

# Vai trò của Xét nghiệm EGFR trong chẩn đoán và điều trị, định hướng xét nghiệm khi bệnh nhân sử dụng TKIs bước 1 tiến triển

# **Nội dung**

- 1. Đột biến EGFR: khái niệm và vai trò của việc xét nghiệm tìm đột biến trong chẩn đoán và điều trị**
- 2. Định hướng xét nghiệm khi bệnh nhân sử dụng TKI bước 1 tiến triển**

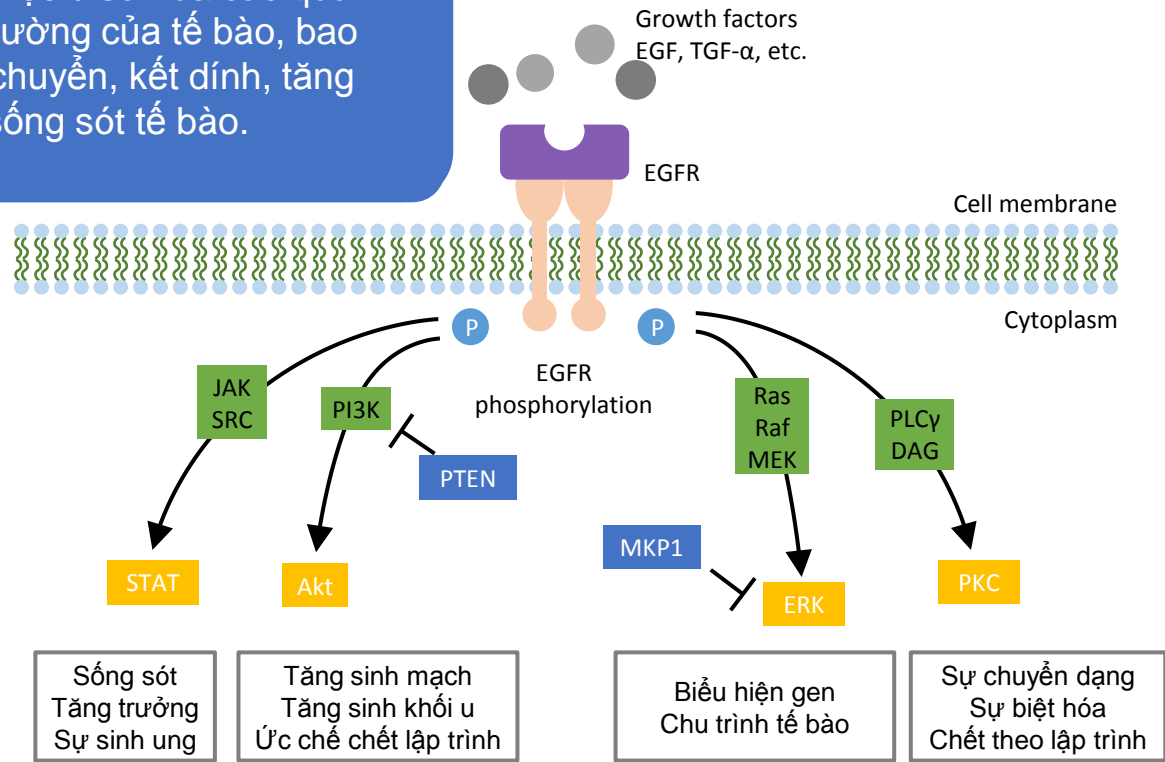
# **Nội dung**

**1. Đột biến EGFR: khái niệm và vai trò của việc xét nghiệm tìm đột biến trong chẩn đoán và điều trị**

**2. Định hướng xét nghiệm khi bệnh nhân sử dụng TKI bước 1 tiến triển**

# EGFR điều hòa sự tăng sinh và sống sót của tế bào

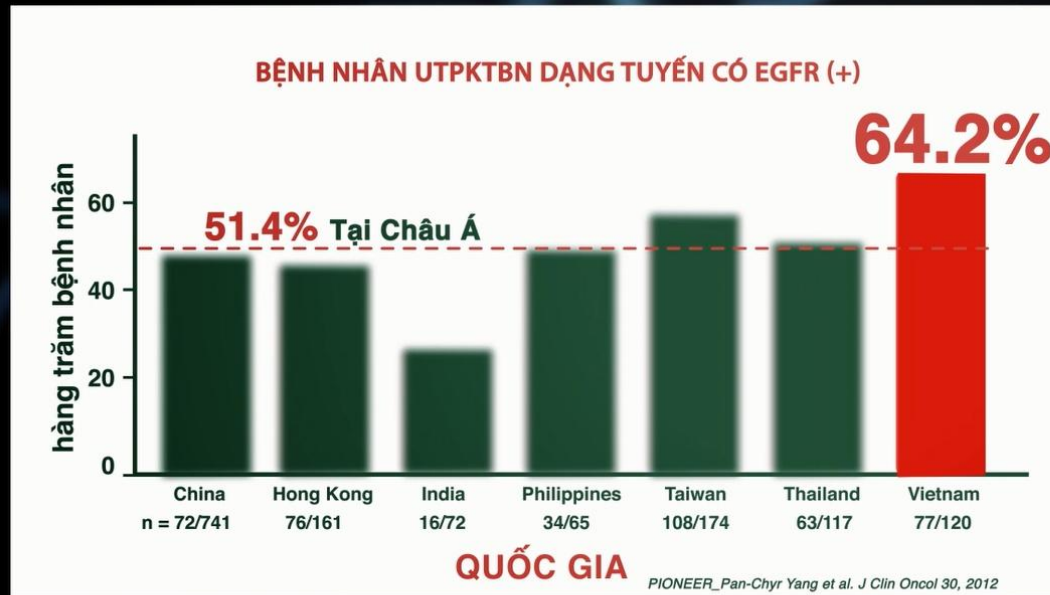
Con đường EGFR có vai trò quan trọng trong việc điều hòa các quá trình bình thường của tế bào, bao gồm: sự di chuyển, kết dính, tăng sinh và sự sống sót tế bào.



# ĐỘT BIẾN EGFR THƯỜNG GẶP (50%)

- Phụ nữ
- Không hút thuốc
- Người châu Á

## NGHIÊN CỨU PIONEER



EXONS

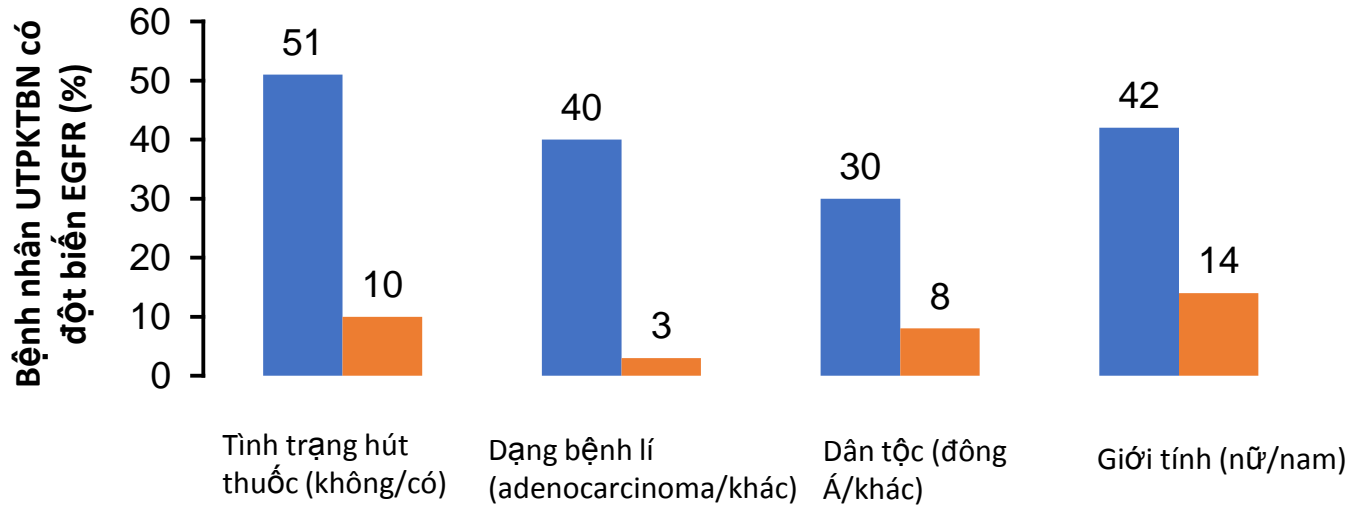
18

19

20

21

# Tỉ lệ đột biến gen EGFR khác nhau ở những nhóm bệnh nhân khác nhau

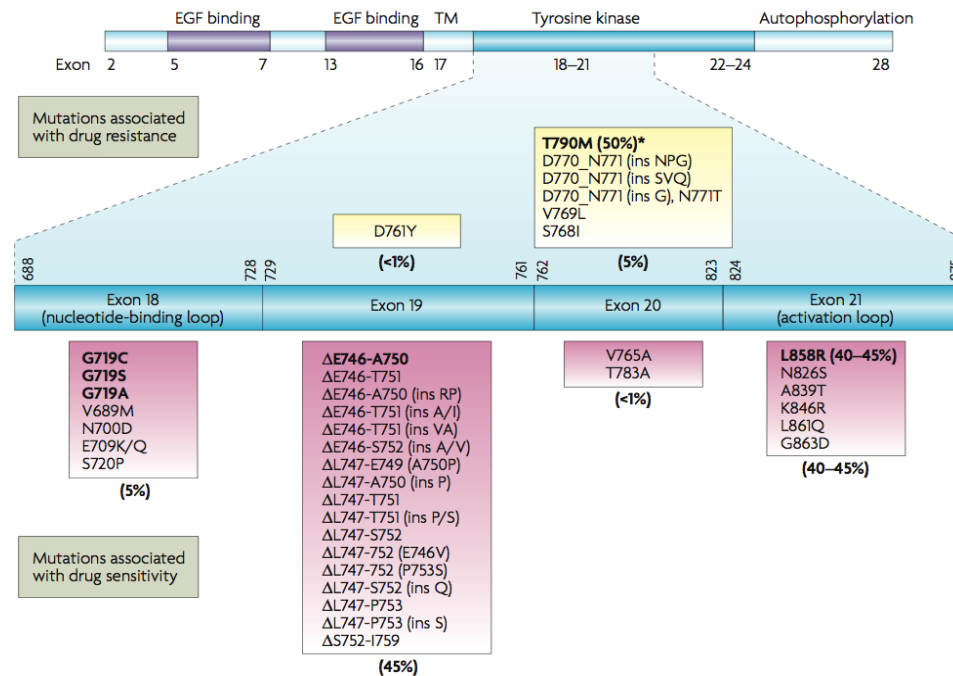


- Khoảng 30-50% bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến triển ở dân tộc châu Á và 15% (7-23%) dân tộc phương Tây có đột biến EGFR
- Xét nghiệm đột biến gen EGFR nên được thực hiện cho bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến triển, liên quan đến giới tính, lịch sử hút thuốc hoặc những yếu tố nguy cơ khác.

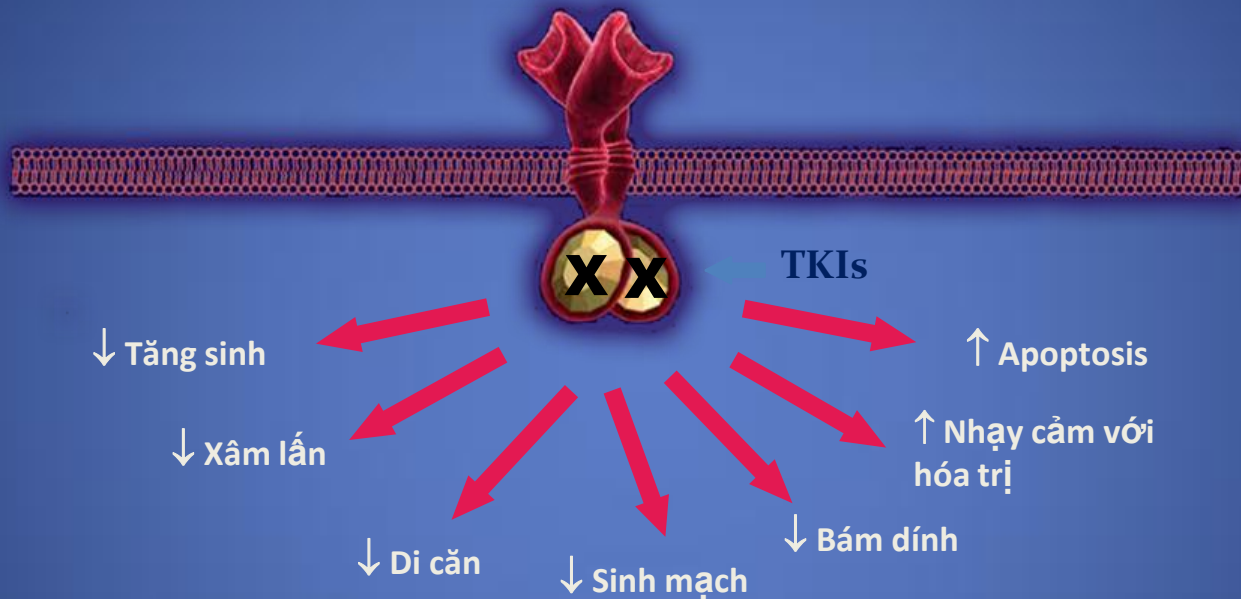
1. Shigematsu H, et al. J Natl Cancer Inst 2005;97:339-46; 2. Rosell R, et al. Lancet Oncol 2012;13:239-46; 3. Shi Y, et al. J Thorac Oncol 2014;9:154-62; 4. D'Angelo SP, et al. J Clin Oncol 2011;29:2066-70; 5. Sekine I, et al. Br J Cancer 2008;99:1757-62; 6. Lindeman N, et al. J Thorac Oncol 2013;8:823-59.

# Biểu hiện gen EGFR được tìm thấy ở nhiều loại ung thư, trong đó có UTPKTBN

- Đột biến gen EGFR là một trong những sự thay đổi gen liên quan mật thiết đến bệnh UTPKTBN.
- Đột biến xảy ra ở vùng tyrosine kinase của gen EGFR làm tăng hoạt động của con đường tín hiệu liên quan đến sự sống sót của tế bào. Dẫn đến kết quả làm ảnh hưởng đến sự tăng sinh, xâm lấn, sống sót và di căn của tế bào ung thư.



# TKIs ức chế mạnh EGFR



TKIs cạnh tranh với ATP gắn vào vùng tyrosine kinase → ngăn sự phosphoryl hóa → ức chế dẫn truyền tín hiệu nội bào



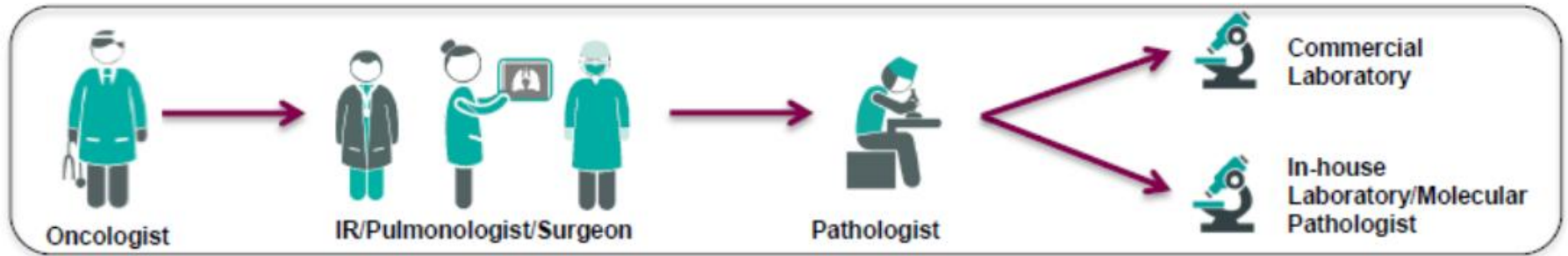
# Tình trạng đột biến gen EGFR tiên đoán khả năng đáp ứng với EGFR-TKIs

- Đột biến EGFR tăng tín hiệu sống sót và hạn chế chết theo lập trình của tế bào ung thư
- Tế bào có đột biến gen EGFR có xu hướng phụ thuộc vào tín hiệu qua con đường EGFR để sống sót

Đột biến EGFR	Yếu tố liên quan
Mất đoạn ở exon 19 và đột biến ở exon 21	<ul style="list-style-type: none"><li>• Liên quan đến vị trí gắn kết với ATP</li><li>• Dẫn đến kết quả là phân tử protein bị đột biến, và có ái lực với kinase</li><li>• Tiên đoán khả năng đáp ứng nhạy với liệu pháp điều trị EGFR-TKI</li></ul>
Chèn đoạn ở exon 20	<ul style="list-style-type: none"><li>• Liên quan đến khả năng gắn kết EGFR-TKI và có ái lực tương đương với dạng EGFR hoang dại</li><li>• Liên quan đến việc đề kháng EGFR-TKI</li></ul>
Đột biến hiếm (ví dụ như T790M denovo)	<ul style="list-style-type: none"><li>• Liên quan đến tiên lượng kém về đáp ứng EGFR-TKI</li></ul>

1. Gerber, et al. ASCO educational book 2014; 2. Mok T, et al. N Engl J Med 2009;361:947–57; 3. Maemondo T, et al. N Engl J Med 2010;362:2380–8; 4. Misudomi T, et al. Lancet Oncol 2010;11:121–8; 5. Zhou C, et al. Lancet Oncol 2011;12:735–42; 6. Rosell R, et al. Lancet Oncol 2012;13:239–46; 7. Greulich H, et al. PLoS Med 2005;11:e313; 8. Arrieta O, et al. Lung Cancer 2015;87:169–75; 9. Woo H, et al. Invest New Drugs 2014;32:1311–5; 10. Li H, et al. Onco Targets Ther 2014;7:513–24.

# Quy trình thực hiện xét nghiệm thông thường



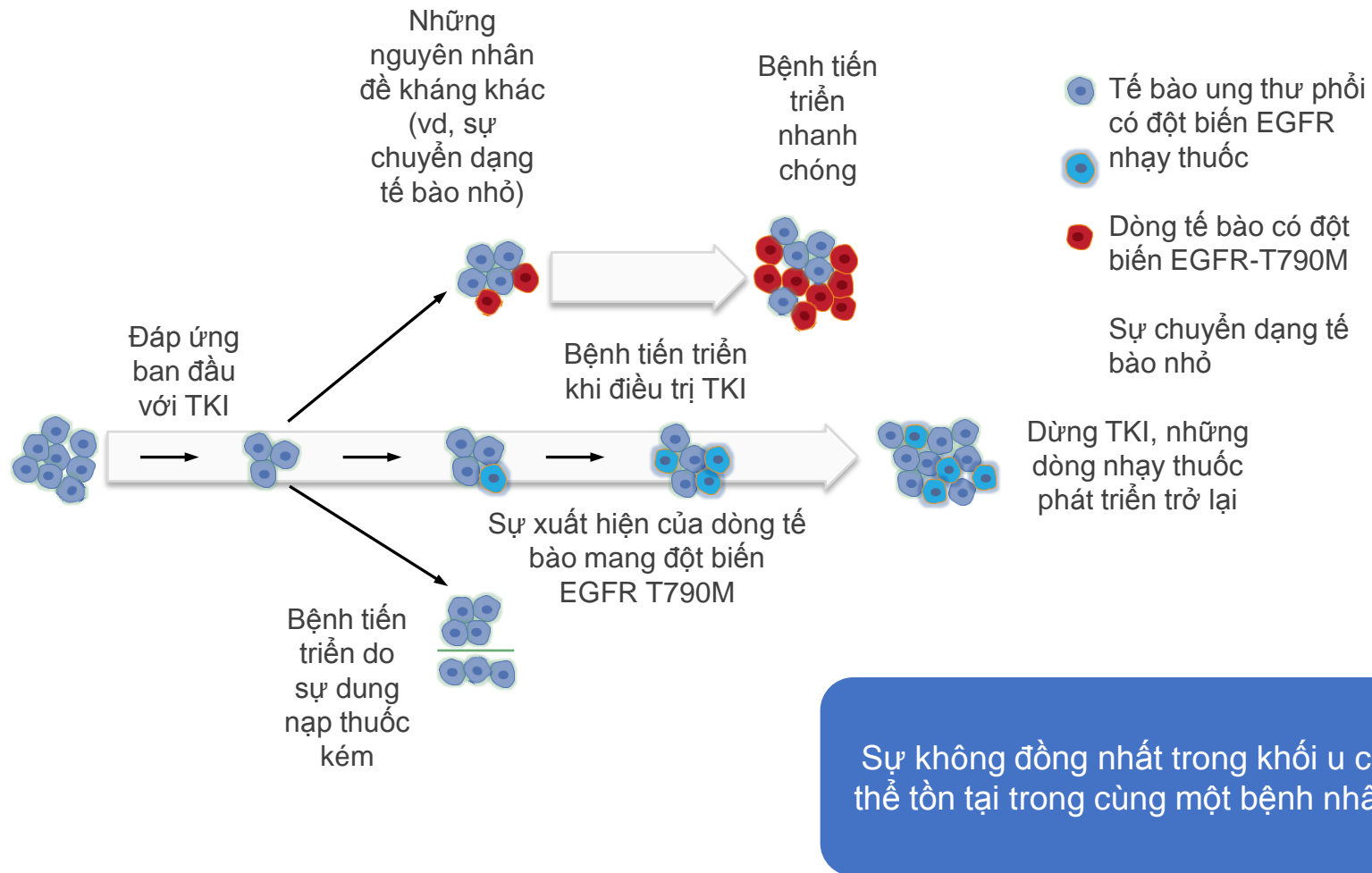
- Các bác sĩ ung thư / bác sĩ hô hấp cho những chẩn đoán ban đầu
- Bác sĩ nội soi / ngoại lồng ngực thực hiện sinh thiết mẫu bệnh phẩm
- Bác sĩ giải phẫu bệnh xác định bệnh bằng XN MBH hoặc TBH
- Bác sĩ sinh học phân tử/ Bác sĩ giải phẫu bệnh thực hiện xét nghiệm phát hiện đột biến EGFR

# **Nội dung**

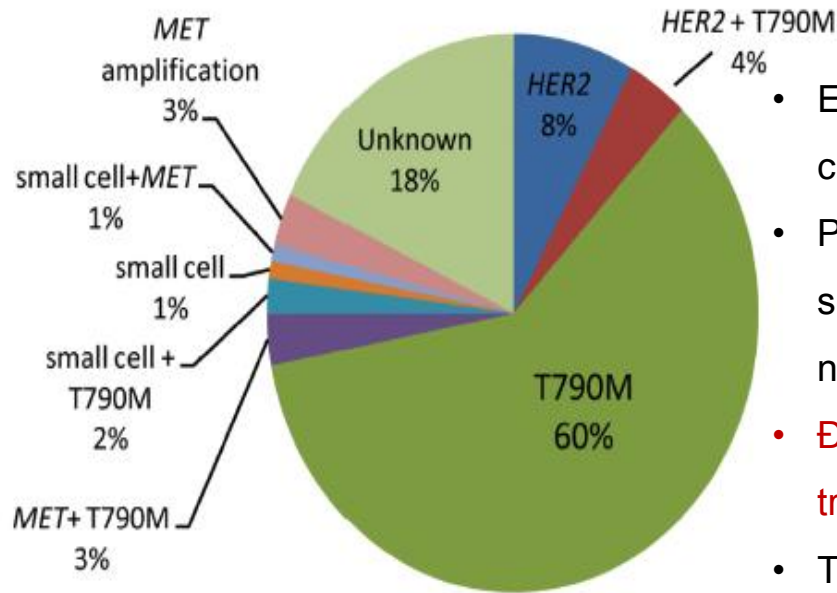
1. Đột biến EGFR: khái niệm và vai trò của việc xét nghiệm tìm đột biến trong chẩn đoán và điều trị

**2. Định hướng xét nghiệm khi bệnh nhân sử dụng TKI bước 1 tiến triển**

# Đề kháng EGFR-TKIs xuất hiện sau một thời gian điều trị



# Các loại đột biến EGFR liên quan đến cơ chế đề kháng TKI

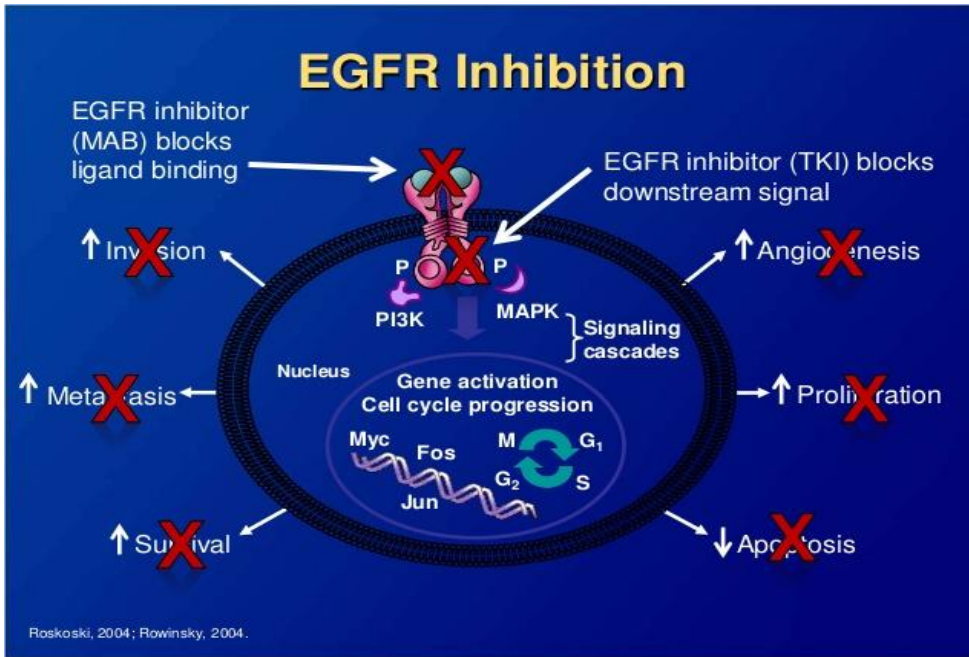


- EGFR-TKIs được đề xuất là liệu pháp điều trị bước 1 cho bệnh nhân UTPKTBN có đột biến EGFR
- Phần lớn bệnh nhân UTPKTBN được điều trị với TKIs sẽ xuất hiện tình trạng kháng thuốc. PFS trung bình của những bệnh nhân này là 8 – 14 tháng
- Đột biến T790M là nguyên nhân chính của khoảng 60% trường hợp kháng TKIs
- Tỷ lệ phát hiện đột biến T790M trong lần xét nghiệm trước điều trị TKIs là rất thấp (T790M denovo)

1. Reck at a. Ann Oncol. 2014 Sep;25 Suppl 3:iii27-39;
2. Langer CJ. J Clin Oncol 2013;27:3303–6
3. Yu HA et al. Clin Cancer Res 2013;19:2240–2247;
4. Yu HA et al. Ann Oncol 2014;25:423–428;

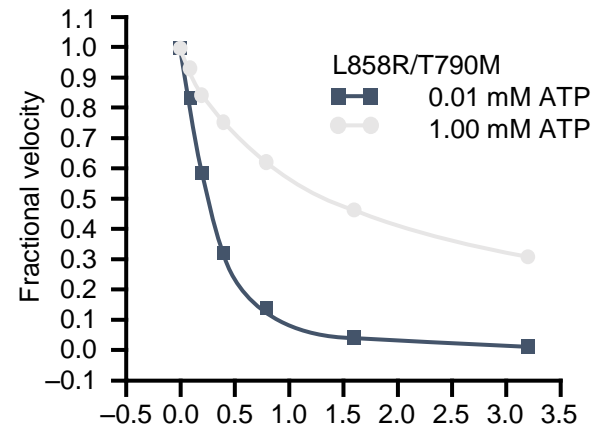
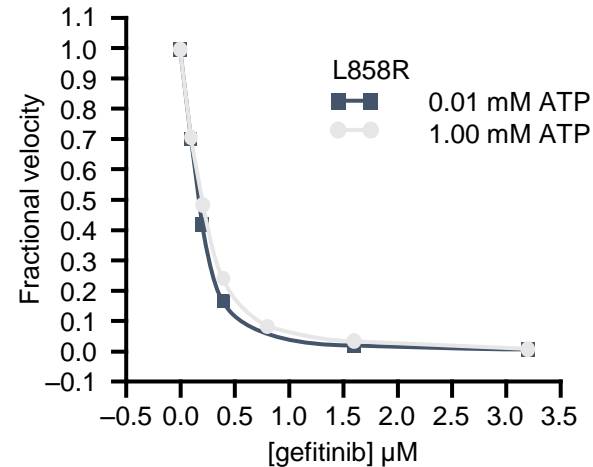
# Đột biến T790M gây ra tình trạng kháng EGFR-TKIs như thế nào?

## Ngăn cản sự gắn kết của EGFR-TKIs



Đột biến T790M làm giảm sự hình thành gắn kết sớm với EGFR-TKI

## Gia tăng ái lực với ATP



Đột biến T790M tăng ái lực của EGFR với ATP, từ đó làm giảm hoạt động của EGFR-TKI

# **Xét nghiệm phát hiện đột biến EGFR T790M**

## **Xét nghiệm bước 2**

- Xét nghiệm đột biến EGFR T790M có thể được yêu cầu trong trường hợp lựa chọn liệu pháp điều trị bước 2
- Tất cả các bệnh nhân đều đã được xác định dương tính với xét nghiệm đột biến EGFR trước đó và đã trải qua liệu pháp EGFR-TKI bước 1

# Những bệnh nhân nào nên được thực hiện xét nghiệm tìm đột biến?

## Xét nghiệm đột biến EGFR

- Tất cả những bệnh nhân có chẩn đoán ban đầu là UTPKTBN giai đoạn tiến triển
- Những bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến triển đã qua điều trị với hóa trị

## Xét nghiệm đột biến T790M

- Tất cả những bệnh nhân UTPKTBN tiến triển sau EGFR-TKI, ví dụ như: erlotinib, gefitinib



# Những loại mẫu bệnh phẩm nào nên được dùng để thực hiện xét nghiệm tìm đột biến?

## Xét nghiệm đột biến EGFR

- Mẫu sinh thiết ban đầu nên được dùng cho xét nghiệm tìm đột biến EGFR

## Xét nghiệm đột biến T790M

- Mẫu mới thu nhận sau giai đoạn bệnh tiến triển được dùng để xét nghiệm tìm đột biến T790M
- Mẫu sinh thiết ban đầu **KHÔNG** được dùng cho xét nghiệm này vì nó không phản ánh được tình trạng kháng EGFR-TKIs

# Mẫu máu được sử dụng khi nào?

- Mặc dù mẫu mô sinh thiết là loại mẫu tiêu chuẩn vàng cho xét nghiệm đột biến EGFR trong UTPKTBN, nhưng mẫu máu dùng để tách chiết ctDNA cũng là một lựa chọn thay thế
- Mẫu máu có thể được sử dụng trong các trường hợp sau:

## Xét nghiệm đột biến EGFR

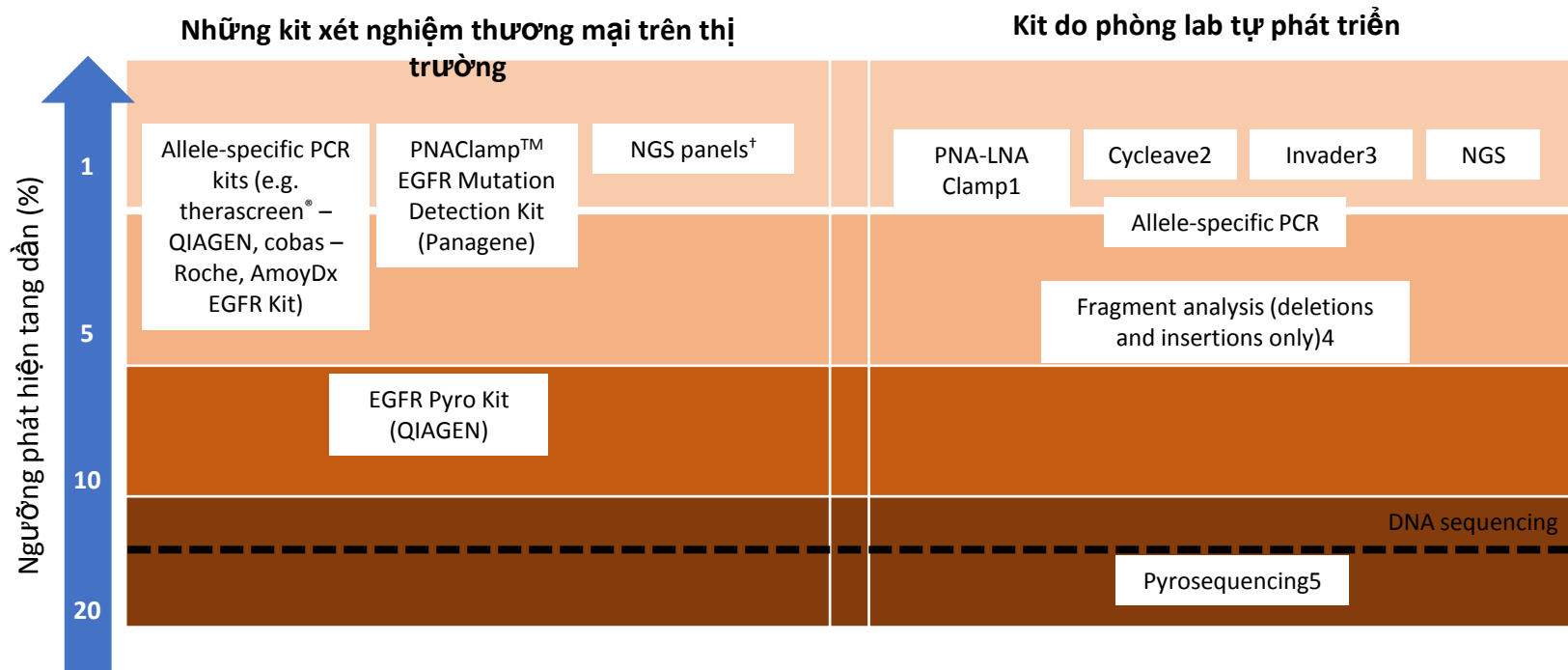
- Mẫu mô sinh thiết / tế bào học không đủ tiêu chuẩn
- Bệnh nhân không thể trải qua thủ thuật sinh thiết mô / tế bào học

## Xét nghiệm đột biến T790M

- Bệnh nhân không thể trải qua thủ thuật sinh thiết mô / tế bào học vì giai đoạn bệnh tiến triển
- Mẫu mô sinh thiết / tế bào học mới thu nhận trong giai đoạn bệnh tiến triển không phù hợp để thực hiện xét nghiệm tìm đột biến T790M

# Độ nhạy của các xét nghiệm đột biến EGFR

- Những phương pháp khác nhau có ngưỡng phát hiện khác nhau
- Phương pháp càng nhạy, khả năng phát hiện đột biến càng tốt và có thể được dùng trên tất cả các loại mẫu bệnh phẩm khác nhau với số lượng tế bào u khác nhau



LOD; limit of detection

\*This list is not comprehensive and only a selection of all available methods are listed above.

†e.g. TruSight tumour sequencing panel, Illumina: GeneRead panels, Qiagen: IonAmpliSeq cancer panels, Life Technologies

1. Nagai Y, et al. Cancer Res 2005;65:7276–7282; 2. Yatabe Y, et al. J Mol Diag 2006;8:335–341

3. Naoki K et al. Int J Clin Oncol 2011;16:335–344; 4. Molina-Vila M et al. J Thorac Oncol 2008;3:1224–1235

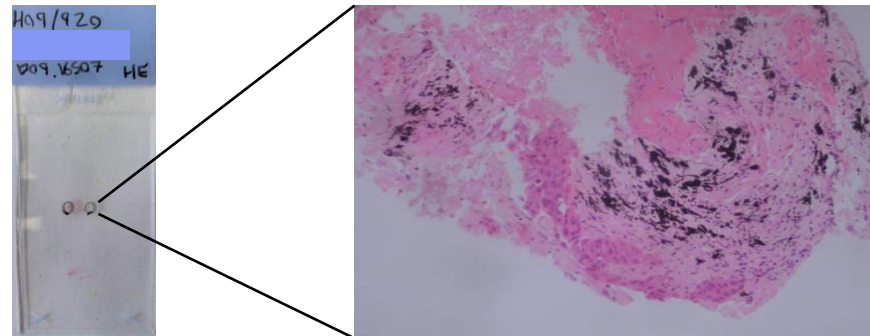
5. Dufort S et al. J Exp Clin Cancer Res 2011;30:57

# Những yếu tố ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm

## Thách thức đối với mẫu mô sinh thiết

- Vị trí sinh thiết
- Kích thước mẫu sinh thiết; thiếu mô là một trong những nguyên nhân chính trong hầu hết các trường hợp
- Kỹ thuật cố định mẫu (quá trình loại canxi, cố định mẫu, nhiệt độ cao)
- Tỷ lệ tế bào u
- Kỹ thuật xét nghiệm sinh học phân tử

Hơn 50% mẫu sinh thiết phổi FFPE có lượng DNA nhỏ hơn 100ng



1. Taniere. Molecular testing in lung cancer Today and Tomorrow. Available at: [https://www.crn.nihr.ac.uk/wp-content/uploads/Phillipe%20Taniere%20Molecular%20Testing%20in%20Routine%20Practice-%20Today%20%26%20Tomorrow%20\(1\).pdf](https://www.crn.nihr.ac.uk/wp-content/uploads/Phillipe%20Taniere%20Molecular%20Testing%20in%20Routine%20Practice-%20Today%20%26%20Tomorrow%20(1).pdf) accessed 29 June 2016
2. Lindeman et al. J Thorac Oncol 2013;8:823–59
3. David Gonzalez de Castro personal communication

# Vị trí sinh thiết

- Vị trí lấy mẫu nên được chọn bởi BS thực hiện sinh thiết
- Nhìn chung, nên lấy mẫu ở những khối u dễ tiếp cận nhất
- Đối với BS Giải Phẫu Bệnh, các vị trí có thể chấp nhận:
  - Khối u nguyên phát
  - Hạch di căn
  - Di căn xa
- Tuy nhiên chưa có nhiều nghiên cứu chỉ rõ sự khác biệt về tình trạng đột biến ở khối u nguyên phát và hạch. Di căn xa

# Lượng mẫu tối thiểu yêu cầu?

- Số lần sinh thiết và số lượng tế bào lấy được tùy thuộc KT thực hiện:

	<b>21-g needle aspiration</b>	<b>19-g needle aspiration</b>	<b>Trans-bronchial biopsy</b>	<b>CT-guided needle biopsy</b>
Số Tế bào/lần hút	≥100	≥150	≥300	≥500
Số lần sinh thiết	4	4	4-5	2-3

# Số lượng tế bào u cần thiết?

- Việc xác định sự hiện diện của tế bào u trong mẫu thử là quan trọng
- Làm giàu nồng độ tế bào u bằng cách khoan vùng tập trung nhiều tế bào u
- Lý tưởng, cần khoảng 200 – 400 tế bào u để xét nghiệm
- Trong trường hợp dùng phương pháp giải trình tự trực tiếp tế bào u phải chiếm  $\geq 50\%$  mẫu thử
- Các phương pháp có độ nhạy cao cần ít tế bào u hơn giải trình tự trực tiếp

# Sử dụng kỹ thuật lấy mẫu nào?

- Những phương pháp đã được nghiên cứu:
  - Sinh thiết lõi kim (Needle core biopsy)
  - Sinh thiết xuyên phế quản (Transbronchial biopsy)
  - Sinh thiết qua nội soi phế quản (Endobronchial biopsy)
  - Sinh thiết dưới hướng dẫn của CT (CT-guided needle biopsy)
  - Nội soi trung thất (Mediastinoscopy)
  - VAST (Video-assisted thoracic surgery)
  - Phẫu thuật lồng ngực



# Các loại mẫu thử

- Mẫu thử có nguồn gốc

+ Chải Rửa Phế Quản

+ Đàm

+ Dịch màng phổi

+ Nội soi khí phế quản qua carina hay dịch hút qua kim xuyên khí quản  
(Fine Needle Aspiration)

## Vấn đề

Lượng mẫu ít  
Mẫu bao gồm những tế bào bình thường

## Giải pháp

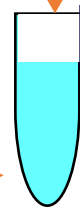
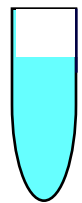
Lựa chọn mẫu  
Dùng phương pháp thử có độ nhạy cao

# Các bước lý tưởng để tránh âm tính giả trong xét nghiệm đột biến EGFR

Mẫu chưa chẩn đoán GPB (ex. Dịch rửa phế quản, Dịch màng phổi, ...)

Mẫu đã chẩn đoán GPB (mẫu mô, mẫu sinh thiết, ...)

Chia làm 2 mẫu



Lý tâm, đúc khối nền phần cận lắng

Cho xét nghiệm EGFR (giữ 1 vài ngày tủ lạnh cho đến khi hoàn tất chẩn đoán TB học)

Chẩn đoán TB học  
-UTPKTBN  
-Dạng tuyến  
-Nguyên phát của phổi

Chẩn đoán TB học (+)  
UTPKTBN

Gửi mẫu đến phòng xét nghiệm

Chẩn đoán TB học (-)

Không đánh giá được do mẫu kém chất lượng (<1%)

EGFR (-)

EGFR (+)

Cần nhắc lấy mẫu lại

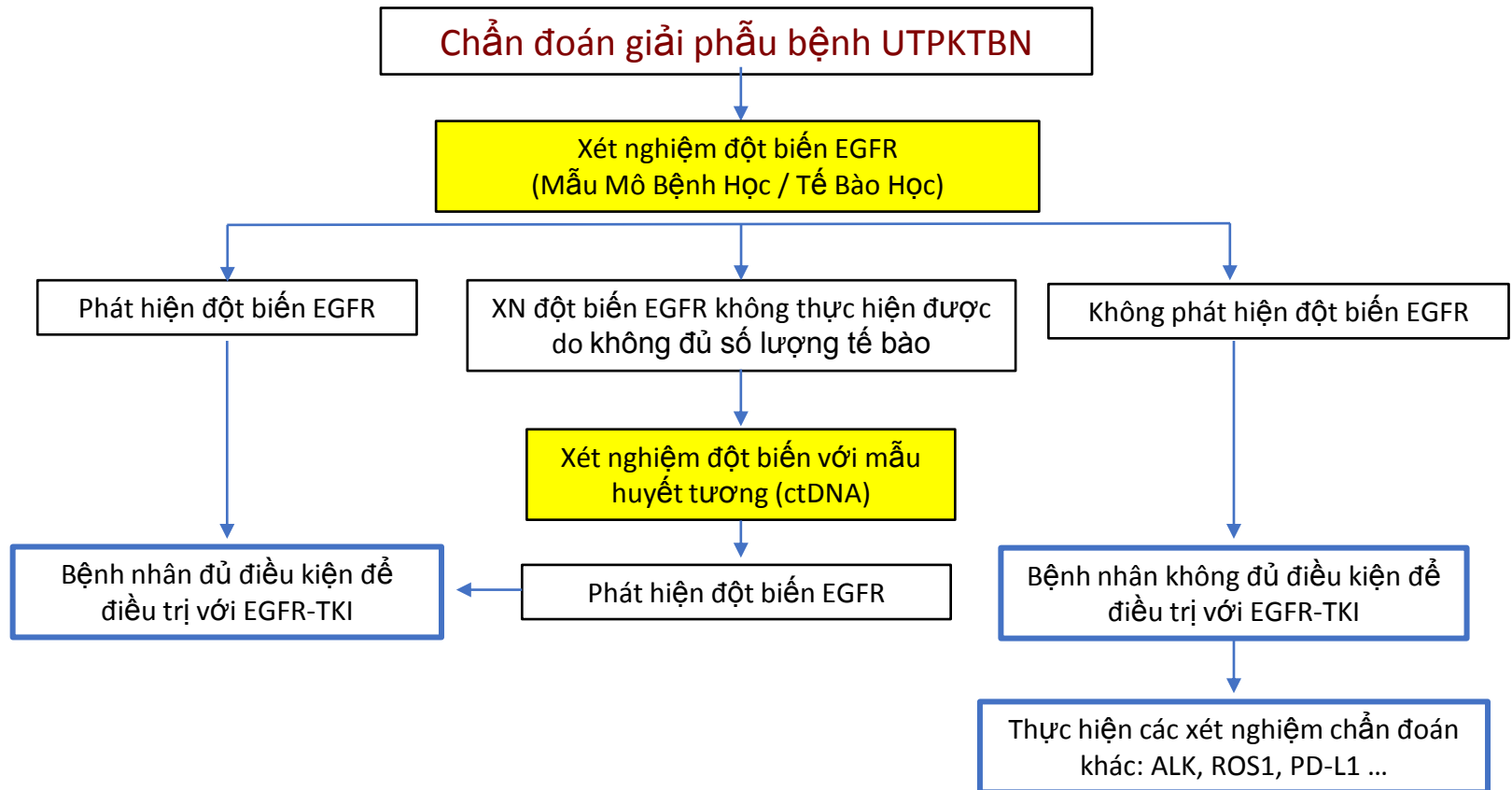
Hóa trị

TKIs

# Lưu ý khi lấy mẫu

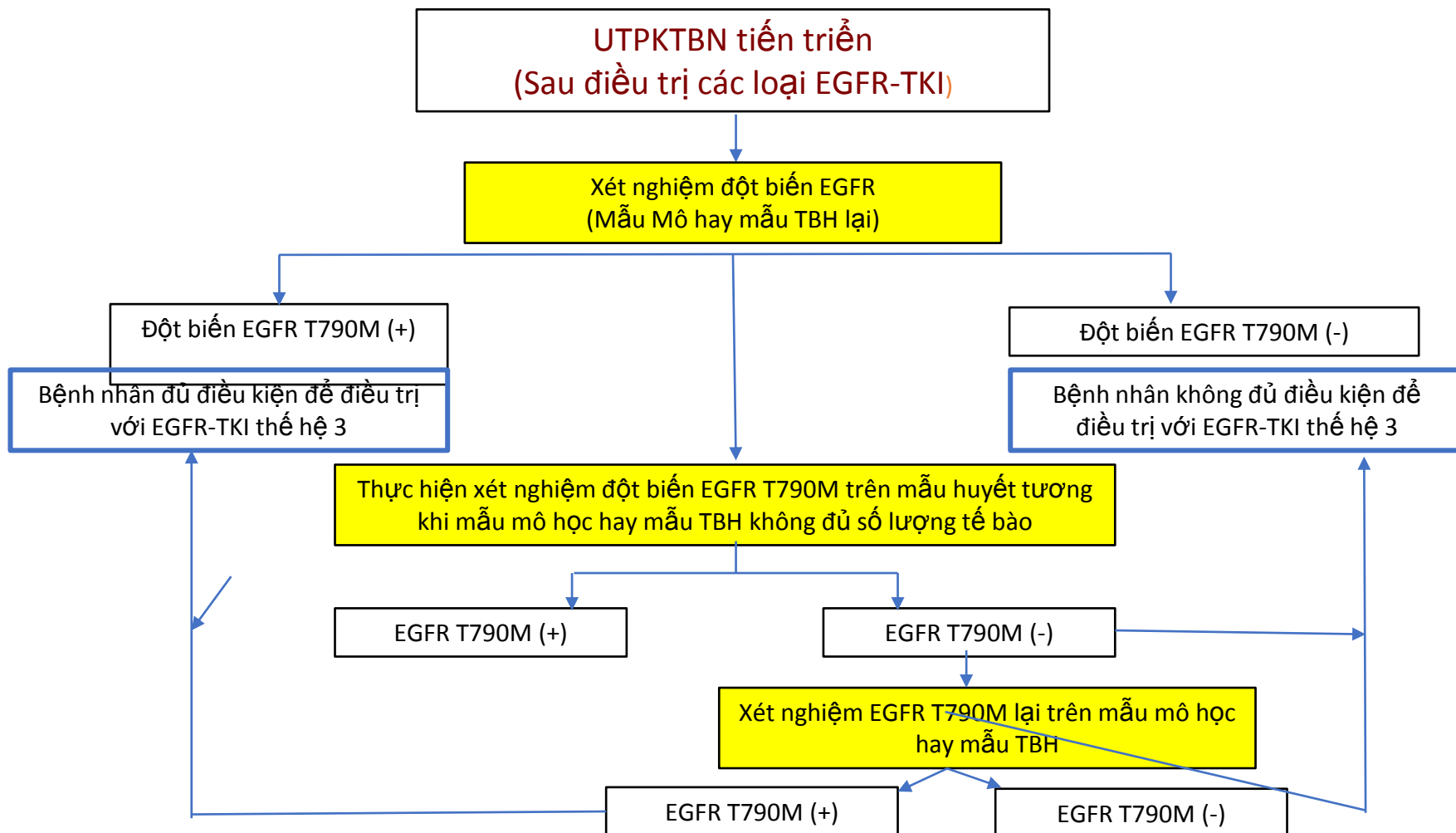
- Mẫu mới chuẩn bị là tốt nhất
- Dịch màng phổi cũng phù hợp
- Đánh dấu vùng tập trung nhiều tế bào ung thư trên lam
- Tránh để lâu mẫu cố định bằng formalin nhằm tránh biến tính DNA

# Sơ đồ chẩn đoán đột biến EGFR trong UTPKTBN giai đoạn tiến triển<sup>1</sup>



<sup>1</sup>Theo Khuyến cáo Quốc gia về hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ

# Sơ đồ: Xét nghiệm chẩn đoán EGFR T790M trong UTPKTBN tiến triển sau sử dụng TKI thế hệ 1 & 2<sup>1</sup>



## Kết luận

- Xét nghiệm đột biến gen EGFR là một bước cần thiết đối với bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn tiến xa để lựa chọn liệu pháp nhắm trúng đích EGFR-TKIs
- Đối với xét nghiệm EGFR: ưu tiên làm mẫu mô hoặc mẫu tế bào học. Mẫu máu (huyết tương) sẽ được làm khi mẫu mô hay mẫu tế bào học không đủ số lượng tế bào
- Tất cả các bệnh nhân đã được xác định dương tính với xét nghiệm đột biến EGFR trước đó và đã trải qua liệu pháp EGFR-TKI bước 1 khi tiến triển cần được làm xét nghiệm T790M
- Cần lưu ý tất cả các yếu tố để tăng tỉ lệ dương tính của xét nghiệm đột biến EGFR.

**CHÂN THÀNH CẢM ƠN**