

# Мутаційне навантаження пухлини як незалежний предиктор відповіді на імунотерапію при різних типах пухлин

**Імунотерапія викликає стійкі реакції у пацієнтів із раком. Високий рівень мутаційного навантаження пухлини (Tumor Mutational Burden, TMB\*) може бути біомаркером відповіді на блокаду рецептора/ліганду програмованої клітинної смерті 1 типу (PD-1/PD-L1) в пухлинах, таких як меланома і недрібноклітинний рак легені (НДРЛ). Метою представлено дослідження було вивчити взаємозв'язок між TMB та результатами застосування варіантів імунотерапії у пацієнтів з різними пухлинами. Виявлено, що вище TMB є прогностичним маркером успішної блокади PD-1/PD-L1 у різних пухлинах.**

Імунотерапія, що включає високі дози інтерлейкіну-2 (IL-2) та антитіла, які блокують PD-1/PD-L1 та цитотоксичний Т-лімфоцитасоційований протеїн-4 (CTLA4), може забезпечувати утримання тривалої відповіді численних типів солідних [1-7] і гематологічних [8, 9] пухлин. Однак за відсутності додаткового відбору рівень відповіді на монотерапію інгібіторами PD-1/PD-L1 у пацієнтів з меланою, НДРЛ та нирковоклітинним раком становить 40 [1, 10], 25 [2, 3] та 19% [4] відповідно.

Існує потреба пошуку біомаркерів, котрі б давали змогу ідентифікувати пацієнтів, більш схильних до відповіді як на блокатори PD-1/PD-L1, так і на інші імунотерапевтичні препарати. Клінічне значення саме пухлинної експресії PD-L1 зараз інтенсивно досліджується. Загалом серед усіх типів пухлин анти-PD-1/PD-L1-терапія зумовлює відповідь у 0-17% пацієнтів з PD-L1-негативними пухлинами, тоді як у пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями, що експресують PD-L1, рівень відповіді становить 36-100% [12]. Однак широке використання та стандартизація PD-L1 як біомаркера обмежене різними методами його виявлення, що застосовуються на практиці.

Стандартного рівня експресії PD-L1, визначеного як позитивний, немає. Крім того, часто експресують PD-L1 не тільки клітини пухлини, а й клітини пухлинного мікрооточення [14]. Отже, експресія PD-L1 як маркер може застосовуватися тільки у пацієнтів, що лікуються блокаторами PD-1/PD-L1, а не іншими імунопрепаратами.

Найбільш виражена відповідь на блокаду PD-1/PD-L1 спостерігається у пацієнтів з меланою та НДРЛ; обидва ці типи пухлин мають вищий рівень TMB [17]. Однак методика секвенування екзому, яку застосовують для вимірювання TMB з метою прогнозування відповіді на блокаду PD-1/PD-L1, має багато обмежень, тому її складно впровадити в клінічну практику [19]. Секвенування нового покоління (next generation sequencing, NGS), що ґрунтується на гібридному захопленні, дозволяє одночасно ідентифікувати всі класи альтерації ДНК і визначити TMB в одному досліджуваному зразку [20-25]. TMB, визначене таким методом, корелює з відповіддю на лікування блокаторами PD-1/PD-L1 у пацієнтів з меланою [19, 26], НДРЛ [26, 27] та уротеліальною карциномою [28, 29]. Однак невідомо, який з рівнів TMB служить біомаркером відповіді на інші форми імунотерапії і лікування блокаторами PD-1/PD-L1 у пацієнтів з іншими пухлинами [31, 33]. Ми припускаємо, що TMB, визначене за допомогою NGS, виявиться клінічно корисним для прогнозування відповіді на імунотерапію у масиві різних гістологічних типів пухлин.

## Матеріали та методи Відбір пацієнтів

Проаналізовано медичну документацію 1638 пацієнтів UC San Diego Moores Cancer Center (Ла-Хойя, США), яким було проведено NGS у лабораторії Foundation Medicine (Кембридж, США) з жовтня 2012 по серпень 2016 р. В аналіз включено тільки дані пацієнтів, яким проводили імунотерапію (n=151) такими препаратами: анти-PD-1/PD-L1, анти-CTLA4, комбінацією анти-CTLA4/анти-PD-1/PD-L1, IL-2 у високих дозах та ін.

## NGS та оцінювання TMB

NGS на основі гібридного захоплення проводилося за стандартною методикою Foundation Medicine. Соматичні мутації, виявлені за допомогою секвенування, представляли в кількісному значенні, а отримані результати екстраполювали на весь екзом, використовуючи попередньо валідований алгоритм. TMB представлено як показник кількості мутацій на мегабазу (мб) та поділяється на 3 групи за методикою Foundation Medicine. До групи низького рівня TMB (1-5 мутацій/мб) включили 50% пацієнтів, середнього (6-19 мутацій/мб) – 40%, а високого ( $\geq 20$  мутацій/мб) – 10% хворих. Поріг у 20 кодуючих мутацій/мб приблизно еквівалентний 400 несинонімічним мутаціям на екзом. Групи низького та середнього TMB порівнювали з групою високого TMB, а низького TMB – із групами середнього та високого. Додатково визначали лінійність TMB в усіх групах.

## Статистичний аналіз та оцінювання ефективності лікування

Для оцінювання категорій змінних застосовували точний тест Фішера. Значення  $p \leq 0,05$  вважали значущим. Ефективність лікування оцінювали на основі критеріїв RECIST. Вживаність без прогресування (ВБП) та загальну виживаність (ЗВ) визначали за методом Каплана – Маєра (значення P – log-rank тестом Мантеля – Кокса). Лінійну регресію визначали за допомогою методу найменших квадратів.

## Результати

### Характеристика пацієнтів

Сукупно проаналізовано дані 151 пацієнта, які лікувалися імунотерапевтичними препаратами; серед них було 52 пацієнта з меланою та 36 – з НДРЛ. Усі вони мали місцевопоширений або метастатичний рак.

Найчастіше використовували монотерапію анти-PD-1/PD-L1-препаратами (102 пацієнтам); у 37 хворих застосовували кілька ліній імунотерапії. У 65 (43%) пацієнтів був низький рівень TMB (1-5 мутацій/мб); у 48 (32%) – середній (6-19 мутацій/мб), а в 38 (25%) – високий ( $\geq 20$  мутацій/мб). У 45 (30%) хворих отримано повну або часткову відповідь на лікування; медіана ВБП становила 4,6 міс; ЗВ – 25,4 міс.

## Результати визначення TMB

Порівняльний аналіз групи з високим TMB з групами низького та середнього TMB показав, що вік  $\geq 60$  років ( $p=0,0014$ ), чоловіча стать ( $p=0,0349$ ) та європейська раса ( $p=0,0104$ ) асоціювалися з високим рівнем TMB, тоді як вік  $< 60$  років ( $p=0,0014$ ), жіноча стать ( $p=0,0349$ ), іспанське етнічне походження ( $p=0,0070$ ) та НДРЛ ( $p=0,0077$ ) були пов'язані з низьким та середнім рівнем TMB. Повна/часткова відповідь на лікування отримана у 22/38 (57%) vs 23/113 пацієнтів (20%;  $p=0,0001$ ); медіана ВБП складала 12,8 vs 3,3 міс ( $p < 0,0001$ ); медіана ЗВ – 16,3 міс та не досягнута відповідно. Схожі результати отримали при дихотомізації TMB на групу низького TMB проти середнього та високого (за винятком того, що вік і стать вже не були значущо пов'язані зі стратифікацією TMB).

Медіану TMB порівнювали у підгрупах пацієнтів з хорошим лікувальним ефектом та без нього (відповідно 19 vs 5 мутацій/мб; рис. 1); якщо вилучити з аналізу дані пацієнтів з меланою та НДРЛ, вона становила 32 vs 6 мутацій/мб ( $p=0,0001$ ) та 16 vs 5 мутацій/мб для 88 хворих з меланою та НДРЛ ( $p < 0,0003$ ).

## Багатофакторний аналіз чинників прогнозу ефективності імунотерапії

Усі типи пухлин, включені в аналіз. Ключовими незалежними факторами, що визначають успіх імунотерапії, за результатами багатофакторного порівняльного аналізу даних 151 пацієнта були: рівень TMB (високе TMB vs низьке та середнє – повна/часткова відповідь становила відповідно 58 vs 20%;  $p < 0,001$ ) та тип комбінованої терапії (застосування анти-CTLA4/анти-PD-1/PD-L1 vs анти-PD-1/PD-L1 – повна/часткова відповідь складала 77 vs 21%;  $p=0,004$ ). Незалежними факторами, що корелювали з подовженою ВБП, стали діагноз меланома ( $p=0,035$ ), комбінація препаратів анти-CTLA4/анти-PD-1/PD-L1 vs анти-PD-1/PD-L1 ( $p=0,024$ ) та високий рівень TMB vs низький та середній ( $p < 0,001$ ).

Незалежними факторами подовженої ЗВ є діагноз меланома ( $p=0,006$ ) і високий рівень TMB vs низький та середній ( $p=0,016$ ). Ідентичні незалежні фактори, що визначають успіх імунотерапії, були отримані при дихотомізації TMB як низького vs середнього та високого.

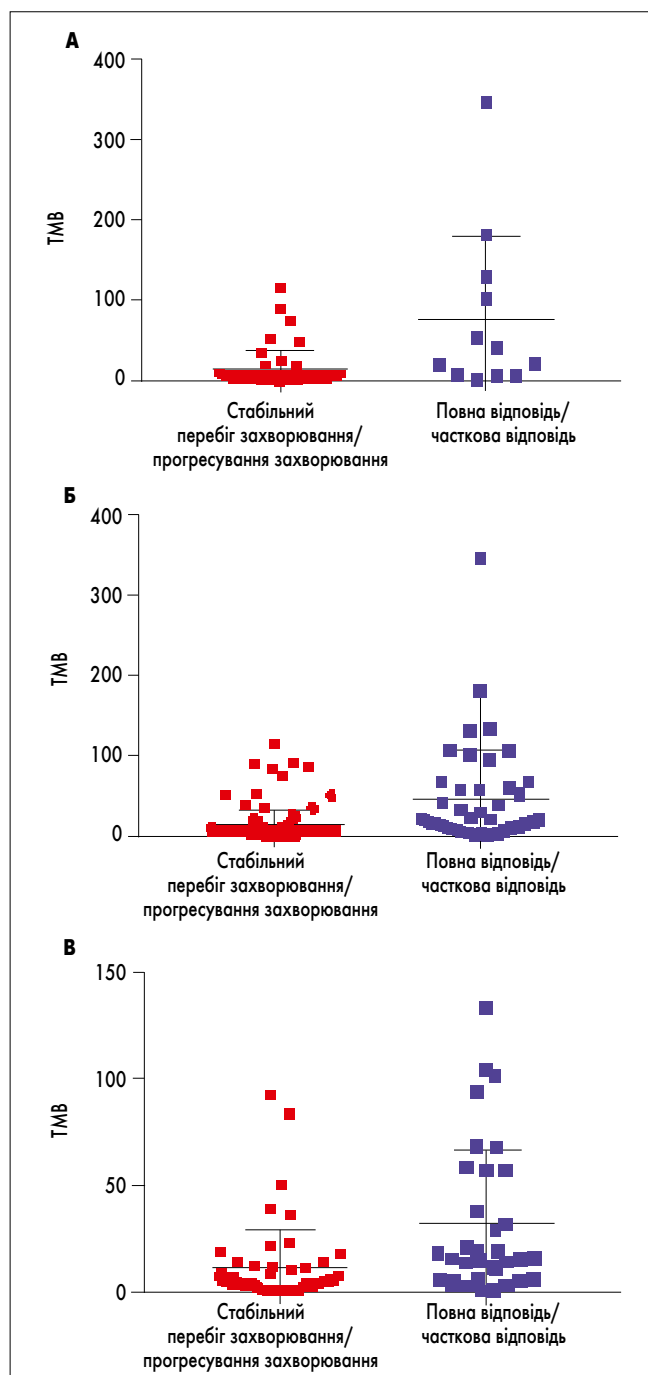
Усі типи пухлин, за винятком меланоми та НДРЛ. У 63 пацієнтів за даними цього аналізу тільки рівень TMB (високий vs низький та середній) підтверджений як незалежний фактор успіху лікування (повна/часткова відповідь становить 47 vs 9% відповідно;  $p=0,005$ ; медіана ВБП 10,0 vs 2,1 міс відповідно;  $p=0,0007$ ). Однак ЗВ не характеризується статистично значущими результатами у цьому аналізі ( $p=0,1847$ ). Такі самі результати отримано за дихотомізацією рівня TMB як середнього та високого vs низького.

Меланома та НДРЛ. Аналіз даних 88 пацієнтів із меланою та НДРЛ підтверджує значення рівня TMB (незалежно від варіанта дихотомізації) та лікування комбінацією препаратів анти-CTLA4/анти-PD-1/PD-L1 як незалежних факторів прогнозу ефективності лікування.

## Монотерапія анти-PD-1/PD-L1 та результати лікування згідно з TMB

Усі типи пухлин, включені в аналіз. У 102 пацієнтів, які отримували монотерапію анти-PD-1/PD-L1, високий рівень TMB корелював з кращими результатами лікування порівняно з низьким і середнім (повна/часткова відповідь 46 vs 14% відповідно;  $p=0,0025$ ; ВБП – 10,0 vs 2,2 міс;  $p=0,0005$ ; ЗВ – 11,1 міс vs показник не досягнуто;  $p=0,0557$ ; рис. 2Б і Г). Тотожні результати отримані за рівня дихотомізації TMB як середнього і високого vs низького ( $p=0,0002$ ;  $p < 0,0001$  і  $p=0,0103$  відповідно; рис. 2Б і Г).

Рівень відповіді на монотерапію анти-PD-1/PD-L1 препаратами становив 4% (2/46) для низького TMB, 26% (9/34) для середнього і 45% (10/22) для високого.



**Рис. 1. Порівняння TMB у пацієнтів, у яких отримано та не отримано відповіді на імунотерапію (діаграма Forest plots). А – пацієнти з усіма пухлинами, окрім меланоми та НДРЛ. Б – пацієнти з усіма пухлинами, включаючи меланому та НДРЛ. В – пацієнти з меланою та НДРЛ**

\* Tumor mutational burden – загальна кількість мутацій (змін), виявлених у ДНК пухлинних клітин; <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/795825>.

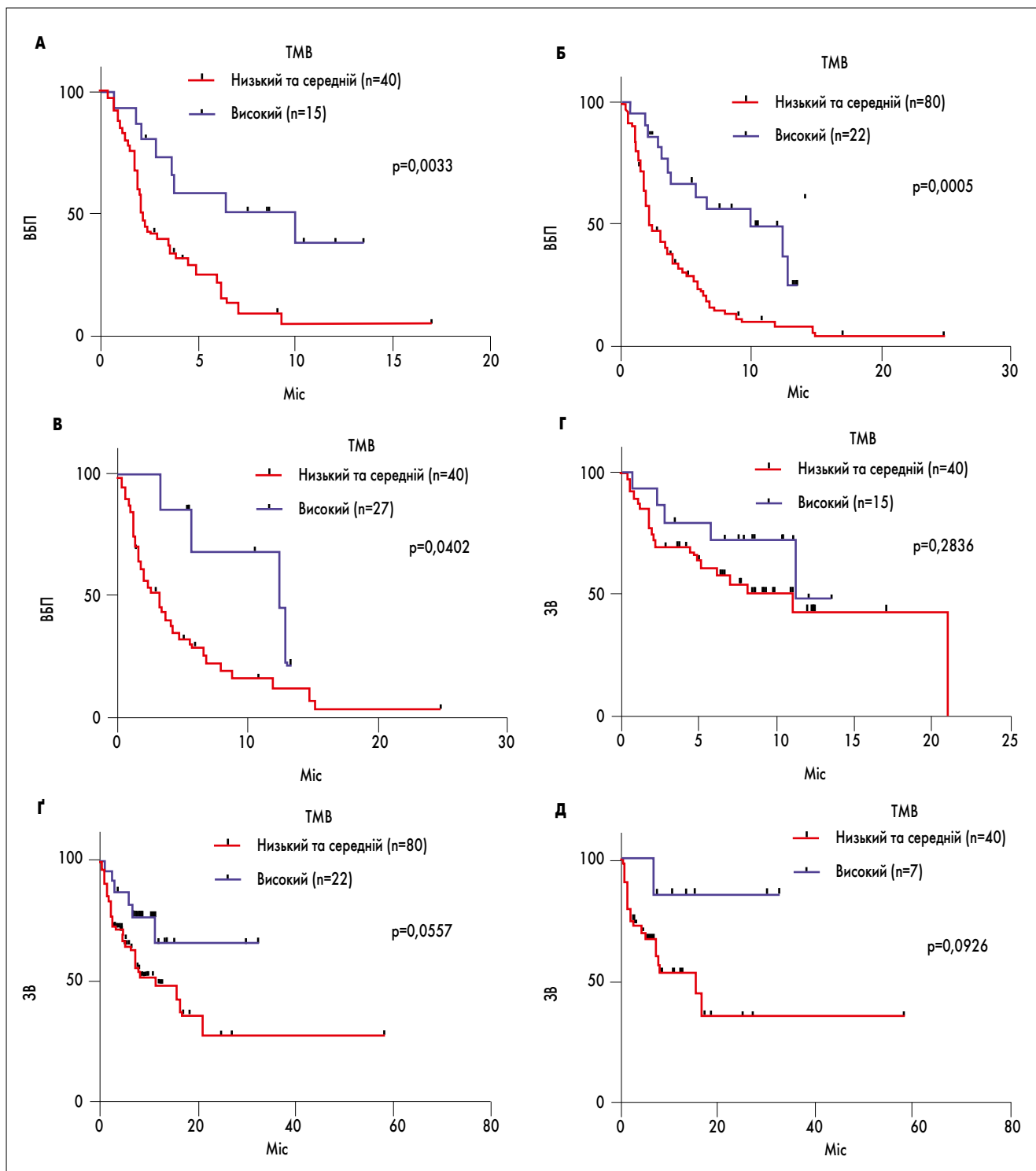


Рис. 2. ВБП та ЗВ у пацієнтів, які отримували монотерапію анти-PD-1/PD-L1 (за Капланом – Маєром). А – ВБП у пацієнтів з усіма типами пухлин, окрім меланоми та НДРЛ. Б – ВБП у пацієнтів з усіма типами пухлин, включаючи меланому та НДРЛ. В – ВБП у пацієнтів з меланою та НДРЛ. Г – ЗВ у пацієнтів з усіма типами пухлин, включаючи меланому та НДРЛ. Д – ЗВ у пацієнтів з меланою та НДРЛ

У пацієнтів з дуже високим рівнем ТМВ (понад 50 мутацій/мб) рівень відповіді дорівнював 67% (8/12). Більше того, якщо підвищити точку роз'єднання (cut-off) для дихотомізації ТМВ між низьким та високим рівнем, то результати групи високого рівня значно покращаються. Це справедливо щодо відношення ризиків для відповіді на лікування (рис. 3А), відношення ризиків для ВБП (рис. 3Б) та відношення ризиків для ЗВ (рис. 3В).

**Усі типи пухлин, за винятком меланоми та НДРЛ.** Коли дані хворих на меланому та НДРЛ вилучити з аналізу, тоді повна/часткова відповідь для ТМВ високого рівня vs низького та середнього складала 40 vs 8% (p=0,0086); медіана ВБП була 10,0 vs 2,1 міс (p=0,0033), але медіана ЗВ значущо не відрізнялася (рис. 2А і Г). При порівнянні цих самих груп пацієнтів, розділених за рівнем ТМВ (високий і середній vs низький), рівень відповіді на лікування та ВБП становив 26 vs 4% (p=0,0620) та 6,2 vs 2,0 (p<0,0001) відповідно (рис. 2А і Г).

**Меланома та НДРЛ.** Якщо в аналіз включити тільки дані хворих на меланому та НДРЛ, рівень відповіді на лікування, ВБП і ЗВ будуть покращуватися з підвищенням ТМВ (рис. 3).

Наприклад, якщо ТМВ буде дихотомізований як високий та середній vs низький, повна/часткова відповідь становитиме 44 vs 5% (p=0,0023), медіана ВБП – 5,7 vs 1,9 міс (p=0,0023), а медіана ЗВ – показник не досягнуто vs 8,0 міс (p=0,0791); рис. 2В і Д).

Згідно з аналізом даних 102 пацієнтів, які отримували монотерапію анти-PD1/PD-L1, включно із хворими з меланою та НДРЛ, медіана ТМВ у пацієнтів з відповіддю на лікування та резистентністю до нього була 18,0 vs 5,0 мутацій/мб відповідно (p<0,0001). У 55 хворих з іншими пухлинами медіана ТМВ у разі отримання відповіді та резистентності складала 53,0 vs 5,5 мутацій/мб (p<0,0001). Аналіз даних 47 пацієнтів з меланою та НДРЛ виявив, що медіана ТМВ у разі досягнення відповіді на терапію та резистентності до неї становила 15,5 vs 5 мутацій/мб (p=0,0005).

#### Лікування комбінацією препаратів анти-CTLA4 та анти-PD1

17 пацієнтів отримували комбіновану імунотерапію. В усіх, крім одного, була меланома. У 13 (77%) досягнуто повну або часткову відповідь на лікування. Медіана ТМВ у пацієнтів з відповіддю та резистентністю не відрізнялася (p=0,6535). 6 із 17 хворих мали високий рівень ТМВ, з них у 5 (83%) досягнута відповідь на лікування; в 11 пацієнтів рівень ТМВ був низький чи середній, з них у 8 (67%) отримано відповідь на терапію (p=1,0000).

Враховуючи невелику кількість пацієнтів у вищевказаному аналізі, який за методологією дослідження включав лише хворих із ВБП при лікуванні комбінацією препаратів, ми повторно проаналізували дані усіх випадків комбінованої імунотерапії. У 16 (59%) з 27 хворих була отримана відповідь на терапію. Медіана ТМВ для хворих із відповіддю була 9,5 мутацій/мб, із резистентністю – 6,0 (p=0,4061). Медіана ВБП за рівнем ТМВ теж не відрізнялася (p=0,3051).

#### Обговорення

Ми припускаємо, що ТМВ, визначене шляхом NGS, дає змогу робити точніший прогноз результатів лікування анти-PD1/PD-L1-імунопрепаратами пацієнтів з різними типами пухлин, зокрема меланою та НДРЛ. Незважаючи на те що технологія NGS є порівняно новою, онкологи більш ефективно і селективно лікують пацієнтів завдяки підбору таргетної терапії зі спорідненими альтераціями [35-37]. NGS має властивість також розпізнавати альтерації, що можуть прогнозувати відповідь на імунотерапію, ідентифікуючи мутації в невідповідно відновлених генах (mismatch repair genes) [21], мікросателітну нестабільність [24, 25, 30, 38, 39] і PD-L1-ампліфікацію [40].

Ми засвідчуємо кореляцію між ТМВ і результатом лікування пацієнтів з НДРЛ та меланою і вважаємо, що цей зв'язок буде підтверджено і для інших гістологічних типів пухлин. Пацієнти з високим рівнем ТМВ мали істотно вищий рівень відповіді на лікування та вищі

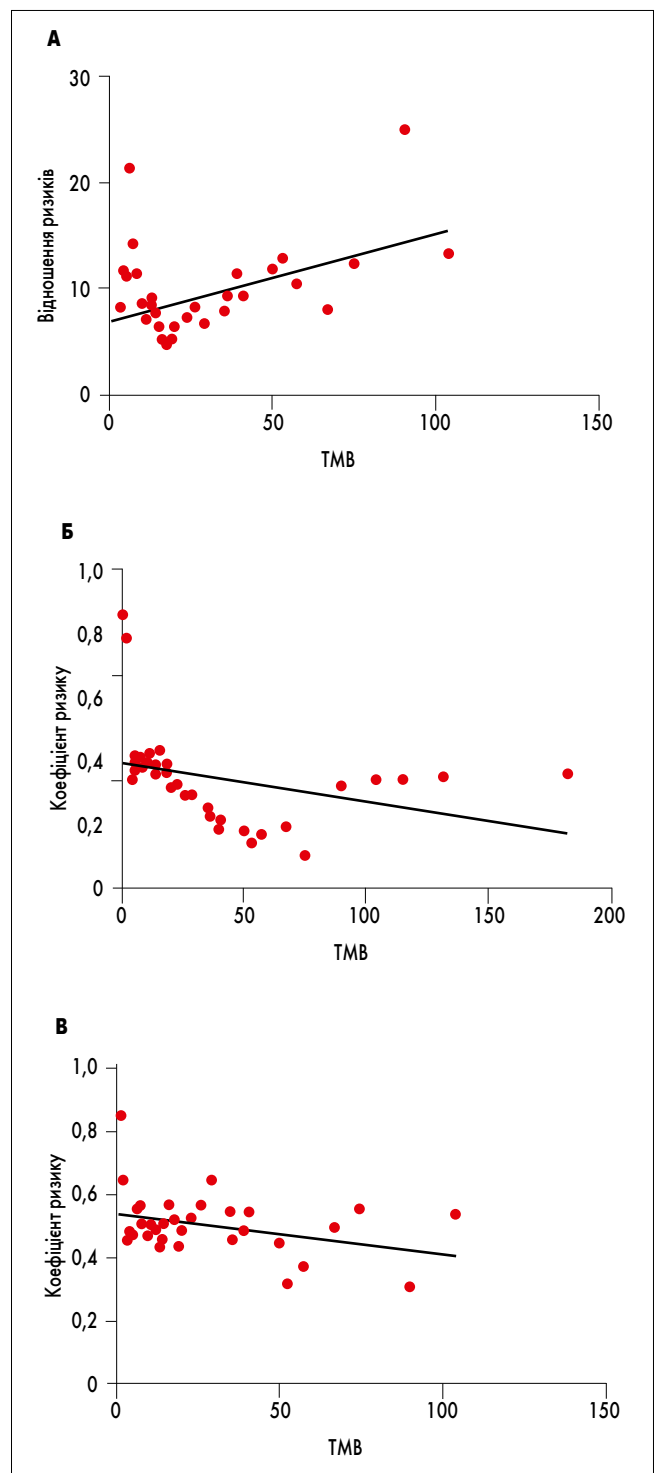


Рис. 3. Пацієнти, які отримували монотерапію анти-PD-1/PD-L1 препаратами (n=102). А – відношення шансів для рівня відповіді на лікування залежно від точки відсікання. Б – відношення ризиків для ВБП залежно від точки відсікання ТМВ. В – відношення ризиків для ЗВ залежно від точки відсікання ТМВ

показники ВБП та ЗВ, ніж хворі з низьким рівнем ТМВ. Отже, кореляція між ТМВ і результатом лікування є лінійною для пацієнтів, які отримували монотерапію блокаторами PD1/PD-L1. Асоціація між вищим ТМВ і кращою відповіддю на лікування та ВБП залишається значною у разі вилучення з аналізу даних хворих з меланою та НДРЛ. Однак у такому варіанті аналізу ЗВ (можливо, через малу кількість спостережень) не демонструє істотного зв'язку із ТМВ.

Пацієнти із захворюваннями, що рідко зустрічаються, мають обмежені терапевтичні можливості [41]. Застосування ТМВ як біомаркера може допомогти обирати кандидатів на проведення імунотерапії. Наприклад, у нашому дослідженні у хворих із високодиференційованою нейроендокринною карциномою шийки матки, метастатичною базальноклітинною карциномою та недиференційованою плеоморфною саркомою, у яких захворювання прогресувало на тлі попереднього лікування та у яких був середній і високий рівень ТМВ, відмічена чутливість до блокаторів PD-1/PD-L1.

Таким чином, результати нашого дослідження дозволяють стверджувати, що різні типи пухлин при високому рівні ТМВ, визначеному методом NGS, мають вищу чутливість до імунотерапії, особливо блокаторами PD-1/PD-L1. Аналогічні результати були продемонстровані при монотерапії анти-CTLA4 або лікуванні високими дозами ІЛ-2, хоча і у невеликій кількості пацієнтів. Результати лікування комбінаціями анти-1/PD-L1/анти-CTLA4 не мали зв'язку із рівнем ТМВ. Клінічне значення рівня ТМВ як біомаркера призначення імунотерапії інгібіторами контрольних точок мають підтвердити подальші проспективні клінічні дослідження.

Список літератури знаходиться в редакції.  
Aaron M. Goodman, Shumei Kato, L. Bazhenova et al. Tumor Mutational Burden as an Independent Predictor of Response to Immunotherapy in Diverse Cancers; doi: 10.1158/1535-7163.MST-17-0386.

Переклад з англ. Назар Лукавський



# КОЖНА ПУХЛИНА УНІКАЛЬНА

FoundationOne CDx надає можливість вибору індивідуальної схеми лікування відповідно до молекулярного "портрету" пухлини<sup>1-3</sup>

1. FoundationOne®CDx FDA Approval, 2017. Available at: [https://www.accessdata.fda.gov/cdrh\\_docs/pdf17/P170019a.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf17/P170019a.pdf) (Accessed November 2018);
2. FoundationOne®CDx FDA Approval Press Release, 2017. Available at: <https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm587273.htm> (Accessed November 2018);
3. FoundationOne®CDx Technical Specifications 2018. Available at: [www.roche.foundationmedicine.com/flcdxtech](http://www.roche.foundationmedicine.com/flcdxtech) (Accessed November 2018).

Інформація для професійної діяльності медичних та фармацевтичних працівників.

Для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних закладів та спеціалістів у сфері охорони здоров'я.

Запит медичної інформації про продукти ТОВ "Рош Україна" Ви можете надіслати за електронною адресою: [ukraine.medinfo@roche.com](mailto:ukraine.medinfo@roche.com).

ТОВ "Рош Україна", 04070, м. Київ, вул. П. Сагайдачного 33, тел. +380 44 354 30 40, факс +380 44 354 30 41, [ukraine.medinfo@roche.com](mailto:ukraine.medinfo@roche.com), [www.roche.ua](http://www.roche.ua).

