

Génfúziók vizsgálata- Tumoragnosztikus terápiák Tóth Erika

A tumoragnosztikus terápia egy újabb lépcsőfok a személyre szabott terápiában. Olyan kezelési mód, ami a daganat kiindulási helyétől függetlenül bármilyen daganattípusban használható, specifikus molekuláris eltérés alapján.

A tumoragnosztikus kezelés hatásosságának vizsgálatára alkalmas speciális klinikai vizsgálat az ún. “basket trial”, amely elrendezésben gyógyszerek hatékonyságát vizsgálják azonos molekuláris eltéréseket tartalmazó, eltérő szövettani típusú daganatok esetén. A vizsgálaton belül a “basket” az azonos molekuláris eltérést mutató azonos tumor, pl. NTRK fúzió pozitív tüdő adenocarcinoma. Az ilyen típusú klinikai vizsgálat alkalmas a relatíve ritka genetikai eltéréseket mutató daganatok, illetve ritka daganatok vizsgálatára, ahol klasszikus klinikai vizsgálatok szervezésére az alacsony esetszám miatt nincs lehetőség.

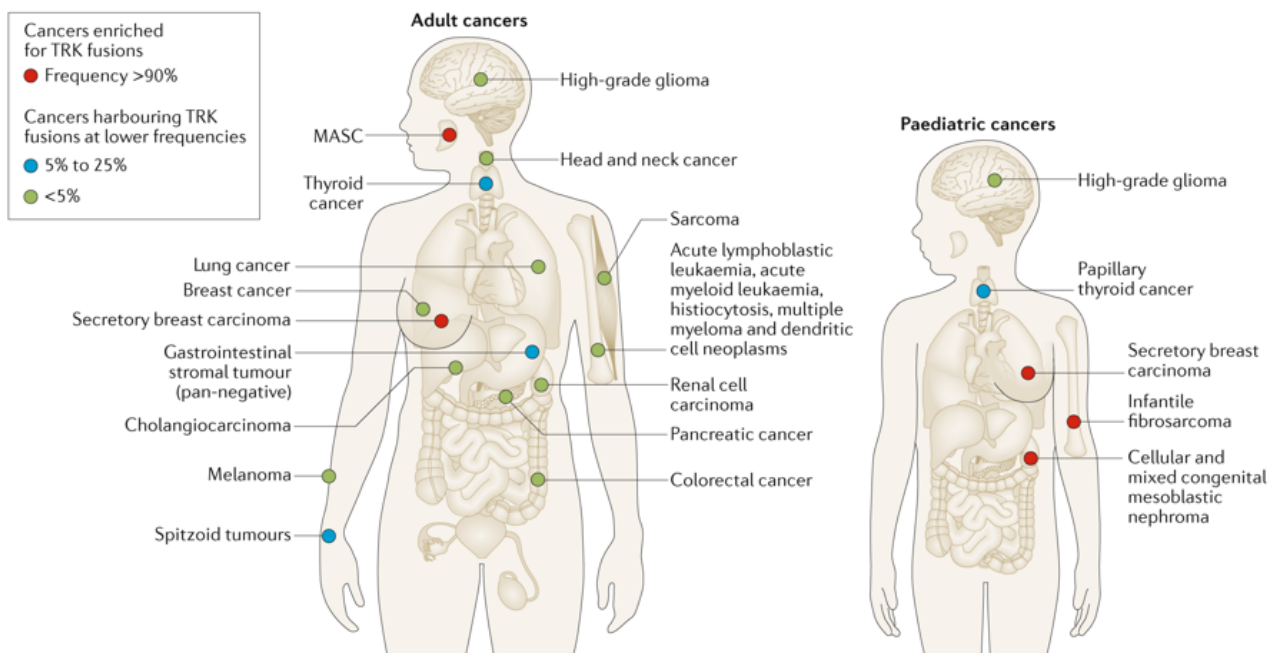
Fontos ugyanakkor kiemelni, hogy a tumoragnosztikus terápiák is csak a daganat pontos szövettani típusának és a klinikai kép ismeretében alkalmazhatók. Az agnosztikus terápia esetén nem a biomarker megléte jelenti a kezelés indikációját, hanem kezelési indikáció fennállta esetén áll rendelkezésre egy prediktív biomarker. A genomikai tesztek indikálásához megfelelő szövettani diagnózis és klinikai paraméterek szükségesek. Önmagában a molekuláris eredmény nem jelent kezelési megoldást. Ugyanakkor az agnosztikus megközelítés jelentősége megkérdőjelezhetetlen. Jelenleg leginkább a hatékony kezeléssel nem rendelkező daganatok esetén, illetve jó állapotú betegeknél alkalmazzák, ahol kimerülnek az evidencia alapú terápiák. Ugyanakkor az alábbi biomarkerek sok esetben már első vonalas terápiás lehetőséget nyújtanak: NTRK1, -2, -3, ROS1, RET transzlokációk, kifejezett mikroszatellita instabilitás (MSI-H), tumor mutációs terhelés (TMB).

	ROS1	NTRK 1,2,3	RET
Normál funkció	fiziológiás szerepe nem ismert, TKR (tirozin kináz receptor)	TRK (tropomyosin receptor kináz) fehérjét kódoló gén, idegszövet fejlődése	Idegrendszer, vese fejlődésében fontos szerepe van
Terápiás érzékenység szempontjából prediktív	Csak a transzlokáció	Csak a transzlokáció	Mutáció és transzlokáció
Leggyakoribb fúziós partner	CD74-szemcsés IHC EZR- membranosus IHC 30 fúziós partner	ETV6 80 fúziós partner	KIF5B, CCDC6, NCOA4 Legalább 12 különböző partner
Transzlokáció hatása	JAK-STAT, MAPK szignálút Szabályozatlan proliferáció, migráció, túlélés	MAPK, PI3K/AKT szignálút aktiváció	Intracellularis jelátvitel

Az NTRK, ROS1 és RET fúziók kimutatásának lehetőségei

A fenti fúziók kimutatására alkalmas módszerek, az immunhisztokémia, a fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) és az új-generációs szekvenálás (NGS) lényegében valamennyi nagyobb hazai molekuláris patológiai centrumban elérhető, vagy bevezetésük folyamatban van.

NTRK transzlokáció



NTRK transzlokáció előfordulása (Amatu A, et al. ESMO Open 2016;1:e000023)

Az ESMO guideline-nak megfelelően elfogadható, hogy azokban a daganatokban, ahol gyakori elváltozás az NTRK fúzió, reflexteszt végzése javasolt. Egyéb esetekben szűrőmodszerként a panTRK immunhisztokémiai vizsgálat a legolcsóbb és leggyorsabb módszer. Az immunhisztokémia alkalmazásakor figyelembe kell venni a preanalitikai sajátságokat, a bizonyos tumortípusok esetén gyakoribb álnegativitást, illetve lényeges a megfelelő pozitív és negatív kontrollok alkalmazása. A fúzió megerősítésének megbízható módszere a FISH, ugyanakkor mivel gyakran az NTRK fúzió mellett több egyéb fúzió vizsgálata is indokolt, hatékonyabb és összességében olcsóbb az NGS alapú vizsgálat (többszörös FISH próbák, a három NTRK gén három különböző kromoszómán helyezkedik el, a vizsgálat kiértékelésével eltöltött idő, humán erőforrás igény, kisméretű anyagok, cytológiai minták esetében korlátozott anyagmennyiség).

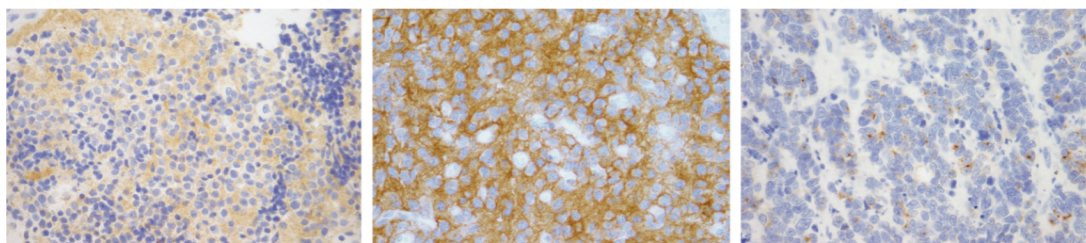
Az ESMO ajánlás szerint, ahol elérhető az RNS alapú szekvenálás, az javasolható elsődleges vizsgáló modszerként.

NTRK kimutatására alkalmas módszerek összehasonlítása:

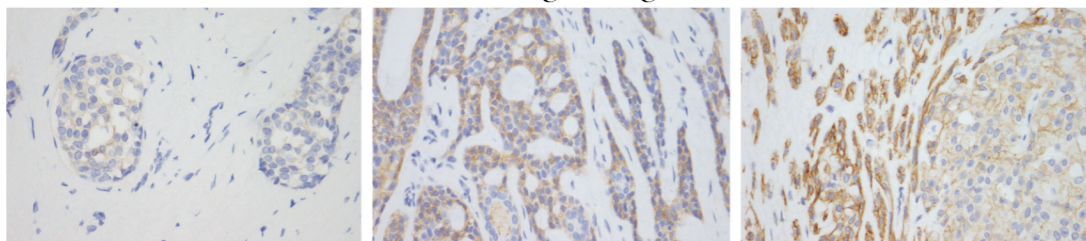
Módszer	Szenzitivitás	Specifititás	Összes fúziós gént azonosítja	Partner gén azonosítása	Expresszió azonosítása	Szűrés
IHC	Magas	Mérsékelt	Igen	Nem	Igen	Igen
FISH	Magas	Magas	Egy/próba	Nem	Nem	Nem
RNS NGS	Magas	Magas	Igen	Igen	Igen	Igen
DNS NGS	Mérsékelt	Magas	Igen	Igen	Nem	Igen

Immunhisztokémia szűrésre alkalmas, de NGS megerősítés szükséges az NTRK fúzió jelenlétének igazolásához

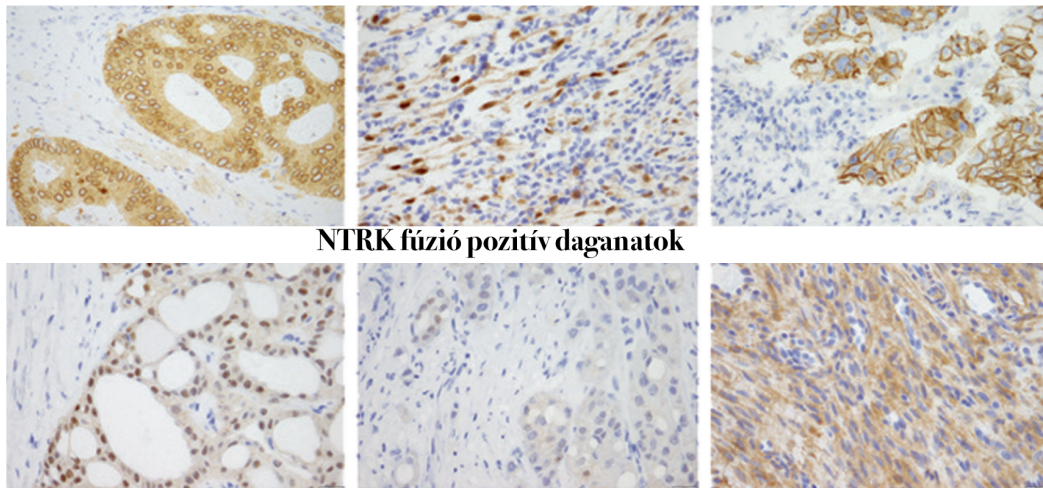
NTRK immunhisztokémia, antitest: EPR17341 (Abcam and Roche/Ventana)



NTRK fúzió negatív daganatok



- **álpozitivitás: simaizom és idegi eredetű tumorok**
- **álnegativitás: NTRK3 fúziós tumorok**
- **Szenzitivitás: NTRK1-2 96-100%; NTRK3 79%**

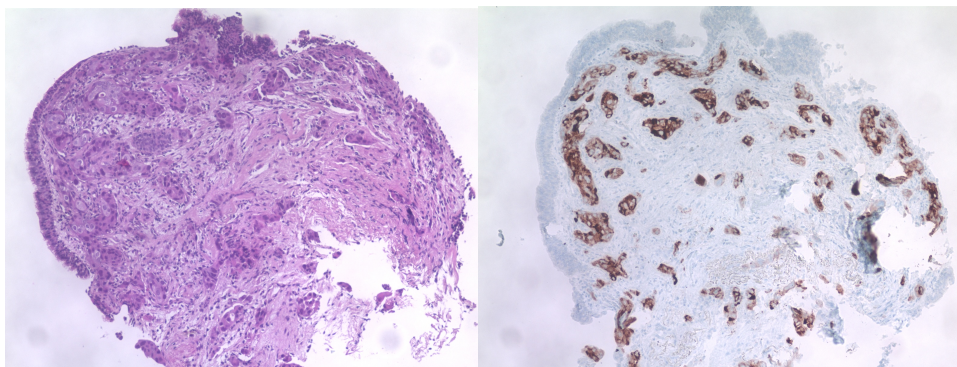


NTRK fúzió pozitív daganatok

- panTRK antitest: TRK A/B/C fehérje konzervatív C terminális elleni antitest
- pozitív reakció: háttértől erősebb festődés a tumorsejtek legalább 1%-ában
- specificitás tumor típus függő
- pozitív prediktív érték 100%: colon, tüdő, pajzsmirigy, pancreas, epeút, melanoma
- specificitás emlőca 82%, nyálmirigy ca 52%

<https://doi.org/10.1038/s41379-019-0324-7>

ROS1 transzlokáció



ROS1 immunhisztokémia (Cell Signaling D4D6 antitest), Tóth Erika anyaga)

A ROS1 transzlokáció vizsgálatának elsődleges szűrőmódszere az immunhisztokémiai vizsgálat, amit tüdő adenocarcinomák esetén rutinszerűen végeznek minden centrumban. Pozitív immunhisztokémiai reakció megerősítésére a FISH és NGS egyenrangú módszernek tekinthető.

Ahogy általában a molekuláris patológiai diagnosztika, úgy a ROS1 és NTRK eltérések kimutatásának legfontosabb limitáló tényezője is az elégtelen mintamennyiség. Az NGS alapú módszer nagy előnye, hogy korlátozott számú cytologiai kenet esetén is teljeskörű genetikai profilozást tesz lehetővé.

ROS1 transzlokáció előfordulása:

Tüdő adenocarcinoma ~2%

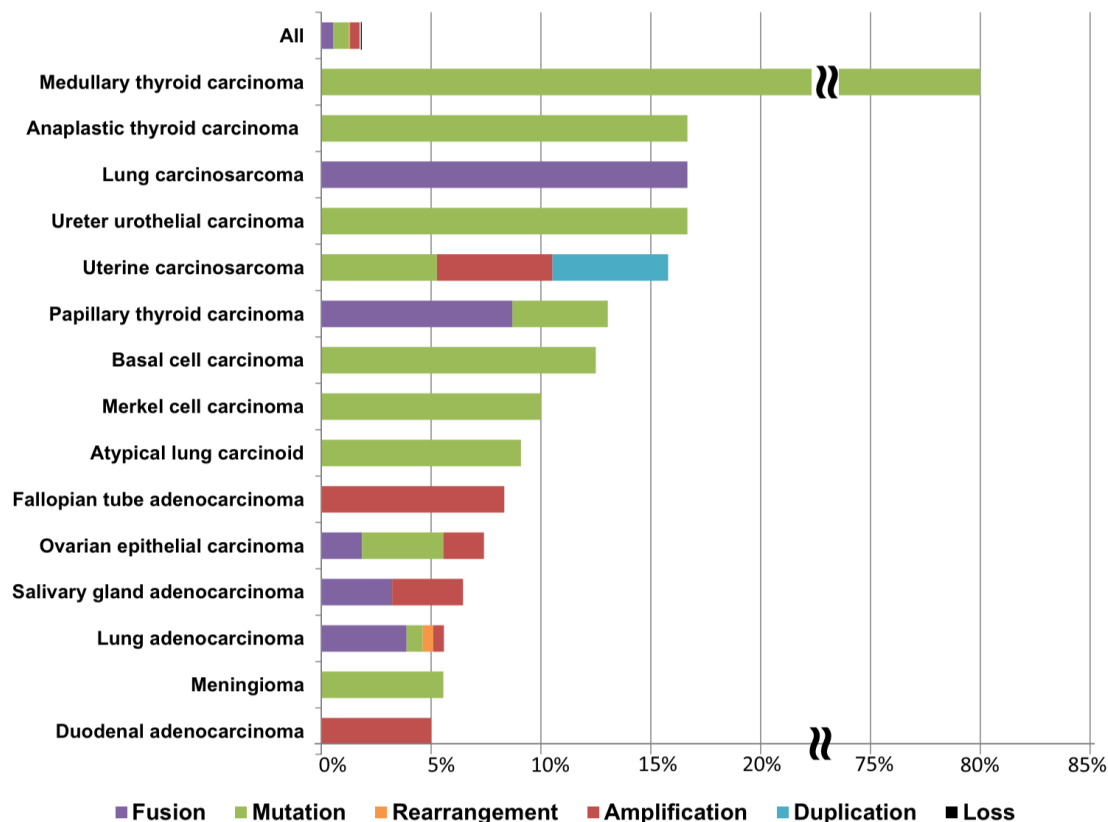
Spitzoid tumorok

Inflammatoricus myofibroblastos tumor ~5%

Pancreas ductalis carcinoma <1%

RET transzlokáció

RET transzlokáció kimutatására jelenleg az immunhisztokémiai vizsgálat nem alkalmas. A FISH és az RNS alapú szekvenálás egyenrangú módszerként fogadható el. A RET gén fúziója mellett meg kell említeni a RET mutációt, ami a leggyakoribb elváltozás medulláris pajzsmirigy carcinomában. Az örökletes medulláris carcinomában több, mint 90%-ban, sporadikus esetekben mintegy 60%-ban detektálható. A mutációk kimutatására DNS alapú szekvenálás alkalmas.



RET gén mutáció típusai és gyakorisága különböző daganatokban (Clin Cancer Res; 2017, 23: 1988-1997)

Irodalom

1, Solomon JP. et al., NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. Modern Pathology 2020, 33: 38-46..

2. Vaishnavi A. et al., TRKing down an old oncogene in a new era of targeted therapy. *Cancer Discoveries* 2015, 5: 25-34.
3. Huang, RS. et al., Correlation of ROS1 Immunohistochemistry With ROS1 Fusion Status Determined by Fluorescence In Situ Hybridization. *Arch Pathol Lab Med* (2020) 144 (6): 735–741.
4. Bubendorf L. et al., Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch* 2016, 469: 489-503.
5. Uguen A. et al., ROS1 fusions in cancer: a review. *Future Oncol* 2016, 12: 1911-1928.
6. Ferrara R. et al., Clinical and Translational Implications of RET Rearrangements in Non–Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology* 2018, 13: 27-45.
7. Kato S. et al. RET Aberrations in Diverse Cancers: Next-Generation Sequencing of 4,871 Patients. *Clin Cancer Res* 2017, 23: 1988-1997.