



Možnosti využití technologie DNA microarrays v predikci odpovědi na neoadjuvantní terapii u pacientů s karcinomem jícnu

Srovnal J.¹, Cincibuch J.², Cwierkta K.², Melichar B.², Aujeský R.³,
Vrba R.³, Neoral Č.³, Radová L.¹, Sedláčková M.¹, Hajdúch M.^{1,2}

1. Laboratoř experimentální medicíny, Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP a FN Olomouc
2. Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
3. I. chirurgická klinika LF UP a FN Olomouc





Obsah přednášky

- 1. Karcinom jícnu – epidemiologie, léčba**
- 2. DNA microarrays – metodika, možnosti**
- 3. Identifikace léčebné odpovědi**
- 4. Naše výsledky – pilotní data**



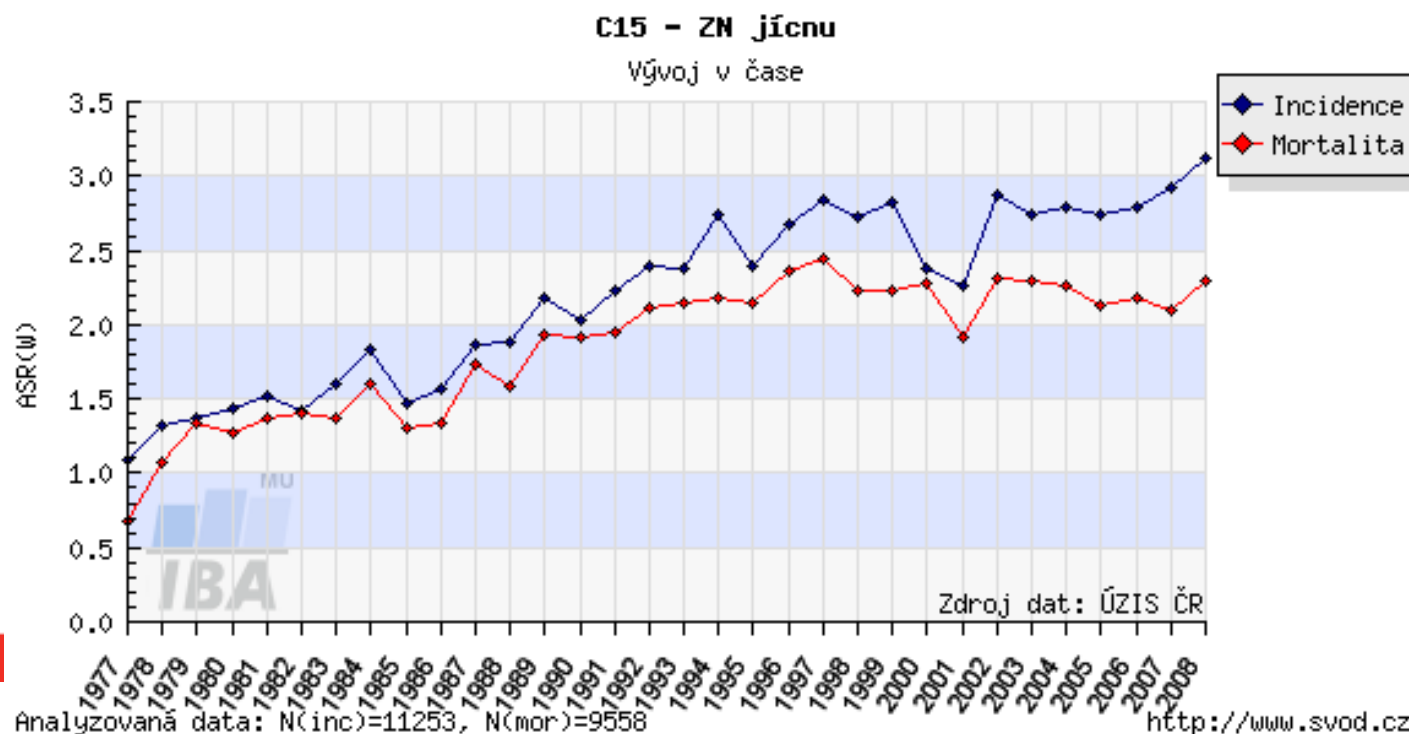
Epidemiologie I.

Incidence ČR 5,36/100 000 (celkem 561)

Mortalita ČR 4,09/100 000 (celkem 428)

Asie (až 5% všech malignit)

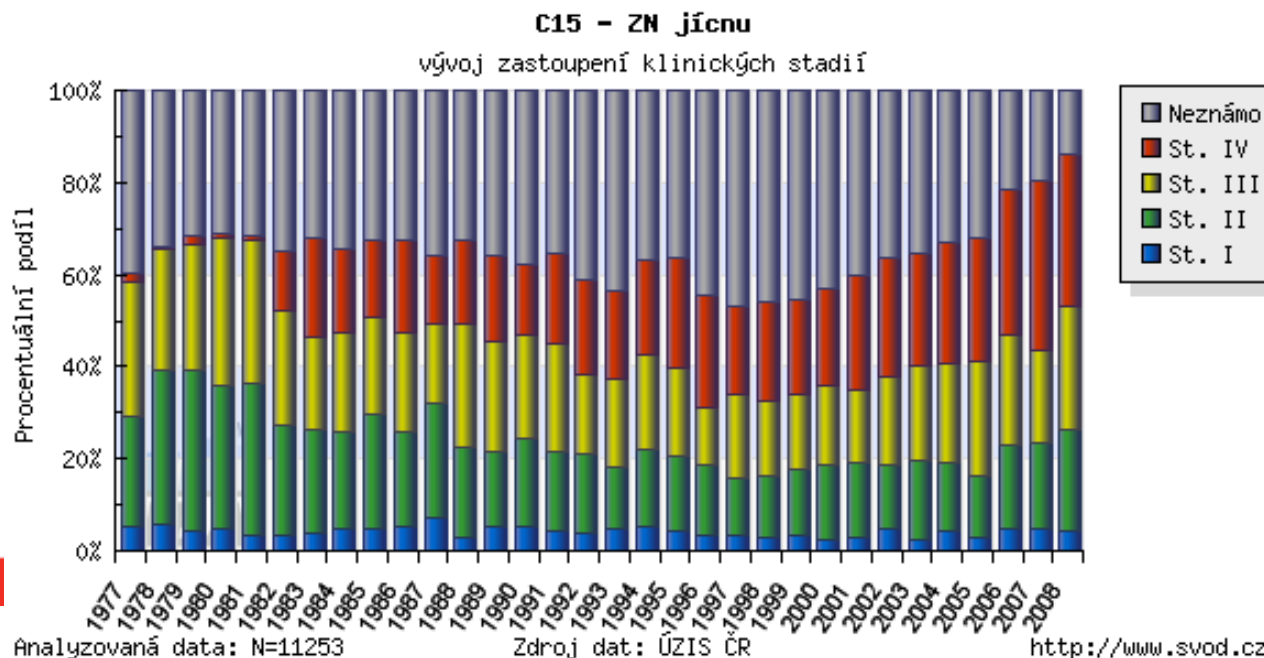
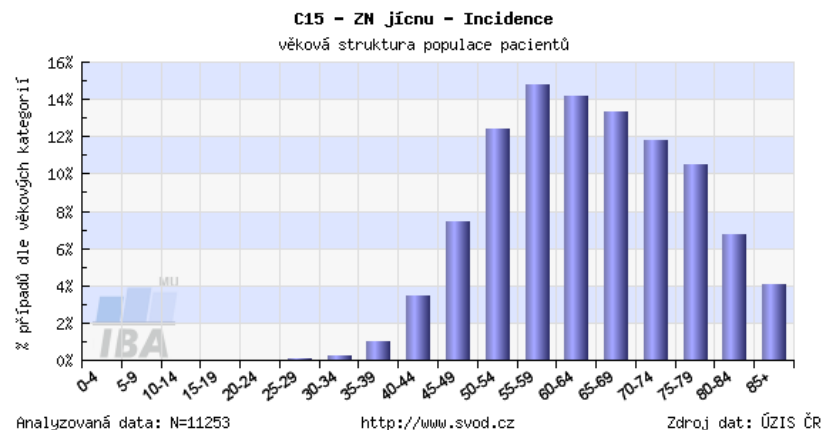
Barretův jícn





Epidemiologie II.

I. stádium	4,1%
II. stádium	22.1%
III. stádium	27.1%
IV. stádium	32,6%
Neznámé stádium	14.1%





Epidemiologie III.

Terapie :

- radioterapie**
- chemoterapie (CDDP + FU)**
- chirurgie**

Neoadjuvance: CR vs. PD

Přežití pacientů:

celkové přežití cca 5% 5 let (všechna stádia)

pooperační mortalita 5-15%

retrospektivní analýza KOC Olomouc, 152 pacientů, stádia I-III,

3 roky 24%, 5let 19%, medián 12 měsíců

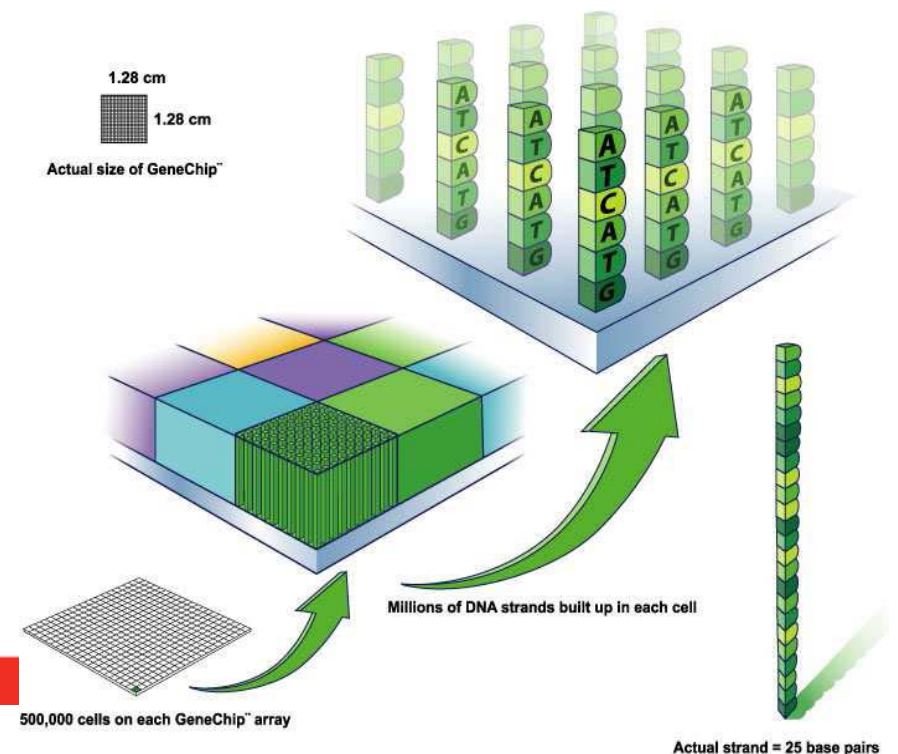
(Cincibuch et al., Hepatogastroenterology 2010)



Expresní profilování nádorů

Technologie microarrays – platforma Affymetrix

- high-density oligonucleotide arrays
- photolithography
- 28 869 genes
- 26 probes per gene (25mer)
- 764 855 probes
- many controls





Možnosti microrrays – platforma Affymetrix

Analýzy:

Gene arrays

Exon arrays

miRNA arrays

SNP

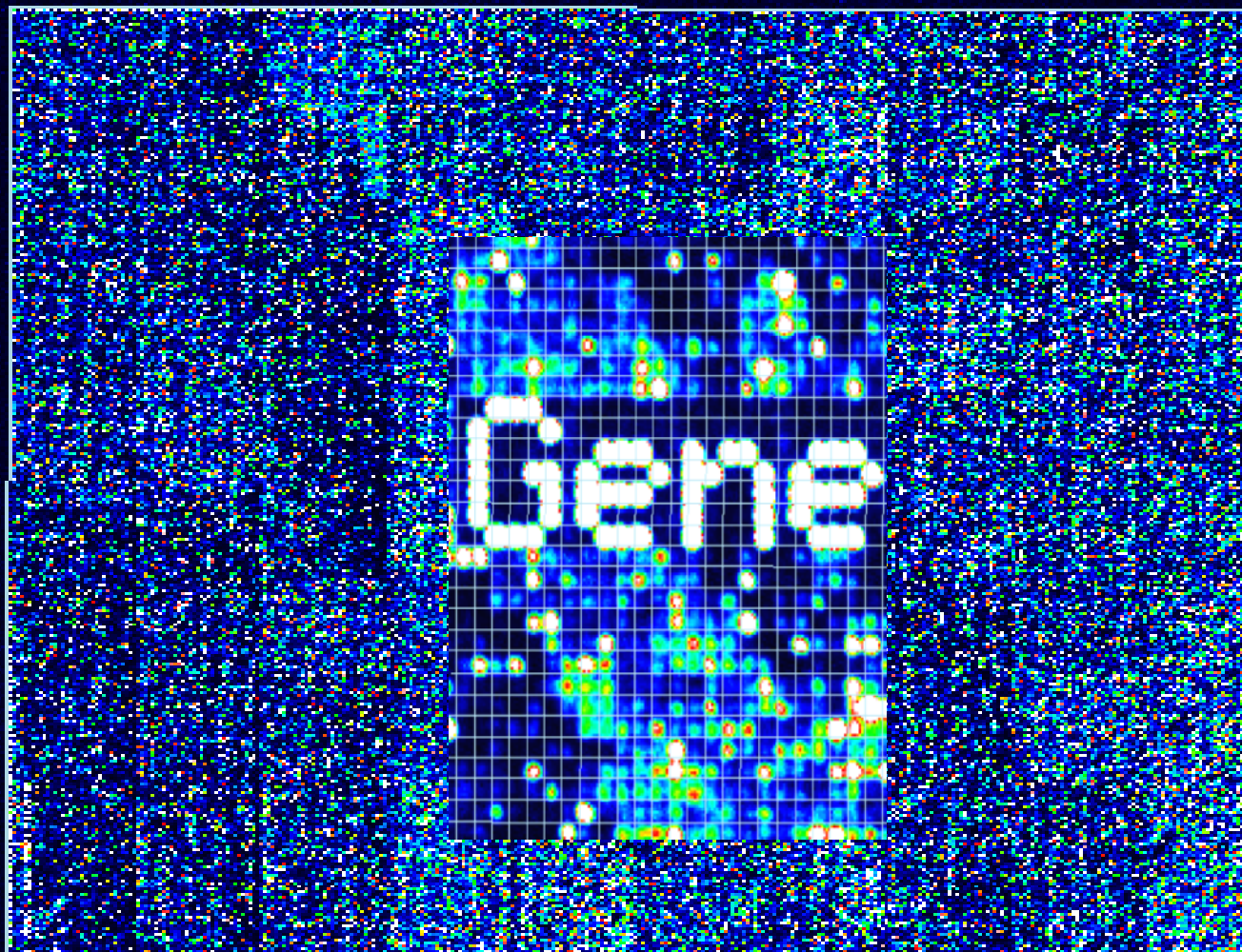
Cytogenetic arrays

Tiling arrays





Scanning





Klinické aplikace DNA microarrays

1. Screening potencionálních molekul

Nové terapeutické cíle

Nové prediktivní a prognostické markery

2. Analýza buněčných pochodů

Změny genové exprese v závislosti na exp.
podmínkách či terapii

Identifikace molekulárních drah

3. Klasifikace

Nové molekulární subtypy

Prospektivní identifikace pacientů např. good respondérů





Charakteristika souboru

**33 pacientů, průměrný věk 57 let (34-76), 6x ženy, 27x muži
všichni pacienti bez přítomnosti vzdálených metastáz**

11x adenokarcinom (3x dolní jícen, 9x kardie)

22x spinocelulární karcinom (9x dolní jícen, 13x střední jícen)

**U všech diagnostická biopsie a zahájena neoadjuvantní
chemoradioterapie (50Gy, CDDP+FU)**

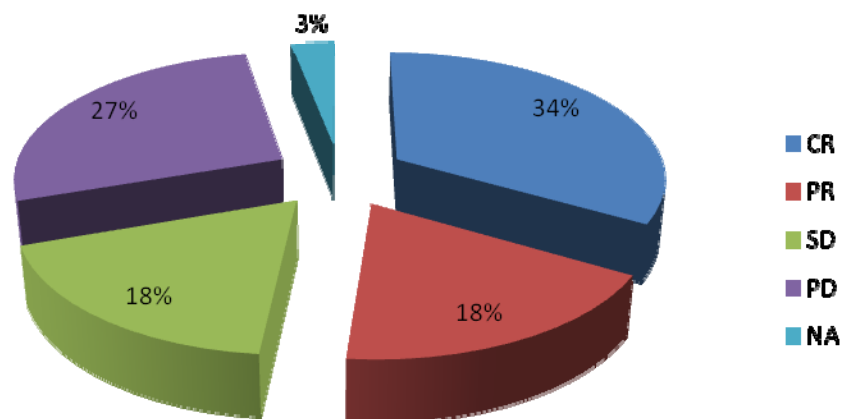


Charakteristika souboru

17x R0 resekce, 2x R2 (meta plic, peritonea)

U 17 R0 resekcí 6x pCR, u 5 neoperovaných CR

Celkem: 11x CR, 6x PR, 6x SD, 9x PD, 1x NA





Metodika

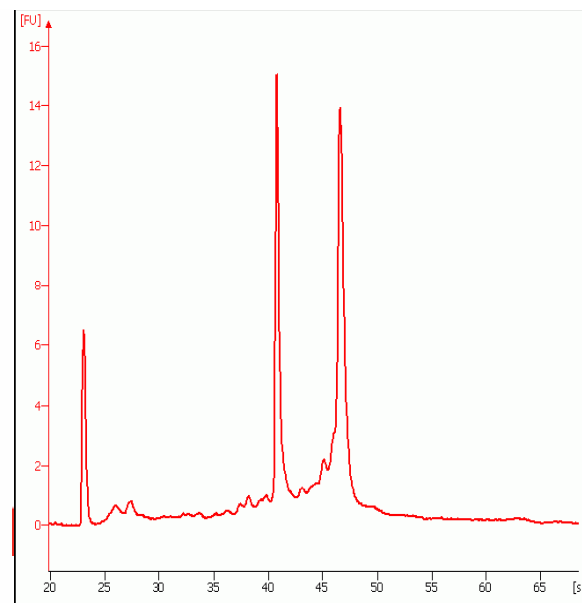
Z biopsie tumoru izolována RNA fenol-
chloroformovou metodou

RNA c = 556 μ g/ml, RIN 8,2 (Agilent)

Affymetrix GeneChip Human Gene 1.0 ST Array

Freeware R + Bioconductor

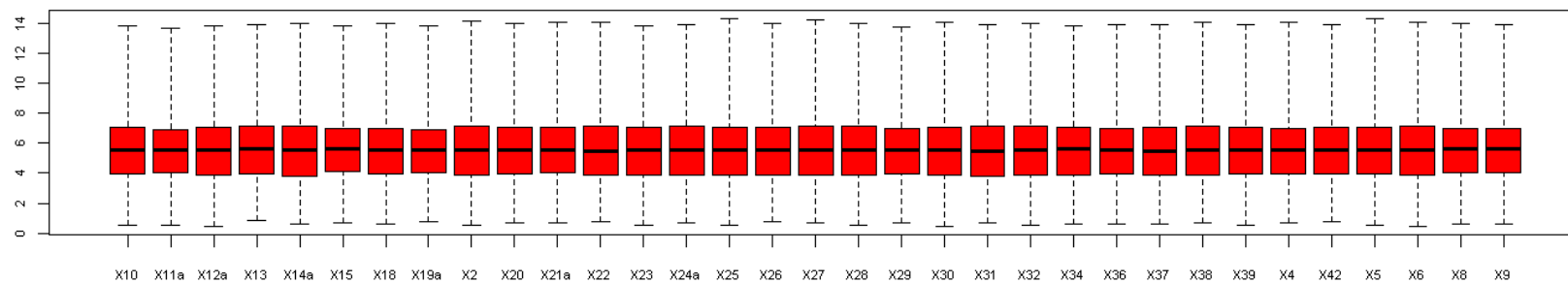
GeneGO



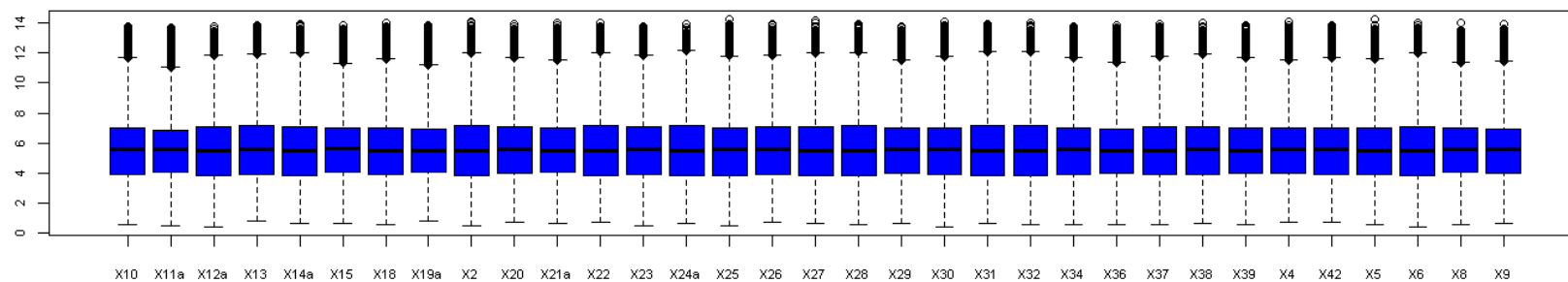


Quality Control

Original Data



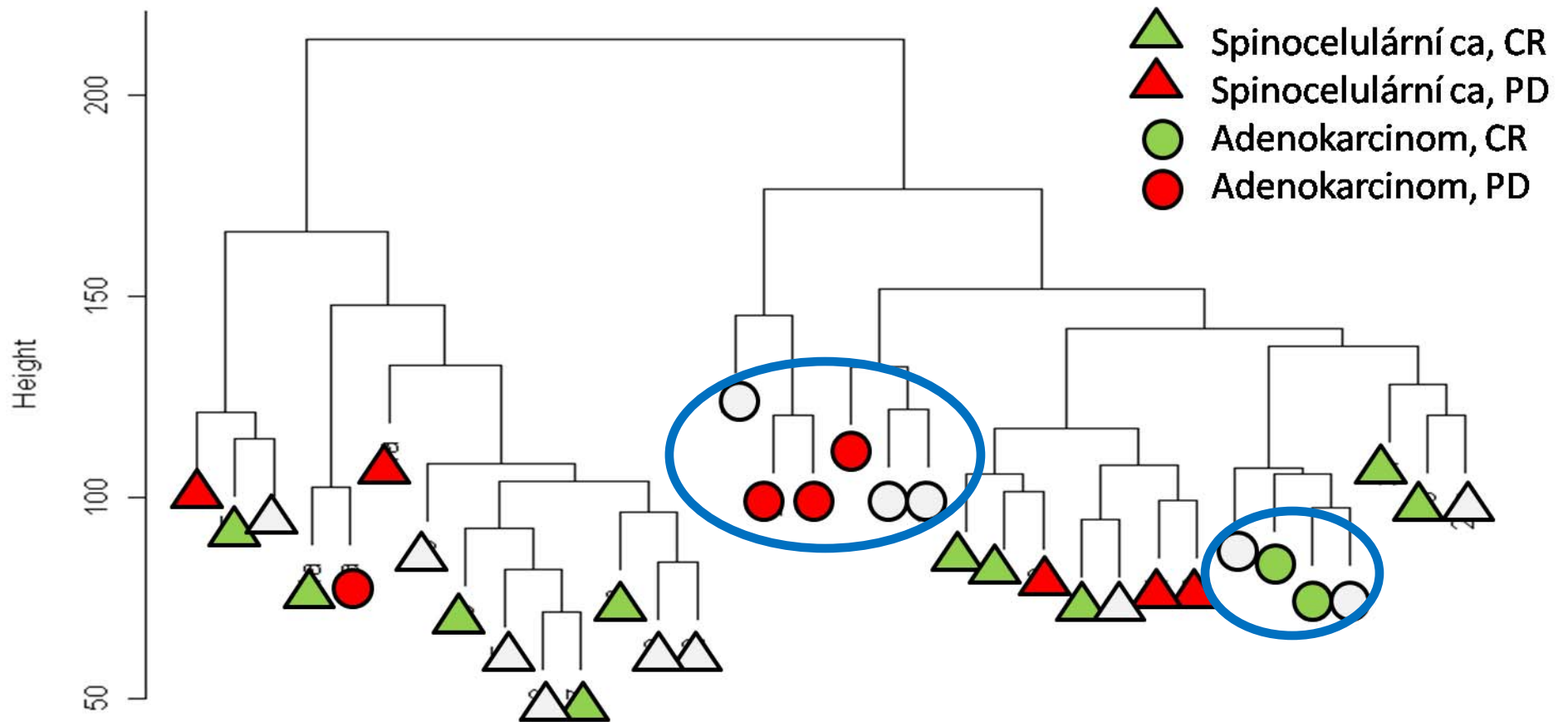
Normalized Data





Unsupervised clustering

Cluster Dendrogram



dat.dist
hclust (*, "complete")



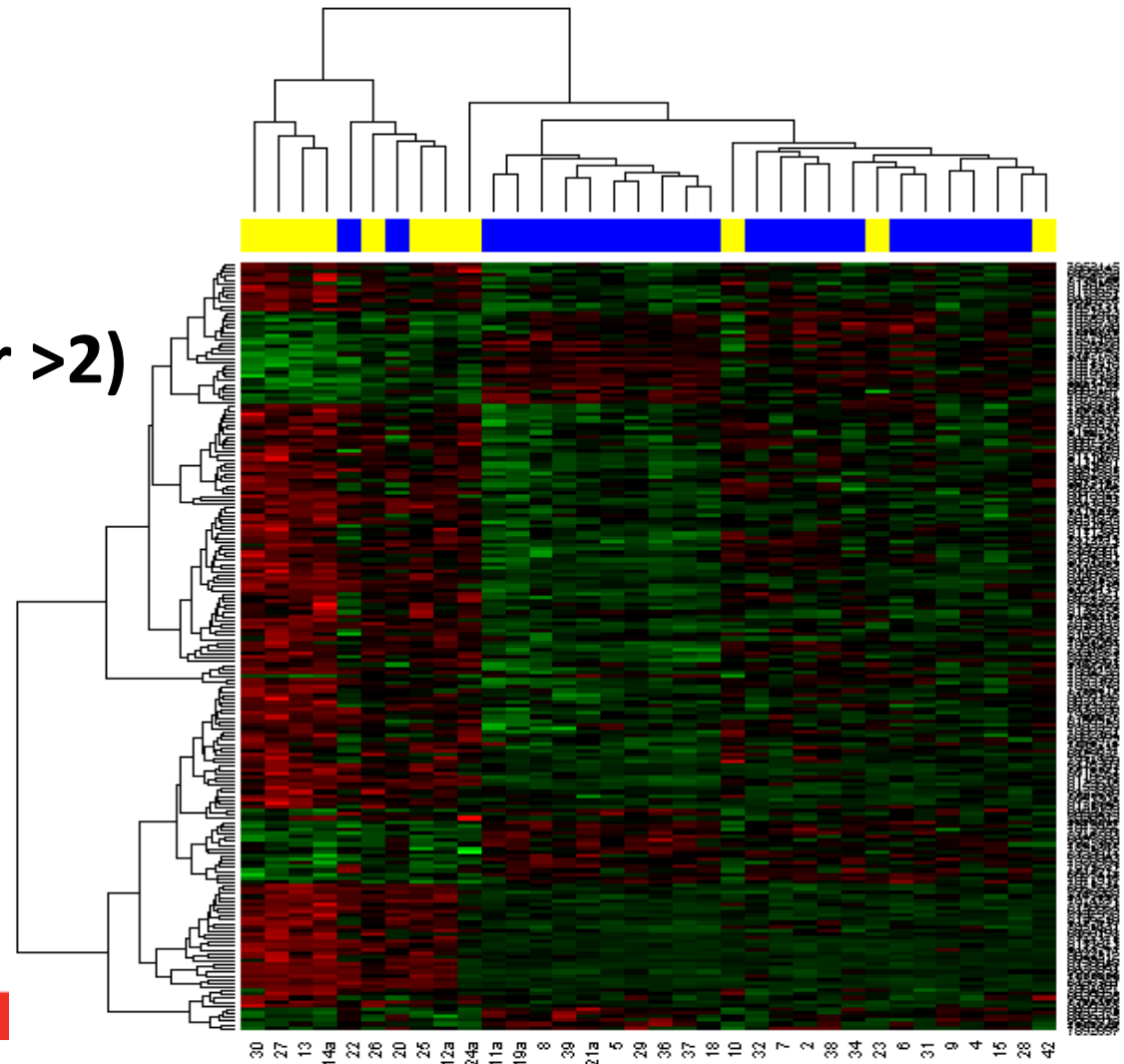
Expresní profily - histologie

205 genů

($p < 0.001$, $\log_{2}FC < -2$ or > 2)

Žlutá = adenoca

Modrá = spinocel. ca





Expresní profily - lokalizace

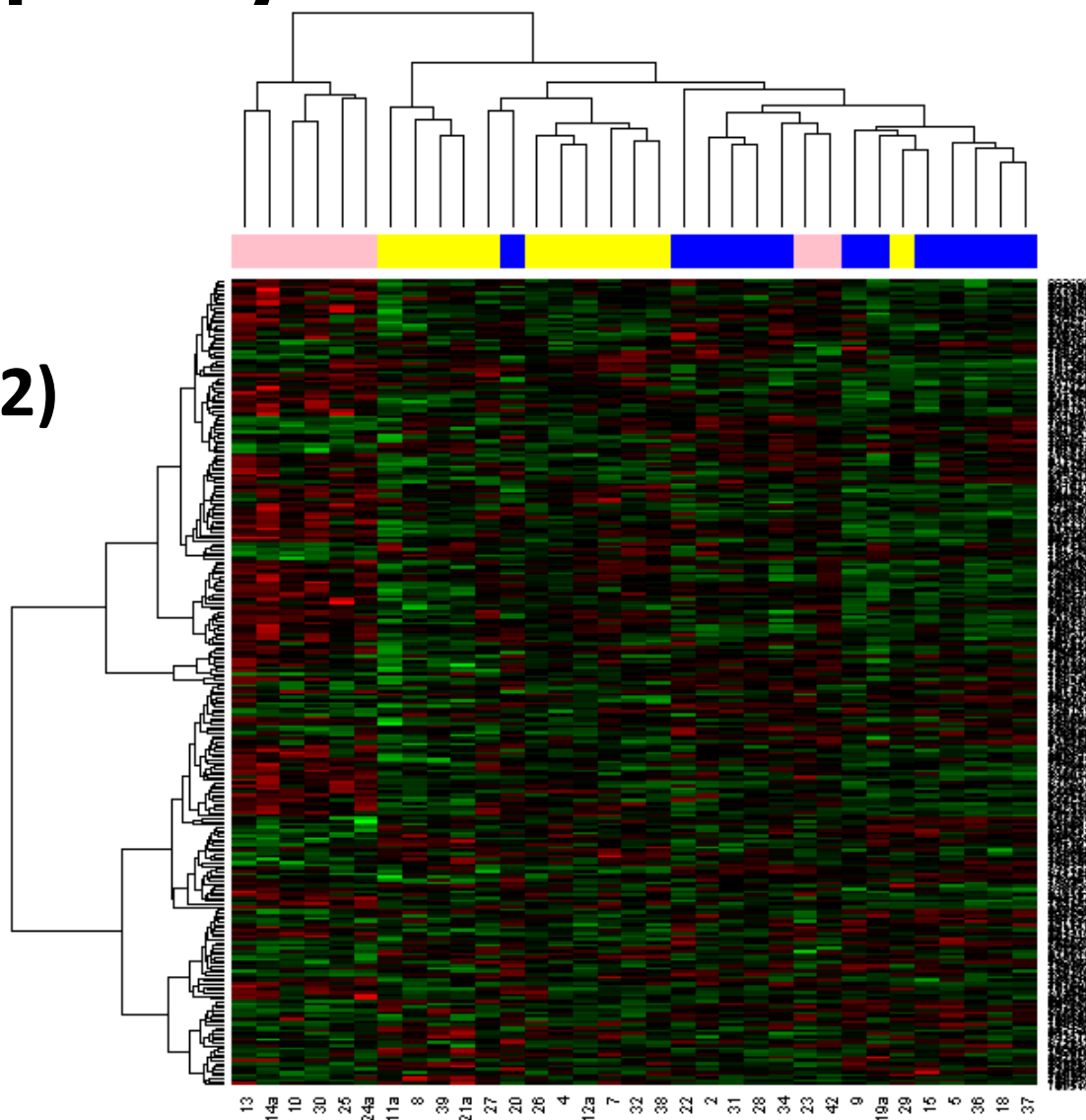
273 genů

($p < 0.01$, $\log FC < -2$ or > 2)

Žlutá = dolní jícen

Růžová = dolní+kardie

Modrá = střední jícen





Expresní profily - response

406 genů

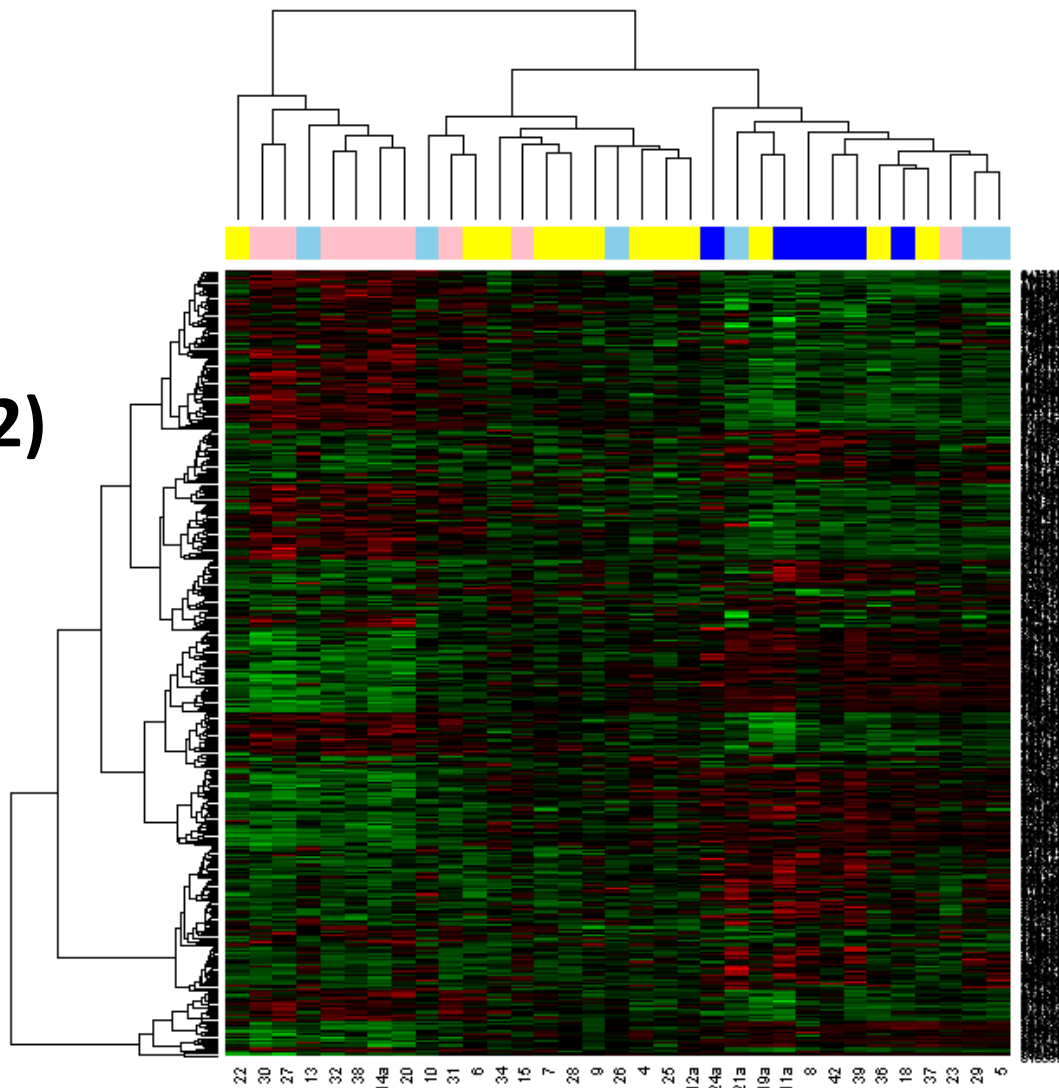
($p < 0.01$, $\log FC < -2$ or > 2)

Růžová = PD

Žlutá = CR

Skyblue = PR

Modrá = SD





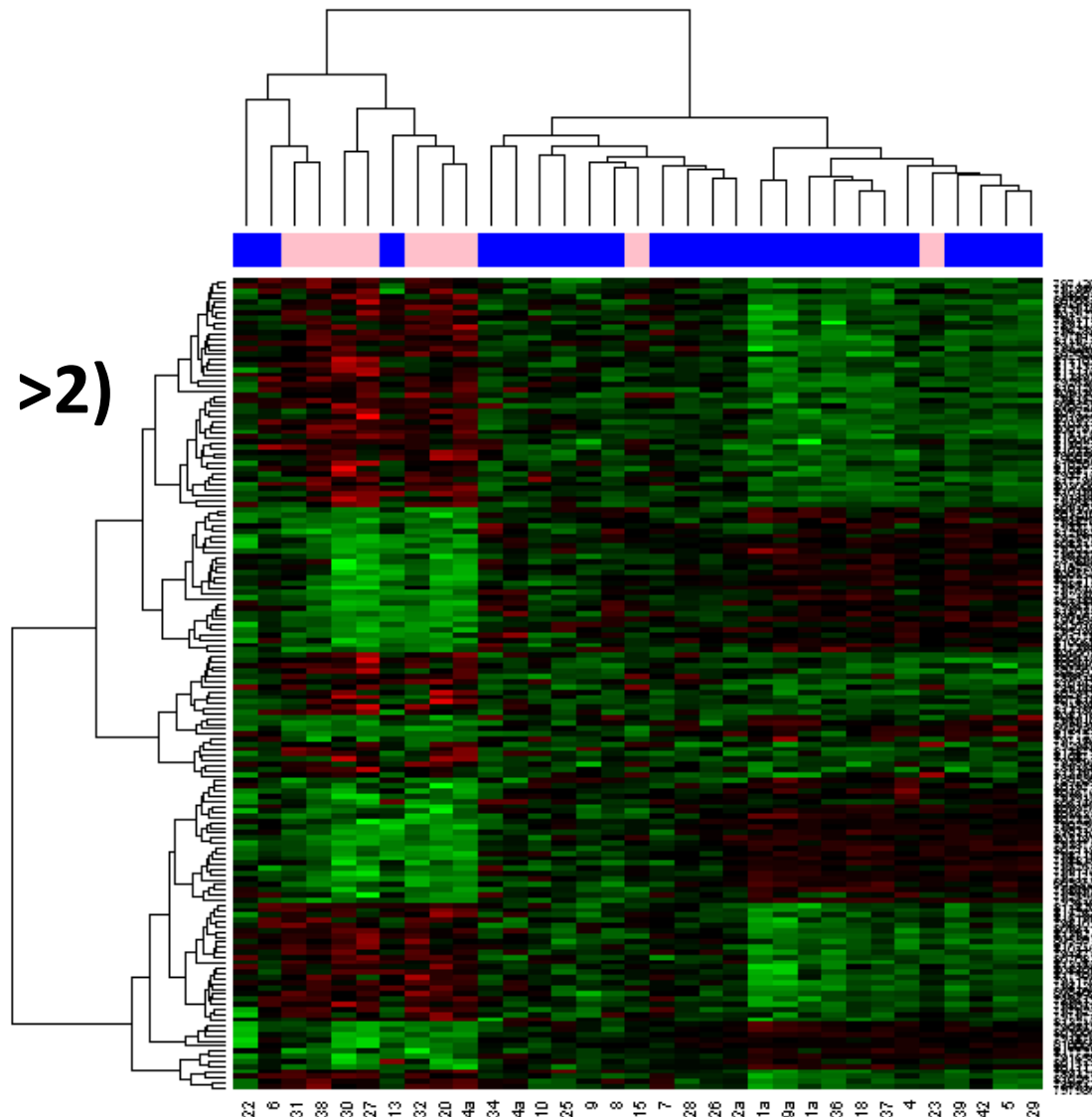
Expresní profily - response

156 genů

($p < 0.001$, $\log FC < -2$ or > 2)

Pink = PD

Modrá = CR+PR+SD





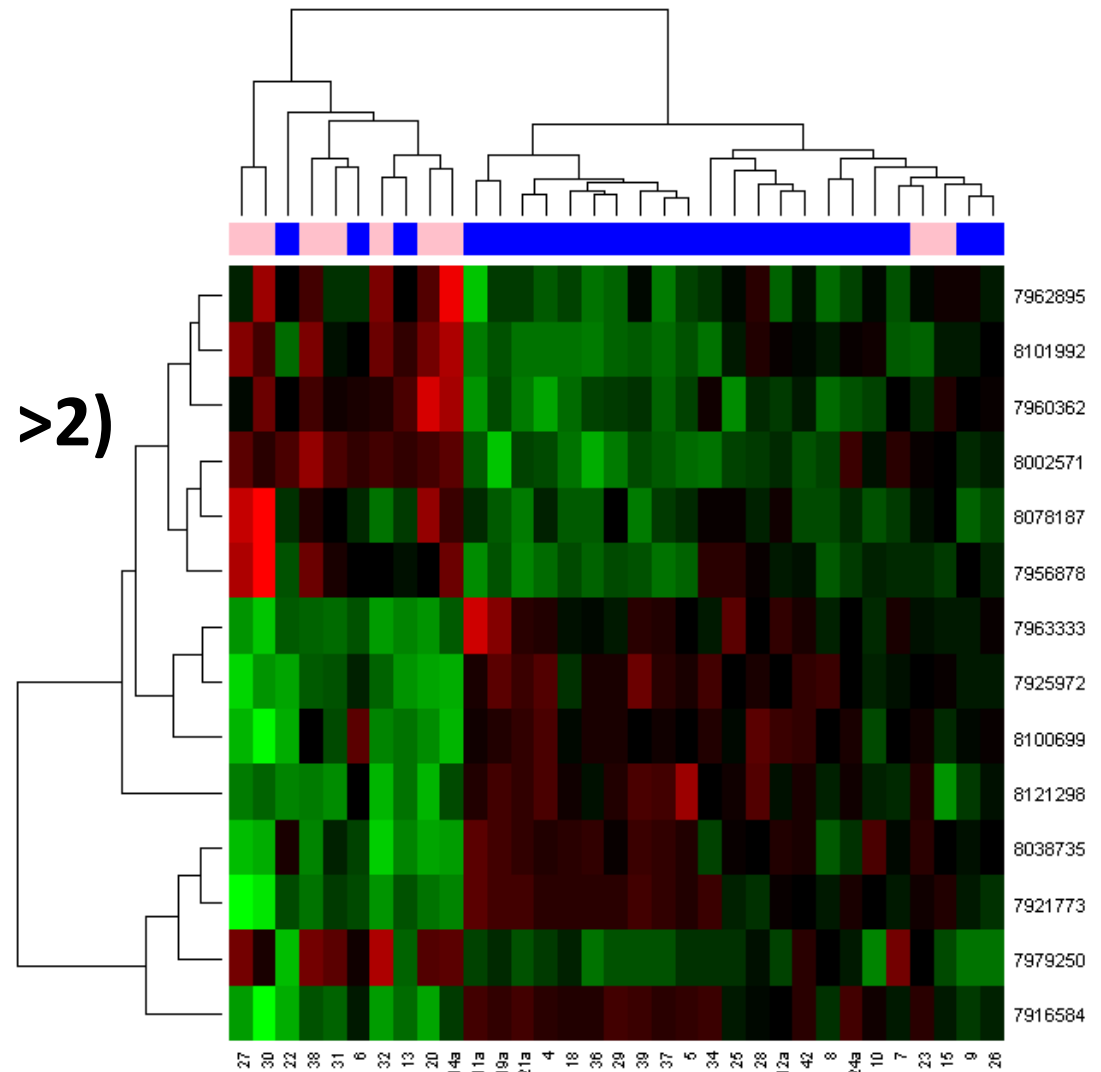
Expresní profily - response

14 genů

($p < 0.0001$, $\log FC < -2$ or > 2)

Pink = PD

Modrá = CR+PR+SD





Expresní profily - response

Rozdílná exprese genů mezi PD a CR+CR+SD

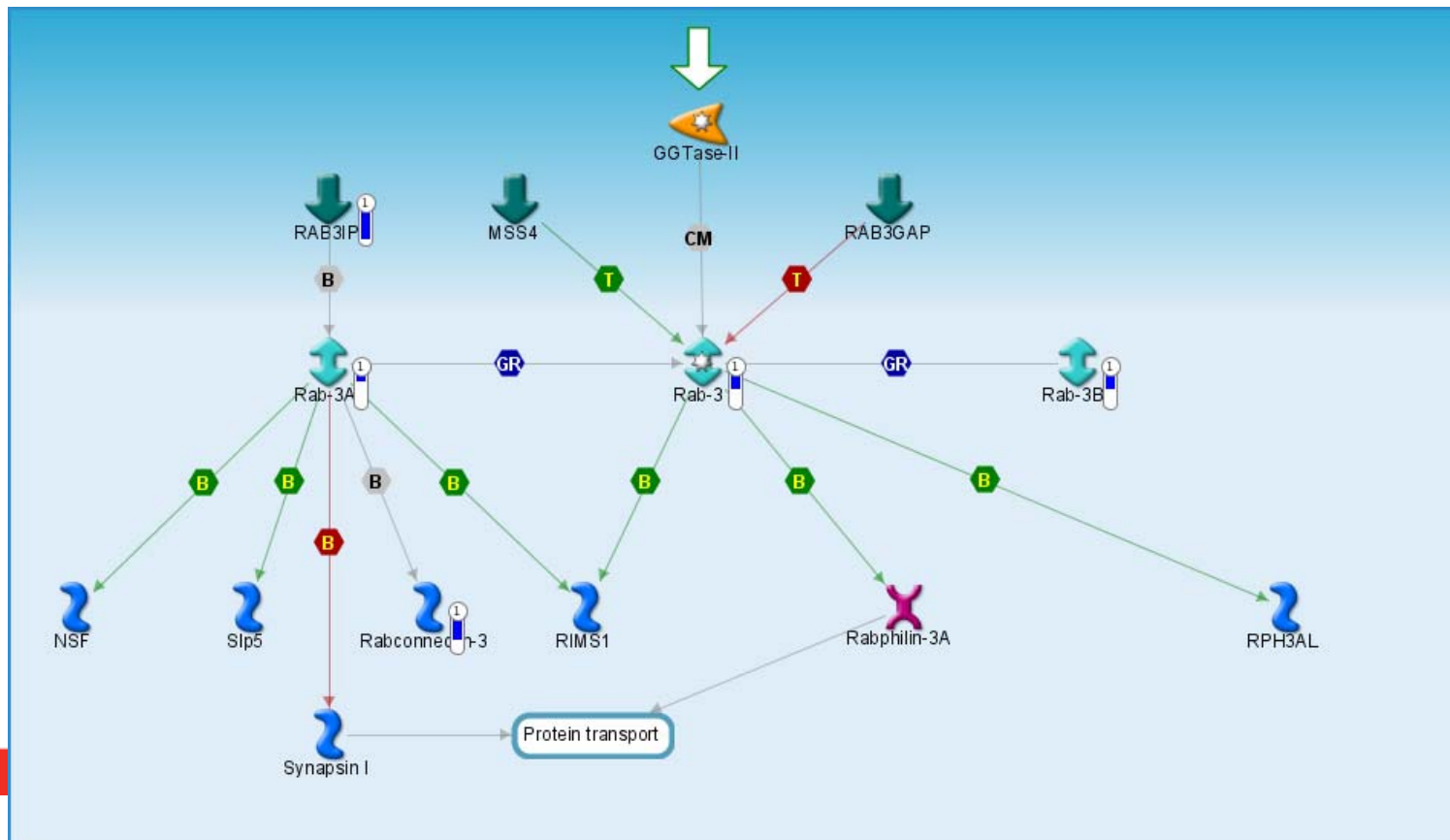
SLC39A8	4	solute carrier family 39 (zinc transporter), member 8
FKBP11	12	FK506 binding protein 11, 19 kDa
PLCL2	3	phospholipase C-like 2
CNIH	14	cornichon homolog (Drosophila)
PHLPP2	16	PH domain and leucine rich repeat protein phosphatase 2
IRAK3	12	interleukin-1 receptor-associated kinase 3

SYT14L	4	synaptotagmin XIV-like
TACSTD2	1	tumor-associated calcium signal transducer 2
KLK11	19	kallikrein-related peptidase 11
CALML3	10	calmodulin-like 3
PVRL4	1	poliovirus receptor-related 4
KRT80	12	keratin 80
U6.126	6	U6 spliceosomal RNA



Pathways analysis

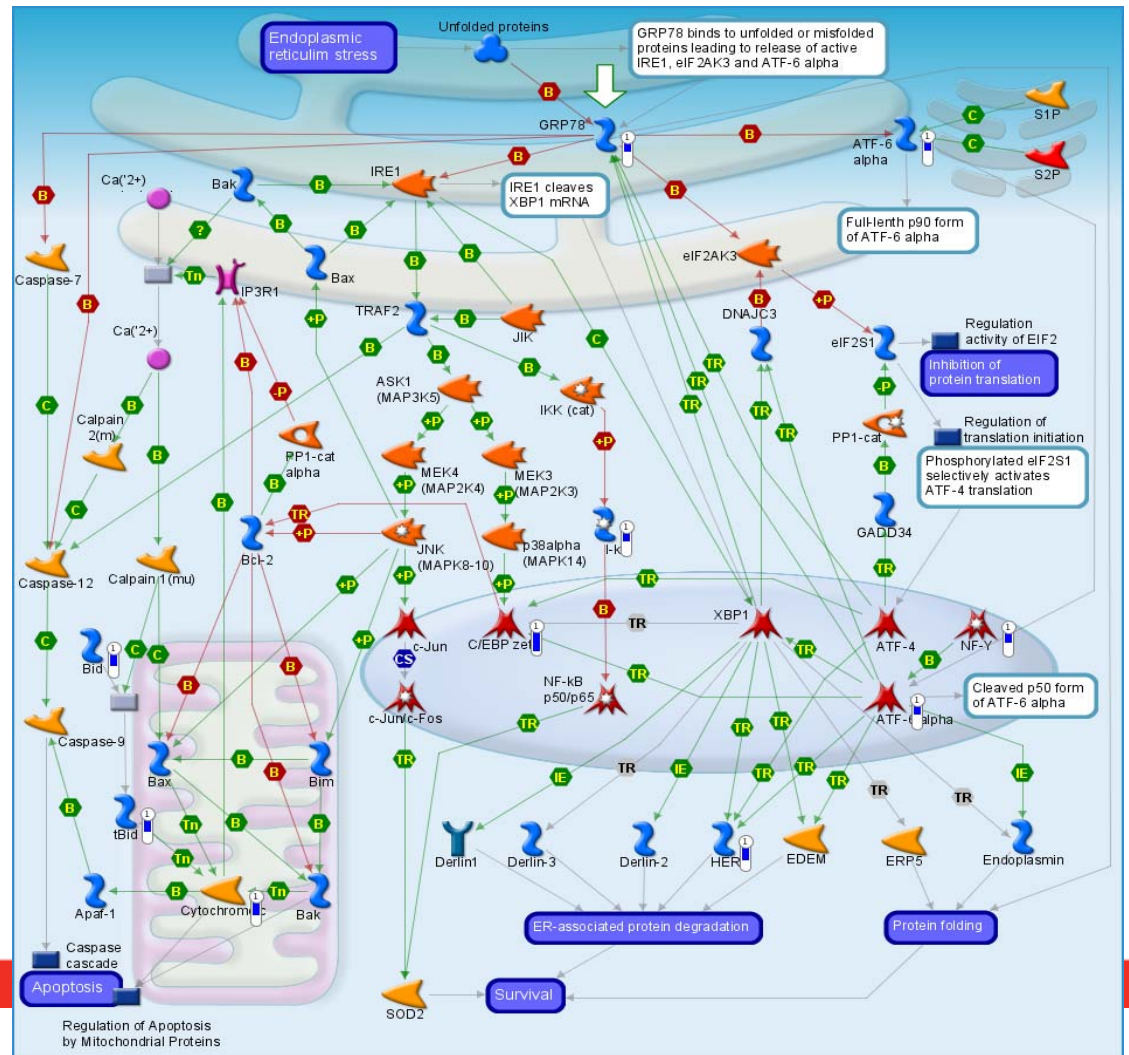
RAB 3A dráha – G protein, proteinový transport





Pathways analysis

Ovlivnění apoptózy Stress response





Závěry

- 1. Možnosti identifikace léčebné odpovědi**
- 2. DNA microarrays – účinný nástroj**
- 3. Možnosti identifikace nových léčiv a jejich cílů**
- 4. Validace dat, větší soubor**
- 5. Zlepšení léčebných výsledků a QoL pacientů**



Poděkování

1. Kolegům z klinických pracovišť
2. Kolegům z laboratoře
3. Grantovým agenturám za finanční podporu
(MSMT CR 6198959216, CZ.1.05/2.1.00/01.0030)

