

Ф.В. Мoiseenko^{1,4}, В.И. Тюрин², Н.Е. Левченко², Е.В. Левченко^{2,4}, А.Г. Иевлева^{2,3},
Е.Н. Имянитов^{2,3,4}, Н.В. Митюшкина²

Использование молекулярно-генетического теста на транслокацию *ROS1* для выявления единичных опухолевых клеток: описание клинического случая

¹ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»

²ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»
Минздрава России

⁴СПб ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»
Минздрава России

В статье представлен случай применения молекулярно-генетического тестирования транслокации *ROS1* для контроля эффективности терапии рака лёгкого кризотинибом. Данный тест позволяет выявить единичные остаточные опухолевые клетки, которые не детектируются при стандартном морфологическом анализе удалённой ткани.

Ключевые слова: рак лёгкого, транслокация *ROS1*, кризотиниб

Открытие транслокаций в генах *ALK* и *ROS1*, приводящих к образованию химерных продуктов, положило начало новой эпохе в терапии рака лёгкого. Опухоли с данными перестройками составляют около 5% всех случаев аденокарцином данного органа и отличаются крайне выраженным и относительно длительным ответом на ингибиторы упомянутых тирозинкиназ [5]. Тесты на перестройки *ALK* и *ROS1* выполняются преимущественно методом FISH (флуоресцентная гибридизация *in situ*) и применяются исключительно для отбора пациентов на терапию кризотинибом или более новыми препаратами [4]. В качестве альтернативы FISH некоторые клиники используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР) — в данном случае выбор метода объясняется значительно меньшей стоимостью данного теста и возможностью определённой автоматизации диагностического процесса [6, 7]. При этом одно из главных преимуществ ПЦР — уникально высокая чувствительность — зачастую остаётся не в полной мере востребованным. В данной работе мы приводим клиническое наблюдение, в котором ПЦР-тест на детекцию транслокации *ROS1* был использован для контроля степени регресса опухоли после лечения. Установлено, что ПЦР-анализ перестроек *ROS1* позволяет выявить единичные опухолевые клетки даже в том случае, если после лечения ингибитором тирозинкиназы

ROS1 наблюдается полный морфологический регресс опухоли.

Пациентка Г., женщина 29 лет, в сентябре 2016 г. после переохлаждения отметила повышение температуры тела и влажный кашель. Самостоятельное лечение не принесло видимого эффекта. В районной поликлинике по результатам флюорографии (ФЛГ), на котором была выявлена инфильтрация нижней доли правого легкого, был назначен курс антибактериальной терапии. Контрольное ФЛГ-исследование не показало значимого рентгенологического эффекта после трёх проведённых курсов антибиотикотерапии. Выполненная компьютерная томография (КТ) не исключила наличия перибронхиального новообразования нижней доли правого легкого. Для уточнения диагноза больная была направлена в СПб КНПЦСВМП (о), где проведённое КТ-исследование органов грудной клетки обнаружило три образования: один очаг с размерами 3,7x3,3 см в корне правого лёгкого и два узла с размерами 2,3x2,1 см и 4,1x3,2 см на уровне С8. На ПЭТ-КТ также наблюдались обусловленная повышенным захватом радиофармпрепарата инфильтрация клетчатки средостения и очаги накопления в нижних паратрахеальных и бифуркационных лимфатических узлах. По результатам этих исследований была установлена IV стадия заболевания — $cT_{2a}N_2M_{1a}G_3$ (рис. 1, А). Далее была выполнена биопсия новообразования, в результате которой был поставлен гистологический диагноз — муцинозная аденокарцинома лёгкого. Полученный фрагмент опухолевой ткани был в дополнение подвергнут молекулярно-генетическому тестированию в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова с целью определения мутаций *EGFR* и перестроек генов *ALK* и *ROS1*. В исследуемом образце был обнаружен феномен несбалансированной экспрессии 5'- и 3'-концевых участков гена *ROS1* и определён вариант перестройки — *CD74ex6/ROS1ex34*. Это

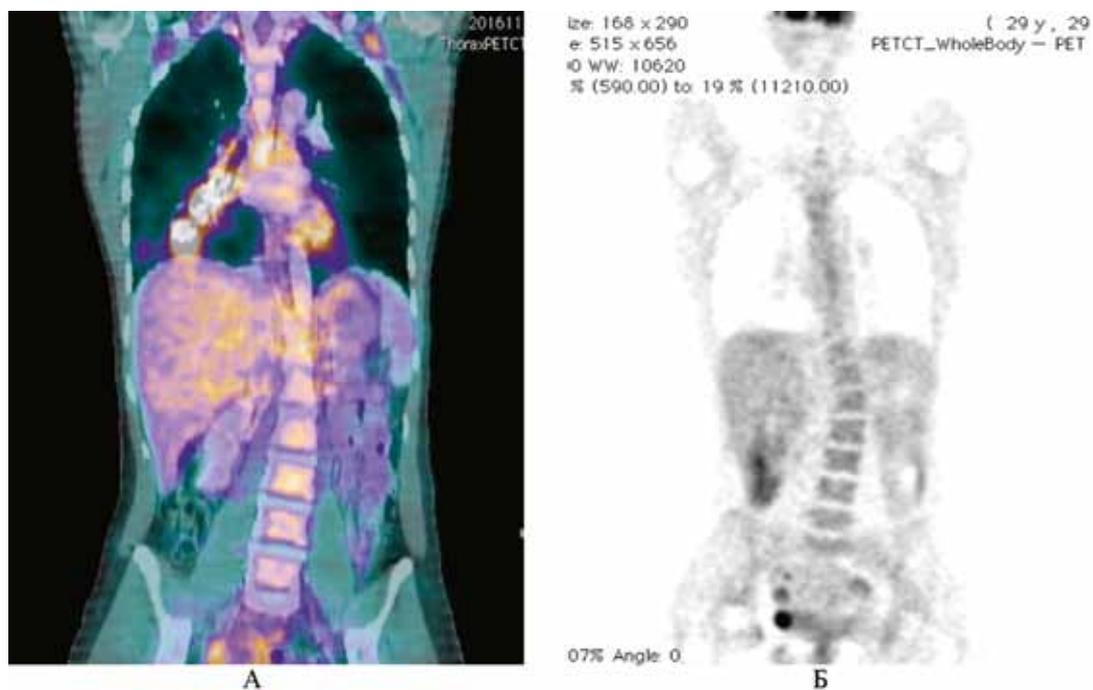


Рис. 1. ПЭТ-КТ обследование пациентки с аденокарциномой лёгкого: А — до начала лечения (ноябрь 2016), Б — на фоне терапии кризотинибом (май 2017)

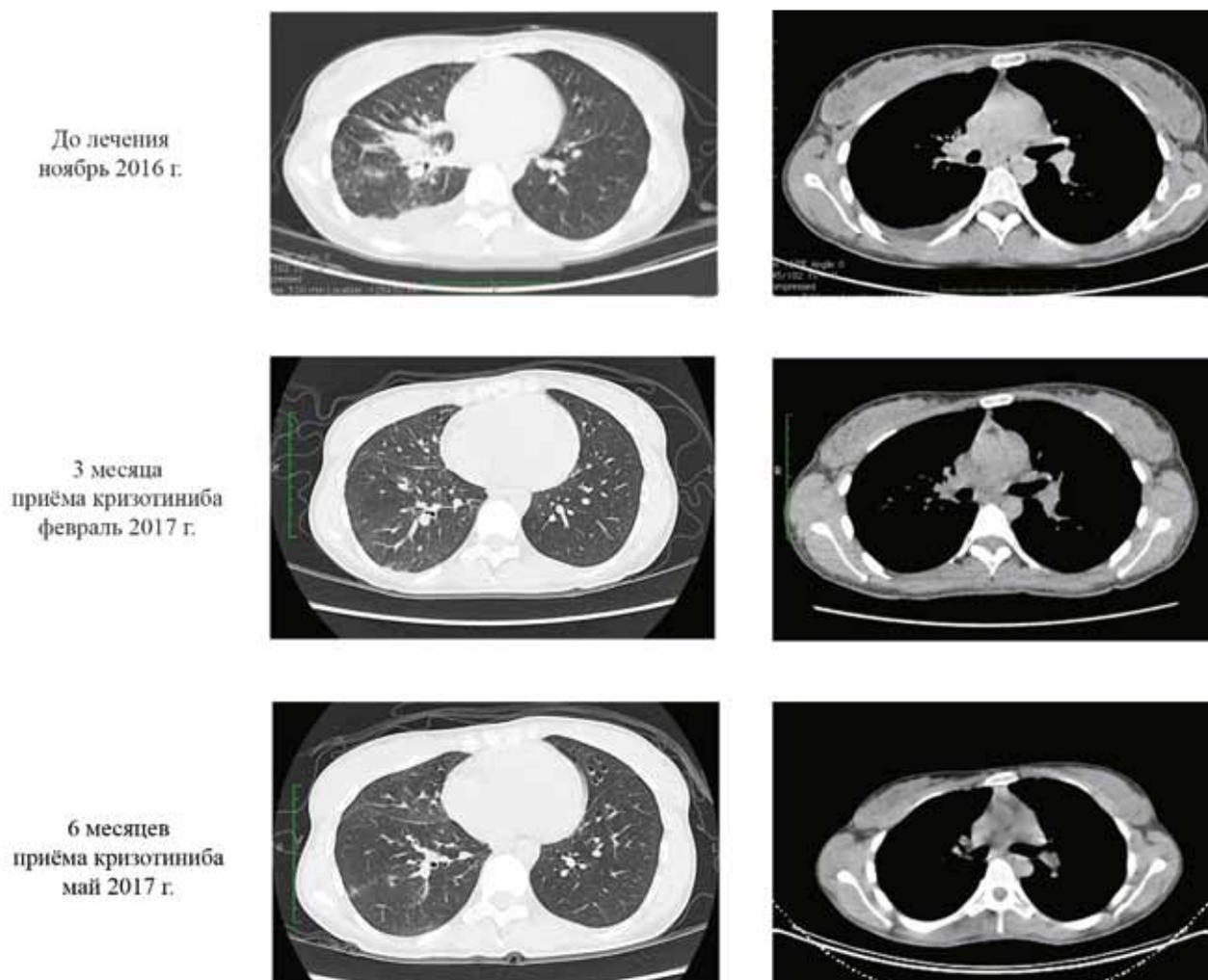


Рис. 2. Контрольные КТ-исследования с интервалом в 3 месяца

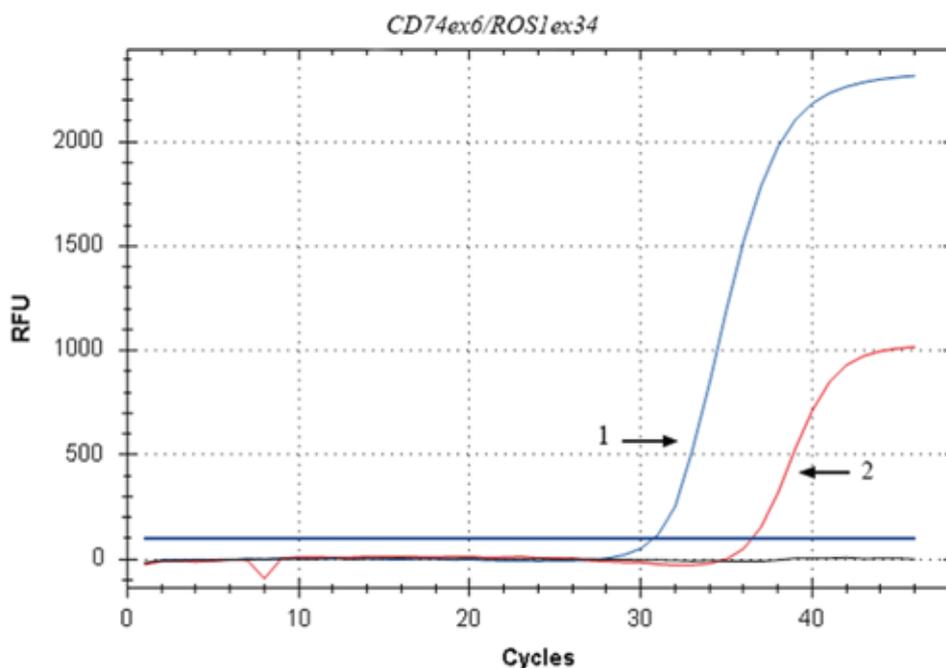


Рис. 3. ПЦР-тестирование транслокаций гена *ROS1*. Стрелками обозначены кривые амплификации химерного фрагмента *CD74ex6/ROS1ex34*: 1 — в первичной опухоли (до начала лечения кризотинибом, ноябрь 2016); 2 — в хирургически удалённом материале (после терапии кризотинибом, июнь 2017)

позволило назначить приём кризотиниба по 250 мг дважды в день, начиная с 8 декабря 2016 г. Контрольные КТ-исследования, выполнявшиеся каждые три месяца, демонстрировали положительную динамику в виде уменьшения размеров новообразований (рис. 2). В мае 2017 г. под контролем ПЭТ-КТ была выполнено повторное исследование, в результате которого был отмечен полный ответ на проводимую терапию (рис. 1, Б). Терапия ингибиторами тирозинкиназ практически никогда не приводит к полному уничтожению опухолевых клеток, поэтому даже столь выраженный ответ на лечение в подавляющем числе случаев неизбежно заканчивается прогрессированием заболевания [1, 2, 3]. В связи с этим в июне 2017 г. было принято решение произвести оперативное вмешательство. В НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова были выполнены торакотомия справа и нижняя билобэктомия с билатеральной лимфодиссекцией. Гистологическое исследование полученного оперативного материала подтвердило полный патоморфологический регресс опухоли в ответ на проведенную терапию (опухолевые клетки не обнаружены; края резекции бронха вне опухоли; лимфатические узлы без метастазов).

Полученный в ходе операции материал также был подвергнут генетическому исследованию: в нём отсутствовал феномен несбалансированной экспрессии *ROS1*, однако более чувствительный тест на присутствие ранее выявленного индивидуального варианта перестройки обнаружил

присутствие химерного транскрипта *CD74ex6/ROS1ex34*, хотя и в меньшем, чем до начала терапии, количестве (рис. 3). Так как данный результат свидетельствует о присутствии резидуальных опухолевых клеток в операционном материале, было принято решение назначить кризотиниб в качестве адъювантной терапии. Последующие контрольные исследования посредством компьютерной томографии не обнаружили никаких признаков возможного рецидива. На ноябрь 2017 года (5 мес. с момента операции и 12 мес. с момента постановки диагноза) пациентка жива, чувствует себя хорошо.

Представленный нами случай демонстрирует пригодность ПЦР-тестирования транслокаций в генах *ALK* и *ROS1* для мониторинга остаточных опухолевых клеток в операционном материале.

Работа поддержана Российским научным фондом (номер проекта 16-15-10396)

ЛИТЕРАТУРА

1. Bayliss R., Choi J., Fennell D. A. et al. Molecular mechanisms that underpin EML4-ALK driven cancers and their response to targeted drugs // Cellular and molecular life sciences. — 2016. — Vol. 73 (6). — P. 1209-1224.
2. Cha Y. J., Kim H. R., Shim H. S. Clinical outcomes in ALK-rearranged lung adenocarcinomas according to ALK fusion variants // Journal of translational medicine. — 2016. — Vol. 14 (1). — P. 296.
3. Heuckmann J. M. et al. Differential protein stability and ALK inhibitor sensitivity of EML4-ALK fusion variants //

- Clinical Cancer Research. — 2012. — Vol. 18 (17). — P. 4682-4690.
4. Kim H. et al. Detection of ALK gene rearrangement in non-small cell lung cancer: a comparison of fluorescence in situ hybridization and chromogenic in situ hybridization with correlation of ALK protein expression // Journal of Thoracic Oncology. — 2011. — Vol. 6 (8). — P. 1359-1366.
 5. Kohno T. et al. Beyond ALK-RET, ROS1 and other oncogene fusions in lung cancer // Translational lung cancer research. — 2015. — Vol. 4 (2). — P. 156.
 6. Iyevleva A.G., Raskin G.A., Tiurin V.I. et al. Novel ALK fusion partners in lung cancer // Cancer Lett. — 2015. — Vol. 362 (1). — P. 116-121.
 7. Wang R. et al. The use of quantitative real-time reverse transcriptase PCR for 5' and 3' portions of ALK transcripts to detect ALK rearrangements in lung cancers // Clinical Cancer Research. — 2012. — Vol. 18 (17). — P. 4725-4732.

Поступила в редакцию 15.02.2018 г.

*F.V. Moiseyenko^{1,4}, V.I. Tyurin², N.E. Levchenko²,
E.V. Levchenko², A.G. Iyevleva^{2,3}, E.N. Imyaninov^{2,3,4},
N.V. Mityushkina²*

Detection of residual lung cancer cells by PCR-based genetic testing for *ROS1*-translocation: case report

¹St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Medical Care (Oncology)

²N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology

³St. Petersburg State Pediatric Medical University

⁴I.I. Mechnikov North-West State Medical University St. Petersburg

A patient with lung cancer carrying *ROS1* translocation was treated by crizotinib and then subjected to surgery. Morphological analysis revealed pathologic complete response in surgically removed tissues, while PCR test provided convincing evidence for the presence of residual tumor cells. PCR analysis of lung cancer specific gene translocations allows carrying out highly sensitive and reliable monitoring of tumor disease during the course of treatment.

Key words: lung cancer, *ROS1*-translocation, crizotinib