

راهنمای پزشکان

آزمایش Tumor Profiling

برای تعیین رژیم درمانی سرطان



آزمایش Tumor Profiling

جهش‌های ژنتیکی در بافت تومور یکی از مهمترین بیومارکرهای تومور هستند که برای تشخیص نوع سرطان، طبقه‌بندی آن، تخمین پیش‌آگهی و انتخاب درمان مناسب از اهمیت بسیاری برخوردار می‌باشند. آزمایش تعیین پروفایل ژنتیکی تومور (Tumor Profiling) یک روش تشخیص آزمایشگاهی بر پایه توالی یابی نسل جدید است که با مشخص کردن جهش‌های ژنتیکی سلول‌های سرطانی که برای آن‌ها داروی مشخصی وجود دارد، امکان درمان مؤثرتر سرطان را فراهم می‌آورد. برخی از ژن‌های مورد بررسی در این آزمایش همچنین در دسته‌بندی نوع سرطان و یا تعیین پیش‌آگهی آن کاربرد دارند. آزمایش Tumor Profiling بر روی DNAجدا شده از نمونه بلوک‌های بافت پارافینه و فیکس شده با فرمالین (FFPE) انجام می‌شود. این آزمایش به عنوان یک روش تشخیصی کمکی به حساب می‌آید تا بیمارانی که ممکن است از درمان‌های هدفمند (Targeted Therapy) بهره‌مند شوند، را شناسایی کند.

ژن‌ها و جهش‌های مورد بررسی در آزمایش Tumor Profiling

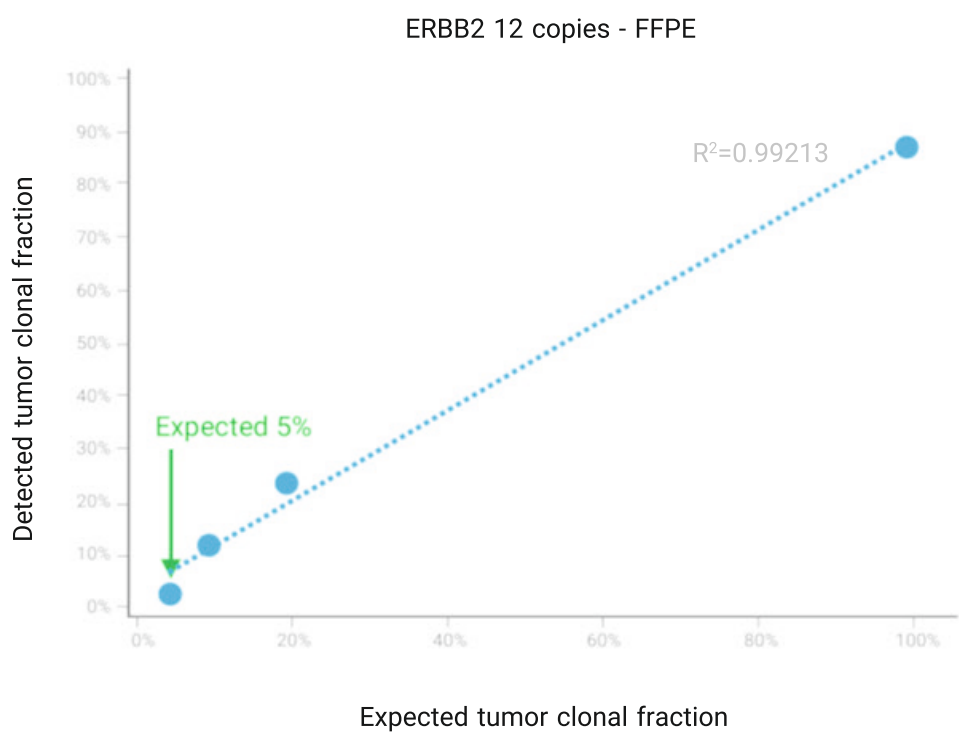
آزمایش Tumor Profiling با استفاده از جدیدترین تکنولوژی‌های آزمایشگاهی و آنالیز داده روز دنیا، علاوه بر تعیین جهش‌های تک نوکلئوتیدی و حذف یا اضافه‌های کوچک در ۴۰ ژن مرتبط با پیشرفت سرطان، امکان بررسی افزایش تعداد کپی‌های ۸ ژن و وجود محصولات فیوژنی ۹ ژن با اهمیت بالینی را فراهم می‌آورد. ژن‌ها و نوع جهش‌های مورد بررسی آن‌ها در این آزمایش در جدول شماره ۱ فهرست شده‌اند.

تغییرات تک نوکلئوتیدی (SNV)

با استفاده از بارکدهای مولکولی در تهیه کتابخانه رشته‌های DNA مورد استفاده در این آزمایش، امکان شناسایی جهش‌های با فراوانی ۱٪ میسر گردیده است. تمامی ۲۲ جهش با فراوانی ۴٪ موجود در نمونه DNA تومور کنترل شرکت SeraCare با استفاده از آزمایش Tumor Profiling به درستی تشخیص داده شد.

تغییرات تعداد کپی ژن (CNV)

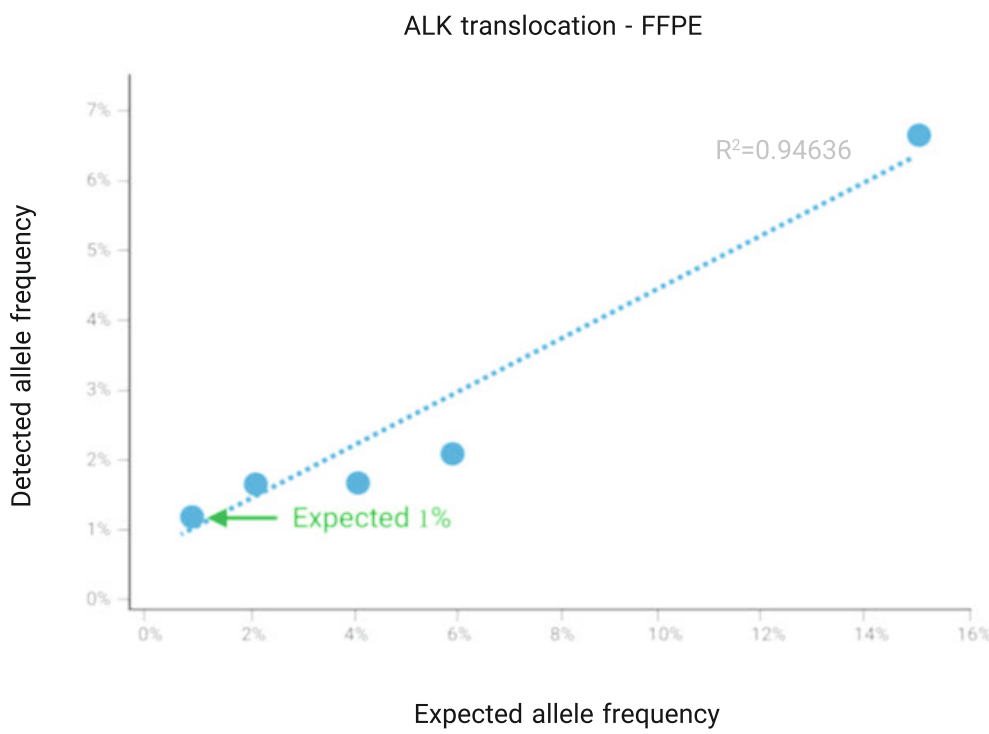
در این آزمایش علاوه بر ژن‌های مورد بررسی، 100 Kbp از ژنوم به عنوان کنترل در هر نمونه توالی‌یابی می‌شود، تا امکان تعیین کم یا اضافه شدن کپی‌های یک ژن در سلول‌های سرطانی تا نسبت کلونی ۱۵٪-۱۰ میسر گردد. در یک نمونه FFPE تومور پستان دارای ۱۲ کپی از ژن ERBB2، افزایش تعداد کپی‌های این ژن در نمونه‌های DNA رقیق شده به نسبت ۱۰۰٪، ۲۰٪ و ۱۰٪ با آزمایش Tumor Profiling به درستی تعیین گردید. همچنین تعداد کپی‌های ژن ERBB2 در ۵ نمونه FFPE تومور پستان تعیین شده با آزمایش Tumor Profiling، با تعداد کپی‌های اندازه گیری شده با FISH مطابقت خوبی داشت.



نمونه تومور	تعداد کپی‌های ERBB2 با FISH	تعداد کپی‌های ERBB2 با Tumor Profiling
بلوک FFPE شماره ۱	۱۰/۲	۱۵
بلوک FFPE شماره ۲	۶/۲	۵
بلوک FFPE شماره ۳	۸	۱۴
بلوک FFPE شماره ۴	۸/۴	۸
بلوک FFPE شماره ۵	۱۰	۱۵

فیوژن (Translocation)

با استفاده از طراحی ویژه پروب‌های شرکت Agilent و آنالیز پیشرفته داده‌ها در آزمایش Tumor Profiling، امکان تشخیص Translocation در سلول‌های سرطانی تا نسبت کلونی ۱٪ فراهم گردیده است. یک نمونه DNA تومور دارای Translocation بین ژن‌های ALK و EML4 به نسبتهای ۱۵٪، ۶٪، ۴٪، ۲٪ و ۱٪ رقیق شده و آزمایش Tumor Profiling با دقت خوبی Translocation ژن ALK را در تمام نمونه‌ها شناسایی نمود.



جدول شماره ۱: فهرست ژن‌ها و نوع جهش‌های مورد بررسی آن‌ها درآزمایش Tumor Profiling

نام ژن	تغییرات تک نوکلئوتیدی (SNV)	تغییرات تعداد کپی ژن (CNV)	فیوژن (Translocation)
ABL1	●		
ALK	●		●
AR	●	●	
ATM	●		
BRAF	●		●
BRCA1	●		
BRCA2	●		
CD274 (PD-L1)	●	●	
CDK4	●	●	
CDKN2A	●		
EGFR	●		
ERBB2	●	●	
ESR1	●		
FGFR2	●		●
FGFR3	●		●
IDH1	●		
IDH2	●		
KIT	●		
KRAS	●	●	
MDM2	●	●	
MET	●	●	
MLH1	●		
MSH2	●		
MSH6	●		
NF1	●		
NRAS	●		
NTRK1	●		●
NTRK2			●
NTRK3	●		●
PDGFRA	●		
PIK3CA	●	●	
PMS2	●		
RET	●		●
ROS1	●		●
SMARCB1	●		
SMO	●		
TERT	●		
TP53	●		
TSC1	●		
VHL	●		

کاربردهای بالینی نمونه‌ای از ژن‌های مورد بررسی در آزمایش Tumor Profiling

۱ ژن ALK

فیوژن این ژن با ژن‌های دیگر که بیشتر در سرطان ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) دیده می‌شود، پیش‌بینی کننده پاسخ به درمان با مهارکننده‌های ALK تیروزین کیناز (ALK TKI) مثل Crizotinib، Alektinib و Brigatinib می‌باشد. همچنین وجود جهش‌های فعال کننده ALK در نوروبلاستوما، با پیش آگهی بد ارتباط داشته و پیش‌بینی کننده پاسخ یا عدم پاسخ به درمان با مهارکننده‌های ALK تیروزین کیناز (ALK TKI) مثل Crizotinib می‌باشد.

۲ ژن BRAF

وجود جهش‌های BRAF به طور شایعی در سرطان‌های ملانوما، کولون، ریه غیر سلول کوچک (NSCLC)، تیرویید، پستان و گلیومای بدخیم دیده می‌شود. سرطان‌های کولون دارای جهش‌های BRAF پاسخ کاهش یافته به داروهای Cetuximab، Vemurafininb و Panitumumab داشته و تومورهای استرومای دستگاه گوارش (GIST) دارای جهش در ژن BRAF مقاوم به داروهای Imatinib و Sunitinib می‌باشند. همچنین داروهای Dasatinib، Dabrafenib، Trametinib و Vemurafenib در ملانوما و سرطان ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) دارای جهش‌های BRAF مورد استفاده دارند.

۳ ژن‌های BRCA1/2

وجود جهش‌های BRCA1/2 به طور شایعی در سرطان‌های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC)، پستان، کولون و تخمدان دیده می‌شوند. درمان با داروهای مهارکننده PARP (PARP Inhibitors) مثل Olaparib و Rucaparib در سرطان تخمدان دارای جهش‌های BRCA1/2 کاربرد بالینی دارد.

۴ ژن CD274 (PD-L1)

افزایش تعداد کپی‌های CD274 بیشتر در سرطان‌های پستان، سروگردن و ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) دیده می‌شوند. مطالعات ابتدایی نشان دهنده پاسخ به ایمونوتراپی با استفاده از داروهای Immune checkpoint inhibitors (ICI) مانند Pembrolizumab و Nivolumab در سرطان‌های دارای افزایش تعداد کپی های CD274 می‌باشد.

۵ ژن CDKN2A

جهش در ژن CDKN2A در تشخیص مولکولی تومورهای بدخیم غلاف اعصاب محیطی استفاده می شود. همچنین تأثیر داروهای مهار کننده کینازهای وابسته به سایکلین (CDK4/6) مانند Palbociclib و Abemaciclib درمطالعات کارآزمایی بالینی متعددی بر روی سرطان‌های پستان، دهانه رحم و گلیوبلاستوما در حال بررسی می‌باشند.

۶ ژن EGFR

وجود جهش‌های EGFR به‌طور شایعی در سرطان‌های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC)، گلیومای بدخیم، پستان و کولون دیده می‌شوند. درمان با داروهای مهارکننده EGFR تیروزین کیناز (EGFR TKI) مثل Afatinib، Dacomitinib، Erlotinib،Gefitinib و Osimertinib در سرطان‌های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) دارای جهش‌های خاص EGFR کاربرد بالینی دارد.

۷ ژن ERBB2

ژن ERBB2 پروتئین HER2 را کد می‌کند. افزایش فعالیت HER2 به صورت افزایش تعداد کپی‌های این ژن یا جهش های فعال کننده در آن به صورت شایعی در سرطان پستان، سرطان ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) و سرطان کولون دیده می‌شود. داروهای مهارکننده HER2 مانند Pertuzumab، Neratininb، Lapatinib و Trastuzumab در سرطانهای پستان، معده، مری و ریه غیر سلول کوچک که دارای جهش‌های فعال کننده HER2 یا افزایش تعداد کپی‌های ژن ERBB2 می باشند کاربرد بالینی گسترده‌ای دارند.

۸ ژن FGFR3

وجود جهش‌های FGFR3 به‌طور شایعی در سرطان‌های مثانه، ملانوما، ریه غیر سلول کوچک (NSCLC)، پستان و کولون دیده می‌شود. داروی Erdafitinibدر سرطانهای مثانه و مجاری ادراری دارای جهش در ژن FGFR3 استفاده می‌شود.

۹ ژن IDH1

وجود جهش‌های IDH1 در گلیومای بدخیم و لوکمیا اهمیت دارد. در گلیوما، جهش‌های IDH1 با پیش‌آگهی خوب ارتباط دارند. داروی Ivosidenib، خط اول درمان در لوکمیای میلوییید حاد (AML) دارای جهش در ژن IDH1 می‌باشد.

۱۰ ژن IDH2

وجود جهش‌های IDH2 در گلیومای بدخیم و لوکمیا اهمیت دارد. در گلیوما، جهش‌های IDH2 با پیش آگهی خوب ارتباط دارند. داروی Enasidenib، در درمان لوکمیای میلوییید حاد (AML) دارای جهش در ژن IDH2 استفاده می‌شود.

۱۱ ژن KIT

وجود جهش‌های KIT در نئوپلاسم‌های بافت همبند و نرم و همچنین ملانوما و لوکمیا اهمیت دارد. جهش‌های KIT در دسته بندی لوکمیای میلوییید حاد (AML) و تعیین رژیم درمانی آن استفاده می شوند. همچنین داروهای Sorafenib، Regorafinib، Nilotinib، Imatinib، Dasatinib و Suntinib در درمان تومورهای استرومای دستگاه گوارش (GIST) ، کارسینومای تیموس یا ملانومای دارای جهش در ژن KIT کاربرد دارند.

۱۲ ژن KRAS

جهش‌های KRAS به‌طور شایعی در سرطان‌های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) و کولون دیده می‌شوند. سرطان های کولون دارای جهش در ژن KRAS به داروهای Cetuximab و Panitumumab مقاوم می‌باشند. همچنین سرطان های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) به داروهای مهارکننده EGFR تیروزین کیناز (EGFR TKI) مثل Afatinib، Erlotinib، Gefitinib، Dacomitinib و Osimertinib مقاوم بوده و پاسخ درمانی مناسبی نمی‌دهند.

۱۳ ژن MET

جهش‌های MET به طور عمده در سرطان ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) دیده می‌شوند. داروی Crizotinib در تومورهای دارای جهش‌هایی که منجر به حذف اگزون ۱۴ این ژن می‌شوند مورد استفاده دارد. همچنین افزایش تعداد کپی‌های ژن MET در سرطان ریه غیر سلول کوچک (NSCLC) باعث مقاومت به داروهای مهارکننده EGFR تیروزین کیناز (EGFR TKI) مثل Gefitinib، Erlotinib، Dacomitinib، Afatinib و Osimertinib می‌شود.

۱۴ ژن NRAS

جهش‌های NRAS به‌طور شایعی در ملانوما، لوکمیا و سرطان کولون دیده می‌شوند. وجود جهش‌های NRAS در CMML (Chronic Myelomonocytic Leukemia) و JMML (Juvenile Myelomonocytic Leukemia) با پیش آگهی بد در این سرطان‌ها در ارتباط می‌باشد. همچنین سرطان‌های کولون دارای جهش در ژن NRAS به داروهای Cetuximab و Panitumumab مقاوم می‌باشند.

۱۵ ژن‌های NTRK1/2/3

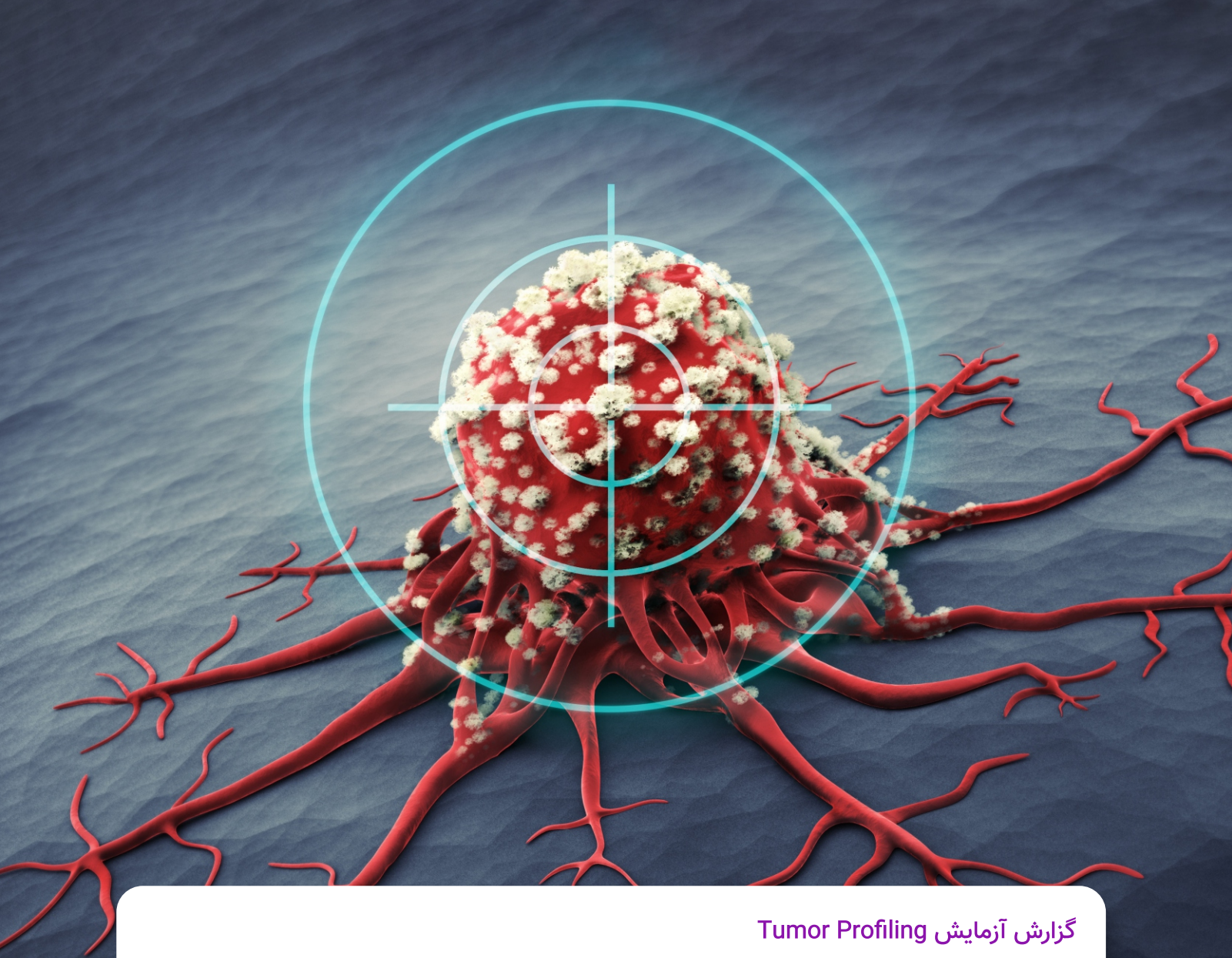
محصولات فیوژنی ژن‌های NTRK1/2/3 به‌طور شایعی در سرطان‌های ریه غیر سلول کوچک (NSCLC)، کولون، پستان، رحم و ملانوما دیده می‌شوند. سرطان‌های دارای فیوژن هریک از ژن‌های NTRK1/2/3 کاندید درمان با داروی Larotrectinib می‌باشند.

۱۶ ژن PDGFRA

داروهای Imatinib، Dasatinib یا Suntinib در درمان تومورهای استرومای دستگاه گوارش (GIST) دارای جهش در ژن PDGFRA استفاده می‌شوند.

۱۷ ژن PIK3CA

جهش‌های PIK3CA به‌طور عمده در سرطان پستان دیده می‌شوند. ترکیب دارویی Alpelisib و Fulvestrant در تومورهای پستان با رسپتور هورمونی مثبت (ER+) و بدون افزایش کپی‌های ژن ERBB2 (HER2-) که دارای جهش های PIK3CA می‌باشند، مورد استفاده دارد.



گزارش آزمایش Tumor Profiling

جهش‌های یافت شده در نمونه تومورررسی شده با آزمایش Tumor Profiling با استفاده از پایگاه‌های داده متعددی از جمله MSK-IMPACT، ICGC، PMKB، Cancer Hotspots، CiVIC، My Cancer Genome و COSMIC، TCGA مورد ارزیابی قرار گرفته و بر اساس دستورالعمل AMP (Association of Molecular Pathologists) طبقه بندی و گزارش می‌شوند. گزارش آزمایش Tumor Profiling علاوه بر تفسیر و طبقه‌بندی جهش‌های یافت شده، اطلاعات کاملی در مورد ژن‌های دارای جهش، اهمیت بالینی جهش‌های یافت شده و همچنین داروهای توصیه شده بر اساس پروفایل ژنتیکی تومور در اختیار تیم پزشکی بیمار قرار می‌دهد.

شرایط نمونه مورد نیاز برای آزمایش Tumor Profiling

نمونه بلوک بافت پارافینه و فیکس شده با فرمالین (FFPE) یا ۴ نمونه برش از بلوک FFPE تومور با ضخامت ۱۰ میکرون بر روی لام برای انجام این آزمایش مورد نیاز است.

همچنین یک لام مرتبط رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلن و ائوزین مورد نیاز می‌باشد.

مساحت بافت موجود در بلوک باید حداقل $25mm^2$ باشد. نمونه بلوک‌هایی که مساحت کمتری دارند باید برش‌های بیشتری از آن‌ها تهیه شود.

نسبت سلول‌های توموری نباید کمتر از ۲۰٪ از کل سلول‌های هسته دار یک بلوک باشد. میزان مطلوب سلول‌های توموری به کل سلول‌های هسته دار ۳۰٪ یا بیشتر می‌باشد.



Tumor Profiling

گامی مؤثر در درمان هدفمند
Solid Tumors

Precision Oncology را با آزمایش
Tumor Profiling تجربه کنید.

SAGENE
آزمایشگاه ژنتیک پزشکی ساژن

آزمایشگاه ژنتیک پزشکی ساژن
پیشرو در ارائه به روزترین
آزمایش های بررسی ژنتیکی سرطان

تهران، خیابان قائم مقام فراهانی، نرسیده به خیابان شهید بهشتی خیابان ادیب‌الممالک فراهانی (دهم)، پلاک ۲۴، طبقه ۴، واحد ۲۳
info@sagene.ir
SAGENE.IR
(+۹۸۲۱) ۸۸۵۴۷۴۴۰ - ۲