nature REVIEWS
CLINICAL ONCOLOGY

Жидкостная биопсия в клинической практике

Klaus Pantel and Caroline Dive

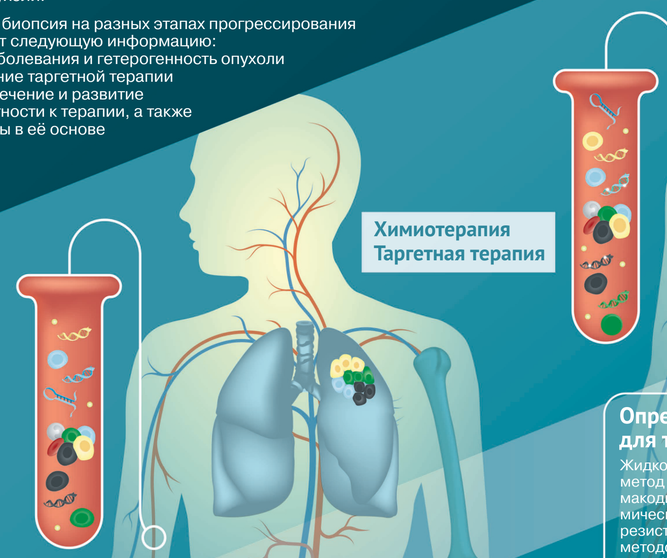
Идея жидкостной биопсии основана на выявлении молекул, продуцируемых опухолью, путём анализа циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК), циркулирующей опухолевой ДНК (цДНК), микроРНК и экзосом. С интра- и экстравазацией компонентов опухоли связано множество клеточных процессов, таких как перерождение эпителия в мезенхиму, совместная миграция, клеточная кооперация и васкулогенная мимикрия.[1] Механизм появления цДНК в крови остаётся неизученным, однако считается, что цДНК высвобождается из погибающих клеток.[2] Экзосомы представляют собой малые частицы, которые высвобождаются в кровь из нормальных и опухолевых клеток и содержат белки, нуклеиновые кислоты и липиды.[3]

ЦОК могут распространяться по отдельности или кластерами; их считают предвестниками метастазов.[2] Также в крови больных можно обнаружить ДНК из опухолевых клеток, дающую информацию о молекулярной эволюции опухоли.[2] Новыми перспективными кандидатами на роль биомаркеров опухолевой прогрессии и резистентности к терапии являются экзосомы, присутствующие в жидкостных биоптатах (например, плазме крови).[3] МикроРНК весьма стабильны и рассматриваются как биомаркеры для скрининга и/или раннего выявления опухоли.[4]

Жидкостная биопсия на разных этапах прогрессирования опухоли даёт следующую информацию:
- стадия заболевания и гетерогенность опухоли
- направление таргетной терапии
- ответ на лечение и развитие резистентности к терапии, а также механизмы в её основе

Скрининг и раннее выявление рака

Циркулирующие биомаркеры для скрининга и раннего выявления рака часто обнаруживают в результате динамических сравнительных исследований здоровых людей и больных, имеющих злокачественные и доброкачественные опухоли. Исследования для валидации биомаркеров сосредоточены на пациентах с высоким риском развития рака.
Из-за низкой концентрации ЦОК и цДНК в крови таких пациентов, технической сложностью раннего выявления злокачественных опухолей является чувствительность метода жидкостной биопсии. Клиническая сложность заключается в минимизации ложно-положительных результатов теста, которые могут быть связаны с тревожностью,[5] что может привести к ненужной дополнительной диагностике. Разработка "верной" панели опухолеспецифичных геномных аберраций, которая поможет отличить больных раком от здоровых или же имеющих доброкачественную опухоль людей, имеет первостепенное значение, но требует значительных ресурсов.



Оценка риска рецидива

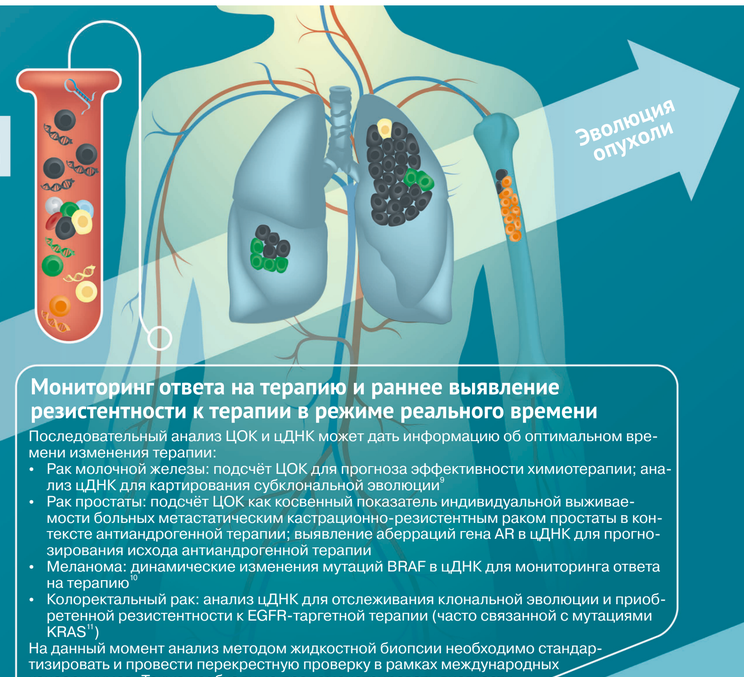
Установление стадии развития опухоли (оценка индивидуального риска прогрессии на момент диагностики) помогает принять решение о наиболее подходящей терапии для эрадикации всех опухолевых клеток и профилактики местного и/или диссеминированного рецидива. Многочисленные исследования показали прогностическое значение ЦОК, экспрессирующих эпителиальные маркерные белки (напр., EpCAM и/или цитокератин) у пациентов с солидными опухолями без клинических или рентгенологических признаков отдалённых метастазов при первичной диагностике, в частности, у пациентов с раком молочной железы.[6] Жидкостная биопсия позволяет проводить послеоперационное наблюдение минимальной остаточной болезни (МОБ) для обнаружения рецидива до диагностической визуализации или клинической симптоматики возможных явных метастазов. Однако число ЦОК и концентрация цДНК зачастую низки и требуют сверхчувствительных методов определения. Анализ проб жидкостной биопсии, взятых во время хирургической резекции из проксимальных дренирующих вен органов, поражённых опухолью, может способствовать выявлению пациентов, подверженных риску рецидива. Если в резецированной опухоли впервые выявлены кандидатные биомаркеры, динамическое определение профиля «ранних» ЦОК и/или цДНК может дать информацию о лечении рецидивирующего заболевания. Исследования кинетики МОБ также могут дать ценную информацию о биологии опухоли в покое.

Определение терапевтических мишеней для точной медицины

Жидкостная биопсия в перспективе рассматривается как метод определения прогностических, предиктивных и фармакодинамических биомаркеров, и применяется для динамического мониторинга эволюции опухоли и появления резистентности к лечению. К биомаркерам, выявляемым методом жидкостной биопсии и определяющим подходы точной медицины, относятся:

Экспрессия генов
- Рак молочной железы: рецептор эстрогена (ESR1), онкоген HER2 и иммунные чекпойнт-регуляторы в ЦОК, например, PDL1[7]
- Рак предстательной железы: экспрессия, активация и сигналинг опосредованы рецептором андрогена (AR) - мишенью антиандрогенной терапии в ЦОК (например, вариант сплайсинга 7 гена AR)[8]

Геномные аберрации
Мутации в генах, кодирующих терапевтические мишени, и регулируемые ими эффекторы, могут влиять на эффективность препаратов. Примеры: мутации EGFR в цДНК при раке легких, мутации KRAS в ЦОК при колоректальном раке, мутации ESR и PIK3CA в цДНК и ЦОК при раке молочной железы, амплификация и мутации AR в ЦОК и цДНК при раке простаты и мутации BRAF в ЦОК и цДНК при меланоме.



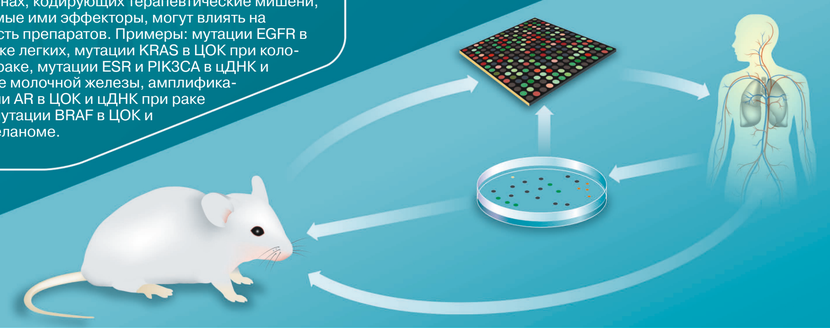
Мониторинг ответа на терапию и раннее выявление резистентности к терапии в режиме реального времени

Последовательный анализ ЦОК и цДНК может дать информацию об оптимальном времени изменения терапии:
- Рак молочной железы: подсчёт ЦОК для прогноза эффективности химиотерапии; анализ цДНК для картирования субклональной эволюции[9]
- Рак простаты: подсчёт ЦОК как косвенный показатель индивидуальной выживаемости больных метастатическим кастрационно-резистентным раком простаты в контексте антиандрогенной терапии; выявление аберраций гена AR в цДНК для прогнозирования исхода антиандрогенной терапии
- Меланома: динамические изменения мутаций BRAF в цДНК для мониторинга ответа на терапию[10]
- Колоректальный рак: анализ цДНК для отслеживания клональной эволюции и приобретенной резистентности к EGFR-таргетной терапии (часто связанной с мутациями KRAS[11])

На данный момент анализ методом жидкостной биопсии необходимо стандартизировать и провести перекрестную проверку в рамках международных консорциумов. Также необходимо продемонстрировать диагностическую значимость решений, принимаемых на основе результатов жидкостной биопсии, в рандомизированных клинических исследованиях с установленной конечной точкой (например, время до прогрессирования или общая выживаемость).

Применение культур ЦОК и ЦОК-эксплантатов, полученных пациентом

Взятые у пациента ЦОК, которые можно культивировать in vitro, являются многообещающими для оценки эффективности терапии в реальном времени, как составляющей подхода персонализированной медицины.[12,13] Модели на основе эксплантатов из ЦОК создают непосредственно из ЦОК-обогащенных образцов крови пациентов; они были разработаны для рака молочной железы, мелкоклеточного рака легких и меланомы. Из-за длительного времени культивирования, эти модели не абсолютно копируют исходную опухоль, однако они обеспечивают достоверную платформу для выявления новых терапевтических мишеней и тестирования методов лечения.[14]



References
1. Nieto, M. A. et al. EMT: 2016. Cell 166, 21–45 (2016).
2. Alix-Panabières, C. & Pantel, K. Clinical applications of circulating tumor cells and circulating tumor DNA as liquid biopsy. Cancer Discov. 6, 479–491 (2016).
3. An, T. et al. Exosomes serve as tumour markers for personalized diagnostics owing to their important role in cancer metastasis. J. Extracell. Vesicles4, 27522 (2015).
4. Sozzi, G. et al. Clinical utility of a plasma-based miRNA signature classifier within computed tomography lung cancer screening: a correlative MILD trial study. J. Clin. Oncol.32, 768–773 (2015).
5. Newman, A. M. et al. Integrated digital error suppression for improved detection of circulating tumor DNA. Nat. Biotechnol34, 547–555 (2016).
6. Janni, W. J. et al. Pooled analysis of the prognostic relevance of circulating tumor cells in primary breast cancer. Clin. Cancer Res.22, 2583–2593 (2016).
7. Mazel, M. et al. Frequent expression of PD-L1 on circulating breast cancer cells. Mol. Oncol.9, 1773–1782 (2015).
8. Antonarakis, E. S. et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. N. Engl. J. Med.371, 1028–1038 (2014).
9. Dawson, S. J. et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. N. Engl. J. Med. 368, 1199–1209 (2013).
10. Girotti, M. Ret al.Application of sequencing, liquid biopsies, and patient-derived xenografts for personalized medicine in melanomaCancer Discov. 6, 286–299 (2016).
11. Siravegna, G. & Bardelli, A. Blood circulating tumor DNA for non-invasive genotyping of colon cancer patients. Mol. Oncol.10, 475–480 (2016).
12. Yu, M.et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. Science339, 580–584 (2013).
13. Cayrefourcq, L.et al. Establishment and characterization of a cell line from human circulating colon cancer cells. Cancer Res.75, 892–901 (2015).
14. Hodgkinson, C. L. et al. Tumorigenicity and genetic profiling of circulating tumor cells in small-cell lung cancer. Nat. Med.20, 897–903 (2014).

Klaus Pantel is the Chairman of the Department of Tumor Biology, Center of Experimental Medicine, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Martinistr. 52, 20246 Hamburg, Germany.

Caroline Dive is at the Pharmacology Group of the Cancer Research UK Manchester Institute, University of Manchester, Wilmslow Road, Manchester, M20 4BX, UK.

Correspondence to K.P. and C.D.
pantel@uke.de
caroline.dive@cruk.manchester.ac.uk

Author disclosures
Both authors receive support from CANCER-ID, an Innovative Medicines Initiative Joint Undertaking under grant agreement n° 115749, resources of which are composed of financial contribution from the European Union's Seventh Framework Program (FP7/2007-2013) and the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations in kind contribution. The work of the authors has been further supported by the European Research Council Advanced Investigator grant 269081 DISSECT (to K.P.), and by grants from Cancer Research UK (C5759/A20971) and Menarini Silicon Biosystems (to C.D.).

The poster content is peer reviewed, editorially independent and the sole responsibility of Macmillan Publishers Limited.

Edited by Diana Romero; designed by Simon Bradbrook.
© 2016 Macmillan Publishers Limited. All rights reserved.
http://www.nature.com/nrclinonc/posters/liquidbiopsies/index.html

Poster produced with financial support from:

Sponsor's message — Menarini Silicon Biosystems
Menarini Silicon Biosystems is the biotech company that developed DEPArray™ NxT an innovative benchtop instrument that provides precision liquid biopsy analysis at the single-cell level.
DEPArray™ NxT can isolate single circu lating tumour cells (CTCs) from enriched blood with 100% precision for an accurate molecular characterization. In addition, pure tumour cells from FFPE and FNA biopsies can also be isolated. Cells sorted with DEPArray™ NxT are suitable for very precise and reproducible next-generation sequencing (NGS) analysis, copy-number aberration analysis by low-pass genome sequencing, whole-exome sequencing or analysis of somatic mutations by targeted sequencing. Such unprecedented results enable monitoring of disease progression, unveil the drivers of cancer evolution and open the door to actionable insights toward understanding the genetic profile of individual tumours.
Menarini Silicon Biosystems also developed the Ampli 1™ product line, a variety of kits for whole-genome and whole-transcriptome amplification and downstream analysis at the single-cell level. DEPArray™ NxT represents a robust laboratory workflow enhancement and a fundamental step in the developing of personalized medicine.
To learn more about our solutions for liquid biopsy visit us at www.siliconbiosystems.com

MEDACH.PRO
© 2016 MacmillanPublishersLimited,part of SpringerNature. Allrightsreserved.