
Проект LUCARD

Lung Cancer Residual Disease Study

Исследования взаимосвязи между наличием и уровнем циркулирующей опухолевой ДНК у пациентов с НМРЛ после радикального хирургического лечения и вероятности рецидива

Участники проекта:

**ООО «Национальный БиоСервис»
(СПб, Россия)**

Гордиев М.Г., к.м.н
Пруцкий В.Ю., к.м.н
Анисимов С.В., д.м.н
Гранстрем О.К., к.б.н

**РОНЦ им. Н.Н. Блохина
(Москва, Россия)**

Лактионов К.К., д.м.н., профессор
Казаков А.М., врач-онколог



Цели проекта LUCARD

Основные цели:

Оценить и продемонстрировать важность идентификации MRD* в качестве прогностического биомаркера у пациентов с операбельной формой немелкоклеточного рака легкого (II-IIIa стадия)

Изучить насколько часто MRD можно выявить по плазме крови пациентов, изначально классифицированных как MRD-отрицательных, а также определить связь между этими результатами и клинически/рентгенологически выявленными рецидивами и прогрессированием заболевания

Повышение
точности
прогнозирования
рецидива рака
легкого

**MRD – Minimal Residual Disease – минимальная остаточная болезнь. Определяется как наличие оцДНК в плазме крови через 5-8 дней после операции и в более поздние сроки.*

Цели проекта LUCARD

Дополнительные цели:

Оценить качественную и количественную корреляцию между генетическими вариантами, выявленными в следующей последовательности: предоперационная плазма -> опухолевая ткань -> послеоперационная плазма (все временные точки), для генов, ассоциированных с таргетной терапией

Оценить взаимосвязь между MRD+ и MRD- статусом и клиническими факторами: TNM, тип операции, гистологический тип опухоли, размер опухоли, локализация пораженных лимфатических узлов, статус курения

Оценить взаимосвязь между статусом MRD-, MRD+ и опухолевой мутационной нагрузкой (TMB, tumor mutations burden)

Улучшение
понимания
назначения и
эффективности
использования
таргетной
неoadъювантной и
адъювантной
терапии и
иммунотерапии

Дизайн исследования

Медицинские учреждения: 4-5

Пациенты: 200 (более 70 пациентов включены в исследование с февраля 2020 года)

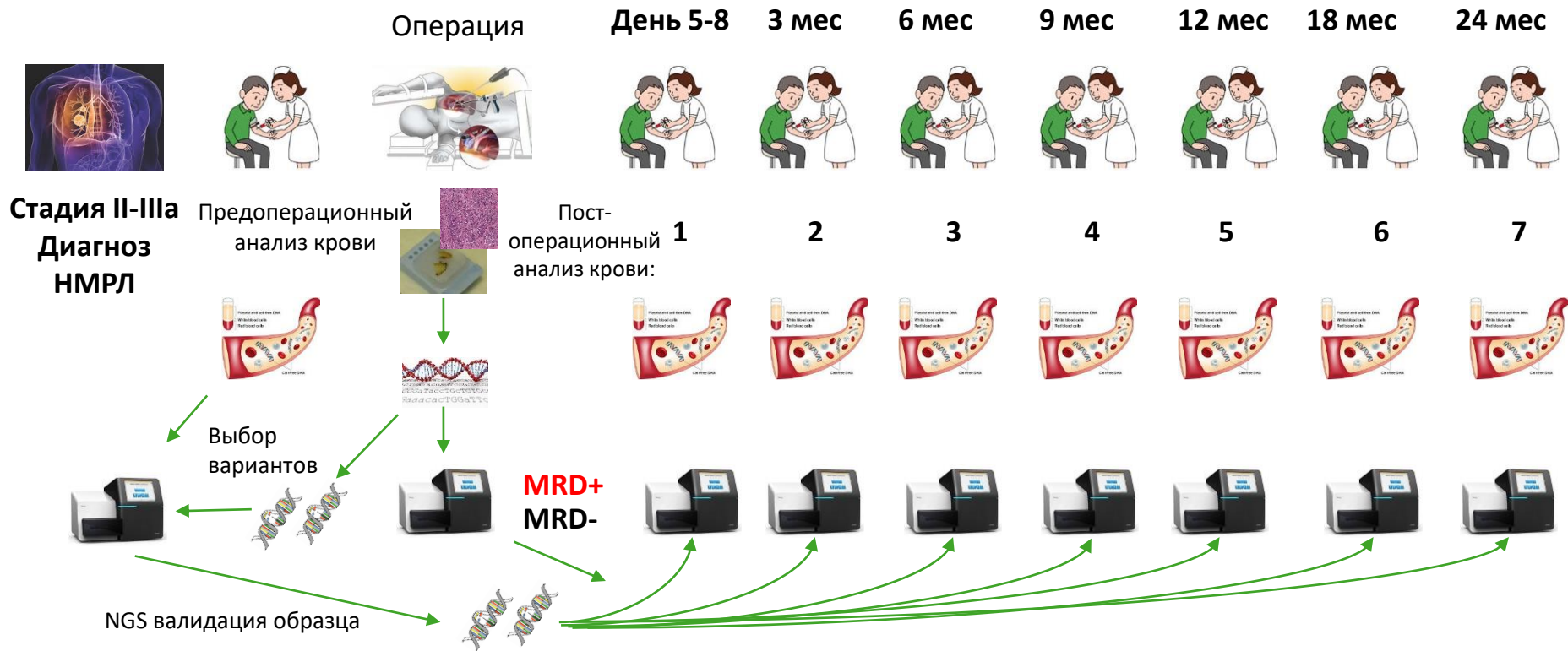
Критерии включения:

- ✓ пациенты с НМРЛ II-IIIa стадии (согласно 8-му изданию TNM), подходящие для первичного хирургического вмешательства
- ✓ пациенты со стадией Ib, выявленной во время операции, также будут включены в исследование, если по данным рентгенологического обследования стадия заболевания была определена как II-IIIa
- ✓ пациенты, получавшие и не получавшие неоадьювантную терапию (будет записан анамнез неоадьювантного лечения)
- ✓ Диагноз, основан на клинической картине и компьютерной томографии

Ведение пациентов: все пациенты проходят лечение по стандартному протоколу без каких-либо его изменений

Клинический мониторинг пациента: до 2 лет (КТ каждые 6 месяцев)

Дизайн молекулярного исследования



Преаналитические и аналитические процедуры полностью стандартизированы

NGS (секвенирование нового поколения)

- ✓ Образцы опухолевой ткани (хирургический материал) анализируются NGS (секвенированием нового поколения)
- ✓ Nimblegen SeqCap EZ Choice kit ("Roche") используется для обогащения мишеней
- ✓ Общее покрытие 3 Мб
- ✓ Среднее покрытие 500x

Изготовленная на заказ панель NGS рака легких включает гены с соматическими мутациями, типичными для НМРЛ

AKT1, BRAF, DDR2, EGFR, HER2, KRAS, MEK1, NRAS, PIK3, PTEN, NTRK1,2,3(Rearrangement), TP53, CDKN2A, ALK (Rearrangement), Met (Amplification and exon 14 skipping), RET (Rearrangement), ROS1a (Rearrangement), FGFR3 (Fusions), RICTOR amplification, SOX2 amplification, FGFR1-2 (+Amplification), XPC, WT1, NF1, KIT, TSC1, MSH2, GPC3, BRCA1, BRCA2 (+Amplification), ERBB2, MAP2K1.

- ✓ Гены с перестройками имеют полное покрытие. Другие гены имеют экзоны, покрывающие + 100bp фланкирующих интронов

NGS. Тканевые панели и секвенирование

ТМВ + MSI панель (экзоны включены)

CD79A,, EPHB1,, EPHB4,, GRM8,, LIFR,, LPHN3,, LPP,, MYH9NCOA1,, NCOA2,, PMS1,, POT1POU5F1,, SOX2CD79B, SSX1, STK36, WAS, WHSC1, WRN, GNAS, HRAS, ATRX, EPHB6, HCAR1, HFN1A, BAP1, CDC73, CDK12, CDH1, ERCC1, HIF1A, ERCC3, HLF, LRP18, LTF, NCOA4, NFK81, PPARG, PPP2R1ASUFU, CDH11, SYK, XPA, IDH1, CDKNLTK, NFK82, PRDM1, SYNE1, XPC, XP01, IDH2, JAK2, CDKN2BCDH2, ERCC4HOOK3, ERCC5, HSP90AA1, MAFNIN, PRKAR1A, TAF1, XRCC2, KOR, CEBPA, CDH20, CHEK1, CDH5, CDK8, ERGETS1, HSP90A81, ICK, MAF8, MAGEA1, NKX21, NLRP1, PRKDC, PSIP1, TAF1L, TAL1, ZNF384, ZNF521, KIT, KRAS, CHEK2, CREBBP, CDKN2C, ETV1, IGF1R, MAGI1, CRBNEXT1, FANCC, IGF2R, IKZF1, IL2, MAML2, MARK1, MARK4, M8D1, NOTCH4, NSD1, NUMA1, PAK3, PARP1, PAX3, PTGS2, PTPRD, RECQL4, REL, RHOH, T8X22, TCF12, TCL1A, TET1, TFE3, ABL1, AKT1, AR, AXL, BRAF, MAP2K1, MAP2K2, MET, MTOT, MTC, DNMT3A, CIC, ETV4, IGF2, MALT1, FANCAKCS1B, MAP3K7, NUP214, PTPRT, RALGDS, TCF3, TCF7L1, AKT2, AKT3, MAP2K4, MAPK1, FANCD2, CMPK1, EXT2, IKBKB, FAM123B, IKBKE, MAPK8, NUP98, RARA, TCF7L2, ALK, FBXW7, COL1A1, MLH1, CREB1, FANCF, MPL, MSH2MSH6, CRKL, FANGCIL21R, FANCI, IL6ST, MCL1, PAXS, NBN, CRTC1, FAS, IL7R, MDM2, PAX?, RNASEL, RNF2, TGF8R2TGM7, CBL, MYCNFN1, CSMD3, CYP2D6, DEK, DST, FLCN, FLT4, FOXP1, G6PD, ING4, IRF4, ITGA9, JUN, KAT6A, MDM4MEN1, MLL2, MRE11AMTR, MTRR, PAX8, P8RM1, PDGF8, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R2, RNF213, RPS6KA2, SAMD9, SOHO, SEPT9, SGK1, TH8S1, TIMP3, TNFAIP3, TRIM24, TRIM33, TRIP11, CCND1, CDK4, CDK6, EGFR, ESR1, EZH2, FGFR1, NFE2L2, NRAS, NTRK1, PDGFRB, RAF1, ROS1, SF3B1, NF2, CTNNA1, FH, NOTCH1, CTNNB1, NOTCH2, CYLD, FLI1, FLT1, IRS2, ITGA10, MIF, MLL, P8X1, PDE4DIP, RRM1, RUNX1T1, TLR4, TLX1, CSF1R, DDR2, NTRK3, CYP2C19, PDGFRA, NPM1, PALB2, FN1, ITGB2, MLL3, PER1, PIK3R1, DAXX, FOXL2, ITGB3, MLLT10, PGAP3, SBDS, SDHA, TNFRSF14, TNK2ERBB2, PIK3CA, PMS2, DCC, JAK1, MMP2, PHOX28, SDHB, TOP1, ERBB3, ERBB4, PIK3CB, PTCH1, O082, FOXO1, FOXO3, JAK3, MN1, PIK3C28, SDHD, TPR, ERCC2, PTPN11, PTEN, DDIT3, RADSO, DICER1, FOXP4, RET, RB1, RUNX1, DPYD, FZR1, KAT6B, SETD2, GATA1, KDM5C, KDM6A, MUC1, MUTYH, PIM1, PKHD1, SH2D1A, SMAD2, TRRAP, TSHR, FGFR2, SMO, SMARCA4, EML4, KEAP1, BRCA, 1, BRCA, 2, MY8, PLAG1, SMAD4, U8R5, FGFR3, FGFR4, SRC, SMARCB1, EP300, GATA2, GATA3, KLF6, MYCL1, PFCG1, SMUG1, UGT1A1, FLT3, ARID1A, STK11, EP400, GPR124, LCK, MYD88, MYH11, PLEKHGS, PML, SOCS1, SOX11, USP9X, VHL, GNA11, GNAQ, ASXL1, ATM, ATR, TET2, EPHA3, GDNF, LAMP1, TP53, EPHA7, TSC1, A8L2, ACVR2A, ADAMTS2, AFF1, AFF3, AKAP9, APC, ARID2, ARNT, ATF1, AURKA, AURK8, AURKC, 8A13, 8CL10, 8CL11A, 8CL118, 8CL2, 8CL2L1, 8CL2L2, 8CL3, 8CL6, 8CL9, 8CR, 81RC2, 81RC3, 81RC5, 8LM, 8LNK, 8MPR1A, 8RD3, 8TK, 8U818, CARD11, CASCS, CCND2, CCNE1, TSC2, BAT26, BAT25, BAT34C4, BAT40, D10S196, D13S153, D13S175, D17S250, D17S588, D17S787, , D18S55, , D18S61, , D18S64, , D18S69, D20S100, D2S123, D3S1029, D5S107, D5S346, D7S519, D8S87, NR21, NR22, NR24, MONO-27.

ТМВ панель фокусируется на:

Онкогенах, супрессорах опухолей, генах адгезии, генах ангиогенеза, генах апоптоза, генах клеточного цикла, генах репарации повреждений ДНК, генах эпигенетики, генах гипоксии, генах иммунного ответа, генах воспалительного ответа, генах метаболизма, генах сплайсинга мРНК, генах сигнальной трансдукции, факторах транскрипции, генах убиквитинирования, генах развернутого белкового ответа, компонентах главного комплекса гистосовместимости, механизмах презентации антигенов, контрольных генах

Подходы к секвенированию плазмы

- ✓ Индивидуальный молекулярный профиль будет определен для каждого пациента с использованием кастомизированной NGS панели, сформированной на основании анализа опухолевой и нормальной ткани этого пациента
- ✓ Образцы плазмы (до и после операции) анализируются Illumina NGS (технология Ampliseq) для оценки как минимум 15 индивидуальных соматических мутаций, обнаруженных в соответствующих образцах тканей
- ✓ Приблизительное среднее покрытие этих мутаций будет составлять 20000x-30000x
- ✓ При отсутствии сенсibiliзирующих мутаций для анализа будут выбраны другие соматические мутации

Для того, чтобы исключить герминальные мутации при выборе вариантов анализа плазмы используются следующие базы данных:

- gnomAD, Профессиональная база данных HGMD, ClinVar, TP53 база данных мутаций, LOVD.

Будет выполнен дополнительный NGS анализ нормальной прилегающей ткани или образцов крови пациента, чтобы исключить «загрязнение» герминальными мутациями

Интерфейс портала анализа данных LUCARD

← → ↻ oncotarget.ru/projects/841 🔍 ☆

LUCARD Найдено: 17

Все 11
Локальная выборка 1
Положительные 1
VUS 0
Отрицательные 0
Класс 4-5 0
Класс 3 0
HGMD 10
ClinVar 0
Неопределённые 0
Без аннотации 11 / 234

Образцы 1 / 11 |

Фильтры:
 Локал.
 3UTR
 5UTR
 downstream
 exon:splice site
 intergenic
 intron
 splice site
 unknown
 upstream
 exon
 ncRNA exon
 ncRNA intron
 unknown
 gnomAD gMAX ≤ 0.001%
 Патогенность Любой класс

Образец	hg19	Ген	Транскрипт	Экзон	кДНК	Белок	RD	AD	AB	HZ	Функция	Локал.	Сплайсинг	gnomAD, gMAX	dbSNP	OMIM	Фенотип HGMD	HGMD	ClinVar	COSMIC	SIFT	PolyPhen HDIV	PolyF HVAR
L5.filtered	2:29432464	ALK	NM_004304.4	25/28	c.3836+188T>A		69	58/11	0.16	GATKcutoffSNP		intron				105590							
L5.filtered	2:29510627	ALK	NM_004304.4	9/28	c.1817+9127C>T		51	28/23	0.45	het		intron				105590							
L5.filtered	2:29510632	ALK	NM_004304.4	9/28	c.1817+9117_1817+9121delG		53	28/25	0.47	het		intron				105590							
L5.filtered	2:29510643	ALK	NM_004304.4	9/28	c.1817+9111A>G		50	29/21	0.42	het		intron				105590							
L5.filtered	2:29516710	ALK	NM_004304.4	9/28	c.1817+3043_1817+3044insC		46	0/46	1	hom		intron		rs6146694	105590								
L5.filtered	2:29847001	ALK	NM_004304.4	3/28	c.952+7071_4_952+70715insT		28	2/17	0.25	het		intron		rs70958272	105590								
L5.filtered	2:42412957	EML4	NM_019063.4	1/22	c.25+16181G>A		72	36/36	0.5	het		intron				607442							
L5.filtered	2:42491243	EML4	NM_019063.4	5/22	c.642-578_642-577dupTT		50	3/32	0.91	???		intron		rs780159058	607442								
L5.filtered	2:42491243	EML4	NM_019063.4	5/22	c.642-577delT		50	3/15	0.83	???		intron		rs9309080	607442								
L5.filtered	6:117671850	ROS1	NM_002944.2	26/42	c.4321+2302dupA		92	22/29	0.57	???		intron		rs35081118	165020								
L5.filtered	6:117671850	ROS1	NM_002944.2	26/42	c.4321+2302delA		92	22/41	0.65	???		intron		rs548987983	165020								
L5.filtered	6:117722966	ROS1	NM_002944.2	6/42	c.577+1334_577+1335delTT		73	45/28	0.38	het		intron				165020							
L5.filtered	7:55242467	EGFR	NM_005228.4	19	c.2238_2252del	p.746_751del	77	67/10	0.13	GATKcutoffIndel	in-frame del	exon		rs121913442	131550								
L5.filtered	10:43598648	RET	NM_020975.4	3/19	c.625+571G>A		37	9/28	0.76	het		intron		rs914251067	164761								
L5.filtered	10:43603165	RET	NM_020975.4	5/19	c.1063+1149_1063+1150delC		61	5/65	0.08	GATKcutoffEndOfReads:GAT		intron				164761							
L5.filtered	15:88472394	NTRK3	NM_001012338.2	17/19	c.2133+28T>A		31	11/20	0.65	het		intron				191316							
L5.filtered	17:7577121	TP53	NM_000546.5	8	c.817C>T	p.R273C	41	30/11	0.27	het	missense	exon		NFE-0	rs121913343	191170	Li-Fraumeni syndrome	DM	Pathogenic/Likely pathogenic	Vulva	D	D	D

Ключевые особенности проекта:

- ✓ Разрабатываемый подход имеет потенциал внедрения в клинику доступного для широкого использования прогностического теста
- ✓ Возможность оперативного получения лечащим врачом результатов тестирования для выбора оптимальной тактики лечения пациента
- ✓ Масштабируемость технологии
- ✓ Возможность включения подхода выявления MRD в существующие стратегии неоадьювантной терапии

Стратегическая цель проекта: внедрение удобного для использования и недорогого метода для предсказания и выявления рецидива рака легких