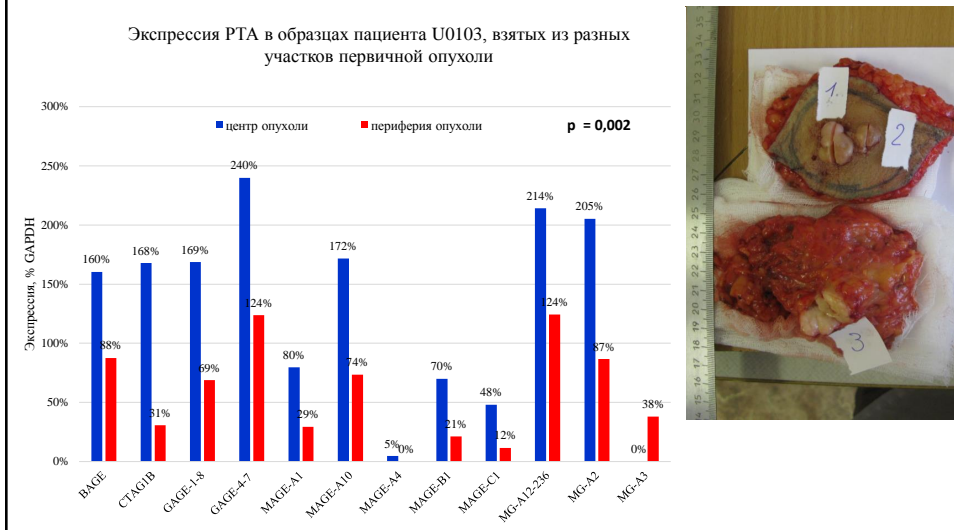
Средняя экспрессия ампликонов РТА в образцах первичной и метастатической МК (количественный анализ)



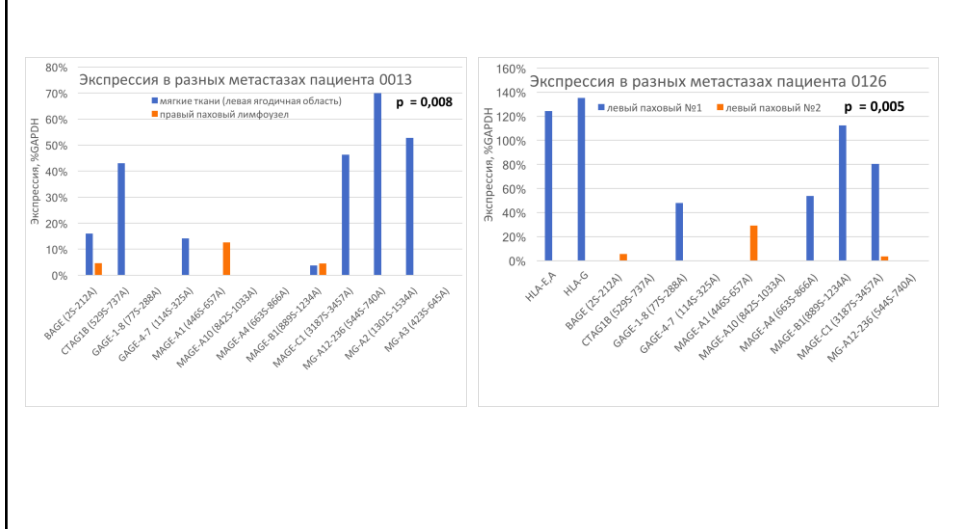
Экспрессия ампликонов РТА в образцах первичной и метастатической МК (качественный анализ)



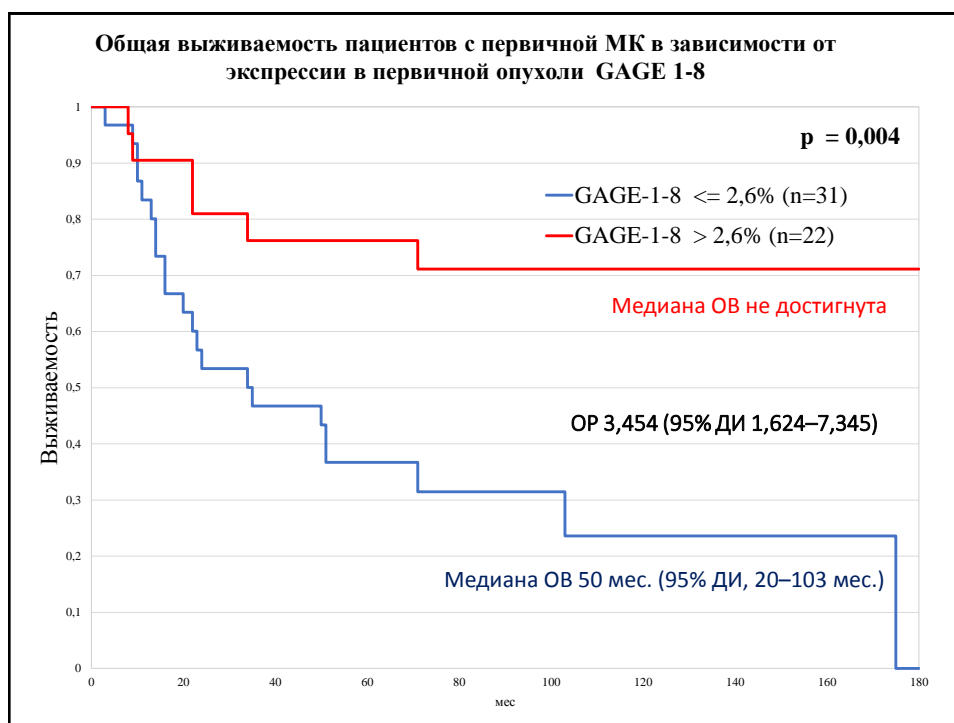
# Гетерогенность экспрессии генов РТА в первичной МК

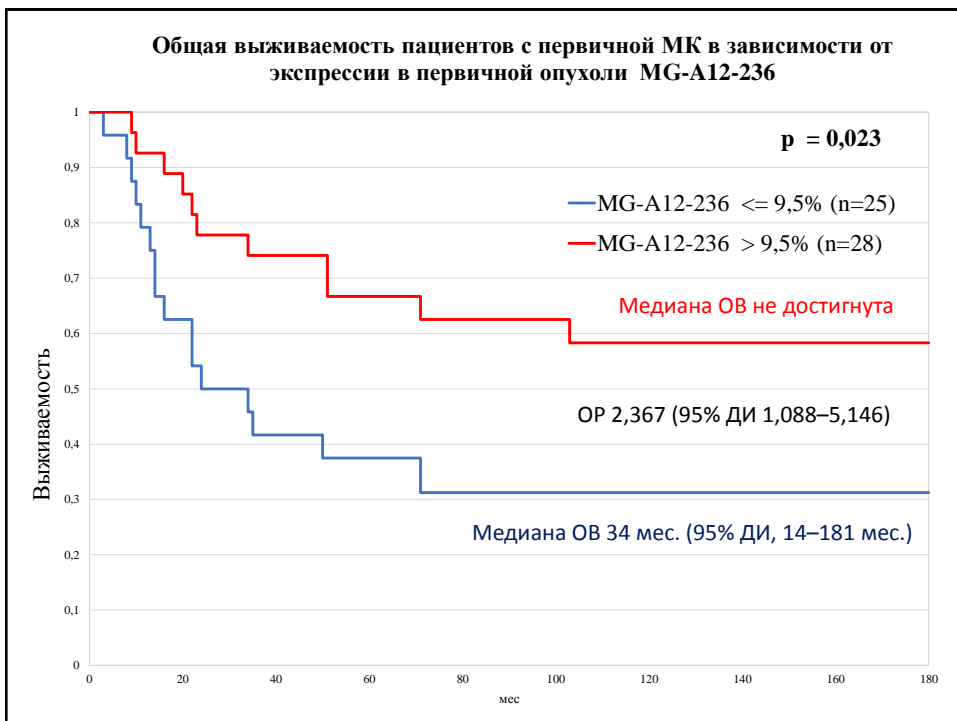
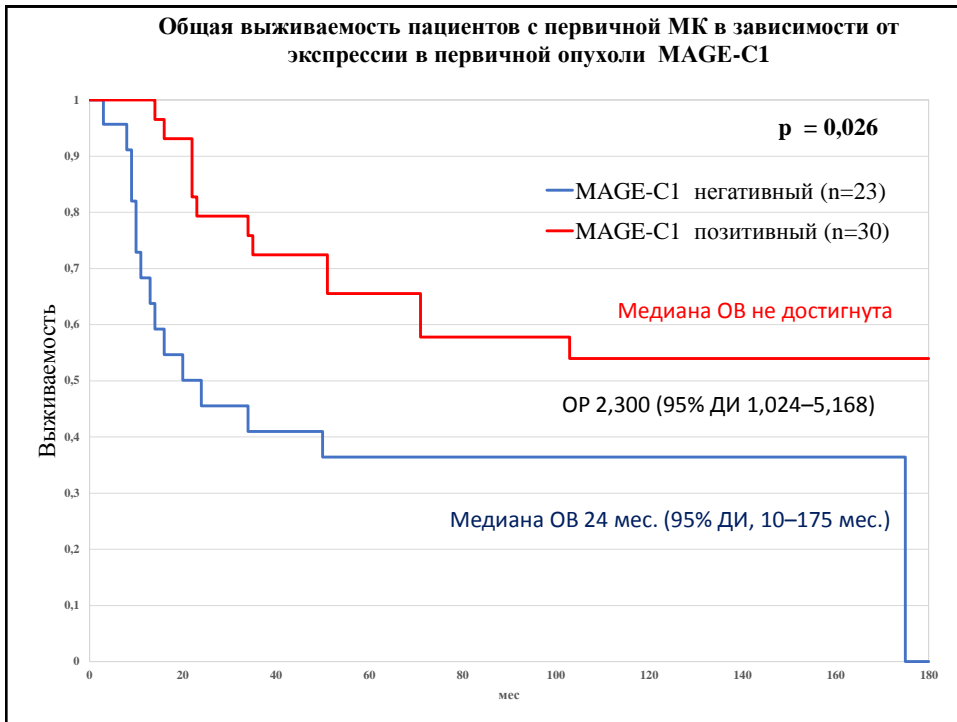


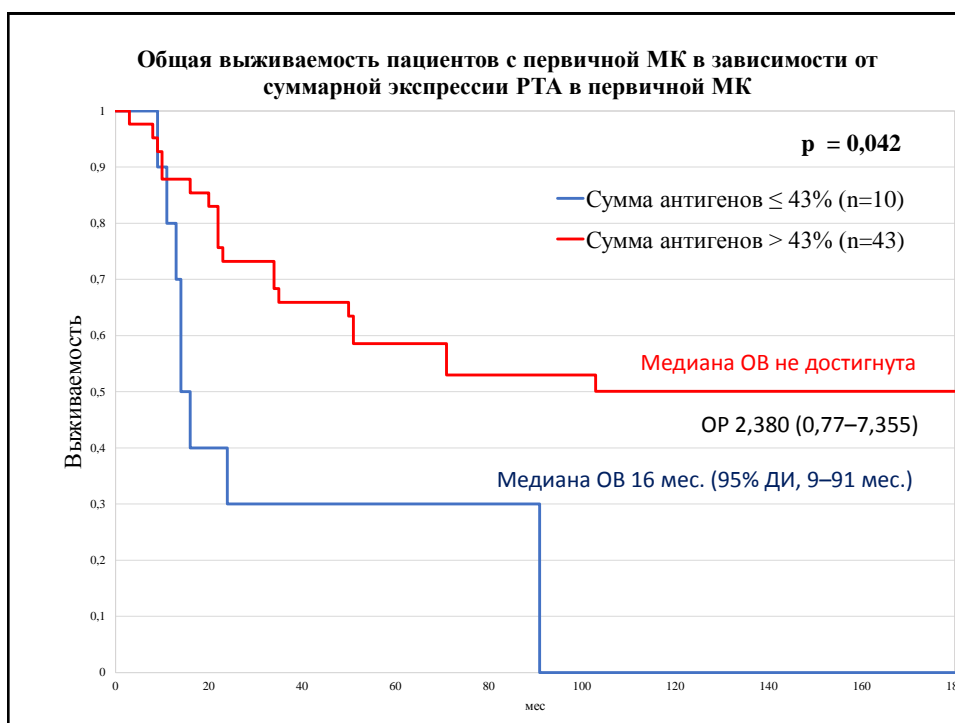
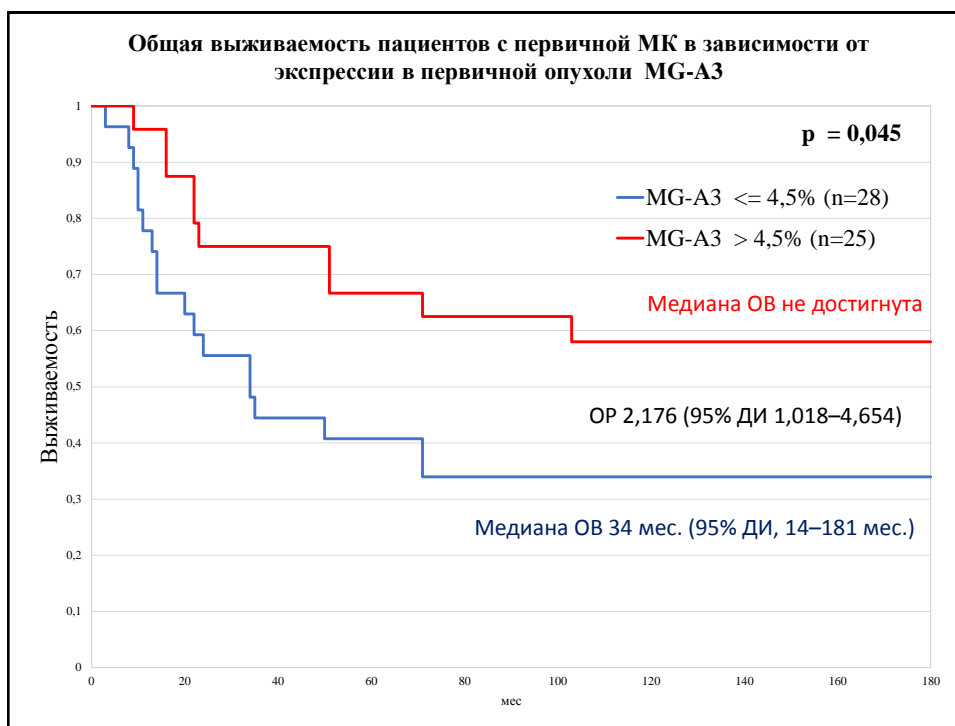
# Гетерогенность экспрессии генов РТА в метастазах МК

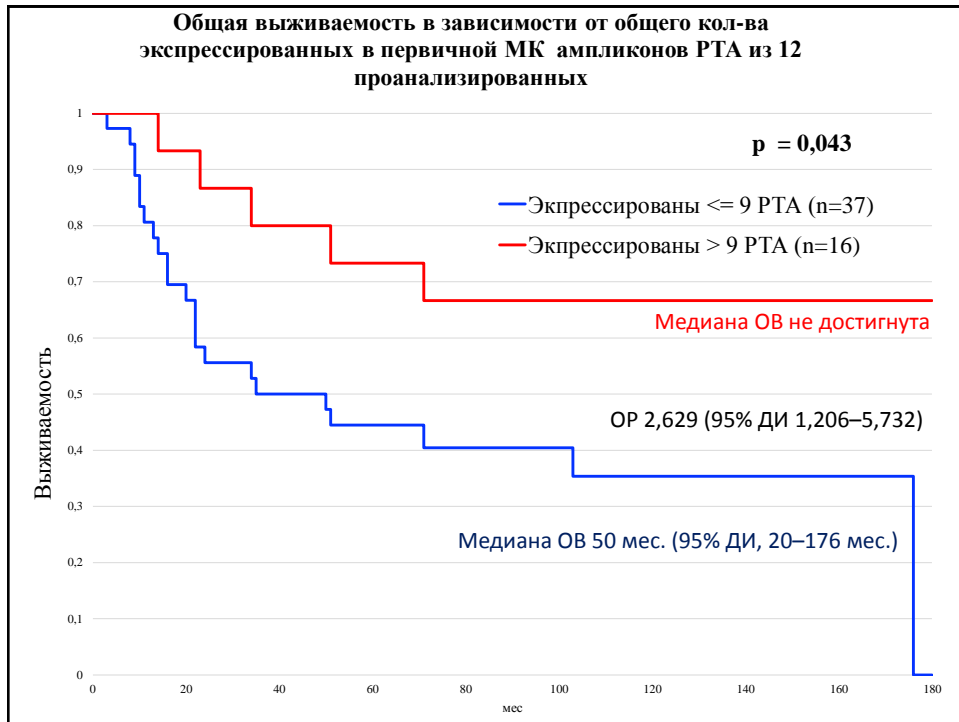


## Влияние экспрессии РТА в первичной МК на ОВ

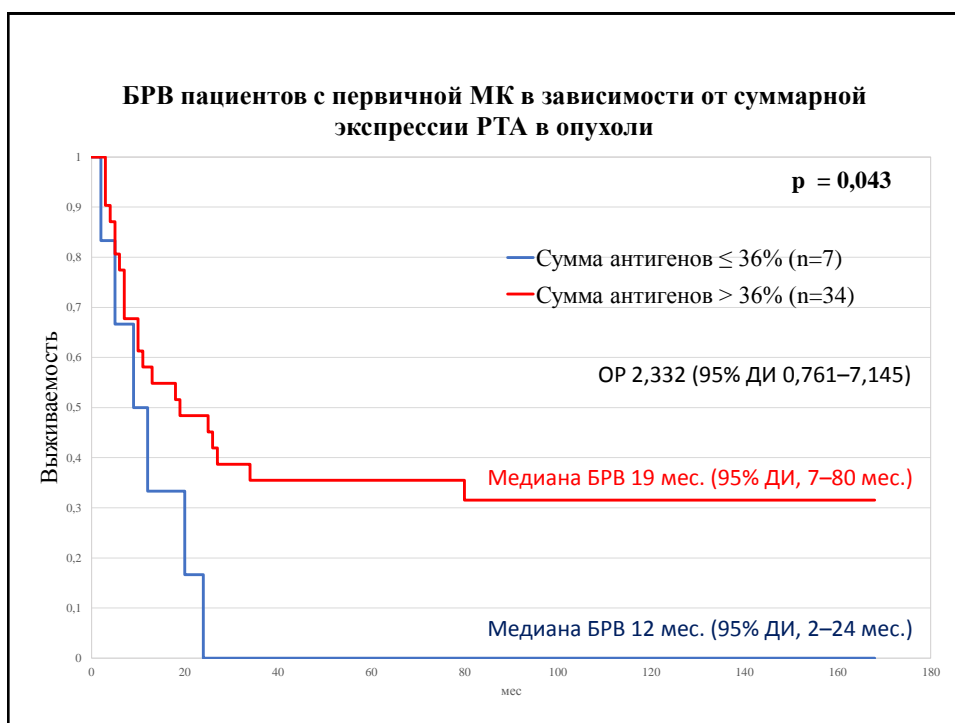
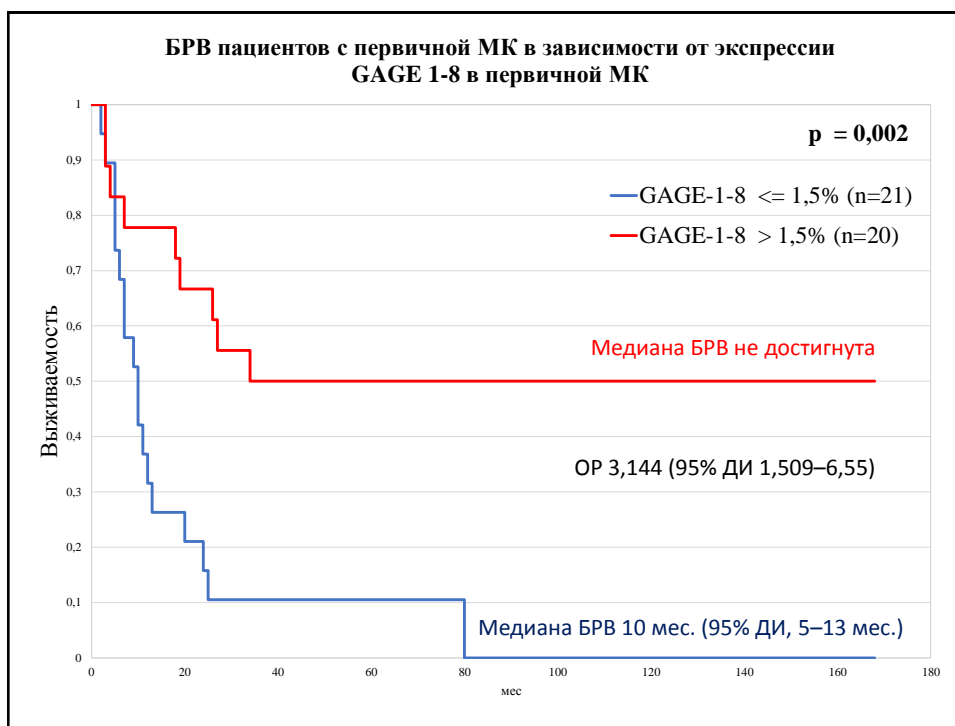






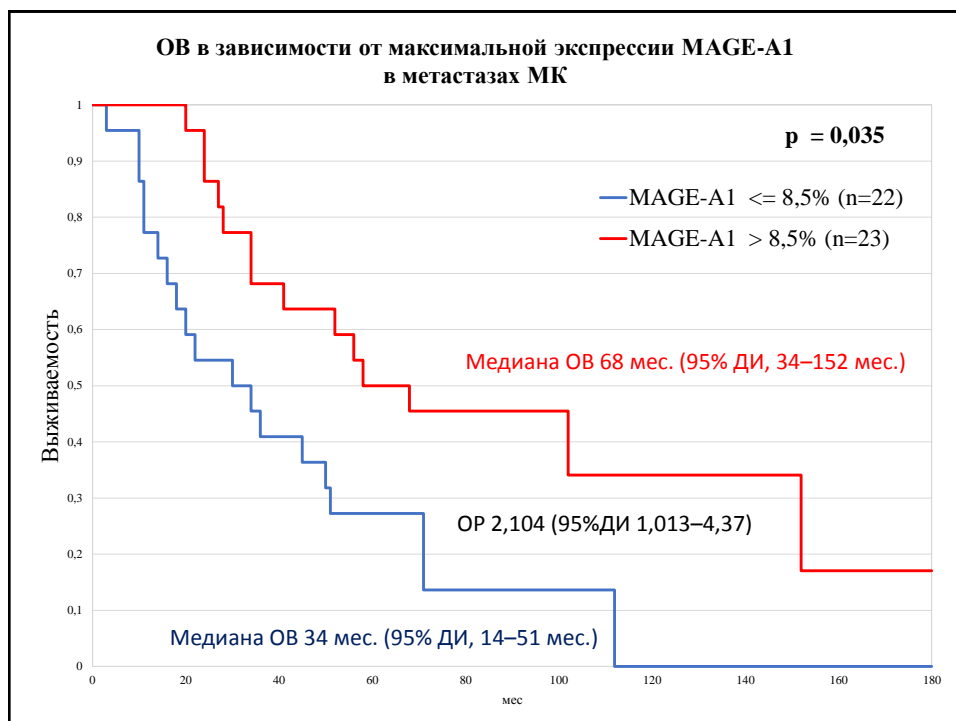


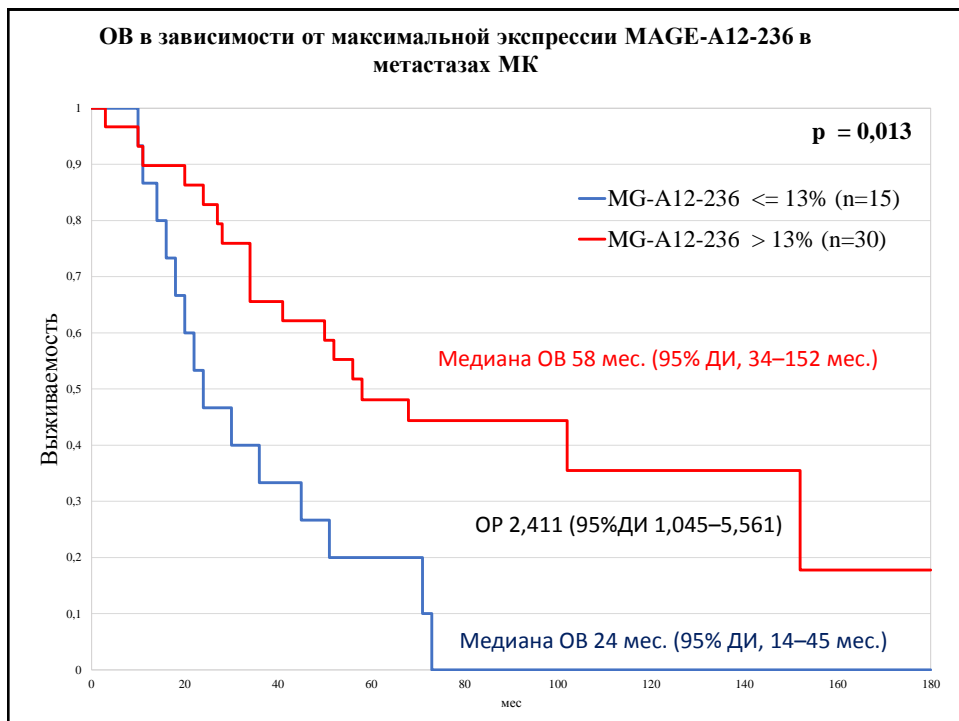
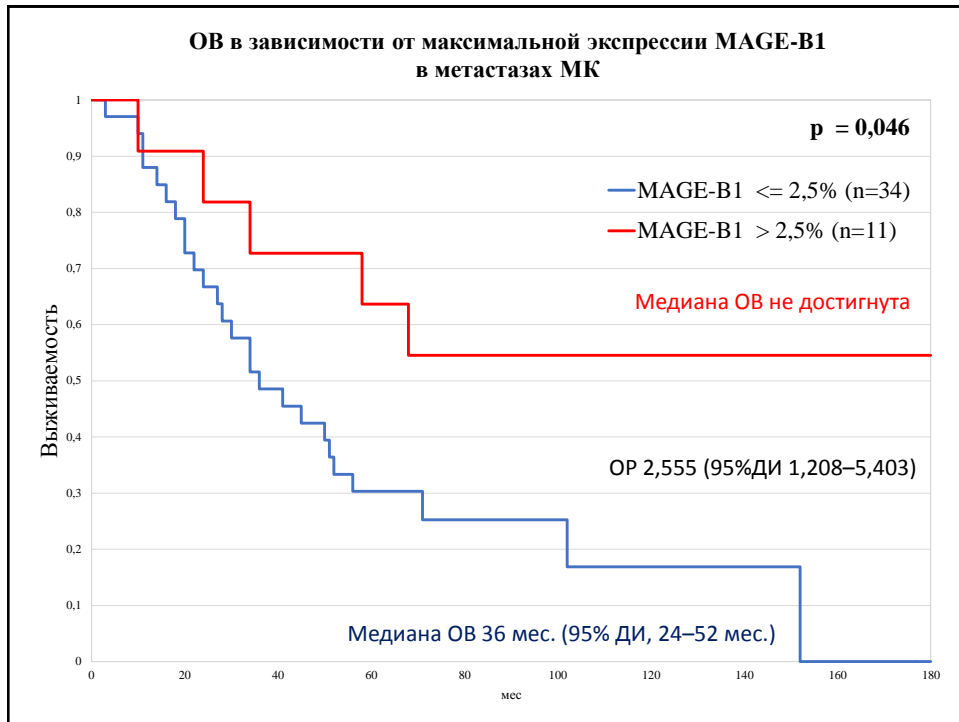
**Влияние экспрессии РТА в  
первичной МК на БРВ**

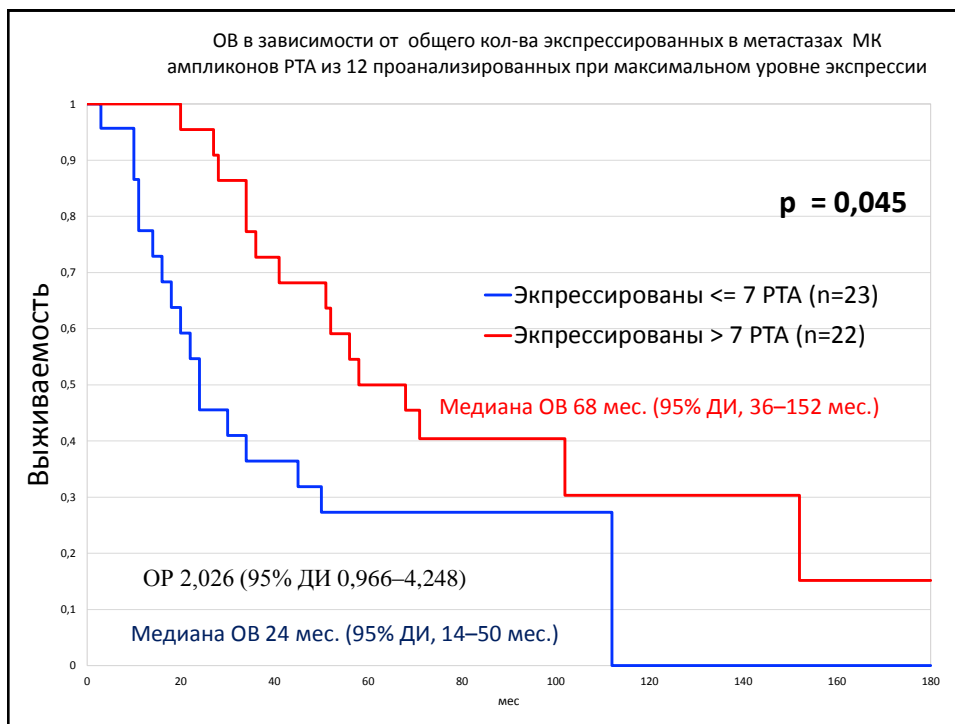




## Влияние экспрессии РТА в метастазах МК на ОВ







## ВЫВОДЫ

1. Экспрессия генов раково-тестикулярных антигенов выявлена в 69% образцов первичной и 58% образцов метастатической меланомы кожи.
2. Экспрессия генов раково-тестикулярных антигенов в образцах первичной и метастатической меланомы кожи характеризуется выраженной гетерогенностью, при этом наблюдается общая закономерность в уменьшении экспрессии генов раково-тестикулярных антигенов в образцах метастазов меланомы кожи по сравнению с их экспрессией в образцах первичной меланомы кожи.
3. Увеличение в образцах первичной меланомы кожи экспрессии ампликонов GAGE-1-8 (на количественном и качественном уровне), MAGE-C1 (на количественном и качественном уровне), MAGE-A12-236 (на количественном уровне), MAGE-A3 (на количественном уровне), а также увеличение суммарной экспрессии всех 12 ампликонов раково-тестикулярных антигенов (на количественном уровне) и увеличение экспрессии общего количества ампликонов раково-тестикулярных антигенов из 12 проанализированных (на качественном уровне) связано с достоверным увеличением общей выживаемости у пациентов с первичной меланомой кожи.

## ВЫВОДЫ

4. Увеличение в образцах первичной меланомы кожи экспрессии ампликона GAGE-1-8 (на количественном и качественном уровне) и увеличение суммарной экспрессии всех 12 ампликонов раково-тестикулярных антигенов (на количественном уровне) связано с достоверным увеличением безрецидивной выживаемости у пациентов с первичной меланомой кожи.
5. Уменьшение в образцах первичной меланомы кожи экспрессии ампликонов MAGE-A10, MAGE-A4, MAGE-B1 (на количественном уровне) связано с достоверным увеличением безрецидивной выживаемости у пациентов с первичной меланомой кожи.
6. Уменьшение экспрессии ампликона MG-A2 в образцах метастазов меланомы кожи на количественном уровне связано с достоверным увеличением общей выживаемости у пациентов с метастатической меланомой кожи.
7. Увеличение в образцах метастазов меланомы кожи экспрессии ампликонов MAGE-A1 (на количественном уровне), MAGE-B1 (на количественном уровне), MG-A12-236 (на количественном уровне) а также увеличение суммарной экспрессии всех 12 ампликонов раково-тестикулярных антигенов (на количественном уровне) и увеличение экспрессии общего количества ампликонов раково-тестикулярных антигенов из 12 проанализированных (на качественном уровне) связано с достоверным увеличением общей выживаемости у пациентов с метастатической меланомой кожи.

## ВЫВОДЫ

	Образцы первичной МК				Образцы метастазов МК Влияние на ОВ			
	Влияние на ОВ		Влияние на БРВ		Минимальный уровень экспрессии если доступно несколько метастазов		Максимальный уровень экспрессии если доступно несколько метастазов	
Ампликон	Количественно	Качественно	Количественно	Качественно	Количественно	Качественно	Количественно	Качественно
BAGE								
CTAG1B								
GAGE-1-8								
GAGE-4-7								
MAGE-A1								
MAGE-A10								
MAGE-A4								
MAGE-B1								
MAGE-C1								
MG-A12-236								
MG-A2								
MG-A3								
Сумма всех РТА								
	прямая корреляция (достоверно, $p < 0,05$ )							
	обратная корреляция (достоверно, $p < 0,05$ )							

**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**

Dr.Utyashev@gmail.com

+ 7 926 589 42 52