

ĐỘT BIẾN EGFR EXON 20 T790M THỨ PHÁT TRONG ĐIỀU TRỊ UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ TẠI BV. PHẠM NGỌC THẠCH – TP. HỒ CHÍ MINH

Trần Đình Thanh¹, Nguyễn Sơn Lam¹, Nguyễn Thiện Nhân² và cs

TÓM TẮT

Phân mở đầu: Đột biến EGFR Exon 20 T790M ngày nay được đề cập nhiều trong các nghiên cứu về điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ. Đặc biệt là loại đột biến T790M thứ phát hay còn gọi là đột biến mắc phải. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, thống kê mô tả loạt ca lâm sàng. Thu thập các số liệu đột biến EGFR trong 3 nhóm bệnh phẩm: mô học, tế bào học và huyết tương. Sử dụng kỹ thuật RealTime PCR trên hệ thống máy cobas@z480 để thực hiện chẩn đoán đột biến EGFR. Tất cả các bệnh nhân nhập viện BV. Phạm Ngọc Thạch với chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn tiến xa (IIIB và IV) với các yêu cầu sau: Đã được điều trị thuốc nhắm trúng đích hoặc hóa trị liệu. Sau đó, bệnh tiến triển trở lại theo tiêu chuẩn RESIST 1.1. Đã có chẩn đoán đột biến EGFR ban đầu. Được chẩn đoán đột biến EGFR lại với các loại bệnh phẩm: mô học, tế bào học và huyết tương. **Kết quả:** Đột biến EGFR Exon 20 T790M nguyên phát: 7 ca: 4,07%, bao gồm: loại đơn đột biến 4 ca (2,33%) và loại đột biến kép: 3 ca (1,74%)(Exon 20 T790M + Exon 21 L858R; Exon 20 T790M + Exon 18 G719X; Exon 20 T790M + Exon 19 Deletion + Exon 20 S768I). Đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát: chiếm tỉ lệ cao: 97 ca (56,39%). So sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, đặc biệt là ở châu Á có giá trị tương đương với nhau ($P = 0,059 - 0,088 > 0,05$). **Các nhận định:** Đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát xuất hiện với số lượng cao hơn hẳn so với nhóm đột biến EGFR nguyên phát (97 ca so với 7 ca nguyên phát: $P = 0,0047 < 0,05$). So sánh tỉ lệ xuất hiện đột biến EGFR Exon 20 T790M với các nghiên cứu khác trên thế giới đa số cho kết quả tương đương ($P = 0,051 - 0,081 > 0,05$). Với kỹ thuật RealTime PCR trên mẫu bệnh phẩm huyết tương đã giúp ích cho việc phát hiện loại đột biến EGFR Exon 20 T790M này. **Kết luận:** Đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát (mắc phải) có tỉ lệ cao hơn nhóm nguyên phát và chiếm ưu thế trong các đột biến EGFR thứ phát khác. Kỹ thuật RealTime PCR trên mẫu bệnh phẩm huyết tương đã giúp ích rất nhiều trong việc chẩn đoán loại đột biến này.

Từ khóa: Đột biến EGFR Exon 20 T790M, đột biến nguyên phát, đột biến thứ phát (mắc phải).

SUMMARY

SECONDARY EGFR EXON 20 T790M MUTATION FOR THERAPY OF NON SMALL CELL LUNG CANCER AT PHAM NGOC THACH HOSPITAL- HO CHI MINH CITY

Tran Dinh Thanh¹, Nguyen Son Lam¹, Nguyen Thien Nhan² et al

Background: The EGFR Exon 20 T790M mutation is nowadays widely mentioned in studies on the treatment of non-small cell lung cancer. Especially the secondary mutation T790M or acquired T790M mutation. **Methods:** Retrospective study, statistics describing series of clinical cases. Collect EGFR

1. Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch
2. Bệnh viện 115, TP HCM

- Ngày nhận bài (Received): 04/7/2017; Ngày phản biện (Revised): 16/7/2017;
- Ngày đăng bài (Accepted): 28/8/2017
- Người phản hồi (Corresponding author): Trần Đình Thanh
- Email: trandinhthanh55@gmail.com ; ĐT: 0903760437

mutation data in 3 groups: histology, cytology and plasma. Use RealTime PCR on cobas @ z480 to perform EGFR mutation diagnosis. All patients have admitted to the hospital. Pham Ngoc Thach with diagnosis of advanced stage non-small cell lung cancer (IIIB and IV) with the following requirements: They have been treated with the target therapy or chemotherapy. Then, the disease progresses back to the standard RESIST 1.1. There has been an initial diagnosis of EGFR mutations. Diagnosed with mutations in EGFR with samples: histopathology, cytology and plasma. **Results:** Primary EGFR Exon 20 T790M mutation: 7 cases: 4.07%, including 4 simple mutation (2.33%) and 3 combined mutations (1.74%) (Exon 20 T790M + Exon 20 G719X, Exon 20 T790M + Exon 19 Deletion; Exon 20 T790M + Exon 20 S768I). Secondary EGFR Exon 20 T790M mutation: high rate: 97 cases (56.39%). Compared with other studies in the world, especially in Asia, the values are similar ($P = 0.059 - 0.088 > 0.05$). **We have been presented the statements:** The EGFR Exon 20 T790M mutation was significantly higher in the primary EGFR mutation group (97 cases vs 7 cases: $P = 0.0047 < 0.05$). Comparison of mutant EGFR Exon 20 T790M mutation with other studies in the world of the majority showed similar results ($P = 0.051 - 0.081 > 0.05$). With the RealTime PCR technique on plasma samples, it has been helpful in detecting this Exon 20 T790M EGFR mutation.

Conclusions: Secondary EGFR Exon 20 T790M mutations are more likely to be present than in the primary group and predominate in the other secondary EGFR mutations. With the RealTime PCR technique on plasma samples, it has been very helpful in diagnosing this type of mutation.

Key words: Exon 20 T790M EGFR mutation, primary mutations, secondary mutations

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đột biến EGFR trong ung thư phổi không tế bào nhỏ là vấn đề thực hành lâm sàng hiện nay. Nhờ phát triển về giải phẫu bệnh phân tử, gần đây nhiều nghiên cứu trên thế giới và trong nước đã đề cập đến loại đột biến EGFR ở Exon 20 T790M [7, 8, 10, 11, 13, 17] và đã có thuốc để nhắm đến vị trí đích này. Tại Bệnh viện Phạm Ngọc Thạch, trong quá trình chẩn đoán đột biến EGFR, chúng tôi cũng đã phát hiện nhiều ca bệnh có hiện diện của loại đột biến kể trên [3, 5, 9, 12]. Mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi: *Khảo sát sự hiện diện đột biến EGFR Exon 20 T790M xuất hiện thứ phát sau khi được điều trị với thuốc nhắm trúng đích hay hóa trị liệu và khả năng chẩn đoán đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát của các loại bệnh phẩm: Mô học - Tế bào học - Huyết tương.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Tất cả các bệnh nhân nhập viện BV. Phạm Ngọc Thạch với chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn tiến xa (IIIB và IV) với các yêu cầu sau:

- Bệnh nhân bị bệnh tiến triển trở lại theo tiêu

chuẩn RESIST 1.1 sau khi điều trị thuốc TKI đáp ứng hay hóa trị. Đã có chẩn đoán đột biến EGFR ban đầu. Được chẩn đoán đột biến EGFR lại với các loại bệnh phẩm: mô học, tế bào học và huyết tương.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân đã được điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ nhưng chưa thực hiện chẩn đoán đột biến EGFR ban đầu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thực hiện nghiên cứu: hồi cứu, thống kê mô tả cắt ngang, loạt ca lâm sàng. Thời gian: từ tháng 6/2015 đến tháng 6/2017 (2 năm). Các số liệu được, sử dụng phần mềm Excel 2010 để xử lý. Dùng phép kiểm Mann-Whitney để so sánh sự khác biệt giữa hai nhóm bệnh nhân cho các biến định lượng và phép kiểm T-Test để so sánh sự khác biệt về tỷ lệ giữa hai nhóm bệnh nhân cho các biến định tính. Thực hiện phép kiểm chính xác của Fisher (Fisher's Exact Test) nếu có trên 20% số ô trong bảng chéo có tần số mong đợi nhỏ hơn 5. Tất cả các phương pháp kiểm định giả thuyết được thực hiện bằng cách sử dụng kiểm định 2 bên (two-sided alternatives). Ngưỡng ý nghĩa: $p < 0,05$ để chấp nhận hay bác bỏ giả thuyết.

Thu thập các số liệu đột biến EGFR trong 3 nhóm bệnh phẩm: mô học, tế bào học và huyết tương. Sử

dụng kỹ thuật RealTime PCR trên hệ thống máy cobas®z480 để thực hiện chẩn đoán đột biến EGFR.

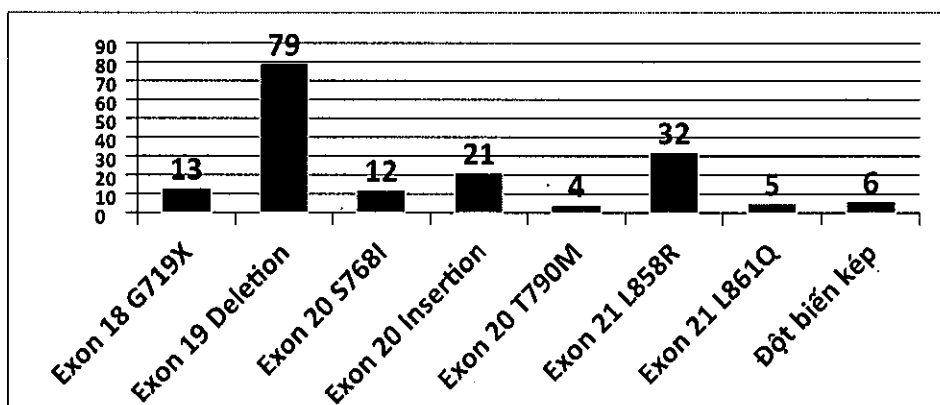
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Các số liệu tổng quát

Tổng số ca ung thư phổi không tế bào nhỏ phù hợp các tiêu chí nghiên cứu: 172 ca. Độ tuổi trung bình: $58,12 \pm 9,43$ tuổi. Giới tính: Nam: 64 ca (37,21%) – Nữ: 108 ca (62,79%). Các thuốc đã điều trị: Hóa trị bộ đôi Platinum: 93 ca (54,07%). Điều trị với thuốc nhắm trúng đích: 79 ca (45,93%) (Với Erlotinib: 37 ca (46,84%) – Với Gefitinib: 42 ca (53,16%).

▪ Phân phối loại đột biến EGFR trước khi điều trị (đột biến EGFR nguyên phát):

Đột biến Exon 20 T790M nguyên phát có 7 ca: 4,07%, bao gồm: loại đơn đột biến 4 ca (2,33%) và loại đột biến kép: 3 ca (1,74%) (Exon 20 T790M + Exon 21 L858R; Exon 20 T790M + Exon 18 G719X; Exon 20 T790M + Exon 19 Deletion + Exon 20 S768I). Như vậy, đột biến Exon 20 T790M nguyên phát chiếm tỉ lệ nhỏ so với các loại đột biến EGFR khác. Các loại đột biến EGFR nhạy thuốc kháng tyrosine kinase vẫn chiếm ưu thế. Trong đó, nhiều nhất vẫn là hai loại Exon 19 Deletion và Exon 21 L858R [1], [2], [6], [10], [13], [15], [17].



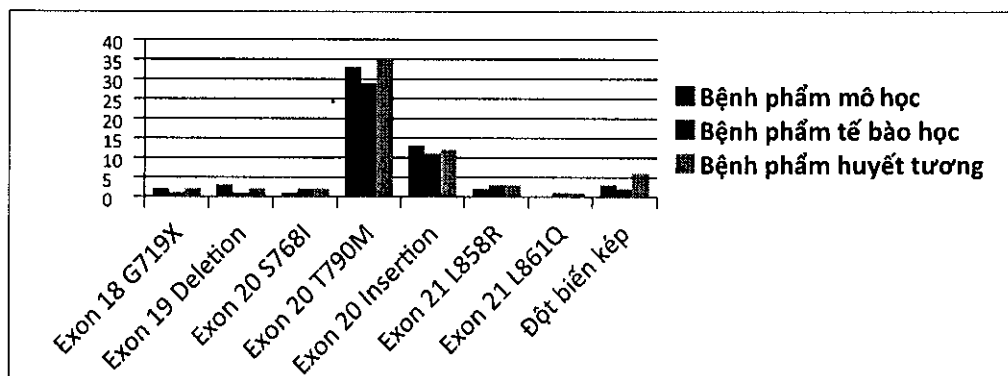
Biểu đồ 1: Phân phối đột biến EGFR trước khi được điều trị

3.2. Biểu hiện đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát

3.2.1. Các loại bệnh phẩm sử dụng để chẩn đoán

Mô học (56 trường hợp: 32,56%), tế bào học (45 trường hợp: 26,16% và huyết tương (71 trường hợp: 41,28%).

Phân phối các loại đột biến trên các mẫu bệnh phẩm:



Biểu đồ 2: Phân phối các loại đột biến EGFR của ba nhóm bệnh phẩm

Như vậy, với kết quả trong bảng 2 cho thấy: khả năng phát hiện đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát

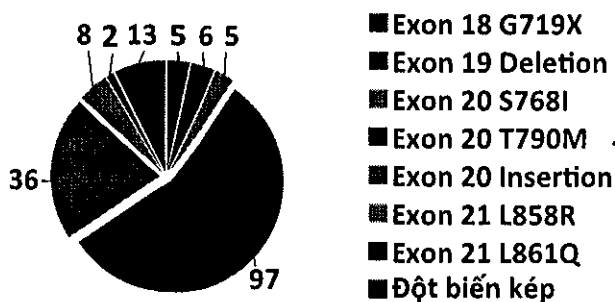
ở cả ba nhóm bệnh phẩm đều tương đương với nhau ($P = 0,061 - 0,077 > 0,05$). Khả năng chẩn đoán của mẫu huyết tương đối với loại đột biến T790M cũng rất tốt, đặc biệt trong các trường hợp không thể lấy mẫu bệnh phẩm mô học hoặc tế bào học được [2], [4], [7], [8], [13], [16].

3.2.2. Thời gian trung bình bệnh tiến triển trở lại theo tiêu chuẩn RESIST 1.1:

Nhóm bệnh nhân hóa trị liệu: $09,32 \pm 5,67$ tháng (93 ca). Nhóm bệnh nhân sử dụng thuốc nhắm trúng đích: $15,85 \pm 7,93$ tháng (79 ca).

Qua số liệu kể trên đã chứng minh được rằng dù bệnh nhân được điều trị hóa trị liệu hay thuốc nhắm trúng đích đều có thể đưa đến sự xuất hiện của các đột biến kháng thuốc, đặc biệt là loại đột biến EGFR Exon 20 T790M. Trong nghiên cứu của chúng tôi không phân biệt hóa trị hay thuốc nhắm trúng đích có gây ra đột biến thứ phát hay không và cũng không phân biệt loại thuốc nhắm trúng đích nào sẽ gây đột biến thứ phát nhiều hơn. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy sự xuất hiện đột biến EGFR kháng thuốc thứ phát ở các loại thuốc đều tương đương với nhau [5], [9], [11], [13], [15], [17]. Ngoài ra, một nhận định nhỏ khi thực hiện nghiên cứu, chúng tôi thấy rằng thời gian bệnh tiến triển trở lại của nhóm dùng thuốc nhắm trúng đích được kéo dài hơn nhóm được hóa trị liệu 15,8 tháng so với 9,3 tháng ($P = 0,0034 < 0,05$ khác biệt này có ý nghĩa thống kê và cũng phù hợp với các nghiên cứu khác trên thế giới [3], [6], [9], [10], [12], [14], [17].

3.2.3. Phân phối các loại đột biến EGFR khi bệnh tiến triển trở lại (đột biến EGFR thứ phát hay đột biến EGFR mắc phải):



Biểu đồ 3: Phân phối các loại đột biến EGFR thứ phát

Đột biến EGFR thứ phát có loại ở Exon 20 T790M thứ phát chiếm tỉ lệ cao: 97 ca đột biến và 7 ca đột biến kết hợp (60,47%). So sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, đặc biệt là ở châu Á có giá trị tương đương với nhau ($P = 0,059 - 0,088 > 0,05$). Trong nhóm đột biến Exon 20 T790M thứ phát vẫn còn biểu hiện của 7 ca đột biến Exon 20 T790M nguyên phát (Không thay đổi so với kết quả chẩn đoán đột biến EGFR cũ) như vậy đột biến Exon 20 T790M thứ phát hay mắc phải thực sự là 97 ca (56,39%) [2], [6], [7], [9], [11], [15], [17].

Bảng 1: So sánh tỉ lệ đột biến EGFR Exon T790M thứ phát với các nghiên cứu khác

Nghiên cứu	n	Tỉ lệ % phát hiện T790M thứ phát	p
Takayuki Kosaka và cs., 09/2011	73	61	0,051
Erin L. Stewart và cs., 04/2014	168	59	0,067
Yuxin Linvà cs., 04/2014	132	58	0,078
Alexis B. Cortot and Pasi A. Janne, 06/2014	215	61	0,061
Erminia Massarelli, 07/2014	86	60	0,069
Adrian G. Sacher và cs., 08/2014	191	59	0,081
Fei Zhou và Caicun Zhou, 01/2015	89	64	0,055
Foluso Ogunleye và cs., 01/2015	97	65	0,059
Patrick M. Forde và cs., 08/2015	137	41	0,024
Nghiên cứu tại BV.PNT	172	56,39	

Qua các kết quả kể trên, chúng tôi có các nhận định như sau:

- Đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát hay mắc phải xuất hiện với số lượng cao hơn hẳn so với

nhóm đột biến EGFR nguyên phát (97 ca so với 7 ca nguyên phát: $P = 0,0047 < 0,05$; sai biệt này có ý nghĩa thống kê). Điều này cũng tương tự như các nghiên cứu khác trên thế giới [3], [5], [8], [11], [13], [14], [16].

- So sánh tỉ lệ xuất hiện đột biến EGFR Exon 20 T790M với các nghiên cứu khác trên thế giới đa số cho kết quả tương đương với nghiên cứu tại BV.Phạm Ngọc Thạch ($P = 0,051 - 0,081 > 0,05$) [2], [5], [7], [11], [13], [16].

- Khả năng phát hiện đột biến EGFR Exon 20 T790M của ba nhóm bệnh phẩm: Mô học – Tế bào học – Huyết tương đều tương tự như nhau [6], [9], [11].

- Với kỹ thuật RealTime PCR trên mẫu bệnh phẩm huyết tương đã giúp ích cho việc phát hiện loại đột biến EGFR Exon 20 T790M này [2], [7], [10].

IV. KẾT LUẬN

Đột biến EGFR Exon 20 T790M thứ phát hay mắc phải có tỉ lệ cao hơn nhóm nguyên phát và chiếm ưu thế trong các đột biến EGFR thứ phát khác. Khả năng phát hiện đột biến T790M của các nhóm bệnh phẩm đều tương đương với nhau. Với kỹ thuật RealTime PCR trên mẫu bệnh phẩm huyết tương đã giúp ích rất nhiều trong việc chẩn đoán loại đột biến này. Đặc biệt trong những trường hợp không thể lấy mẫu bệnh phẩm mô học hay tế bào học được.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ashish Saxena, Misako Nagasaka, Zujun Li, et al. Double Trouble: A Case of Concurrent De Novo T790M and L858R EGFR Mutations in Treatment-Naive Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer; Published on Cancer Network, 2013, Volume 12, pp.123-126.
2. Assunta De Rienzo, Beow Y. Yeap, Edmund S. Cibas, et al. Gene Expression Ratio Test Distinguishes Normal Lung from Lung Tumors in Solid Tissue and FNA Biopsies; The Journal of Molecular Diagnostics, Vol. 16, No. 2, March 2014, 268-272.
3. Daniel B. Costa, Susan T. Schumer, Daniel G. Tenen, and Susumu Kobayashi; Differential Responses to Erlotinib in Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)-Mutated Lung Cancers With Acquired Resistance to Gefitinib Carrying the L747S or T790M Secondary Mutations; jco. ascopubs.org on March 8, 2016, pp.1182-1184.
4. Eiji Iwama, Koichi Takayama, Taishi Harada, et al. Highly sensitive and quantitative evaluation of the EGFR T790M mutation by nanofluidic digital PCR; Oncotarget Vol. 6, No. 24 May 10, 2015, 20564-20471.
5. Erminia Massarelli; Mechanisms of Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) in Non-small Cell Lung Cancer;
6. Giuseppina Improta, Angela Pettinato, Stefania Gieri, et al. Epidermal growth factor receptor exon 20 p.S768I mutation in non-small cell lung carcinoma: A case report combined with a review of the literature and investigation of clinical significance; Oncology Letters 11: 393-398, 2016.
7. Helena A. Yu, Shaozhou K. Tian, Alexander E. et al. Acquired Resistance of EGFR-Mutant Lung Cancer to a T790M-Specific EGFR Inhibitor: Emergence of a Third Mutation (C797S) in the EGFR Tyrosine Kinase Domain; JAMA Oncology October 2015 Volume 1, Number 7, pp.982-984.
8. James Bean, Gregory J. Riely, Marissa Balak, et al. Acquired Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Kinase Inhibitors Associated with a Novel T854A Mutation in a Patient with EGFR-Mutant Lung Adenocarcinoma; Clin Cancer Res 2008;14(22) November 15, 2008, pp.7519-7525.
9. Jeffrey A. Engelman, Toru Mukohara, Kreshnik Zejnullahu, et al. Allelic dilution obscures detection of a biologically significant resistance mutation in EGFR-amplified lung cancer; The Journal of Clinical Investigation Volume 116 Number 10 October 2006, pp.2695-2705.

10. Kazuko Sakai, Atsushi Horiike, Darryl L. Irwin, et al. Detection of epidermal growth factor receptor T790M mutation in plasma DNA from patients refractory to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor; Japanese Cancer Association, Accepted manuscript online May 31, 2013, Cancer Sci | 2013, 1-9.
11. Lecia V. Sequist, Belinda A. Waltman, Dora Dias-Santagata, et al. Genotypic and Histological Evolution of Lung Cancers Acquiring Resistance to EGFR Inhibitors; Science Translational Medicine 23 March 2011 Vol 3 Issue 75 75ra26.
12. Marius Lund-Iversen, Lilach Kleinberg, Lars Fjellbirkeland, et al. Clinicopathological Characteristics of 11 NSCLC Patients with EGFR-Exon 20 Mutations; Journal of Thoracic Oncology Volume 7, Number 9, September 2012, 1471-1473.
13. Martin L. Sos, Haridas B. Rode, Stefanie Heynck, et al. Chemogenomic Profiling Provides Insights into the Limited Activity of Irreversible EGFR Inhibitors in Tumor Cells Expressing the T790M EGFR Resistance Mutation; American Association for Cancer Research, Cancer Res; 70(3) February 1, 2010.
14. Nadia Godin-Heymann, Lindsey Ulkus, Brian W. Brannigan, et al. The T790M "gatekeeper" mutation in EGFR mediates resistance to low concentrations of an irreversible EGFR inhibitor; Mol Cancer Ther 2008;7(4). April 2008.874-879.
15. Véronique J. Hofman, Marius I. Ilie, Christelle Bonnetaud, et al. Cytopathologic Detection of Circulating Tumor Cells Using the Isolation by Size of Epithelial Tumor Cell Method; American Society for Clinical Pathology, Am J Clin Pathol 2011;135:146-156.
16. Ying Wang, Wenlong Bao, Hua Shi, Chuming Jiang and Yongjun Zhang; Translational Oncology; Volume 6, Number 4, August 2013 pp. 504-510.
17. William Pao, Vincent A. Miller, Katerina A. Politi, Gregory J. Riely, et al. Acquired Resistance of Lung Adenocarcinomas to Gefitinib or Erlotinib Is Associated with a Second Mutation in the EGFR Kinase Domain; March 2005 | Volume 2 | Issue 3 | e73, pp.225-235.