

Ракицкая Т.А.^{1,2}, Асадулаева К.А.¹, Иевлева А.Г.¹, Митюшкина Н.В.¹, Саитова Е.С.¹, Степанов И.А.¹, Тюрин В.И.¹, Имянитов Е.Н.¹

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

² ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет ИТМО», Санкт-Петербург

Актуальность

Использование таргетной терапии при раке желудка (РЖ) и раке пищевода (РП) ограничено малым числом известных молекулярных мишеней в этих опухолях [1]. Одной из таких мишеней может стать активация онкогена *MET*, обусловленная мутациями, приводящими к нарушению сплайсинга и потере 14 экзона гена или амплификацией *MET*. Эти нарушения ассоциированы с чувствительностью к ингибиторам *MET* при раке легкого [2]. В отличие от немелкоклеточного рака легкого, для которого анализ мутаций *MET* включен в клинические рекомендации, для РЖ и РП стандартизированные подходы к диагностике изменений этого гена отсутствуют из-за недостаточной изученности темы.

Цель

Определение частоты амплификации гена *MET* и потери экзона 14 *MET* в карциномах желудка и пищевода.

Методы и материалы

В рамках исследования протестирован архивный гистологический опухолевый материал пациентов с раком желудка (n = 1305) и раком пищевода (n = 331). Тестирования на амплификацию гена и пропуск 14 экзона проводились с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Образцы с нормализованным числом копий *MET* (относительно гена-рефери *TPST1*) 3,5 и выше, были дополнительно протестированы с помощью цифровой капельной ПЦР.

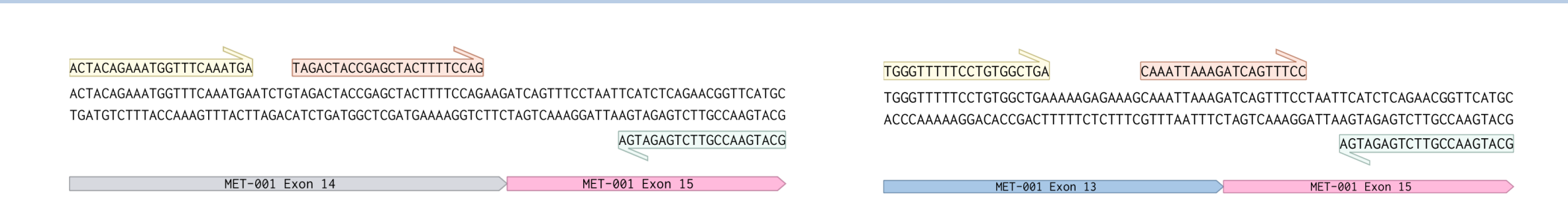


Рис. 1. Дизайн исследования на пропуск 14 экзона *MET*. Праймеры и метки для амплификации фрагмента дикого типа (слева) и мутантного фрагмента (справа)



Рис. 2. Дизайн исследования на амплификацию *MET*. Праймеры и метки для амплификации фрагмента гена-рефери *TPST1* (слева) и *MET* (справа)

Таблица 1. Распределение пациентов по полу и возрасту

ЗНО	Карцинома пищевода			Карцинома желудка		
возраст/пол	мужчины	женщины	суммарно	мужчины	женщины	суммарно
20-40	4 (1,2%)	2 (0,6%)	6	30 (2,3%)	37 (2,8%)	67
41-60	88 (26,6%)	34 (10,3%)	122	244 (18,7%)	146 (11,2%)	390
61-80	139 (42,0%)	57 (17,2%)	196	527 (10,4%)	285 (21,8%)	812
81-90	3 (0,9%)	4 (1,2%)	7	17 (1,3%)	19 (1,5%)	36
суммарно	234 (70,7%)	97 (29,3%)	331 (100%)	818 (62,7%)	487 (37,3%)	1305 (100%)
средний возраст (диапазон)	61,7 (31-83)	63,3 (33-86)	62,2 (31-86)	62,8 (20-89)	62,1 (24-87)	62,5 (20-89)

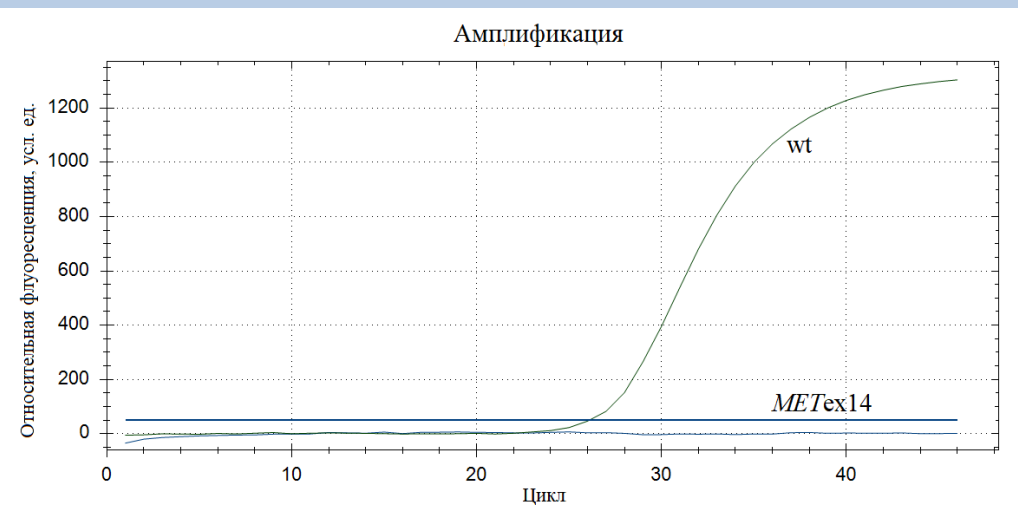


Рис. 3. Образец без пропуска 14 экзона *MET*

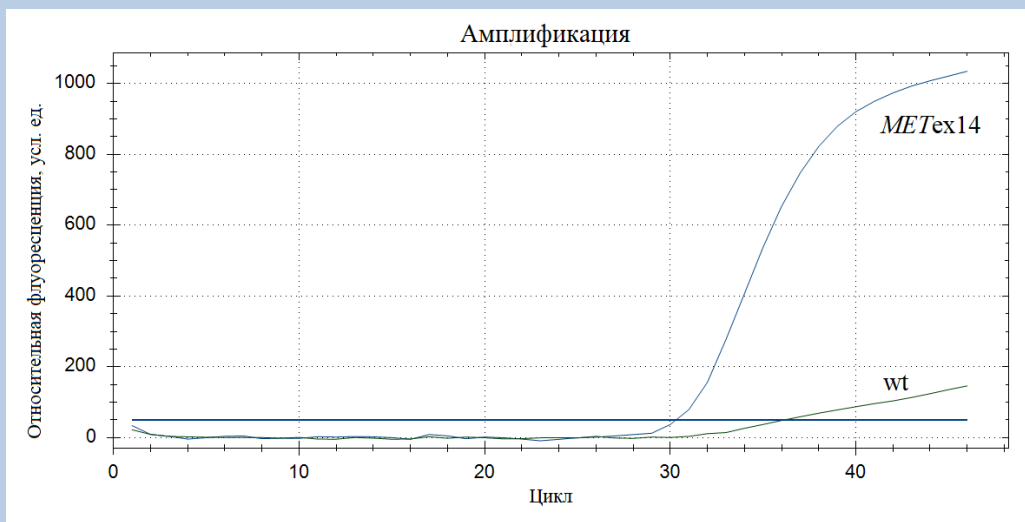


Рис. 4. Образец с пропуском 14 экзона *MET*

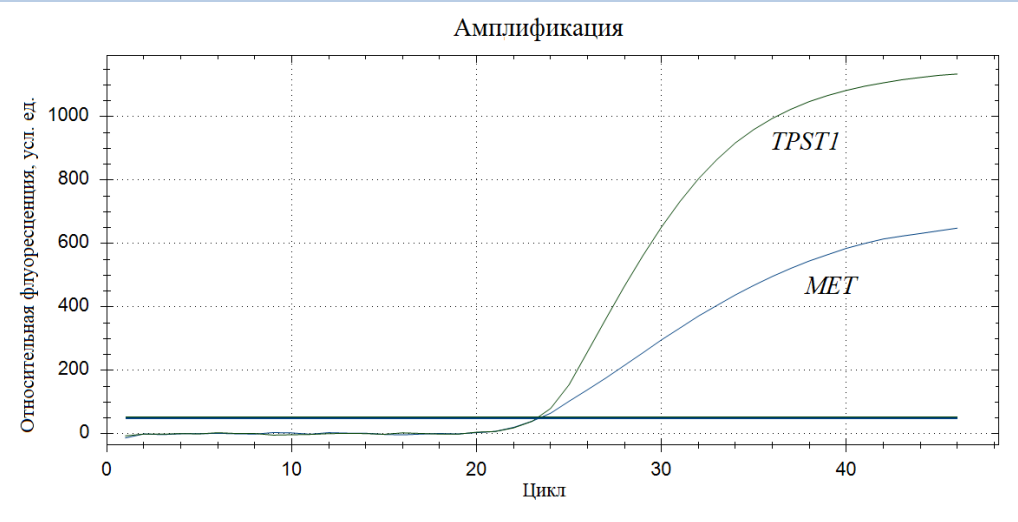


Рис. 5. Образец без амплификации *MET*

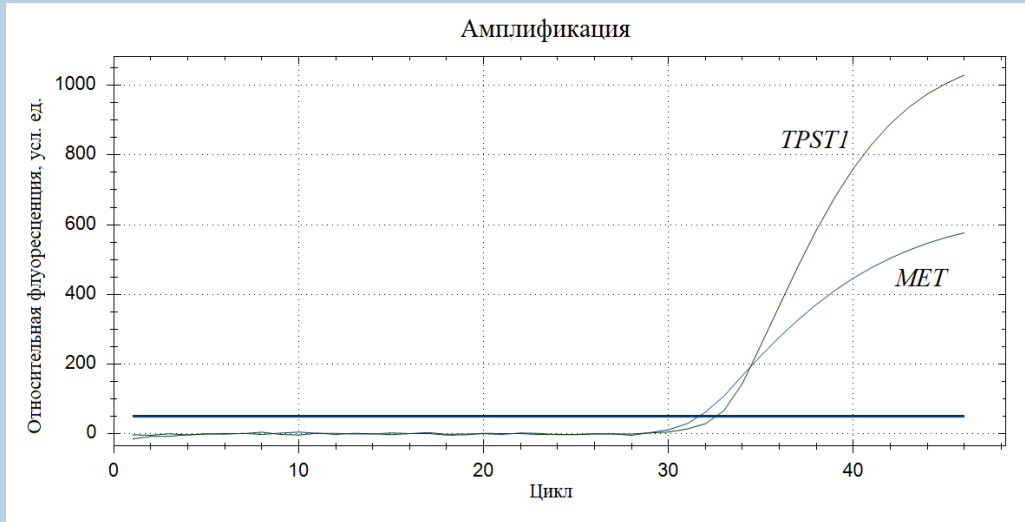


Рис. 6. Образец с амплификацией *MET* – 5 копий

Результаты

Получена актуальная оценка распространенности *MET*-ассоциированных РЖ и РП в России.

Пороговое значение для определения позитивности амплификации *MET* данным методом – 4,7 копии.

Частота амплификации *MET* среди карцином желудка составила **7,4%** (97/1305), опухолей пищевода – **6,3%** (21/331).

Присутствие амплификации не ассоциировалось с полом и возрастом пациентов или с другими проанализированными молекулярными нарушениями (MSI, мутациями *HER2*, экспрессией PD-L1). При раке пищевода не обнаружена связь между локализацией опухоли и количеством копий *MET*, что опровергает наблюдение, представленное в работе Lennerz J.K. et al. [3].

Высококопийная амплификация *MET* (>10 копий) наблюдалась в 20,6% (20/97) позитивных образцов РЖ и 9,5% (2/21) РП.

Из 1636 протестированных образцов пропуск 14 экзона *MET* был обнаружен только в одном случае – у мужчины 65 лет с карциномой желудка, и сочетался с высококопийной амплификацией *MET*.

Таблица 2. Случаи с амплификацией гена *MET*

Пол	Количество образцов с амплификацией	Средний возраст	Среднее значение копий <i>MET</i>	С микросателлитной нестабильностью	С амплификацией <i>HER2</i>
Карцинома желудка					
мужчины	63	61,9	7,6	3,2% (2/63)	9,5% (6/63)
женщины	34	61,0	23,7	5,9% (2/34)	0% (0/34)
общее число	97	61,3	13,8	4,1% (4/97)	6,2% (6/97)
Карцинома пищевода					
мужчины	14	62,6	5,7	7,1% (1/14)	7,1% (1/14)
женщины	7	60,7	4,8	0% (0/7)	14,3% (1/7)
общее число	21	62,0	5,4	4,8% (1/21)	9,5% (2/21)

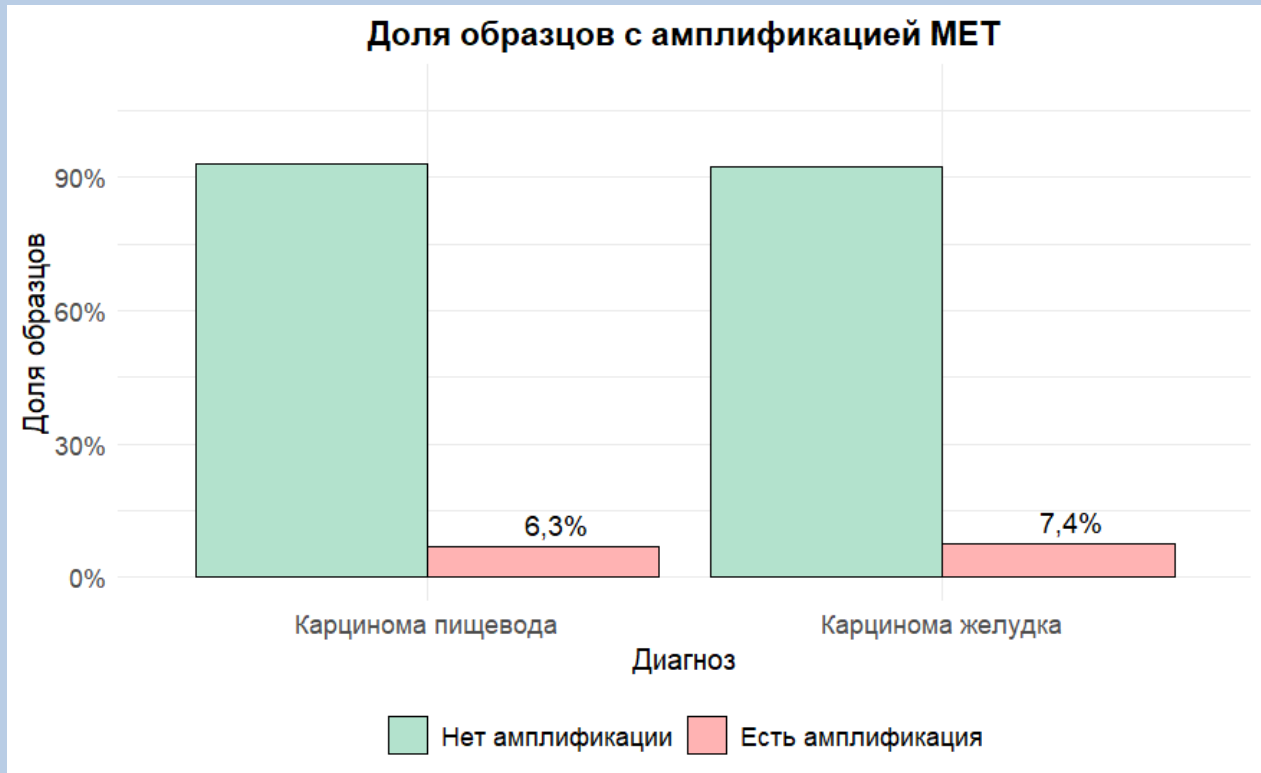


Рис. 7. Доля амплифицированных образцов опухолей желудка и пищевода

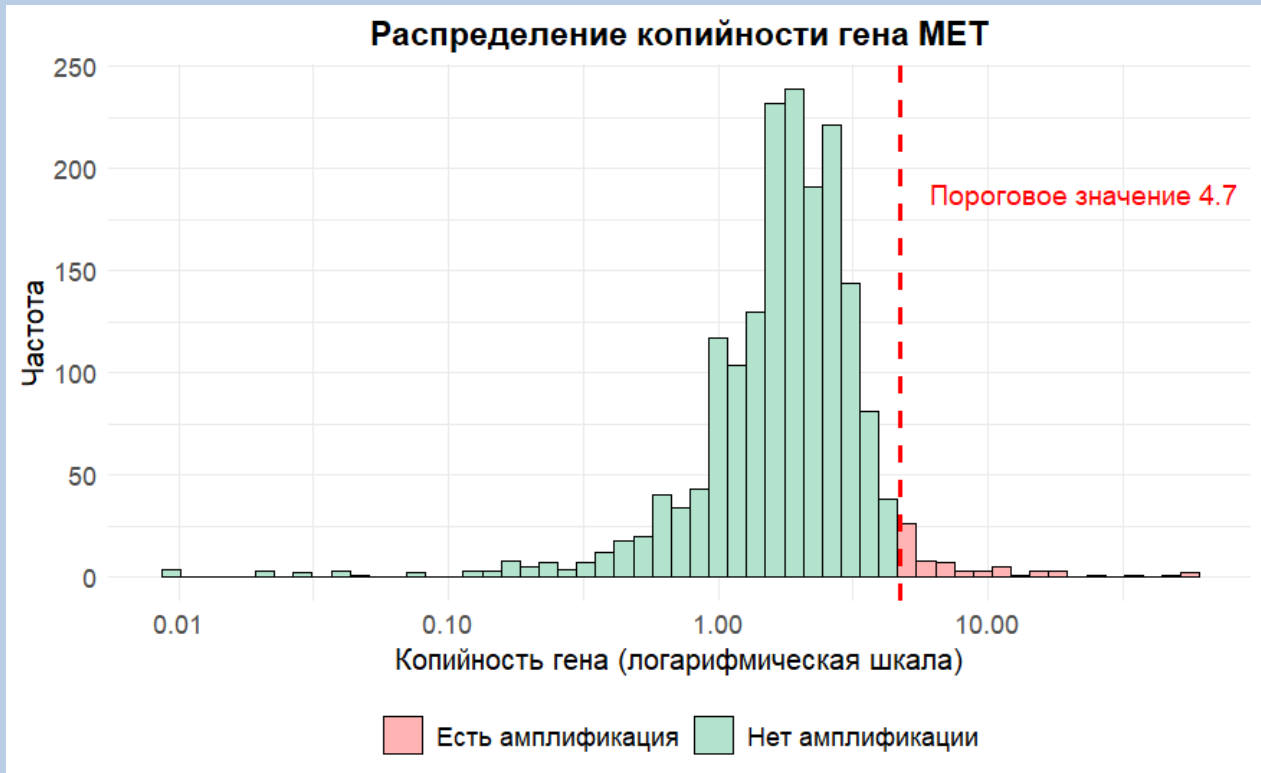


Рис. 8. Копийность гена *MET*

Выводы

- Разработан тест на платформе ПЦР в реальном времени для выявления амплификации и потери экзона 14 гена *MET*.
- Частота амплификации гена *MET* в злокачественных опухолях желудка составила 7,4%, в опухолях пищевода – 6,3% .
- Пропуск 14 экзона *MET* был обнаружен только в одном случае РЖ.
- Выявлено отсутствие ассоциации амплификации *MET* с клинико-морфологическими характеристиками пациентов, такими как пол и возраст, статус MSI, *HER2* и PD-L1.

Рекомендации

Ввиду доступности теста на *MET*-амплификацию рекомендуется внедрить его в рутинную молекулярную диагностику пациентов с карциномами желудка и пищевода.

Используемая литература

- Rosa F. et al., The Role of Surgery in the Management of Gastric Cancer: State of the Art // Cancers. — 2022. — V. 14. — The Role of Surgery in the Management of Gastric Cancer. — № 22. — P. 5542.
- Koch J.P. et al., MET targeting: time for a rematch // Oncogene. — 2020. — V. 39. — MET targeting. — № 14. — P. 2845-2862.
- Lennerz J.K. et al., MET Amplification Identifies a Small and Aggressive Subgroup of Esophagogastric Adenocarcinoma With Evidence of Responsiveness to Crizotinib // Journal of Clinical Oncology. — 2011. — V.29. — P. 4803-4810

Контакты

Ракицкая Татьяна Александровна
Email: rta20002@gmail.com