

PHÂN TÍCH DNA TRẦN CỦA TẾ BÀO BƯỚI (ctDNA) TRONG HUYẾT TƯƠNG ĐỂ TÌM ĐỘT BIẾN EGFR T790M Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ GIAI ĐOẠN TIẾN XA

*Lược dịch: Hoàng Thị Anh Thu**

ABSTRACT

Introduction: Tumor biopsies for detecting epidermal growth factor receptor mutations (EGFRm) in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) are invasive, costly and not always feasible for patients with late-stage disease. The clinical utility of the cobas® EGFR Mutation Test v2 with plasma samples from patients with NSCLC at disease progression following previous EGFR-tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapy was investigated to determine osimertinib treatment eligibility.

Methods: Matched tumor tissue and plasma samples from patients screened for AURA extension and AURA2 phase II studies were tested for EGFRm using tissue- and plasma-based cobas® EGFR Mutation Tests v2. Plasma test performance was assessed using the cobas tissue test and a Next Generation Sequencing (NGS) method (MiSeq, Illumina Inc.) as references. Objective response rate (ORR), measured by blinded independent central review, was assessed in patients receiving osimertinib with a plasma T790M mutation positive status.

Results: During screening 551 patients provided matched tumor tissue and plasma samples. Pooled analysis of positive and negative percent agreements (PPA and NPA) between cobas plasma and tissue tests for T790M mutation detection were 61% and 79%, respectively. Comparing cobas plasma test with NGS demonstrated PPA and NPA 90%. ORR was 64% (95% CI: 57–70) in T790M mutation positive patients by both cobas tissue and plasma tests.

Conclusion: The cobas plasma test detected the T790M mutation in 61% of tumor tissue T790M mutation positive patients. To mitigate the risk of false negative plasma results, patients with a negative plasma result should undergo a tissue test where feasible.

TÓM TẮT

Giới thiệu: Sinh thiết mô để phát hiện đột biến EGFR ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) giai đoạn tiến xa là thủ thuật xâm lấn, tốn kém và có nhiều hạn chế nhất là ở bệnh nhân

giai đoạn muộn. Việc sử dụng hệ thống cobas phiên bản 2 để phát hiện đột biến EGFR trong mẫu huyết tương ở những bệnh nhân UTPKTBN tiến triển sau điều trị với EGFR TKI được khảo sát để xác định điều kiện điều trị với osimertinib.

Phương pháp: Bệnh nhân được sàng lọc từ các nghiên cứu pha II AURA mở rộng và AURA2 cung cấp cả mẫu mô và mẫu huyết tương để xét nghiệm đột biến EGFR sử dụng hệ thống cobas phiên bản 2. Giá trị của xét nghiệm mẫu huyết tương được đánh giá thông qua xét nghiệm tham chiếu bằng mẫu mô (Cobas) và phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) (MiSeq, Illumina Inc.). Tỷ lệ đáp ứng khách quan (ORR) - đánh giá bởi trung tâm kiểm soát dữ liệu độc lập mù, được sử dụng để đánh giá bệnh nhân dùng osimertinib có đột biến T790M trên mẫu huyết tương.

Kết quả: Có 551 bệnh nhân được sàng lọc cung cấp được cả mẫu mô lẫn mẫu huyết tương. Phân tích gộp cho thấy tỷ lệ phần trăm phù hợp dương tính và âm tính (PPA và NPA) giữa xét nghiệm mẫu huyết tương và mẫu mô dùng hệ thống cobas tương ứng là 61% và 79%. Đối với mẫu huyết tương, hệ thống cobas với NGS cho tỷ lệ PPA và NPA $\geq 90\%$. ORR là 64% (khoảng tin cậy 95%: 57–70) ở bệnh nhân có đột biến T790M dù xét nghiệm bằng mẫu mô hay mẫu huyết tương bằng hệ thống cobas.

Kết luận: Xét nghiệm mẫu huyết tương bằng hệ thống cobas phát hiện đột biến T790M trong 61% trường hợp có đột biến T790M trong mẫu mô. Để giảm nguy cơ âm tính giả, bệnh nhân có kết quả trên huyết tương âm tính nên được xét nghiệm thêm mẫu mô nếu có thể.

TÓNG QUAN

Các thuốc ức chế thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR TKIs) gồm erlotinib, afatinib và gefitinib được khuyến cáo sử dụng bước một ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) giai đoạn tiến xa có đột biến EGFR hoạt hóa. Phần lớn các bệnh nhân này sẽ xuất hiện đề kháng thuốc, trong đó gần 60% sẽ có đột biến gen kháng thuốc EGFR T790M (gọi tắt là T790M). Xét nghiệm mẫu mô được xem là phương pháp chuẩn quy ước để phát hiện đột biến trên, mẫu mô sinh thiết thường được cố

*BS. CKII. Khoa Nội 1 – Bệnh viện Ung Bướu TP.HCM

định bằng formalin, vùi nên paraffin (FFPE), sau đó DNA được chiết xuất ra và được phân tích để tìm đột biến. Việc lấy mẫu mô đủ chất lượng ở bệnh nhân UTPKTBN tiến triển với điều trị trước đó là một kỹ thuật xâm lấn, tốn thời gian và chi phí, sinh thiết mô sẽ đi kèm với biến chứng nhiều hơn. Trong trường hợp không thể sinh thiết được, bệnh nhân sẽ mất cơ hội tìm ra đột biến và hưởng lợi từ điều trị thích hợp. Do đó cần một phương pháp thay thế để phát hiện đột biến T790M ở bệnh nhân kháng EGFR TKI.

DNA trần của tế bào buro lưu chuyển trong máu (ctDNA) là dấu hiệu sinh học đặc hiệu và nhạy, có thể dùng để phát hiện đột biến T790M. ctDNA gồm những mảnh DNA phóng thích ra từ tế bào buro trong một số quá trình như tế bào chết theo lập trình, hoại tử buro. ctDNA có thể chiết xuất từ huyết tương và huyết thanh sau đó được phân tích để tìm các dấu ấn phân tử đặc hiệu của tế bào buro. Hệ thống hệ thống cobas phiên bản 2 (Roche molecular System, Inc, Pleasanton, CA, USA) đã được phát triển để phát hiện đột biến EGFR ở cả mẫu mô và mẫu huyết tương.

Osimertinib là thuốc dạng viên uống, thuộc nhóm EGFR TKI không đảo ngược, tác động chọn lọc lên đột biến EGFR nhạy thuốc và đột biến kháng thuốc T790M hơn là thể EGFR hoang dại. Osimertinib đã được phê duyệt trong điều trị UTPKTBN sau kháng EGFR TKI bước 1 do xuất hiện đột biến kháng thuốc T790M* .

Chương trình nghiên cứu lâm sàng AURA bao gồm hai nghiên cứu pha II quan trọng đánh giá hiệu quả, độ an toàn của osimertinib ở bệnh nhân UTPKTBN tiến triển sau điều trị bằng EGFR TKI bước 1 có đột biến T790M. Nghiên cứu AURA mở rộng (NCT01802632) và AURA 2 (NCT02094261) là hai nghiên cứu để osimertinib được phê duyệt tạm thời. Hai nghiên cứu này khảo sát hiệu quả, độ dung nạp và độ an toàn khi sử dụng thuốc uống osimertinib ở những bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến xa có đột biến T790M. Xét nghiệm tìm đột biến trên mẫu mô (dùng hệ thống cobas phiên bản 2) là bắt buộc để tuyển chọn bệnh nhân vào nghiên cứu. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá lợi ích lâm sàng của xét nghiệm mẫu huyết tương bằng hệ thống cobas để tìm đột biến T790M trong ctDNA được lấy từ mẫu huyết tương của

bệnh nhân ở giai đoạn sàng lọc của nghiên cứu AURA mở rộng và AURA 2.

PHƯƠNG PHÁP

Thiết kế nghiên cứu và đối tượng nghiên cứu.

Nghiên cứu AURA mở rộng và AURA 2 là nghiên cứu nhả mở, đơn nhánh, đa trung tâm, sử dụng viên uống osimertinib 80 mg/ngày, bệnh nhân từ 18 tuổi trở lên (ở Nhật là 22), UTPKTBN tiến triển sau khi điều trị với một thuốc EGFR TKI hay đã từng điều trị bằng một thuốc EGFR TKI trước đó và ít nhất 1 phác đồ khác. Các bệnh nhân này được lấy mẫu mô để xác định đột biến T790M đồng thời cũng được lấy mẫu huyết tương để phân tích hồi cứu.

Mục tiêu nghiên cứu là tỉ lệ đáp ứng (ORR) được đánh giá bởi trung tâm kiểm soát dữ liệu độc lập mù (BICR), theo tiêu chuẩn RECIST 1.1. Hiệu quả của osimertinib được đánh giá theo kết quả xét nghiệm tìm đột biến T790M trên mẫu mô và mẫu huyết tương.

Mẫu mô và mẫu huyết tương.

Tất cả mẫu mô và mẫu huyết tương được thu thập trong giai đoạn 28 ngày đầu, trước khi sử dụng osimertinib.

Chiết xuất DNA, khuếch đại và tìm đột biến.

Mẫu mô: DNA được chiết xuất từ mẫu mô, phát hiện đột biến EGFR bằng hệ thống cobas. Mẫu huyết tương: chiết xuất ctDNA, phát hiện đột biến EGFR bằng hệ thống cobas phiên bản 2.

Xét nghiệm kiểm chứng là MiSeq NGS.

Đánh giá

Hiệu quả lâm sàng được đánh giá qua tỉ lệ đáp ứng (ORR), được đánh giá bởi BICR.

Phương pháp thống kê

Hiệu quả lâm sàng dựa vào dữ liệu được thu thập đến 1/11/2015 cho cả hai nghiên cứu.

Độ nhạy: tính bằng tỉ lệ phần trăm phù hợp dương tính (PPA). Độ đặc hiệu: tính bằng tỉ lệ phần trăm phù hợp âm tính (NPA)

Sự phù hợp: tính bằng tỉ lệ phần trăm phù hợp toàn bộ (OPA). Độ tin cậy là 95% (Clopper_Pearson method).

KẾT QUẢ

Có 551 bệnh nhân có được cả mẫu mô và mẫu huyết tương. Xét nghiệm mẫu mô bằng hệ thống cobas cho kết quả 416 trường hợp có T790M

đương tính, 127 trường hợp âm tính, 8 trường hợp kết quả không được chấp thuận. Bệnh nhân có sang thương ngoài lồng ngực, xét nghiệm mẫu huyết tương phát hiện T790M nhiều hơn so với không có (72% so với 51%). Kích thước sang thương và tỉ lệ T790M trong xét nghiệm mẫu huyết tương cũng liên quan với nhau, bệnh nhân có kích thước sang thương lúc đầu nghiên cứu là $\geq 120\text{mm}$ thì tỉ lệ dương tính là 97%, kích thước sang thương $<40\text{mm}$, tỉ lệ dương tính là 53%.

Tỉ lệ phù hợp giữa xét nghiệm mẫu mô và xét nghiệm mẫu huyết tương

Phân tích gộp 2 nghiên cứu AURA 2 và AURA mở rộng, tỉ lệ PPA là 61%, NPA là 69%, OPA 65%. Phân tích gộp cũng cho thấy PPA thấp hơn ở những bệnh nhân sử dụng osimertinib bước 2 (52%[95%CI: 42-61]) so với những bệnh nhân sử dụng osimertinib - bước 3 trở lên (65%[95%CI: 59-70]). Đối với bệnh nhân mà không biết ở bước điều trị nào thì PPA là 79% (95%CI:71-86), chỉ số NPA theo bước điều trị không tính được, do tỉ lệ bệnh nhân T790M âm tính ở xét nghiệm mẫu mô biết được số bước điều trị thấp (n=1 bước 2, n=2 bước 3 trở lên).

PPA, NPA, OPA đối với đột biến L858R lần lượt là 76%, 98% và 91%.

PPA, NPA, OPA đối với đột biến mất đoạn exon 19 lần lượt là 85%, 98% và 90%.

Sự phù hợp giữa cobas và MiSeq NGS ở xét nghiệm mẫu mô và mẫu huyết tương.

Đối với mẫu huyết tương, xét nghiệm trên hệ thống cobas so với NGS có PPA, NPA, OPA lần lượt là 93%, 92%, và 92%. Điều này cũng tương tự xét nghiệm mẫu mô.

5 bệnh nhân ở nghiên cứu AURA mở rộng và 22 bệnh nhân ở nghiên cứu AURA 2 có kết quả mẫu huyết tương dương tính T790M và âm tính ở xét nghiệm mẫu mô. Sự không tương đồng này được đánh giá thêm bằng phương pháp NGS. Kết quả có 23/27 trường hợp dương tính, 1 trường hợp không đánh giá được, 3 trường hợp không phát hiện được T790M. Trong khi đó 11 trường hợp mẫu mô âm tính trên hệ thống cobas, và dương tính T790M trên NGS. Kết quả này cho thấy tỉ lệ phát hiện dương tính giả T790M trên mẫu huyết tương bằng hệ thống cobas là rất thấp.

Tỉ lệ đáp ứng dựa trên kết quả xét nghiệm mẫu mô và mẫu huyết tương tìm đột biến T790M

Phân tích gộp cho thấy tỉ lệ đáp ứng (ORR) khi có xét nghiệm mẫu mô dương tính T790M là 66% (95%CI:61-71) và khi có xét nghiệm mẫu huyết tương dương tính T790M là 64% (95%CI:57-70).

BÀN LUẬN

Việc xét nghiệm tìm đột biến T790M giúp tìm ra nhóm bệnh nhân thích hợp với điều trị bằng osimertinib, nghiên cứu này nhằm tìm ra độ nhạy, độ đặc hiệu và mức độ phù hợp của xét nghiệm bằng mẫu mô và mẫu huyết tương. Đối với đột biến T790M, sự so sánh được kiểm bằng NGS. PPA giữa xét nghiệm mẫu huyết tương và mẫu mô là 61% cho thấy có một nhóm bệnh nhân có thể biết được tình trạng T790M mà không cần phải làm xét nghiệm xâm lấn, tỉ lệ này cũng giống với các báo cáo trước đây về xét nghiệm mẫu huyết tương ở những bệnh nhân kháng EGFR TKI. Xét nghiệm mẫu huyết tương khi có sang thương ngoài lồng ngực có tỉ lệ phát hiện T790M cao hơn có thể do ở các bệnh nhân này khối lượng bướu nhiều hơn do đó phóng thích DNA vào máu nhiều hơn. Điều này được củng cố hơn nữa khi khối bướu của bệnh nhân có kích thước lớn tại thời điểm đầu vào nghiên cứu cũng có tỉ lệ phát hiện T790M cao hơn. PPA thấp hơn ở bệnh nhân sử dụng osimertinib bước 2 (52%) so với sử dụng bước 3 trở lên (65%), điều này cho thấy khó phát hiện T790M qua ctDNA ở những bệnh nhân vừa mới tiến triển sau điều trị với EGFR TKI bước 1, chúng tôi giả thiết rằng bệnh nhân được điều trị bằng nhiều bước có thể có khối lượng bướu nhiều hơn thì càng có nhiều các mảnh allen T790M, hay hóa trị trước đó có thể thúc đẩy việc phóng thích ctDNA từ bướu. Việc tỉ lệ phát hiện được T790M cao hơn ở các nhóm nêu trên cần được nghiên cứu thêm. Tỉ lệ xét nghiệm bằng máu không tìm ra được T790M trong khi xét nghiệm mẫu mô phát hiện ra được là 40%. Để giảm tình trạng âm tính giả, nên sinh thiết mô ở những trường hợp có xét nghiệm mẫu huyết tương âm tính. Điều này cũng được khuyến cáo trong nghiên cứu gần đây của tác giả Oxna và các cộng sự. NPA giữa xét nghiệm mẫu huyết tương và

mẫu mô để tìm đột biến T790M là 79%, tương tự kết quả của Oxa và cộng sự. PPA, NPA, OPA của xét nghiệm mẫu huyết tương bằng Cobas so với NGS đều trên 90%, cho thấy xét nghiệm mẫu huyết tương bằng hệ thống cobas có thể tin tưởng được. Ngoài ra tỉ lệ dương tính giả trong xét nghiệm mẫu huyết tương thấp, trong 27 trường hợp có kết quả mẫu mô âm tính nhưng kết quả mẫu huyết tương dương tính, kiểm chứng lại bằng NGS thì có 23/27(85%) trường hợp dương tính.

T790M là đột biến kháng thuốc mắc phải, phản ánh sự tiến triển và đa dạng của các dòng tế bào trong khối bướu khi bị kháng thuốc. Điều này có thể làm cho tỉ lệ NPA giữa kết quả mẫu huyết tương và mẫu mô thấp hơn.

Xét nghiệm mẫu huyết tương mang lại lợi ích cho những bệnh nhân không thể lấy được mẫu mô do các nguy cơ của thủ thuật sinh thiết, ngoài ra tổng trạng bệnh nhân và vị trí giải phẫu cũng ảnh hưởng đến thủ thuật sinh thiết. Các nghiên cứu gần đây ước tính rằng khoảng 40% bệnh

nhân UTPKTBN tiến triển có thể không thực hiện sinh thiết được. Hạn chế của xét nghiệm mẫu huyết tương là tỉ lệ âm tính giả, do đó khi kết quả này âm tính nên thực hiện sinh thiết mô nếu được.

Việc phát hiện ra đột biến T790M trong bệnh nhân UTPKTBN rất quan trọng trong quyết định điều trị lâm sàng. Tóm lại kết quả của nghiên cứu này ủng hộ cho việc dùng xét nghiệm mẫu huyết tương để phát hiện đột biến T790M ở bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến xa.

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

Tài liệu dịch:

Plasma ctDNA Analysis for Detection of the EGFR T790M Mutation in Patients with Advanced non-small Cell Lung Cancer,

Jenkins S, C-H Yang J, Ramalingam SS, Yu K, Patel S, Weston S, Hodge R, Trường hợpntarini M, Jänne PA, Mitsudomi T, Goss GD,

Journal of Thoracic Oncology (2017), doi: 10.1016/j.jtho.2017.04.003.