



Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΝΤΩΝ microRNAs ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΟ ΜΗ ΜΙΚΡΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΠΝΕΥΜΟΝΑ (ΜΜΚΠ) ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΝΙΒΟΛΟΥΜΑΒ

Μοναστηριώτη Α.¹, Παπαδάκη Χ.¹, Καλαπανίδα Δ.², Μιχαηλίδου Κ.¹, Ρούνης Κ.², Κυριακίδου Α.², Μαυρουδής Δ.^{1,2}, Αγγελάκη Σ.^{1,2}

¹ Εργαστήριο Μεταφραστικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, Κρήτη, Ελλάδα
² Παθολογική-Ογκολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο Ηρακλείου, Ηράκλειο, Κρήτη, Ελλάδα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Τα microRNAs (miRNAs) μελετώνται για το ρόλο τους στη ρύθμιση των σημείων ελέγχου της ανοσολογικής απόκρισης και ερευνάται η πιθανή χρησιμότητά τους ως βιοδείκτες στα πλαίσια της υγρής βιοψίας.

Μέθοδοι: Η έκφραση των miR-34a, miR-146a, miR-155, miR-200b, miR-200c και miR-223 αναλύθηκε με RT-qPCR στο πλάσμα ασθενών με προχωρημένο ΜΜΚΠ (N=69), πριν την έναρξη της ανοσοθεραπείας. Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν σε δύο ομάδες, υψηλής και χαμηλής έκφρασης, ανάλογα με τη διάμεση τιμή έκφρασης κάθε miRNA. Με βάση την ανταπόκριση στη θεραπεία, οι ασθενείς που εμφάνισαν μερική ανταπόκριση (partial response, PR) ή σταθερή πορεία νόσου (stable disease, SD) χαρακτηρίστηκαν ως responders, ενώ όσοι εμφάνισαν πρόοδο νόσου (progressive disease, PD) ως non-responders.

Σκοπός: Η μελέτη της έκφρασης των miRNAs στο πλάσμα ασθενών με ΜΜΚΠ που έλαβαν ανοσοθεραπεία 2ης ή 3ης γραμμής με αναστολείς anti-PD-1 (Nivolumab) και η συσχέτισή τους με την κλινική έκβαση και την ανταπόκριση στη θεραπεία.

Αποτελέσματα: Η μέση ηλικία των ασθενών ήταν 70.5 έτη (εύρος: 39-82), 84.1% ήταν άνδρες και ιστολογικά το 55.1% είχε αδενοκαρκίνωμα. Αναφορικά με την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία, το 11.6% των ασθενών εμφάνισε PR, το 40.6% SD και το 47.8% PD. Η έκφραση των miR-34a, miR-146a, miR-200c και miR-223 σχετίστηκε με διαφορετική ανταπόκριση στη θεραπεία. Η υψηλή έκφραση του miR-200c αναδείχθηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός βιοδείκτης μικρότερης συνολικής επιβίωσης, στο σύνολο των ασθενών (N=69) (HR: 2.243, 95% CI: 1.208-4.163; p=0.010), καθώς και στους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα (N=38) (HR: 2.809, 95% CI: 1.116-7.074; p=0.028). Επίσης, η χαμηλή έκφραση του miR-34a βρέθηκε να αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό βιοδείκτη μικρότερης συνολικής επιβίωσης στους ασθενείς με αδενοκαρκίνωμα (N=38) (HR: 3.189, 95% CI: 1.193-8.527; p=0.021).

Συμπεράσματα: Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης αναδεικνύουν ότι οι αλλαγές στην έκφραση των κυκλοφορούντων miR-200c και miR-34a σχετίζονται με την ανταπόκριση στη θεραπεία και την έκβαση των ασθενών με προχωρημένο ΜΜΚΠ, που λαμβάνουν ανοσοθεραπεία με αναστολείς anti-PD-1 (Nivolumab).

ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑ

Μοναστηριώτη Αλεξία
Εργ. Μεταφραστικής Ογκολογίας, Ιατρική Σχολή,
Πανεπιστήμιο Κρήτης
Email: monasal91@gmail.com

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι θεραπευτικές επιλογές και προσεγγίσεις για ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ έχουν αλλάξει σημαντικά με την ανακάλυψη της Ανοσοθεραπείας. Η ενσωμάτωση της Ανοσοθεραπείας στην κλινική πρακτική παρουσιάζει καλύτερα αποτελέσματα και λιγότερες παρενέργειες σε σχέση με τη χημειοθεραπεία. Το Nivolumab, ένας anti-PD-1 αναστολέας, είναι το πρώτο μονοκλωνικό αντίσωμα που εγκρίθηκε για την αντιμετώπιση του ΜΜΚΠ, με τα αποτελέσματα των ερευνών να δείχνουν ότι οι ασθενείς που είχαν λάβει προηγούμενες γραμμές θεραπείας, παρουσίαζαν καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία αυτή και καλύτερη ολική επιβίωση. Στα πλαίσια της υγρής βιοψίας, τα microRNAs (miRNAs) μελετώνται ως βιοδείκτες της αποτελεσματικότητας της ανοσοθεραπείας, με βάση το ρόλο τους στη ρύθμιση της αντικαρκινικής ανοσίας.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση του ρόλου των κυκλοφορούντων miRNAs που εμπλέκονται στη ρύθμιση των σημείων ελέγχου (miR-34^a, miR-200b, miR-200c), των T ρυθμιστικών κυττάρων (Tregs) (miR-146a, miR-155) και των κατασταλτικών κυττάρων μυελοειδούς προέλευσης (MDSCs) (miR-223), σε σχέση με:

- ❖ Την έκβαση των ασθενών με ΜΜΚΠ που λαμβάνουν ανοσοθεραπεία 2ης ή 3ης γραμμής,
- ❖ Την ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία, και
- ❖ Τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά τους.

Πίνακας 1: Κλινικοπαθολογικά Χαρακτηριστικά Ασθενών							
Χαρακτηριστικά	Σύνολο Ασθενών		Πλακώδες Καρκίνωμα		Αδενοκαρκίνωμα		P value
	N	%	N	%	N	%	
Αριθμός ασθενών	69		31	44.9	38	55.1	
Φύλο							0.009*
Άρρεν	58	84.1	30	96.8	28	73.7	
Θήλυ	11	15.9	1	3.2	10	26.3	
Ηλικία (έτη)							0.050*
Μέσος Όρος (εύρος)	70.5 (39-82)		72 (55-81)		69 (39-82)		0.553*
0	24	34.8	9	29.0	15	39.5	
1	31	44.9	16	51.6	15	39.5	
2	14	20.2	6	19.3	8	21.1	
Ιστολογικός Υπότυπος							ns*
Αδενοκαρκίνωμα	38	55.1					
Πλακώδες Καρκίνωμα	31	44.9					
Αριθμός Μεταστατικών Εστιών							0.217*
0	2	2.9	1	3.2	1	2.6	
1	16	23.1	9	29.0	7	18.4	
2	31	44.9	17	54.8	14	36.8	
≥3	20	29.0	4	12.9	16	42.1	
Γραμμή Θεραπείας							0.083
2 ^η γραμμή	59	85.5	29	93.5	30	78.9	
3 ^η γραμμή	10	14.5	2	6.5	8	21.1	
Ανταπόκριση στη Θεραπεία							0.454*
PR	8	11.6	2	6.5	6	15.8	
SD	28	40.6	14	45.2	14	36.8	
PD	33	47.8	15	48.4	18	47.4	

ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease; *Pearson's chi-squared test.

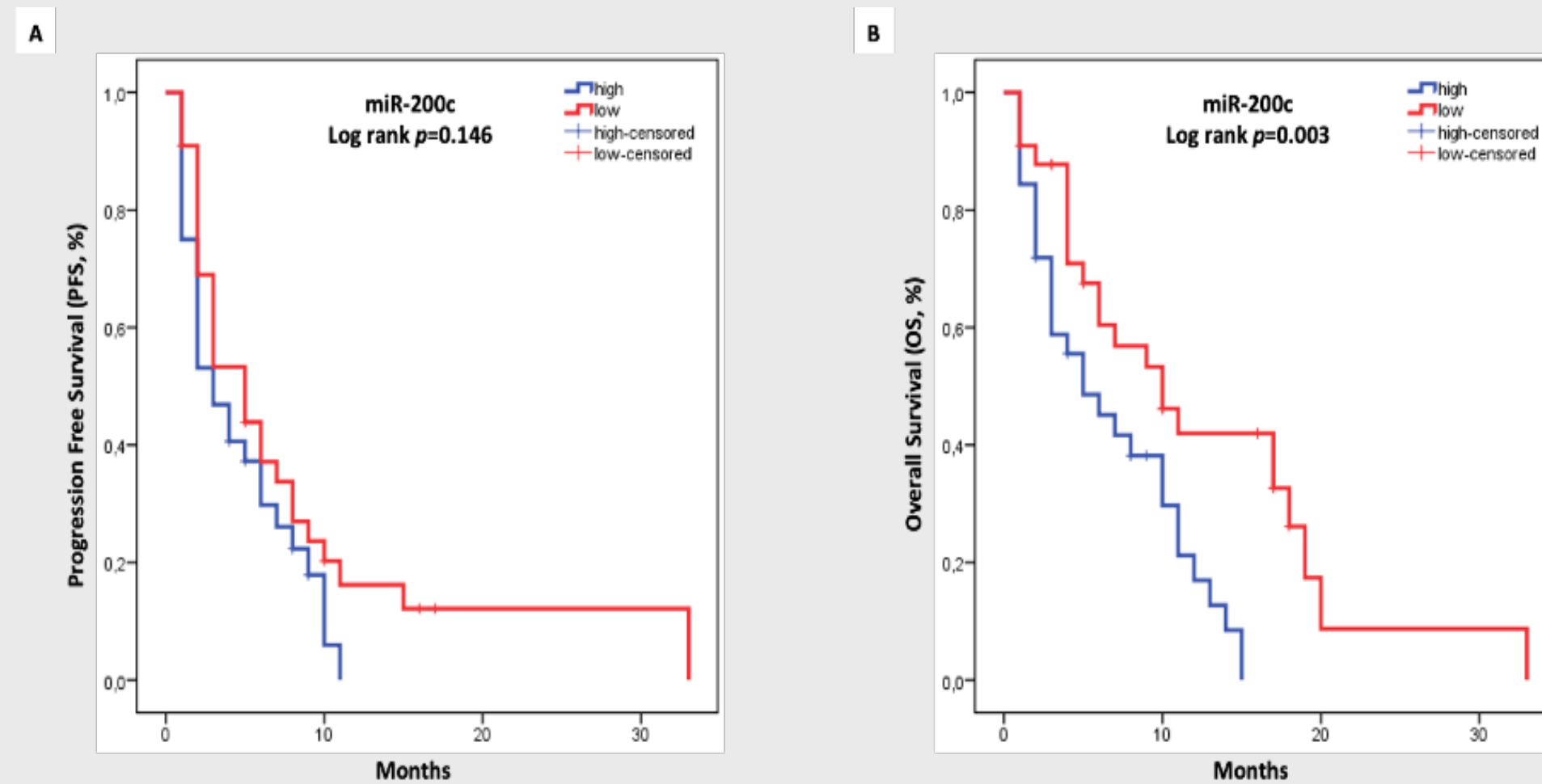
This study was financially supported by Bristol-Myers Squibb (BMS), but the study conduct, including toxicity monitoring, was done by the study team. BMS was not involved in the initial design of the study and in the conduct, collection, management, analysis, and interpretation of the data. BMS or its employees were not involved in the preparation or approval of the manuscript.

The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

ΜΕΘΟΔΟΙ

Πλάσμα συλλέχθηκε από ασθενείς με προχωρημένο ή μεταστατικό ΜΜΚΠ (N=69), πριν την έναρξη της ανοσοθεραπείας 2^{ης} ή 3^{ης} γραμμής (Πίνακας 1). Τα επίπεδα έκφρασης των κυκλοφορούντων miRNAs στο πλάσμα εκτιμήθηκαν με RT-qPCR με την μέθοδο TaqMan.

- Για τη σχετική ποσοτικοποίηση χρησιμοποιήθηκε το γονίδιο αναφοράς U6 snRNA.
- Τα επίπεδα μεταβολών έκφρασης των miRNAs υπό διερεύνηση σε σχέση με τις αντίστοιχες τιμές έκφρασης στην ομάδα ελέγχου υπολογίστηκε με τη μέθοδο 2^{-ΔΔCt}.
- Οι ασθενείς χαρακτηρίστηκαν ως υψηλής ή χαμηλής έκφρασης ανάλογα με τη διάμεση τιμή έκφρασης του εκάστοτε miRNA.
- Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το υπολογιστικό πρόγραμμα SPSS.



Εικόνα 1. Διάστημα Ελεύθερο Υποτροπής PFS (Α) και Ολική Επιβίωση OS (Β) με βάση τα επίπεδα έκφρασης του miR-200c στο πλάσμα ασθενών με προχωρημένο ΜΜΚΠ που λαμβάνουν Nivolumab (Kaplan-Meier analysis, N=69).

Πίνακας 2. Ολική Επιβίωση (OS) στο σύνολο των ασθενών με προχωρημένο ΜΜΚΠ που λαμβάνουν Nivolumab (Multivariate Cox Regression analysis, N=69).

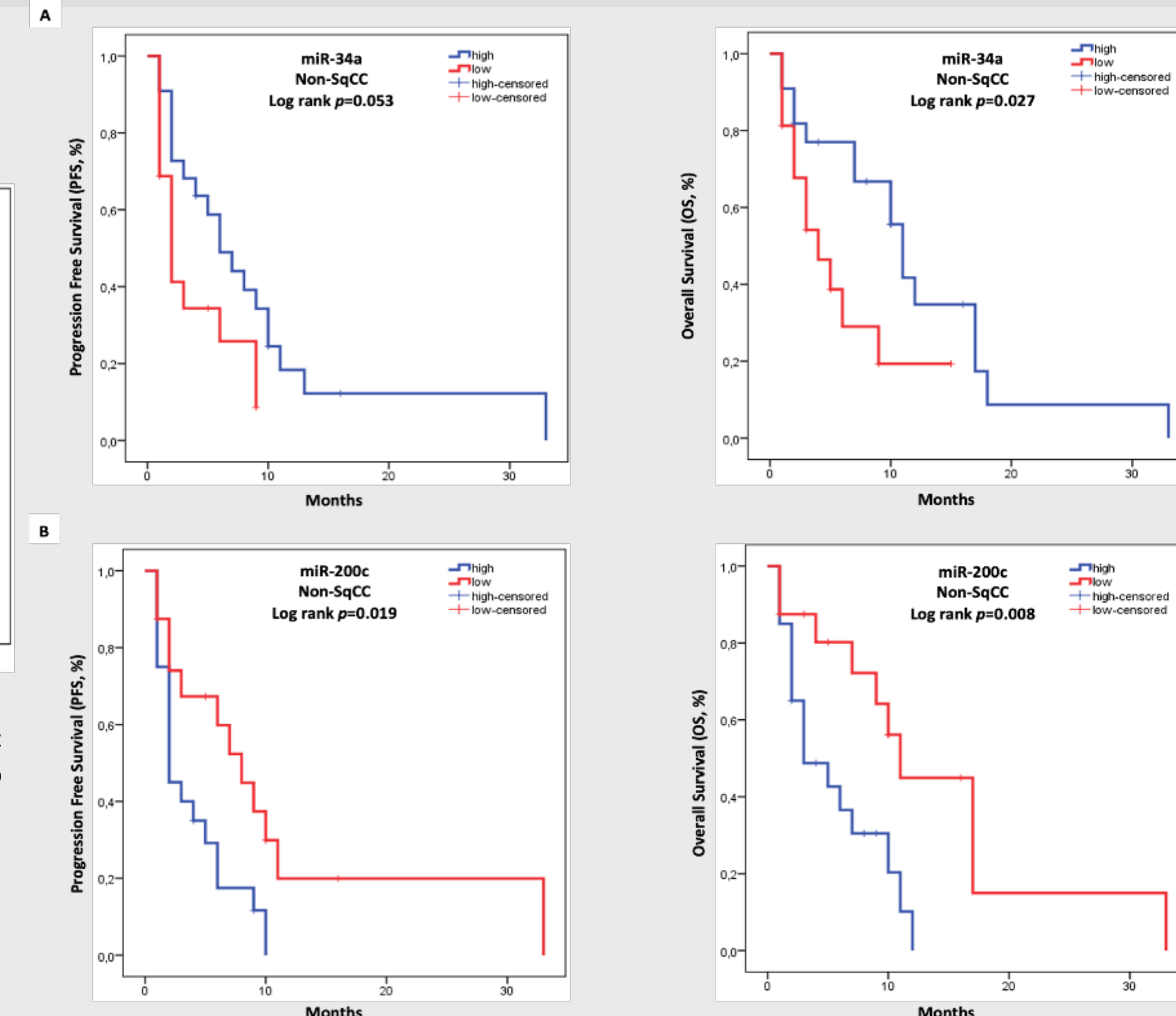
Ολική Επιβίωση OS			
miRNA	Έκφραση	HR (95% CI)	p value
miR-200c	Υψηλή	2,243 (1,208-4,163)	0.010

Πίνακας 3. Ολική Επιβίωση (OS) στην υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα (Multivariate Cox Regression analysis, N=38).

Ολική Επιβίωση OS			
miRNA	Έκφραση	HR (95% CI)	p value
miR-34a	Χαμηλή	3,189 (1,193-8,527)	0.021
miR-200c	Υψηλή	2,809 (1,116-7,074)	0.028

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

- Η υψηλή έκφραση του miR-200c συσχετίστηκε με μικρότερη ολική επιβίωση στο σύνολο των ασθενών (OS, 5 vs. 10 μήνες, p=0.003, Εικόνα 1B).
- Στην υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα, η χαμηλή έκφραση του miR-34a συσχετίστηκε με μικρότερη ολική επιβίωση (OS, 11 vs. 4 μήνες, p=0.027, Εικόνα 2A).
- Στην υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα, η υψηλή έκφραση του miR-200c συσχετίστηκε με μικρότερο διάστημα ελεύθερο υποτροπής (PFS, 2 vs. 8 μήνες, p=0.019, Εικόνα 2B) και με μικρότερη ολική επιβίωση (OS, 3 vs. 11 μήνες, p=0.008, Εικόνα 2B).
- Η υψηλή έκφραση του miR-200c αναγνωρίστηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για μικρότερη ολική επιβίωση (OS, HR: 2,243 (1,208-4,163), p=0.010, Πίνακας 2) στο σύνολο των ασθενών και στην ιστολογική υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα (OS, HR: 2,809 (1,116-7,074), p=0.028, Πίνακας 3).
- Η χαμηλή έκφραση του miR-34a αναγνωρίστηκε ως ανεξάρτητος προγνωστικός δείκτης για μικρότερη ολική επιβίωση στην ιστολογική υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα (OS, HR: 3,189 (1,193-8,527), p=0.021, Πίνακας 3).
- Στην ιστολογική υπο-ομάδα των ασθενών με πλακώδες καρκίνωμα η χαμηλή έκφραση του miR-146a (Πίνακας 4) και του miR-223 (Πίνακας 4) σχετίστηκαν με χειρότερη ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία.
- Στην ιστολογική υπο-ομάδα των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα η υψηλή έκφραση του miR-200c (Πίνακας 4) και του miR-34a (Πίνακας 4) σχετίστηκαν με χειρότερη ανταπόκριση στην ανοσοθεραπεία.



Εικόνα 2. Διάστημα Ελεύθερο Υποτροπής (PFS, αριστερά) και Ολική Επιβίωση (OS, δεξιά) με βάση τα επίπεδα έκφρασης του miR-34a (Α) και του miR-200c (Β), στο πλάσμα της υπο-ομάδας των ασθενών με αδενοκαρκίνωμα που λαμβάνουν Nivolumab (Kaplan-Meier analysis, N=38).

Πίνακας 4. Συσχέτιση της έκφρασης των κυκλοφορούντων miRNAs με την ανταπόκριση στην θεραπεία.

Ανταπόκριση στην Ανοσοθεραπεία με Nivolumab				
miRNA	Έκφραση	Ανταπόκριση	p value	Ιστολογικός Υπότυπος
miR-34a	Χαμηλή	25% PR/SD vs. 75% PD	0.038	Αδενοκαρκίνωμα
miR-146a	Χαμηλή	11.1% PR/SD>6μήνες vs. 88.9% SD<6μήνες/PD	0.014	Πλακώδες Καρκίνωμα
miR-200c	Υψηλή	5% PR vs. 95% SD/PD	0.049	Αδενοκαρκίνωμα
miR-200c	Υψηλή	20% PR/SD>6μήνες vs. 80% SD<6μήνες/PD	0.028	Αδενοκαρκίνωμα
miR-223	Χαμηλή	11.8% PR/SD>6μήνες vs. 88.2% SD<6μήνες/PD	0.026	Πλακώδες Καρκίνωμα

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι αναλύσεις σε επίπεδο ιστού αδυνατούν να συλλάβουν τη δυναμική σχέση μεταξύ όγκου-ξενιστή, εν αντιθέσει με τους κυκλοφορούντες βιοδείκτες, οι οποίοι μπορούν να αντικατοπτρίζουν τη συστηματική απόκριση του όγκου, παρέχοντας ταυτόχρονα τη δυνατότητα για επαναλαμβανόμενη δειγματοληψία και παρακολούθησή.

Η παρούσα μελέτη:

- Υποστηρίζει την υπόθεση ότι το προφίλ έκφρασης των κυκλοφορούντων miRNAs, που συμμετέχουν στη ρύθμιση της αντικαρκινικής ανοσίας, παρέχει πληροφορίες σχετικά με την επιβίωση των ασθενών με προχωρημένο ΜΜΚΠ που λαμβάνουν Nivolumab.
- Προτείνει ότι τα επίπεδα έκφρασης του miR-200c και του miR-34a στο πλάσμα έχουν προγνωστικό ρόλο σε ασθενείς με προχωρημένο ΜΜΚΠ που λαμβάνουν Nivolumab.
- Προτείνει ότι τα miRNAs που μελετήθηκαν, πιθανώς αντιπροσωπεύουν πολλά υποσχόμενους κυκλοφορούντες βιοδείκτες που μπορεί να παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση των ασθενών στην ανοσοθεραπεία.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

Shields MD. Et. al, Immunotherapy for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer: A Decade of Progress. Am Soc Clin Oncol Educ Book. 2021;41:1-23.
Borghaei H., Et. al, Five-Year Outcomes From the Randomized, Phase III Trials CheckMate 017 and 057: Nivolumab Versus Docetaxel in Previously Treated Non-Small-Cell Lung Cancer [published correction appears in J Clin Oncol. 2021 Apr 1;39(10):1190]. J Clin Oncol. 2021;39(7):723-733.
Cui M, Wang H, Yao X, et al. Circulating MicroRNAs in Cancer: Potential and Challenge. Front Genet. 2019;10:626.