

NGHIÊN CỨU ASSESS – SỬ DỤNG DNA TỰ DO TRONG MÁU - XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG ĐỘT BIẾN CỦA EGFR Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ GIAI ĐOẠN TIẾN XA Ở NGƯỜI CHÂU ÂU VÀ NHẬT BẢN

*Lược dịch: Thái Anh Tú**

TÓM TẮT

Để xác định bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) thích hợp cho điều trị thuốc ức chế EGFR tyrosine kinase (TKIs), thì xét nghiệm đột biến EGFR từ mô hoặc tế bào bướu là điều cần thiết. Tuy nhiên, các mẫu mô hoặc tế bào bướu (mô/tế bào) không phải lúc nào cũng có sẵn hoặc dễ đáp ứng được. Nghiên cứu ASSESS (mã số NCT01785888), khảo sát không can thiệp với số lượng chẩn đoán lớn, đánh giá tính hữu ích việc lấy mẫu DNA tự do trong máu (ctDNA) để xác định đột biến EGFR.

Nghiên cứu ASSESS đã được tiến hành tại 56 trung tâm (ở Châu Âu và Nhật Bản). Bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến xa, mới được chẩn đoán, đồng thời được xét nghiệm đột biến EGFR trên các mẫu mô/tế bào và huyết tương. Mục đích là xác định mức độ phù hợp về tình trạng đột biến EGFR giữa xét nghiệm từ mô/tế bào và huyết tương.

Kết quả khảo sát từ 1162 trường hợp UTPKTBN, xét nghiệm đột biến EGFR đồng thời trên mẫu mô/tế bào và mẫu huyết tương, có sự tương hợp là 89% (độ nhạy 46%; độ đặc hiệu 97%; giá trị tiên đoán dương 78%; và giá trị tiên đoán âm 90%).

Các tác giả đã giải thích các trường hợp dương tính giả ở huyết tương là đa phần trên những trường hợp khảo sát tế bào học của bướu; sử dụng những phương pháp ít nhạy, cho kết quả xét nghiệm từ mô/tế bào âm tính giả.

Từ những dữ liệu thực tế này, các tác giả kết luận, ctDNA là nguồn mẫu khả thi cho phân tích đột biến EGFR, điều quan trọng là tiến hành xét nghiệm đột biến tại các phòng xét nghiệm chuyên sâu, sử dụng phương pháp tốt và có độ nhạy cao, để đảm bảo bệnh nhân được nhận điều trị phù hợp.

ABSTRACT

To offer patients with EGFR mutation-positive advanced NSCLC appropriate EGFR tyrosine kinase inhibitor treatment, mutation testing of tumor samples is required. However, tissue/cytologic samples are not always available or evaluable. The large, noninterventional diagnostic ASSESS study (NCT01785888) evaluated the utility of circulating free tumor-derived DNA (ctDNA) from plasma for EGFR mutation testing.

ASSESS was conducted in 56 centers (in Europe and Japan). Eligible patients (with newly diagnosed locally advanced/metastatic treatment-naive advanced NSCLC) provided diagnostic tissue/cytologic and plasma samples. The primary end point was level of concordance of EGFR mutation status between matched tissue/cytologic and plasma samples.

Concordance of mutation status in 1162 matched samples was 89% (sensitivity 46%, specificity 97%, positive predictive value 78%, and negative predictive value 90%).

False-positive plasma results was overrepresented for cytologic samples, use of less sensitive tissue testing methodologies, indicative of false negative tumor results.

These real-world data suggest that ctDNA is a feasible sample for EGFR mutation analysis. It is important to conduct mutation testing of both tumor and plasma samples in specialized laboratories, using robust/sensitive methods to ensure that patients receive appropriate treatments for their disease.

GIỚI THIỆU

Bệnh nhân ung thư phổi hầu hết được phát hiện trễ, ở giai đoạn tiến xa vào thời điểm chẩn đoán. Trong đó, UTPKTBN chiếm khoảng 83% và ung thư tuyến là một phân nhóm mô học phổ biến nhất của UTPKTBN, có tỷ lệ đột biến EGFR chiếm 13% ở Châu Âu và 47% ở Nhật Bản. Đối với bệnh nhân có tế bào bướu đột biến EGFR đã được khẳng định là đáp ứng tốt với điều trị ức chế EGFR tyrosine kinase (TKIs). Mặt khác, nhóm có đột biến EGFR hóa trị kém hiệu quả so với nhóm không đột biến. Các khuyến cáo lâm sàng, cho thấy cần xét nghiệm đột biến EGFR cho bệnh nhân UTPKTBN để lựa chọn điều trị cho bệnh nhân phù hợp. Tuy nhiên, mẫu mô và tế bào bướu nhiều khi không thể có được để xác định đột biến, cũng như để loại trừ trường hợp không đột biến.

Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng tính khả thi việc đánh giá tình trạng đột biến EGFR bằng cách sử dụng DNA tự do (ctDNA), DNA

* ThS.BS. Khoa Giải phẫu bệnh – BV Ung Bướu TP.Hồ Chí Minh

phóng thích từ tế bào bướu vào tuần hoàn, được phân lập từ máu của bệnh nhân UTPKTBN. Khảo sát nguồn DNA tự do có nguồn gốc từ bướu, được gọi là sinh thiết lỏng.

Nhiều nghiên cứu lâm sàng cho thấy sự hiện diện đột biến EGFR trong ctDNA dự đoán đáp ứng với TKIs. Có sự tương đồng về tỉ lệ đáp ứng và sống còn giữa nhóm bệnh nhân có đột biến EGFR được xác định bằng mẫu mô/tế bào so với xác định bằng ctDNA. Một bổ sung trong các đặc tính sản phẩm gefitinib, thuốc TKIs được chỉ định ở những bệnh nhân UTPKTBN có đột biến EGFR trên ctDNA, khi mẫu mô/tế bào bướu không phát hiện được.

Phân tích ctDNA đặt ra những yêu cầu cao về mặt kỹ thuật, quan trọng là xác định chính xác, để việc sử dụng ctDNA khảo sát đột biến EGFR trong thực hành lâm sàng có tính khả thi. Trong nghiên cứu IFUM, nghiên cứu lâm sàng về “điều trị gefitinib trên bệnh nhân UTPKTBN người da trắng có đột biến EGFR, sử dụng ctDNA như là giải pháp thay thế để xác định tình trạng đột biến EGFR”, trên 652 bệnh nhân đồng thời xét nghiệm mẫu mô/tế bào và huyết tương, cho tỷ lệ tương hợp cao, là 94%.

Ngoài ra, nghiên cứu ASSESS ở Châu Âu và Nhật Bản với số lượng lớn bệnh nhân, nhằm xác định lại khả năng tiếp cận ctDNA để khảo sát đột biến EGFR ở bệnh nhân UTPKTBN, để họ nhận được điều trị phù hợp.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Các tác giả đã thực hiện khảo sát, từ 11/4/2013 đến 17/4/2014, tổng cộng 1162 trường hợp UTPKTBN khảo sát đột biến EGFR đồng thời từ xét nghiệm mẫu mô/tế bào và huyết tương.

Phương pháp lấy mẫu

Mẫu mô và tế bào được lấy trong quá trình chẩn đoán chủ yếu từ bướu nguyên phát và hạch di căn.

Thời gian trung bình xét nghiệm đột biến EGFR trên mẫu mô và tế bào là 11 ngày ở Châu Âu và 8 ngày ở Nhật Bản. Tỷ lệ xét nghiệm đột biến thành công cao ở cả Châu Âu và Nhật Bản (> 98%).

Phương pháp xét nghiệm đột biến EGFR

Bảng 1: Phân bố tần suất đột biến EGFR trên mẫu mô/tế bào và huyết tương.

| | Tần suất đột biến EGFR | |
|---------------------------|------------------------|---------------|
| | Mô/tế bào | Huyết tương |
| Đặc điểm | n/n (%) | n/n (%) |
| Tổng số | 191 / 1184 (16) | 119/1263 (9) |
| Quốc gia | | |
| Châu Âu | 105/903 (12) | 82/972 (8) |
| Nhật Bản | 86/281 (31) | 37/291 (13) |
| Loại mô học | | |
| UT tuyến | 177/907 (20) | 109/952 (11) |
| UT không phải tuyến | 12/257 (5) | 9/288 (3) |
| Giai đoạn TNM | | |
| IIIA | 5/66 (8) | 3/75 (4) |
| IIIB | 3/105 (3) | 2/119 (2) |
| IV | 183/1006 (18) | 114/1063 (11) |
| TNM giai đoạn IV | | |
| M1a | 57/235 (24) | 17/252 (7) |
| M1b | 82/490 (17) | 67/528 (13) |
| Loại đột biến EGFR | | |
| Exon 19 deletions | 97/191 (51) | 68/119 (57) |
| Exon 19 deletions + T790M | 0/191 (0) | 0/119 (0) |
| L858R | 73/191 (38) | 38/119 (32) |
| L858R + T790M | 0/191 (0) | 2/119 (2) |
| T790M | 0/191 (0) | 3/119 (3) |
| T790M + khác | 1/191 (1) | 1/119 (1) |
| Khác | 20/191 (10) | 7/119 (6) |

Khi mà các mẫu mô, tế bào và huyết tương được xét nghiệm bằng những phương pháp đồng nhất và nhạy cao, thì kết quả về độ đặc hiệu và giá trị tiên đoán dương cũng được cải thiện hơn so với phương pháp giải trình tự gen truyền thống, sử dụng khá phổ biến ở Châu Âu.

Các tác giả ghi nhận phương pháp có độ nhạy cao như Qiagen theascreen EGFR Rotor-Gene Q Polymerase Chain Reaction (PCR) Kit, Peptide Nucleic Acid–Locked Nucleic Acid PCRClamp [Qiagen, Manchester, UK], Roche cobas EGFR Mutation Test [Roche Molecular Diagnostics, Pleasanton, CA], và Cycleave [Takara Bio Inc., Kusatsu, Japan] (Bảng 2).

Kit sử dụng xét nghiệm

Trong nhóm 94 bệnh nhân người Nhật Bản, độ nhạy từ kết quả ban đầu là 17% (5/29 trường hợp) được chiết tách ctDNA bằng kit Qiagen QIAamp MinElute Virus Spin Kit for DNA (400 µL plasma) đã tăng lên 52% (15/29 trường hợp)

Bảng 2: Sự tương hợp về khảo sát đột biến EGFR trên mẫu mô/tế bào và huyết tương.

| Đặc điểm | Tỷ lệ tương hợp | Độ nhạy | Độ đặc hiệu | Giá trị tiên đoán dương | Giá trị tiên đoán âm |
|---|-----------------|-------------|--------------|-------------------------|----------------------|
| | n/n (%) | n/n (%) | n/n (%) | n/n (%) | n/n (%) |
| Tổng số (n =1162) | 1035/1162 (89) | 87/189 (46) | 948/973 (97) | 87/112 (78) | 948/1050 (90) |
| Nhật Bản (n =281) | 227/281 (81) | 34/86 (40) | 193/195 (99) | 34/36 (94) | 193/245 (79) |
| Châu Âu (n =881) | 808/881 (92) | 53/103 (51) | 755/778 (97) | 53/76 (70) | 755/805 (94) |
| Qiagen theascreen EGFR RGQ PCR Kit (n=138) | 131/138 (95) | 16/22 (73) | 115/116 (99) | 16/17 (94) | 115/121 (95) |
| Roche cobas EGFR Mutation Test (n= 23) | 22/23 (96) | 3/4 (75) | 19/19 (100) | 3/3 (100) | 19/20 (95) |
| Cycleave (n=190) | 161/190 (85) | 29/57 (51) | 132/133 (99) | 29/30 (97) | 132/160 (83) |
| PNA-LNA PCR Clampa (n=91) | 76/91 (84) | 15/ 29 (52) | 61/62 (98) | 15/16 (94) | 8 61/75 (81) |

aPNA-LNA PCR Clamp concordance data using optimized ctDNA extraction procedure.

PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value; CI, confidence interval; RGQ, Rotor-Gene Q; PCR, polymerase chain reaction; PNA-LNA, peptide nucleic acid-locked nucleic acid; ctDNA, circulating free tumor-derived DNA

khi được chiết tách ctDNA lại bằng cách sử dụng bộ kit Qiagen QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (3 mL plasma), được thiết kế đặc biệt để phân lập DNA nhỏ lẻ.

Sự tương hợp (Concordance)

Sự tương hợp giữa tình trạng đột biến với mẫu mô/tế bào và huyết tương là 89% (độ nhạy 46%, độ đặc hiệu 97%, giá trị tiên đoán dương 78%, và giá trị tiên đoán âm 90%).

Giá trị tiên đoán dương (positive predictive value)

Giá trị tiên đoán dương, ý nghĩa rằng bệnh nhân xét nghiệm có đột biến trên ctDNA thì khả năng người đó có đột biến trên mô/tế bào, là 78%.

Mỗi quan tâm rằng một số kết quả đột biến EGFR trong huyết tương có thể là dương tính giả. Các tác giả đã nhận thấy các trường hợp có kết quả dương tính giả (25 trường hợp) là đa phần trên những trường hợp xét nghiệm từ mẫu tế bào học; sử dụng những phương pháp ít nhạy (phương pháp giải trình tự gen thường qui), cho kết quả xét nghiệm từ mô/tế bào bướu âm tính giả. Ngược lại, các trường hợp mẫu mô/tế bào và huyết tương được xét nghiệm với các phương pháp có độ nhạy cao giống nhau thì giá trị tiên đoán dương và độ nhạy được cải thiện.

Nhìn chung, những dữ liệu này cho thấy giá trị tiên đoán dương thấp do kết quả âm tính giả mô/tế bào bướu hơn là kết quả dương tính giả trong huyết tương. Các kết quả âm tính giả có

thể xảy ra do sự không đồng nhất của bướu, thiếu kinh nghiệm, hoặc sử dụng các phương pháp có độ nhạy thấp.

Độ nhạy (Sensitivity)

Độ nhạy, ý nghĩa rằng bệnh nhân có đột biến trên mô/tế bào bướu, thì khả năng người đó có xét nghiệm đột biến trên ctDNA, là 46%.

Độ nhạy của các xét nghiệm đột biến EGFR trên huyết tương so với trên mô/tế bào bướu dao động từ 36% - 100% giữa các quốc gia. Các tác giả nghiên cứu ASSESS nhận thấy những khác biệt đáng kể tại các quốc gia Châu Âu, cũng như giữa Châu Âu và Nhật Bản về phương pháp xét nghiệm đột biến được sử dụng, phản ánh sự khác biệt về thiết bị và cách tiếp cận.

Trong thực tế, độ nhạy của xét nghiệm có thể khó đánh giá hơn vì giai đoạn bệnh khác nhau ảnh hưởng tới sự phóng thích ctDNA vào tuần hoàn. Trong nghiên cứu ASSESS, tần suất đột biến EGFR cao hơn đã được quan sát thấy trong huyết tương của bệnh nhân nhóm M1b (13%) so với nhóm M1a (7%) mặc dù tần số đột biến EGFR ở bướu tương tự ở hai nhóm này, phù hợp với giả thuyết “phóng thích ctDNA lớn hơn ở những bệnh nhân di căn xa”, (Bảng 1).

Giá trị tiên đoán âm (negative predictive value)

Giá trị tiên đoán âm, ý nghĩa rằng bệnh nhân xét nghiệm không có đột biến trên huyết tương, thì khả năng người đó không có đột biến mô/tế bào, là 90%.

Độ đặc hiệu (Specificity)

Độ đặc hiệu, ý nghĩa rằng bệnh nhân không có đột biến mô/tế bào thì khả năng người đó có xét nghiệm không đột biến trên ctDNA, là 97%.

Chất lượng mẫu mô/tế bào bướu

Trong nghiên cứu IFUM, 19% bệnh nhân có mẫu mô và tế bào không thể đánh giá được vì chất lượng và số lượng mẫu không đủ; sự cố định mô/tế bào kém và không có DNA. Về mặt này, các xét nghiệm đột biến EGFR từ ctDNA chính xác và dễ tiếp cận, sẽ phù hợp cho đối tượng bệnh nhân này. Như vậy sẽ có nhiều bệnh nhân hơn được nhận liệu pháp điều trị đích phù hợp.

KẾT LUẬN

Các dữ liệu thực tế từ nghiên cứu ASSESS, cho thấy ctDNA là nguồn mẫu khả thi cho phân tích đột biến EGFR khi các mẫu mô hoặc tế bào

bướu không đáp ứng được. Điều quan trọng là tiến hành xét nghiệm đột biến trên huyết tương, cũng như mô/tế bào bướu ở các phòng xét nghiệm chuyên sâu, sử dụng các phương pháp khảo sát đột biến tốt và có độ nhạy cao để đảm bảo tính chính xác của kết quả.

Lời cảm ơn: Bài viết này được hỗ trợ từ AstraZeneca cho mục đích giáo dục y khoa

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. ctDNA Determination of EGFR Mutation Status in European and Japanese Patients with Advanced NSCLC: The ASSESS Study. Reck et al Journal of Thoracic Oncology 2016 Vol. 11 No. 10: 1682-1689
2. Douillard JY, Ostoros G, Cobo M, et al. Gefitinib treatment in EGFR mutated Caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status. J Thorac Oncol. 2014;9: 1345-1353.
3. AstraZeneca UK Ltd. IRESSA Summary of Product Characteristics. Available at: <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/22104/SPC/>. Accessed January 21, 2016.