

К.К. Лактионов^{1*}, А.Р. Зарецкий^{2,3*}, Д.И. Юдин¹, Д.А. Шагин², В.В. Бредер¹

Повторная биопсия опухоли у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого как основа индивидуализированного лечения

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,
²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,
³ООО «Евроген Лаб»,
Москва

*авторы внесли равный вклад в работу

Представлены результаты пилотного исследования, в рамках которого пациентам с распространенным немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ), прогрессирующим на фоне лекарственного лечения, выполнялась повторная биопсия опухоли/метастаза с последующим молекулярным тестированием полученного материала для подбора оптимального лечения. Показана техническая выполнимость, хорошая переносимость и высокая информативность повторной биопсии. Индивидуализация лечения на основе результатов повторной биопсии привела к существенному увеличению общей выживаемости пациентов.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, прогрессирование, повторная биопсия опухоли (ребиопсия), торакоскопия, молекулярное тестирование, мутации, таргетная терапия, иммунотерапия, индивидуализация лечения

Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) занимает лидирующие позиции среди других злокачественных новообразований, выявляемых в России; у 60-80% больных НМРЛ диагностируется в III или IV стадии, что требует системного лекарственного лечения [2]. Разработки в области таргетной терапии и иммунотерапии привели к значительному улучшению непосредственного прогноза у существенной части пациентов с НМРЛ [8]. В последние годы, с появлением таргетных препаратов 2-го и 3-го поколений и ингибиторов PD-1/PD-L1, возникла реальная возможность проведения одному и тому же пациенту нескольких линий высокоэффективной молекулярно-направленной терапии [7]. Но, поскольку адекватное назначение таргетной и иммунотерапии возможно, как правило, лишь на основании результатов молекулярного тестирования опухоли [5, 11], особую актуальность приобретают проблемы получения достаточного количества опухолевого материала особенно при неоперабельном НМРЛ [6, 10]. Учитывая молеку-

лярную гетерогенность и изменчивость проявлений опухоли, в том числе и вследствие противоопухолевого лечения, стоит вопрос о целесообразности и эффективности повторных биопсий метастазов или опухоли для подбора наиболее эффективной терапии [4].

Следует отметить, что в России даже первичная биопсия распространенного рака легкого не всегда воспринимается как обязательная: совокупный процент морфологического подтверждения диагноза рака легкого в России в 2015 г. составил в среднем 74% [3], а в ряде учреждений первая линия терапии до сих пор рутинно назначается на основании одной только клиничко-рентгенологической картины. Повторная биопсия нужна не только для коррекции его молекулярно-направленного лечения, но и пациентам, получившим химиотерапию без молекулярного тестирования опухоли – для оценки возможности перехода на молекулярно-направленную терапию.

Целью нашего исследования была оценка влияния повторных инвазивных диагностических вмешательств на тактику лечения больных распространенным НМРЛ и на их выживаемость, а также возможных рисков и осложнений повторной биопсии.

Материалы и методы

Исследование было проведено в 2013-2015 гг. в хирургическом отделении клинических биотехнологий ФГБУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина» Минздрава РФ и носило открытый и проспективный характер. В исследование включались больные диссеминированным НМРЛ с прогрессирующим на фоне 1–3 линии лекарственного лечения, не имевшие противопоказаний к инвазивному диагностическому вмешательству.

В качестве возможных методов получения опухолевого материала рассматривались бронхоскопия с биопсией, торакоскопическая биопсия, эксцизионная биопсия измененных лимфатических узлов и метастазов. Целью биопсии во всех случаях являлось получение адекватного количества опухолевой ткани для гистологического исследования с диагностическим иммуногистохимическим и молекулярно-генетическим тестированием.

В рамках молекулярно-генетического тестирования проводилось исследование мутаций в «горячих точках» генов KRAS (мутации в экзоне 2) и EGFR (активирующие мутации в экзонах 18, 19 и 21, а также мутация p. T790M в экзоне 20, ассоциированная с приобретенной резистентностью к таргетным препаратам 1-го и 2-го поколений), транслокаций с участием генов ALK и ROS1 и экспрессии белка PD-L1. Молекулярно-генетическое тестирование опухолевой ткани осуществлялось с применением стандартных валидированных методик. Кроме того, у пациентов, прогрессирующих на фоне терапии ингибиторами EGFR, выполнялось тестирование мутаций в гене EGFR в циркулирующей ДНК плазмы крови методом усиленной аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени (порог избирательности метода – 0,1% ДНК с мутацией).

При положительном результате молекулярно-генетического тестирования опухоли и/или плазмы крови и отсутствии противопоказаний рассматривался вопрос о назначении пациенту соответствующей схемы молекулярно-направленного лечения в рамках актуальных стандартов противоопухолевой терапии или клинических исследований. Для активирующих мутаций в гене EGFR препаратами выбора были гефитиниб/эрлотиниб или афатиниб, для мутации p. T790M в гене EGFR – осимертиниб, для мутаций в гене KRAS – комбинация селуметиниба с доцетакселом, для транслокаций с участием генов ALK и ROS1 – кризотиниб, для гиперэкспрессии PD-L1 – иммунотерапия пембролизумабом [5, 8, 9]. У всех пациентов оценивали общую выживаемость, а также возможные осложнения повторной биопсии.

Результаты и обсуждение

В исследование были включены 29 больных с диссеминированным НМРЛ, получавших ранее лекарственное лечение: 14 человек (48,3%) после химиотерапии и 15 (51,7%) после таргетной терапии ингибиторами EGFR (гефитиниб, эрлотиниб или афатиниб). Большинство участников исследования составили женщины (22/29, 76%), возраст больных варьировал от 32 до 86 лет. Общее состояние больных на момент повторной биопсии было удовлетворительным или хорошим (ECOG 0–1). У всех пациентов ранее была произведена морфологическая верификация диагноза (в 10 случаях – гистологическая и в 19 – цитологическая).

Пациентам были выполнены следующие диагностические вмешательства: 14 (48,3%) тора-

коскопий с биопсией опухоли легкого/плевры, 11 (37,9%) эксцизионных биопсий лимфоузлов, 3 (10,3%) бронхоскопии с биопсией и 1 (3,5%) удаление метастаза мягких тканей. У 6 из 14 пациентов (42,8%) в ходе торакоскопического вмешательства была выполнена конверсия в торакотомию из-за выраженных спаечных изменений в плевральной полости на фоне опухолевого плеврита и проведенного лечения. Следует отметить, что как минимум в 5 случаях из этих 6 спаечный процесс можно было расценить как индуцированный именно лекарственным лечением (ингибиторами EGFR или платиносодержащей ПХТ) и во всех 6 случаях его развитие сопровождалось как минимум существенным уменьшением плеврита (в 2 случаях – его полным исчезновением) (табл. 1).

Из осложнений повторной биопсии был отмечен только 1 случай кровохарканья, которое развилось у пациента после бронхоскопии с биопсией, медикаментозно купировано.

Адекватное количество опухолевого материала удалось получить в 24 случаях из 29 (82,6%); среди 5 случаев, в которых материал не был получен, 2 пришлось на торакоскопию с конверсией и по 1 – на торакоскопию без конверсии, бронхоскопию и эксцизионную биопсию лимфоузла.

При центральной клиничко-анатомической форме заболевания или подкожном расположении метастатического очага не возникает значительных трудностей для получения материала, вполне достаточно выполнение бронхоскопии, либо тотальной биопсии подкожного образования.

Молекулярно-генетическое тестирование опухолевой ткани выявило предиктивные нарушения в 11 из 24 образцов. В группе пациентов, прогрессирующих на терапии ингибиторами EGFR, в 5 случаях была обнаружена мутация EGFR p. T790M. Среди пациентов, прогрессирующих на фоне ПХТ, в 5 случаях были детектированы активирующие мутации в генах EGFR (n = 2), KRAS (n = 1), ALK (n = 1) и ROS1 (n

Таблица 1. Поражение плевры и эффект первой линии терапии у пациентов, перенесших конверсию

№ пациента	Поражение плевры/плеврит	Первая линия терапии	Вмешательство на плевральной полости в анамнезе	Эффект от лечения
1	+	эрлотиниб	торакоскопия с плевродезом	Резорбция плеврита
2	+	афатиниб	-	Уменьшение плеврита
3	+	платино-содержащая химиотерапия	-	Уменьшение плеврита
4	+	гефитиниб	-	Резорбция плеврита
5	+	афатиниб	торакоскопия	Уменьшение плеврита
6	+	эрлотиниб	-	Уменьшение плеврита

= 1) и еще в 1 случае была выявлена гиперэкспрессия белка PD-L1 (табл. 2).

У 11 из 15 пациентов, прогрессирующих на терапии ингибиторами EGFR, был также проведен мутационный анализ циркулирующей ДНК плазмы крови; чувствительность теста по циркулирующей ДНК составила 62,5% при специфичности 100%.

По данным проведенных исследований опухолевого материала и циркулирующей ДНК плазмы крови тактика лечения изменилась в 12 из 29 случаев (41,4%): 11 пациентов с найденными предиктивными молекулярными изменениями начали получать соответствующую молекулярно-направленную терапию (9 из них – в рамках

клинических исследований), и еще у 1 больного опухоль, ранее оцененная по цитологическому материалу как НМРЛ, после иммуногистохимического исследования была квалифицирована как метастаз рака предстательной железы. Пациенты, у которых подтвержден диагноз НМРЛ и не было обнаружено предиктивных молекулярных нарушений, получали лекарственное лечение согласно существующим рекомендациям по проведению второй и последующих линий терапии. В 16 случаях применялась ПХТ, и в одном случае пациент продолжил прием эрлотиниба.

При анализе выживаемости включенные в исследование пациенты разделились на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия

Таблица 2. Первичная верификация НМРЛ и результаты повторных биопсий

№ случая	Первичная биопсия	Первичная верификация	Повторная биопсия	Получение материала	Значимые молекулярно-генетические изменения в опухолевой ткани, повлиявшие на дальнейшую тактику лечения
1	ТТБ	ЦИТ	Торакотомия	Получен	EGFR+
2	ОБМ	ГИСТ	БЛ	Получен	Не выявлено
3	БЛ	ГИСТ	БЛ	Получен	Не выявлено
4	ОГМ	ГИСТ	БЛ	Не получен	
5	Бронхоскопия	ЦИТ	Торакотомия	Получен	Мутация T790M
6	Лобэктомия	ГИСТ	БЛ	Получен	Не выявлено
7	Бронхоскопия	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	Не выявлено
8	ТТБ	ЦИТ	Торакотомия	Получен	Мутация T790M
9	ТТБ	ЦИТ	Торакотомия/Резекция ребра	Не получен	
10	Торакоскопия	ГИСТ	Бронхоскопия	Получен	Мутация T790M
11	Торакоскопия+плевродез	ГИСТ	Торакотомия	Не получен	
12	Торакоскопия	ГИСТ	Торакотомия	Получен	Не выявлено
13	Бронхоскопия	ГИСТ	БЛ	Получен	Мутация T790M
14	Торакотомия, атипичная резекция	ГИСТ	Бронхоскопия	Не получен	
15	ТТБ	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	Экспрессия PD-L1
16	Бронхоскопия	ЦИТ	БЛ	Получен	Не выявлено
17	ТБЛ	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	Не выявлено
18	Бронхоскопия	ЦИТ	БЛ	Получен	ROS1 +
19	Бронхоскопия	ЦИТ	Бронхоскопия	Получен	Не выявлено
20	ТТБ	ЦИТ	Торакоскопия	Не получен	
21	Бронхоскопия	ЦИТ	БЛ	Получен	Не выявлено
22	ТТБ	ЦИТ	БЛ	Получен	Мутация T790M
23	ТТБ	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	Не выявлено
24	ТТБ	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	KRAS +
25	ТБЛ	ЦИТ	БЛ	Получен (1)	
26	ТТБ	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	EGFR+
27	Бронхоскопия	ЦИТ	Торакоскопия	Получен	Не выявлено
28	ТТБ	ЦИТ	ОБМ	Получен	ALK+
29	Медиастиноскопия	ГИСТ	БЛ	Получен	Не выявлено

выявленных молекулярных нарушений. В группе с выявленными молекулярными нарушениями 12 месяцев пережили 90,9% (10 из 11) пациентов, в группе без выявленных молекулярных нарушений – 29,4% (5 из 17) пациентов (рис. 1). Полученные результаты говорят о существенном положительном влиянии применения молекулярно-направленной терапии на общую выживаемость пациентов с метастатическим НМРЛ (log-rank test: $z = 3,46$, $p < 0,001$).

Выводы

Проведенное исследование показало техническую выполнимость повторной биопсии опухолевых очагов у пациентов с распространенным немелкоклеточным раком легкого, прогрессирующим на фоне консервативного лечения. Адекватное количество материала для гистологического исследования с последующим тестированием ключевых иммуногистохимических и молекулярно-генетических биомаркеров было получено более чем в 80% случаев. Как уже было показано нами ранее [1], применение торакоскопических вмешательств позволило получить информативный материал и у пациентов с труднодоступными опухолевыми очагами. Следует также отметить хорошую переносимость повторной биопсии.

Результаты повторной биопсии позволяют оптимизировать стратегию лекарственного лечения больных распространенным НМРЛ и, как следствие, добиться существенного увеличения продолжительности их жизни. Существенную роль здесь играет не только подбор молекулярно-направленной терапии, но и уточнение морфологического диагноза; вследствие этого оптимальной целью повторной биопсии, по нашему мнению, должно быть получение именно «гистологического» материала.

Потенциальную альтернативу повторной биопсии опухоли представляет собой так называемая «жидкая биопсия» – молекулярное тестирование ДНК и РНК опухолевого происхождения в биологических жидкостях онкологических больных. «Жидкая биопсия» отличается высокой специфичностью, минимальной инвазивностью и быстротой выполнения анализа. Однако в настоящее время она доступна далеко не для всех предиктивно значимых биомаркеров НМРЛ; кроме того, как показывают литературные данные [12] и полученные нами результаты, неинвазивные тесты обладают не очень высокой клинической чувствительностью (порядка 50-70%). Вследствие этого «жидкую биопсию» при распространенном НМРЛ целесообразно использовать как первый этап мо-

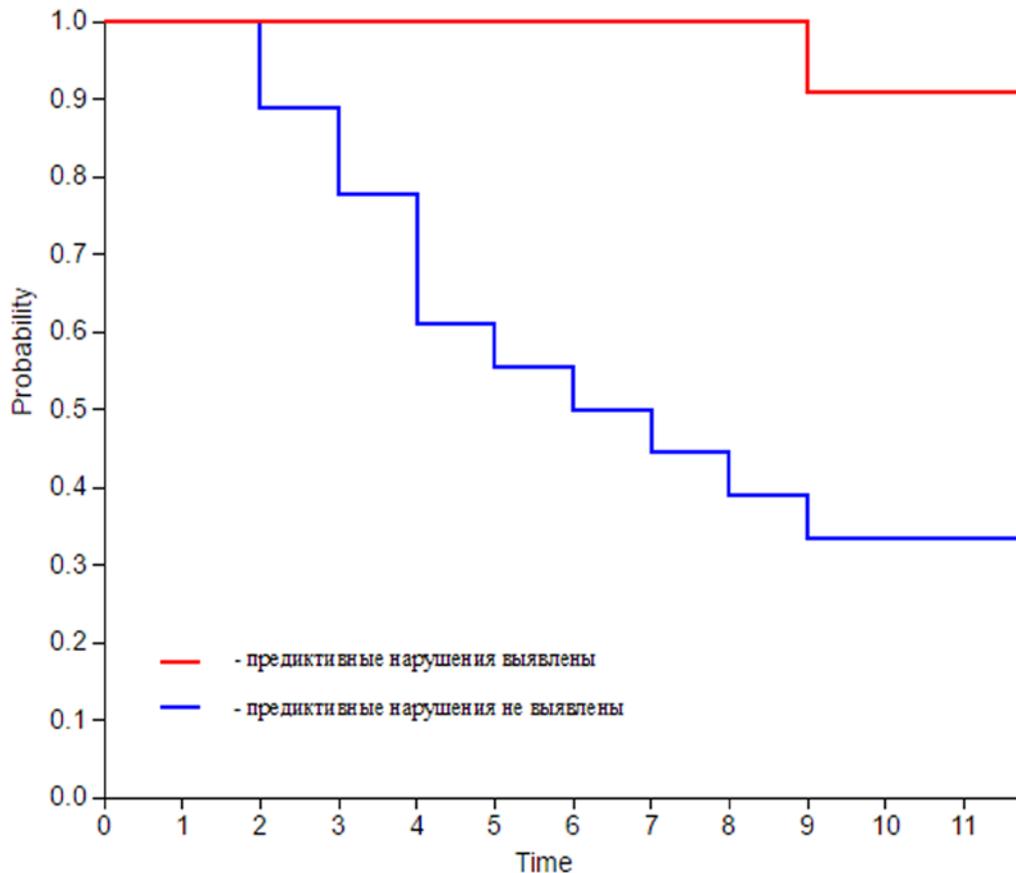


Рисунок 1. Кривые общей выживаемости (метод Каплан-Майера) для пациентов, включенных в исследование, в течение 12 месяцев после повторной биопсии в зависимости от выявления предиктивных молекулярных нарушений.

лекулярного скрининга на чувствительность к таргетной терапии, а отрицательный результат неинвазивного теста может быть основанием для рассмотрения вопроса о повторной биопсии опухоли.

Значимый выигрыш в общей выживаемости для пациентов с молекулярно-генетическими особенностями опухоли был получен благодаря сочетанию нескольких факторов: биологическим особенностям опухолевого процесса, выявлению таргетируемых активирующих мутаций и самой возможности проведения индивидуализированного лечения распространенного НМРЛ.

Отвечая на вопрос, кому и когда нужна повторная биопсия мы считаем, что уточнение биологических характеристик опухоли оправдано при каждом прогрессировании заболевания. Информация о найденных молекулярно-генетических изменениях может значимо повлиять на выбор дальнейшей тактики лечения. Несомненно, малоинвазивные методики анализа опухолевого материала, в том числе «жидкая» биопсия, несмотря на меньшую чувствительность, могут шире использоваться в рутинной клинической практике.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда № 14-35-00105

ЛИТЕРАТУРА

1. Аллахвердиев А. К., Лактионов К. К., Полоцкий Б. Е., Давыдов М. И. Современные возможности видеоторакоскопии в практике торакальной онкологии // Вестник Московского онкологического общества. – 2009. – Т. 5. – № 6–8 (559). – С. 2–4
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2012 г. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2012 г. / Под ред. Давыдова М. И., Аксель Е. М. – М., 2014. – 226 с.
3. Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. – М., 2016. – 236 с.
4. Bosc C., Ferretti G. R., Cadranet J. et al. Rebiopsy during disease progression in patients treated by TKI for oncogene-addicted NSCLC // Target Oncol. – 2015. – Vol. 10 (2). – P. 247-53. – doi: 10.1007/s11523-014-0332-y.
5. Du L., Herbst R. S., Morgensztern D. Immunotherapy in lung cancer // Hematol. Oncol. Clin. North Am. – 2017. – Vol. 31 (1). – P. 131-141. – doi: 10.1016/j.hoc.2016.08.004.
6. IASLC/CAP/AMP Molecular Testing Guideline for Selection of Lung Cancer Patients – Revision 2016 // https://www.iaslc.org/sites/default/files/wysiwyg-assets/5-20160616capiaslcamplungguideline-2016draftrecommendations_ocpfinal.pdf.

7. Langer C.J., Mok T., Postmus P.E. Targeted agents in the third-/fourth-line treatment of patients with advanced (stage III/IV) non-small cell lung cancer // Cancer Treat. Rev. – 2013. – Vol. 39 (3). – P. 252-60. – doi: 10.1016/j.ctrv.2012.05.003.
8. Levy M.A., Lovly C.M., Pao W. Translating genomic information into clinical medicine: lung cancer as a paradigm // Genome Res. – 2012. – Vol. 22 (11). – P. 2101-2108. – doi: 10.1101/gr.131128.111.
9. Meador C.B., Micheel C.M., Levy M.A. et al. Beyond histology: translating tumor genotypes into clinically effective targeted therapies // Clin Cancer Res. – 2014. – Vol. 20 (9). – P. 2264-2275. – doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1591.
10. NCCN Guidelines with Evidence Blocks: Non-Small Cell Lung Cancer Version 3.2017 // http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl_blocks.pdf.
11. Pao W., Miller V., Zakowski M. et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from “never smokers” and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2004. – Vol. 101 (36). – P. 13306-13311.
12. Sacher A.G., Paweletz C., Dahlberg S.E. et al. Prospective Validation of Rapid Plasma Genotyping for the Detection of EGFR and KRAS Mutations in Advanced Lung Cancer // JAMA Oncol. – 2016. – Vol.2 (8). – P. 1014-1022. – doi: 10.1001/jamaoncol.2016.0173.

Поступила в редакцию 13.12.2016 г.

K.K. Laktionov^{1}, A.R. Zaretsky^{2,3*}, D.I. Yudin¹,
D.A. Shagin², V.V. Breder¹*

Rebiopsy in patients with advanced non-small cell lung cancer as the basis of individualized treatment

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center

²N.I.Pirogov Russian National Research Medical University

³ Evrogen Lab LLC
Moscow

We have conducted a pilot study of repeated tumor biopsy followed by molecular testing in order to facilitate treatment correction in patients with advanced non-small cell lung cancer progressing on their current therapy. Repeated tumor biopsy was showed to be feasible, well tolerated and highly informative. Use of molecular-matched therapy was associated with significant increase in overall survival in this difficult-to-treat group of cancer patients.

Key words: non-small cell lung cancer, progression, repeated tumor biopsy (rebiopsy), thoracoscopy, molecular testing, mutations, targeted therapy, immunotherapy, personalized treatment

* – these authors contributed equally to the work