

A tüdőrák molekuláris diagnosztikájának modern szemlélete és klinikai jelentősége

TÍMÁR JÓZSEF^{1,4}, MÉHES GÁBOR^{2,4}, VASS LÁSZLÓ^{3,4}

¹Semmelweis Egyetem, II. Sz. Patológiai Intézet, Budapest, ²Debreceni Egyetem, Patológiai Intézet, Debrecen, ³Pest Megyei Flór Ferenc Kórház, Patológia, Citopatológia Osztály, Kistarcsa, ⁴Egészségügyi Szakmai Kollégium, Patológiai Tagozat

Levezései cím:

Prof. Dr. Tímár József, Semmelweis Egyetem, II. Sz. Patológiai Intézet, 1091 Budapest, Üllői út 93., e-mail: jtimar@gmail.com

Közlésre érkezett:

2020. július 10.

Elfogadva:

2020. augusztus 10.

A tüdőrák molekuláris klasszifikációja folyamatosan fejlődött az elmúlt 15 évben, és mára eljutott oda, hogy az ún. ritka genetikai eltéréseket (fúziós gének) is magába foglalja. Sajnálatos módon ennek a fejlődésnek legnagyobb nyertese az adenokarcinóma-csoport, és csak kevésbé élvezi klinikai előnyeit a laphámrák vagy a kissejtes tüdőrák. További fontos fejlemény, hogy a tumoragnosztikus gyógyszer-indikációk érintik a tüdőrák molekuláris diagnosztikáját is a mikroszatellita-státusz, a tumor mutációs terhelése és az NTRK fúziós gén kimutatása vonatkozásában. A tüdőrák alacsony reszekciós gyakorisága és a rendelkezésre álló kis mennyiségű biopsziás minta miatt egyre nagyobb a jelentősége a folyadékbiopsziának. A célzott terápiák egyre szélesebb körű alkalmazása ugyanakkor számos újfajta rezisztenciamechanizmust vált ki, amelyek folyamatos monitorozása egyre inkább napi rutinfeladat kell, hogy legyen. A célzott mutációs vizsgálatok mellett egyre gyakrabban van lehetőség a multigénes panelek alkalmazására, amelyek révén egyre komplexebb genetikai információ nyerhető ki az adott daganatból. Ugyanakkor a molekuláris genetikai eltérések prediktív jellegét a leletben kategorizálni kell standard terápia, klinikai vizsgálati vagy hipotetikus/feltételezett evidenciaosztályokba, hogy egyértelmű legyen az üzenet a multidiszciplináris team és a beteg számára is. *Magy Onkol* 64:183–189, 2020.

Kulcsszavak: tüdőrák, molekuláris klasszifikáció, prediktív diagnosztika

Molecular classification of lung cancer developed in the past decades to the level where even the rare genetic alterations are included. Unfortunately, adenocarcinoma benefited from this development almost exclusively. Furthermore, the tumor-agnostic novel therapy indications influence the molecular diagnostics of lung cancer including microsatellite status, tumor mutation burden or NTRK fusion gene determinations. On the other hand, the still low resection rate of lung cancer and limited availability of tumor tissue for diagnosis opened the way of routine use of liquid biopsy technologies. The routine use of target therapies triggered the development of various genetic resistance mechanisms, the monitoring of which gradually became a standard of monitoring of the disease. Beside the „targeted” diagnostics, multigene panel testing or whole exome sequencing are more frequent, resulting in a more complex genetic picture of lung cancer. This requires the categorization of genetic alterations into predictive levels for standard, investigational or hypothetical target therapies in the molecular pathology reports.

*Tímár J, Méhes G, Vass L. Molecular diagnostics of lung cancer and its clinical relevance. *Magy Onkol* 64:183–189, 2020*

Keywords: lung cancer, molecular classification, predictive diagnostics

BEVEZETÉS

A tüdőrák molekuláris patológiája intenzív fejlődést mutat, ami folyamatosan átírja a kezelési protokollokat. Azonban továbbra is jól látható, hogy ez gyakorlatilag csak az adenokarcinómára igaz, és szinte érintetlenül hagyja a másik két fő szövettani formát, a laphámrákot és a kissejtes tüdőrákot. Ennek oka az, hogy míg az adenokarcinómában szinte számtalan gyakoribb vagy ritkább driver onkogén mutatható ki, amelyek kiváló terápiás célpontok, addig ez nem így van a többi rákféleségben, ahol egzotikus onkogének mutációival találkozunk, amelyeknek csak egy kis része lehet potenciális terápiás célpont. Az adenokarcinóma genetikai sokszínűsége és ennek klinikai relevanciája nagymértékben befolyásolta a diagnosztika fejlődését, a multigén vagy teljesgenom-szekvenálási eljárások rutinba állítását. A tüdőrák sajátos helyzeténél fogva, ami a primer tumor gyakori operálhatatlanságából fakad, az alternatív molekuláris diagnosztikai eljárások maximális kiaknázását követeli meg, ami hatalmas nyomást jelent a folyadékbiopsziás eljárások fejlesztésére. Ugyanakkor ez a sokszínűség és széles diagnosztikai és terápiás paletta megköveteli a talált genetikai eltérések rigorózus, evidenciaalapú klasszifikálását három releváns terápiás kategóriába, úgymint standard, kísérleti (klinikai vizsgálati) és hipotetikus. Optimális esetben így a molekuláris patológiai lelet nemcsak a molekuláris patológus, hanem a beteg és a kezelőorvos számára is egyfajta nyitott könyv lehet a kezelési opciók számbavételekor. Továbbmenve, egyre inkább nyilvánvaló, hogy a molekuláris patológiai vizsgálat nem egy egyszeri „végleges” diagnózis tüdőrákban, hanem egyre inkább a betegség genetikai fejlődésének folyamatos monitorozási eszközévé válik.

Az alábbiakban röviden összefoglaljuk a tüdőrák egyes típusainak molekuláris genetikáját, annak diagnosztikáját, a terápia rezisztenciamechanizmusait alkalmazva a nemzetközi evidenciaalapú kategorizálás módszertanát. Mindezek együttesen egyfajta molekuláris patológiai szakmai ajánlásnak tekinthetők, amennyiben az Egészségügyi Szakmai Kollégium Patológiai Tagozata és Tanácsa is elfogadta annak elveit.

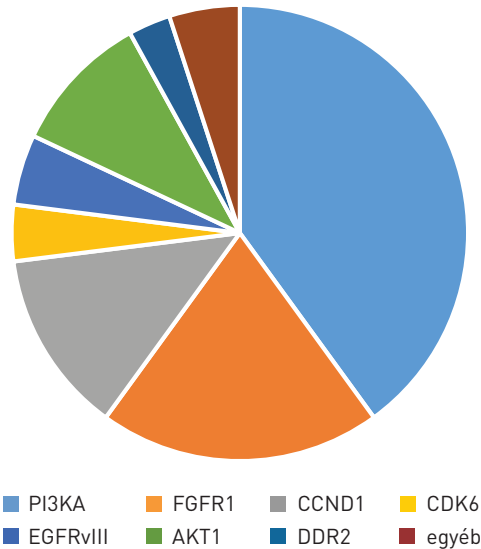
A TÜDŐRÁK MOLEKULÁRIS KLASSZIFIKÁCIÓJA

Laphámrák (1)

A laphámrákban a leggyakoribb genetikai hiba a PI3KA gén mutációja (40%) és az FGFR1 gén amplifikációja. Ezt követik jóval alacsonyabb gyakorisággal a ciklin D1 és a CDK6 gén amplifikációi. Minden bizonnyal egyszer majd jelentősége lesz annak is, hogy a laphámrákok egy kis százalékában az EGFR gén extracelluláris doménjének deléciója fordul elő, hasonlóan a glioblasztómához. Amennyiben ez esetleg gén-amplifikációval is társul, alkalmas célzott terápiás célpont lehet (1. ábra).

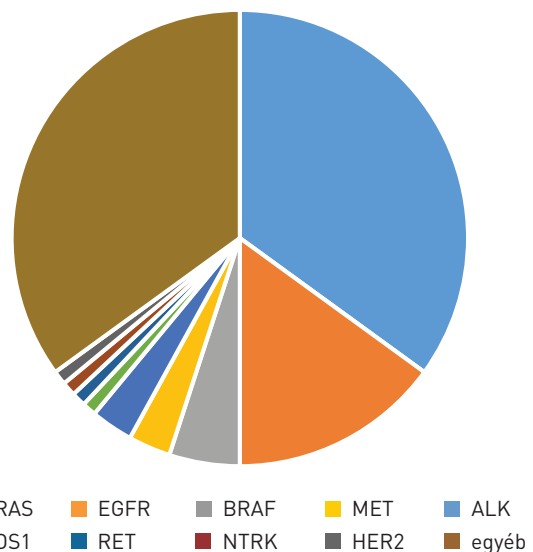
Adenokarcinóma (2)

A legfontosabb képünk az adenokarcinómában előforduló ún. driver onkogénekről van, miután az elmúlt 15 év kutatásai gyakorlatilag mindent feltártak erről a daganatfajtáról (2.



1. ÁBRA. A laphámrák onkogén driverei. Magyarázatot ld. a szövegben

ábra). A leggyakoribb genetikai hiba adenokarcinómában a KRAS-mutáció, hazánkban (de a környező országokban is) 35%. Megjegyzendő, hogy ez csak a KRAS exon 2 mutációit jelenti, így előfordulhat, hogy a 3-4 exonra kiterjesztett elemzésekkel ez az arány elérheti a 40%-ot (hasonlóan a vastagbélrákhoz). A második helyen az EGFR tirozinkináz doménjének mutációi állnak 15%-os gyakorisággal, amelyben



2. ÁBRA. Az adenokarcinóma onkogén driverei. Magyarázatot ld. a szövegben

az ún. klasszikus 19/21 exon hotspot mutációk 10%-ot tesznek ki. Ezt követi gyakoriságban a BRAF-mutáció, amelynek azonban csak a fele ún. klasszikus I. osztályú aktiváló mutáció. Hasonló gyakorisággal fordul elő a MET exon 14 mutáció vagy amplifikáció is. Az ún. transzlokációs tüdőrákok gyakorisága adenokarcinóma esetében mintegy 5%, melyben leggyakoribb az ALK fúziós gén és ettől messze elmaradva szerepelnek a ROS1, RET és NTRK fúziós gének. Klinikai jelentősége lehet még a ritka NRAS- vagy HER2-mutációknak is. Megállapítható azonban, hogy az adenokarcinómák mintegy harmada továbbra is olyan daganat, amelyben nincsen ún. driver onkogén, csak egy vagy több onkoszuppresszorgén-hiba.

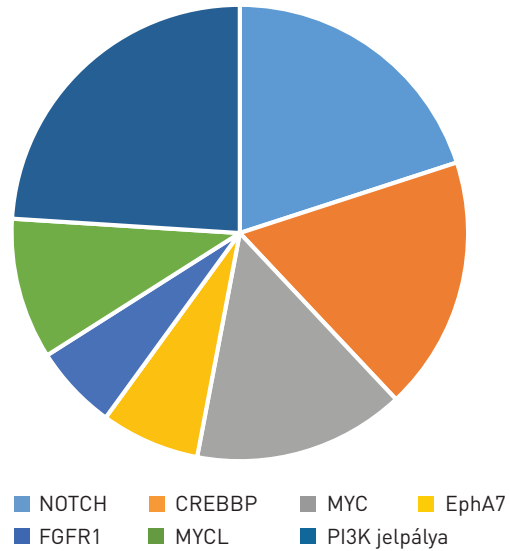
A RAS-mutáns tüdőrák (3)

A (K)RAS-mutáns tüdőrákról egységesen szokás beszélni, pedig ez is egy genetikailag heterogén csoport. Egyrészt abból a szempontból heterogén, hogy a leggyakrabban érintett 2-es exon 12. kodonjában milyen aminosavcsere történik, mivel az összes KRAS-mutáns daganat közül messze itt a leggyakoribb a G12C mutáció (ciszteincsere, 40%), aminek az oka a dohányzás által előidéztet C>A tranzíció. Ugyanakkor az ezt követő második leggyakoribb mutációtípus a G12D és G12V 25-25%-kal. A G12D mutáció esetében azonban a genetikai hiba C>T tranzíció, ami nem olyan jellemző dohányzásra, hanem inkább mismatch repair génhibás vagy genominstabil daganatokban szokott előfordulni. Kutatási adatok világítottak rá arra is, hogy míg a G12C mutáns tüdőráksejtek esetében a KRAS igazi domináns major onkogén, a G12D vagy G12V mutáns sejtek esetében inkább ún. minidriver szerepet tölt be. Ennek hátterében az is állhat, hogy a három fő mutáns KRAS-formának a jelátviteli sajátosságai igen eltérőek: a klasszikus RAS-RAF-MEK-ERK aktivitás igazán a G12C mutáns formára jellemző. További érdekesség, hogy a G12C mutáns KRAS-sal együtt EGRF4-mutáció vagy HER2-amplifikáció fordulhat elő, a G12V mutációval PTEN-vesztés szokott társulni, míg a G12D mutációhoz PDGFRA-mutáció.

Más szempontból a KRAS-mutáns tüdőrákoknak három csoportja van a szuppresszorgénhibák alapján. Az egyikben a KRAS-mutáció a p16/CDKN2A mutációval fordul elő, a másodikban p53-mutációval, míg a harmadikban LKB1-gyel társul és a három csoport génexpressziós profilja is eltérő. Sajnos ezekben a vizsgálatokban egy kalap alá vették a KRAS-mutáns daganatokat, így nem derülhetett arra fény, hogy ezek az eltérések összefüggenek-e a mutáció típusával (ld. mint fent).

A kissejtes tüdőrák (4)

A kissejtes tüdőrákot a NOTCH gének mutációi jellemzik leggyakrabban, amelyet a CREBBP gén hibája követ. A ritkább génhibák között szerepel az EphA7-mutáció, illetve a MYC gén amplifikációja. Bár ebben a daganatféleségben is előfordul fúziós gén, a MYCL esetében, de ennek fúziós partnere (RLF) nem tűnik jó terápiás célpontnak. A ritkább génhibák közül érdekes lehet a 6%-os gyakoriságú FGFR1-amplifikáció.



3. ÁBRA. A kissejtes tüdőrák driver onkogénjei. Magyarazatot ld. a szövegben

Ugyanakkor elmondható, hogy a kissejtes tüdőrákot is döntően a szuppresszorgének mutációi vezérlik: a p53 és a RB1, igen gyakran együttesen (3. ábra). Újabb megfigyelés, hogy a kissejtes tüdőrákok egy csoportjában (~25%) a lipidkináz jelpálya egyes elemeinek, amúgy egyenként relatíve ritka mutációit lehet kimutatni: PI3KCA/PTEN, AKT2/9, mTOR, RICTOR, aminek a későbbiekben lehet klinikai jelentősége.

A GENOMIKAI MARKEREK PREDIKTÍV JELENTŐSÉGÉNEK EVIDENCIASZINTŰ BESOROLÁSA (5, 6)

Az elmúlt években hatalmas fejlődés történt a terápiához kötött ún. prediktív diagnosztikában, és ez nemcsak a technológiát érintette (NGS, ctDNA), hanem az adott célzott terápiás gyógyszer szempontjából pozitív és negatív (szenzitivitás- és rezisztencia-) markerek megismerését is. Mára a molekuláris lelet a daganat kezelhetőségének egyik alapjává vált, ugyanakkor annak információtartalma nem feltétlenül világos a kezelőorvos, a beteg vagy a molekuláris diagnosztika számára. Az USA-ban az MSSK (OncoKB, ref. 5), Európában az ESMO (ESCAT, ref. 6) tett kísérletet egy evidenciaszint szerinti genomika/biomarker besorolásra, ami egy kicsit a gyógyszerek alkalmazásának mintájára osztályozza a genetikai markereket. A két besorolási rendszer nagyon hasonlít egymáshoz, ha az ESCAT egy kicsit bonyolultabbnak is tűnik. Az OncoKB L1/Tier IA azokat a biomarkereket tartalmazza, amelyek ún. kísérő diagnosztikumai egy FDA/EMA törzskönyvezett célzott terápiának. Az OncoKB L2A/Tier IB szint azt jelenti, hogy a marker a nemzetközi szakmai ajánlások alapján prediktív jelentőségű egy FDA/EMA törzskönyvezett

gyógyszernek az adott indikációban. Az OncoKB L1/2A/Tier IC ettől abban tér el, hogy ezek az ún. „kosár”-klinikai vizsgálatokban alkalmazott, tumortípustól független marker(ek) egy adott célzott terápia szempontjából.

A következő szintbe az olyan genetikai markerek tartoznak, amelyek klinikai vizsgálatokban kerülnek alkalmazásra egy adott gyógyszer esetében, tehát kísérleti fázisban vannak. Az OncoKB L3A/Tier IIA markerek azok, amelyekre már retrospektív klinikai adat van, de sem a gyógyszer, sem a biomarker nem része az ellátásnak, mert még nincsenek törzskönyvezve. Az OncoKB L3B szint azt jelenti, hogy még nem standard marker ugyan az adott daganatban jelen van, de klinikai adatok csak egy másik indikációból állnak rendelkezésre. A Tier IIB esetében a besorolás alapja az, hogy az adott marker alkalmazásával a célzott gyógyszer válaszadási aránya jelentős, de ez nem jár túlélési előnnyel [5, 6].

A legnagyobb eltérés a két besorolás között az ún. off-label alkalmazás megítélésében van. Az OncoKB L2B szint azt jelenti, hogy törzskönyvezett gyógyszer standard biomarkere egy másik indikációban, ami a Tier IIIA szintnek felel meg az ESMO ajánlása szerint, aminek alapja, hogy nincsenek klinikai adatok abban az adott indikációban [5, 6].

A legelső szintje a markerek besorolásának az ún. hipotetikus szint. Az OncoKB esetében ez az L4, amelybe minden egyéb tartozik, főleg az olyan evidenciák, mint amit preklinikai vizsgálatokra (Tier IVA) vagy *in silico* vizsgálatokra (Tier IVB) alapoznak. Az ESCAT/Tier IIIB azokat a markereket tartalmazza, amelyekre nézve már vannak klinikai adatok, csak egy másik indikációban [5, 6].

Az OncoKB besorolásban szerepel az R1 kategória is az olyan markerekre, amelyek egy FDA/EMA törzskönyvezett gyógyszer esetében standard vagy kísérő diagnosztikumok a gyógyszerrezisztencia szempontjából (pl. RAS-mutáció, anti-EGFR-terápia vastagbélrákban). Ennek alacsonyabb szintje az R2, ami azt jelenti, hogy klinikai vizsgálatok alapján valószínűsíthető a marker szerepe, míg az R3 szint a preklinikai adatokra alapozott besorolása a markernek [5].

A tüdőrákok molekuláris diagnosztikájának evidencia-alapú értékelése [7]

A laphámrákok esetében a PI3KA-mutáció és az FGFR1- és CDK6-amplifikációk L3B szintű markerek, miután más daganatokban már célzott terápiák alkalmazásának feltételei.

Az adenokarcinómák esetében ún. L1/Tier IA szintű genetikai markerek a klasszikus EGFR-mutációk az EGFR-inhibitorok szempontjából, az ALK-, ROS1-, NTRK- (Tier IC) fúziók a megfelelő inhibitorok szempontjából. OncoKB R1 szintű rezisztenciamarker a RAS az EGFR-inhibitorok szempontjából és ilyenek az EGFR klasszikus rezisztenciamutációi is bizonyos EGFR-inhibitorok szempontjából. Érdekes a BRAF-mutáció kettős szerepe, mivel L1 szintű marker a BRAF-inhibitorok szempontjából, de R1 marker az EGFR-inhibitorok szempontjából [1]. Jelenleg a RET mutáció/fúzió és a MET-amplifikáció vagy exon 14 mutáció csak L3 szintű evidencia tüdőrákban,

hasonlóan a HER2-amplifikációhoz vagy -mutációhoz. Megjegyzendő, hogy nem mindegy, hogy HER2-amplifikációs tüdőrákról vagy HER2-mutáns tüdőrákról van szó, mivel az utóbbi esetben a klinikai vizsgálatban HER2-inhibitor, míg HER2-amplifikáció esetében anti-HER2 antitest terápia jöhet szóba, ha a daganatban a fehérje is fokozottan fejeződik ki (IHC2+/3+) [7].

Kissejtes tüdőrákban az FGFR1-génamplifikáció L3B szintű genetikai prediktív marker, minden egyéb genetikai marker L4/Tier IVA szintű hipotetikus kategóriába tartozó.

FOLYADÉKBIOPSZIA, MINIMÁLIS REZIDUÁLIS BETEGSÉG

A tüdő-adenokarcinóma volt az első olyan daganat, amelyben folyadékbiopsziával genetikai profilírozás történt célzott terápia bevezetése céljából, ez volt az EGFR-mutáció meghatározása ún. kísérő diagnosztikumként. Ugyanakkor a folyadékbiopszia alkalmazása arra is lehetőséget teremt, hogy a keringésbe jutott daganatsejt-DNS segítségével a betegséget monitorozzuk, hasonlóan a hematológiai daganatokhoz [8]. Ennek egyik módja a daganateredetű keringő DNS mennyiségének mérése, ami elég bonyolult genetikai eljárás lehet. Ugyanakkor amennyiben a daganatnak van egy jellegzetes genetikai markere, mint amilyen egy adott onkogén mutációja (pl. EGFR-mutáció, KRAS-mutáció, vagy jellegzetes transzlokációk, mint ALK, ROS1, RET, NTRK), ennek segítségével a molekuláris remisszió megbízhatóan lenne monitorozható a keringő DNS (mutációk) vagy RNS (fúziós gének) elemzésével. Különösen áll ez a tüdőrákok azon csoportjára, ahol a primer daganatot sebészileg el lehetett távolítani. A keringő DNS komplex elemzésére új generációs szekvenáláson alapuló validált tesztek is rendelkezésre állnak, mint a FoundationOne Liquid, amely 70, a jelenlegi szakmai ajánlások által javasolt genetikai eltérés meghatározását teszi lehetővé [9].

A minimális reziduális betegség monitorozásának egy másik lehetséges útja a primer daganat genetikai jellemzése új generációs szekvenálással, majd az így kapott komplex genetikai profil jelenlétének monitorozása a daganat kezelése, kiújulása során. Ennek egyik, az FDA által befogadott módszer a Signatera-teszt [10]. Ennek alapja a primer tüdőrákban meghatározott 16 egyedi génhiba, amelyre egy igen nagy érzékenységű digitális PCR-t terveznek (személyre szabott diagnosztikum), amely aztán a sebészi beavatkozás(ok), kemoterápia vagy célzott terápiák alatt és után a vérben keringő DNS-en kerül elvégzésre. A daganat molekuláris recidíváját a daganatra jellemző gének közül legalább 2-nek a kimutatása jelenti és a módszer hasznosságát klinikai körülmények között igazolták nem kissejtes tüdőrákban [11].

TERÁPIAREZISZTENCIA

EGFR-tirozinkináz-inhibitor (TKI) kezelés

Az EGFR-TKI-kkal szembeni rezisztencia genetikai alapjai elég régóta ismertek, mivel ez az EGFR exon 20 T790M, illetve a C797S, L798I mutációk (R1/Tier IA evidencia), melyek

1. TÁBLÁZAT. Az EGFR-inhibitorok iránti rezisztencia genetikai alapjai

	Mutáció	Amplifikáció	Fúzió
EGFR (első generációs TKI)	exon 20 T790M	+	-
EGFR (második generációs TKI)	exon 20 T790M, C797X	+	-
EGFR (harmadik generációs TKI)	exon 20 C797X, 796X, L792Q, S768I, ins		
exon 18 L718Q, G724S	+	-	
MET	+	+	-
KRAS	+	-	-
KIT	+	-	-
PI3K	+	+	-
HER2	+	+	-
BRAF	+	-	+
RET	-	-	+
NTRK	-	-	+
ALK	-	-	+
FGFR3	-	-	+

TKI: tirozinkináz-inhibitor

előfordulhatnak ún. szenitizáló mutációkkal együttesen is, ami azt jelenti, hogy a heterogén daganatsejt-populációban minimum két genetikailag eltérő klón van jelen, melyek közül a rezisztenciamutáns klón (pl. a T790M) gyakran elenyésző kisebbségben van. Ugyanezen mutációk megjelenhetnek az EGFR-TKI terápia során, illetve után is szerzett formában. Ugyanakkor az EGFR-TKI-rezisztenciának számtalan más genetikai oka is van, amelyek között feltűnően gyakoriak a génamplifikációk, amelyek magát az EGFR-t, a HER2-t és a MET-et érinthetik (R1/Tier IA evidencia). Lehetséges rezisztenciamechanizmus még a KRAS-mutáció (értelemszerűen a primer daganat kis mutáns klónjának dominánssá válása), illetve a PI3KA-, KIT- vagy MET-mutációk kialakulása (valamennyi R1/Tier IA evidencia) (12–14) (1. táblázat).

ALK-TKI-kezelés

Az ALK-transzlokációval jellemzett tüdő-adenokarcinóma kezelésének alapja az ALK-gátlók, amelyeknek már sokadik generációjával találkozunk. Hogy ennyiféle ALK-gátlóra van/lehet szükség, annak egyik legfontosabb oka az, hogy az ún. „ALK-pozitív” tüdőrák genetikailag heterogén lehet abból a szempontból, hogy eredetileg vagy szerzetten tartalmaz-e ALK-génmutációt is, amely leggyakrabban a 22-23-as exonokban található, de érintheti ritkábban a 24-26-as exonokat is (R1/Tier IA evidencia). Ennek megfelelően ahhoz, hogy a legoptimálisabb kezelést lehessen indikálni, szükséges az ALK-transzlokáció kimutatása mellett elvégezni az ALK-génmutáció analízisét is, mert ezzel lehet kiválasztani

azt az ALK-inhibitor, amelynek profilja megfelel a mutációs profilnak. Sajnos az ALK-inhibitorok iránti rezisztenciának egy másik lehetséges módja az ALK gén amplifikációja, amit a primer vagy áttéti daganat friss biopsziájának FISH-vizsgálatával vagy pl. a FoundationOne Liquid teszttel lehet kimutatni (R1/Tier IA evidencia). Megjegyzendő azonban, hogy az ALK-inhibitorok iránti szerzett rezisztenciának gyakran más okai is lehetnek: KIT- vagy KRAS-génamplifikációk (R1/Tier IA evidencia) (15–17) (2. táblázat).

2. TÁBLÁZAT. Az ALK-inhibitorok iránti rezisztencia genetikai alapjai

	Mutáció	Amplifikáció
ALK	exon 22-26	+
KRAS	-	+
KIT	-	+

A ROS1-transzlokációs tüdőrák új lehetőséget nyitott egy ritka forma célzott terápiájához (18), ugyanakkor a többi célzott terápiához hasonlóan rezisztenciamutációk kialakulását vagy az ilyen klónok kisselektálását indukálta, a leggyakrabban a ROS1 G2032R, ritkán pedig a D2033N és S19868F mutációkét (19).

A RET-transzlokációs tüdőrákok esetében is az következett be, mint a fentiekben, hogy megjelent a rezisztenciamutáció a RET-TKI-kezelés alatt (RET V804M) (20). Az

NTRK-transzlokációs tüdőrákok célzott terápiája egy új, szövettani típustól független indikáció NTRK-inhibitorok alkalmazására [21], de egyelőre még nincsenek adatok a lehetséges rezisztenciamechanizmusokról.

IMMUNTERÁPIÁS GENETIKAI MARKEREK

Mutációs terhelés, mikroszatellita-instabil (MSI) státusz
A tüdőrákot elsősorban a dohányzási mutációs profil jellemzi, mely klonális eseményként a ráktípusok közötti egyik legmagasabb mutációs rátát eredményezi. Ezek mögött a klasszikus homológ repair gének hibái ritkák és az ATM és CHECK2 géneket érinthetik. A tüdőrák genetikai heterogenitásának gyakori okozója az APOBEC-aktivitás és a mögötte lévő UBR5- és DDR-génmutációk, amelyek azonban nem vezetnek neoantigének keletkezéséhez. Tüdőlaphámrák áttéteinek analízise tovább emelkedett mutációs rátára derített fényt, aminek oka FANCA- és ERCC2-mutáció volt [22].

Az immunellenőrzőpont-gátlók bármely fajta tüdőrákban történő klinikai alkalmazásának genetikai markere az MSI státusz vagy az MMR gének valamelyikének mutációja (L1/Tier IC evidencia). Ez a genomikai marker azt is jelenti, hogy az MSI-pozitív tüdőrákoknak az ún. tumormutációs terhelése (TMB) sokkal magasabb, mint az MS-stabil daganatoké [23]. Ugyanakkor nem kissejtes tüdőrákban L1 szintű marker a PD-L1 fehérje expressziója is a daganatsejteken, a stromális sejteken vagy mindkettőn (ún. kombinált arány). A tüdőrákok TMB-meghatározása sokáig azért nem volt elsődleges evidencia (csak L3), mert sem a módszertan nem volt szabályozott, sem a magas TMB-szint definíciója nem létezett. Ennek fő oka az, hogy a TMB-meghatározás pontos módszertana nem volt egységes és interpretálására nem voltak ajánlások [24]. Például alapvető kérdés, hogy a szinonim génhibákat nem szabad beszámítani, mert nem vezet aminosavcseréhez, így potenciális új antigénhez sem. Ebben a helyzetben következett be az anti-PD-1 antitest pembrolizumab új indikációja a TMB-high daganatok sokadik vonalas kezelésére. Az indikációban azonban FDA által elismert teszttel kell végezni a TMB-meghatározást, ami a FoundationOne CDx tesztje, amelynél >10 mutáció/MB a határérték, és így L1/Tier IC evidencia lett [25]. Ugyanakkor egy nagyobb klinikai analízisben, ahol különböző daganatok esetében elemezték a TMB-t és az immunellenőrzőpont-blokkolókat hatékonyságát, azt találták, hogy 23–25 nem szinonim mutáció/megabázis felett már nem

nőtt tovább a betegek túlélése, így a TMB határértékének 20 mutáció/megabázist javasoltak [24]. Ebből a szempontból érdekes még az a tény, hogy a különféle daganatokban a TMB értéke nagyon eltérő lehet, tehát a „TMB-high” fogalom relatív [22, 24].

Egyéb prediktív markerek

Egyre több beszámolót közölnek a PD-L1-génamplifikáció és az immunterápiára adott válasz lehetséges összefüggéséről (L3 szintű evidencia): a PD-L1-amplifikáció gyakorisága ~10% NSCLC-ben [22, 26, 27].

A tumorsejtek citotoxikus T-limfociták általi felismerésének és elpusztításának egyik kulcsfontosságú követelménye az antigén bemutatása a T-sejtek számára, mely funkcionális HLA-expressziót igényel a tumorsejteken (HLA-I α -lánc és a β 2-mikroglobulin (B2M) együttes expressziója). Tüdőrákban a HLA-expresszió elvesztésének gyakorisága ~40%, és számos mechanizmusa ismert. A HLA-I teljes elvesztése adódhat a 6-os kromoszómát érintő heterozigotáság-vesztésből. Hasonló eredményhez vezet a B2M-mutáció (ritka) vagy a 15. kromoszóma megfelelő régióját érintő heterozigotáság-vesztés is (L3-4 szintű evidencia) [22, 26, 27].

CÉLZOTT TERÁPIA VAGY IMMUNTERÁPIA TÜDŐRÁKBAN

Mindezek fényében felmerül a kérdés, hogy a tüdőrák és konkrétan a tüdő-adenokarcinóma esetében a genetikai profil alapján hogyan lehet és kell a terápiát megválasztani. Egy metaanalízisben megvizsgálták azt, hogy az egyes onkogén driver mutációs daganatok esetében a kis molekulájú inhibitorok, illetve az immunellenőrzőpont-gátlók esetében milyen volt a válaszadási ráta [28]. Ebből az elemzésből jól látható, hogy egy mutáció kivételével (KRAS) az onkogén mutációs daganatok célzott kezelése sokkal hatékonyabb, mint az immunellenőrzőpont-gátlók [28] (3. táblázat). A KRAS-mutáns tüdőrák leggyakrabban dohányzás talaján alakul ki, míg a különféle egyéb onkogén mutációk gyakran nem dohányzóknak, akiknek a mutációs terhelése jóval alacsonyabb. Nyilvánvaló, hogy ezek az adatok elsősorban az ún. első generációs inhibitorokra vonatkozhatnak, és nyitott kérdés az, hogy a célzott terápián progrediáló daganatok esetében is hasonló eredményeket lehet-e kapni, ha a rezisztenciámütációs hibákon hatékony másod- vagy harmadgenerációs inhibitorok hatékonyságával

3. TÁBLÁZAT. Az NSCLC molekuláris alcsoportjai és terápiás válaszaik célzott és immunterápiákra [28]

	EGFRm	ALKm	ROS1m	NTRKm	RETm	BRAFm	KRASm	HER2m	METm
SMI	80	83	77	75	68	64	54	55	71
ICI	11	4	14		11	24	57	15	11
ICI+SMI	75	81							

Az adatok a legjobb objektív válaszadási arány százalékában vannak kifejezve. ICI: immunellenőrzőpont-gátló, m: mutáns, SMI: kismolekulájú inhibitor

vetnének össze az immunterápiát. Ökölszabályként azonban megállapítható, hogy amennyiben egy adenokarcinóma rendelkezik L1-2/Tier I szintű genetikai markerrel, akkor célzott kezelést kell alkalmazni, mert a valószínűsége a megfelelő terápiás válasznak/hatékonyaságnak igen nagy, szemben a génhiba-agnosztikus immunterápiával. Ugyan az MSI-pozitivitás előfordulhat drivergén-mutációval is, azonban ennek valószínűsége alacsony. A magas TMB-nek drivergén-mutációval való együttes előfordulásának esélye sokkal nagyobb, azonban egyelőre nincsenek összehasonlító elemzések a kétféle terápia hatásosságáról ilyen konstellációban. Felmerülhet ugyanakkor, hogy L3 szintű drivergén-mutáció esetében milyen esélye lehet az immun-

terápiának; az eddigi tapasztalatok arra utalnak, hogy ilyen esetben sem várható jelentősebb hatékonyság, ugyanakkor ismételten kivételt képez a KRAS-mutáns tüdőrák.

KONKLÚZIÓ

A tüdőrák molekuláris diagnosztikája a kezelések indikációjának alapjává vált. Ehhez képest a molekuláris patológiai lelet tartalmi követelményeire vonatkozóan nincsenek érvényes hazai ajánlások. Másrészt a molekuláris patológiai leletek megfelelő értékelését az oncoteamben a molekuláris patológusnak kell biztosítani. A diagnosztika és terápia fejlődése megköveteli a társszakmák szoros együttműködését és a minőségbiztosítási szempontok maximális figyelembevételét.

IRODALOM

1. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization of squamous cell lung cancer. *Nature* 489:519–525, 2012
2. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular profiling of lung adenocarcinoma. *Nature* 511:543–550, 2014
3. Timar J, Kashofer K. Molecular epidemiology and diagnostics of KRAS mutant human cancers. *Cancer Metastasis Rev*, 2020, doi: 10.1007/s10555-020-09915-5
4. George J, Lim JS, Jang SJ, et al. Comprehensive genomic profiling of small cell lung cancer. *Nature* 524:47–53, 2015
5. Chakravarty D, Gao J, Phillips SM, et al. OncoKB: A precision oncology knowledge base. *J Clin Oncol Prec Oncol* 20.1200, 2017
6. Mateo J, Chakravarty D, Diensmann R, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO scale for clinical actionability of molecular targets (ESCAT). *Ann Oncol* 29:1895–1902, 2018
7. Domchek SM, Mardis E, Carlisle JW, Owonikoko TK. Integrating genetic and genomic testing into oncology practice. *ASCO Educational Book*, e259–e263, 2020
8. Sisson BA, Uvalic J, Kelly K, et al. Technical and regulatory considerations for taking liquid biopsy to the clinic. *Biomarker Insights* 14:1–11, 2019
9. www.foundationmedicine.com
10. www.natera.com
11. Abbosh C, Birkbak NJ, Wilson GA, et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. *Nature* 545:446–454, 2017
12. Chabon JJ, Simmons AD, Lovejoy AF, et al. Circulating tumor DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients. *Nat Commun* 7:11815, 2016
13. Blakeley CM, Watkins TBK, Wu W, et al. Evolution and clinical impact of co-occurring genetic alterations in advanced-stage EGFR-mutant lung cancers. *Nat Genet* 49:1693–1704, 2017
14. Leonetti A, Sharma S, Minari R, et al. Resistance mechanisms to osimertinib in EGFR-mutated non-small cell lung cancer. *Br J Cancer* 121:727–737, 2019
15. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, et al. Molecular mechanisms of resistance to first- and second-generation ALK inhibitors in ALK-rearranged lung cancer. *Cancer Discov* 6:1118–1133, 2016
16. Tímár J, Lotz G, Rásó E, Moldvay J. Az ALK-pozitív tüdőrák korszerű diagnosztikája. *Magy Onkol* 61:301–311, 2017
17. Dagogo-Jack I, Rooney M, Lin JJ, et al. Treatment with next-generation ALK inhibitors fuels plasma ALK mutation diversity. *Clin Cancer Res* 25:6662–6670, 2019
18. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch* 469:489–503, 2016
19. Gainor JF, Tseng D, Yoda S, et al. Patterns of metastatic spread and mechanisms of resistance to crizotinib in ROS1-positive non-small cell lung cancer. *JCO Precis Oncol* 2017;10.1200/PO.17.00063, 2017
20. Dagogo-Jack I, Stevenson SE, Lin JJ, et al. Emergence of RET V804M gatekeeper mutation during treatment with vandetanib in RET-rearranged NSCLC. *J Thorac Oncol* 13:e226–e227, 2018
21. Solomon JP, Benayed R, Hechtman JF, Ladanyi M. Identifying patients with NTRK fusion cancer. *Ann Oncol* 30[suppl. 8]:viii16–viii22, 2019
22. Ladányi A, Tímár J. Immunologic and immunogenomic aspects of tumor progression. *Semin Cancer Biol* 60:249–261, 2020
23. Tímár J, Ladányi A. A daganatok immunterápiájának prediktív markerei, a PD-L1-meghatározás gyakorlati kérdései. *Magy Onkol* 61:158–166, 2017
24. Tafe LJ. Non-small cell lung cancer as a precision oncology paradigm: emerging targets and tumor mutation burden (TMB). *Adv Anat Pathol* 27:3–10, 2020
25. <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-pembrolizumab-adults-and-children-tmb-h-solid-tumors>
26. McKean WB, Moser JC, Rimm D, et al. Biomarkers in precision cancer immunotherapy: promise and challenges. *ASCO Educational Book*, e275–e287, 2020
27. Lagos GG, Izar B, Rizvi NA. Beyond tumor PD-L1: emerging genomic biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *ASCO Educational Book*, e47–e57, 2020
28. Calles A, Riess JW, Brahmer JR. Checkpoint blockade in lung cancer with driver mutation: choose the road wisely. *ASCO Educational Book*, 372–382, 2020