

Diagnosi precoce del tumore polmonare in soggetti ad alto rischio con TC a basso dosaggio e marcatori molecolari

Early detection of lung cancer in asymptomatic high risk population by low dose CT scan and molecular markers

Giulia Veronesi, Italia Sposato, Fabrizio Bianchi

Riassunto

La TC spirale a basso dosaggio di radiazioni si è dimostrata uno strumento efficace per la diagnosi precoce del tumore polmonare in soggetti ad alto rischio per esposizione al fumo. COSMOS II è un progetto multicentrico Italiano coordinato dall'Istituto Europeo di Oncologia con lo scopo di validare in modo prospettico la "signature" dei microRNA nel siero come diagnosi precoce del tumore polmonare e validare il modello di rischio del COSMOS per identificare la miglior popolazione target da arruolare nello screening e ottimizzare i tempi d'intervallo tra una TC e l'altra. L'obiettivo finale è di diffondere su ampia scala l'anticipazione della diagnosi per la popolazione ad alto rischio e poter personalizzare la prevenzione secondaria a seconda di caratteristiche di rischio individuali con significativo risparmio in termini economici e di esposizione a radiazioni inutili. Gli investigatori prevedono di arruolare 10.000 persone a rischio in un anno e di identificare in 5 anni più di 320 tumori del polmone di cui la maggior parte in fase iniziale con alta percentuale di guarigione a 5 anni.

Parole chiave: fumo di tabacco, tumore polmonare, screening, counseling antitabagico, microRNA.

Introduzione

Il tumore polmonare è una delle principali cause di morte; l'incidenza annuale è in aumento nelle donne e nei Paesi in via di sviluppo [1]. L'alto tasso di letalità del tumore polmonare è correlato all'aggressività biologica che rende la diagnosi tardiva in molti pazienti, ma anche alla mancanza di programmi di diagnosi precoce. La diagnosi precoce è critica per ogni trattamento efficace ed esiste una popolazione target ad alto rischio correlata al tabagismo. Studi osservazionali e randomizzati hanno dimostrato che l'utilizzo della TC a basso dosaggio (TCbd) è in grado di favorire l'anticipazione diagnostica, individuando noduli di pochi millimetri di diametro, con bassa esposizione alle radiazioni ionizzanti, costi limitati, breve durata dell'esame e assenza di mezzo di contrasto. I risultati di un ampio

Summary

Low dose CT scan has been shown to be an effective tool for early detection of lung cancer in people at high risk for exposure to tobacco smoke.

COSMOS II is an Italian multicentric study coordinated by the European Institute of Oncology with the aims to prospectively validate a "signature" of microRNA in the serum as first line early detection tool for lung cancer and to validate the Cosmos risk model to identify the best target population for screening and to optimise screening interval.

The ultimate goal is to implement screening on a large scale through a personalized screening program according to the individual risk with significant savings in terms of money and exposure to radiation.

The investigators plan to recruit 10,000 people at risk in one year and identifies in five years more than 320 lung tumors for which most in the early stages with high curability.

Keywords: tobacco smoke, lung cancer, screening, counseling, microRNA.

studio randomizzato, the National Lung Screening Trial, su 53000 volontari ad alto rischio di oltre 55 anni di età con alta esposizione al fumo, hanno dimostrato una riduzione della mortalità del 20% nei soggetti sottoposti a screening mediante TCbd rispetto a quelli sottoposti a radiografia del torace [2].

La diagnosi precoce di tumore polmonare, specialmente nelle categorie a rischio, si gioverebbe enormemente della disponibilità di marcatori molecolari diagnostici, soprattutto di marcatori rilevabili nel siero e/o nel plasma dei soggetti più a rischio per esposizione al fumo di sigaretta. La disponibilità di un test del sangue per la diagnosi precoce del tumore del polmone permetterebbe programmi di screening a più ampia diffusione. In una prospettiva ideale, un test del sangue potrebbe costituire la prima li-

Giulia Veronesi

Direttore di Unità di ricerca diagnosi e prevenzione del tumore polmonare
Divisione di Chirurgia Toracica
Istituto Europeo di Oncologia - Milano

Italia Sposato

Psicologa Ricercatrice
Divisione di Chirurgia Toracica
Istituto Europeo di Oncologia - Milano

Fabrizio Bianchi

Programma di Medicina Molecolare
Divisione di Chirurgia Toracica
Istituto Europeo di Oncologia - Milano

nea di screening per selezionare un numero limitato d'individui da essere sottoposti a ulteriore approfondimento diagnostico con TC a basso dosaggio. Molti studi sono stati pubblicati con l'obiettivo di individuare nel sangue marcatori tumorali per diagnosi di tumore polmonare in modo accurato, non invasivo e diffusibile su ampia scala [3]. Allo stato presente, i marcatori più promettenti sono rappresentati dai microRNA [4].

I microRNA (miRNA) sono piccole molecole di RNA (circa 22 nucleotidi), non codificanti, che funzionano nella regolazione negativa dell'espressione degli mRNA codificanti proteine, inibendone la trascrizione o la traduzione con vari meccanismi [5]. L'espressione dei miRNA è spesso deregolata nei tumori umani, in maniera tessuto e/o tumore-specifica. I miRNA sono anche presenti nei fluidi circolanti (siero e plasma in particolare), grazie al rilascio da parte delle cellule sotto forma di microvescicole circolanti, e quindi protetti dalle attività di RNAsi plasmatiche. Questa proprietà li rende eccezionalmente stabili nel siero e quindi eccellenti marcatori biomolecolari [6]. **La miRNA signature.** In IEO, abbiamo condotto uno studio caso-controllo sulla presenza di miRNA sierici di una popolazione estrapolata dallo studio Cosmos [7]. Questo ha permesso l'individuazione di una specifica "miRNA signature" che predice accuratamente la presenza di tumore polmonare a uno stadio precoce di malattia. Questa signature, se confermata in una coorte prospettica indipendente d'individui ad alto rischio, potrebbe rappresentare un test non invasivo in grado di selezionare soggetti con tumore polmonare in stadio precoce asintomatico. I vantaggi di tale test rispetto alla TCbd sono rappresentati dalla facile disponibilità per la popolazione sul territorio nazionale, più alta diffusione dello screening, maggior applicabilità dovuta all'assenza di radiazioni ionizzanti e ai costi ridotti. Pertanto l'analisi di espressione dei miRNA sierici potrebbe rappresentare un "test di prima linea" per individuare i soggetti che necessitano di TCbd per confermare la diagnosi.

Fino ad oggi la Tc a basso dosaggio in soggetti senza sintomi è stata proposta con scadenza annuale tuttavia avere conoscenze sicure inerenti l'ottimale intervallo di screening potrebbe garantire un programma di screening più sicuro ed efficiente. L'Istituto Europeo di Oncologia di Milano ha messo a punto un modello statistico in grado di identificare differenti categorie di rischio del tumore polmonare, che se confermate, permetteranno di identificare la migliore popolazione target da arruolare nello screening e di ottimizzare i tempi d'intervallo tra una TC e l'altra.

Obiettivi

Gli obiettivi dello Studio Cosmos 2 sono di validare il test dei miRNA come strumento diagnostico precoce in una

popolazione di soggetti ad alto rischio che si sottopongono a periodici controlli con TCbd e di validare il modello di rischio personalizzato sviluppato nella popolazione Cosmos su una coorte più vasta in modo prospettico e multicentrico. Inoltre si prefigge di integrare le componenti molecolare e radiologica in un protocollo sequenziale per l'applicazione di routine in programmi di anticipazione diagnostica del tumore del polmone. Altri obiettivi minori dello Studio Cosmos 2 sono di eseguire l'analisi costi/benefici dello screening del tumore polmonare, di sperimentare nuove molecole per la farmaco prevenzione del tumore del polmone e di definire dei profili cognitivi individuali di soggetti forti fumatori.



Metodi

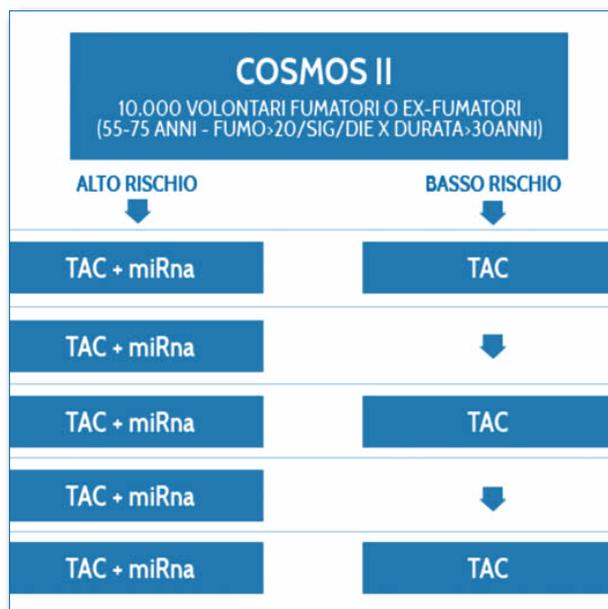
Si propone uno studio multicentrico Italiano in cui 10.000 soggetti ad alto rischio sono sottoposti a TCbd, associata a prelievo di sangue. L'Istituto Europeo di Oncologia è il centro coordinatore dello studio multicentrico. Il reclutamento avviene su base volontaria mediante diffusione delle informazioni tramite siti web e i media. Al momento dell'arruolamento i soggetti firmano il consenso informato, compilano un questionario, incontrano un esperto del centro antifumo per un colloquio psicologico dove, dopo una valutazione anamnestica del tabagismo rispetto alle modalità di consumo, si cercherà di far emergere alcuni aspetti comportamentali della dipendenza. Questo consente al soggetto di conoscere non solo le numerose patologie associate al fumo di sigaretta, ma anche gli aspetti emotivi e motivazionali alla base del proprio comportamento di consumo. Il colloquio dà la possibilità agli psicologi di avviare il fumatore verso una scelta di trattamento personalizzato e centrato sulle caratteristiche individuali del soggetto. Vengono somministrati durante il colloquio due questionari validati, il FQT per la misurazione della dipendenza fisica da nicotina, e il Test Motivazionale, infine si utilizza la misurazione del monossido di carbonio (CO) espirato come monitoraggio della situazione del fumatore e come strumento motivazionale. I partecipanti eseguono una TC a basso dosaggio e un prelievo di sangue per l'analisi dei miRNA. Dopo la TCbd basale, la popolazione arruolata verrà divisa in due principali classi di rischio secondo il modello di rischio Cosmos basato sulle caratteristiche epidemiologiche e i risultati della TC basale. La classe ad alto rischio sarà seguita con controlli, mediante TC annuali, in aggiunta ai marcatori sierologici. La classe a basso rischio sarà sottoposta a controlli TC a basso dosaggio ogni due anni. Durante i 5 anni saranno valutati il numero di tumori individuati, intervallo dei tumori, stadio, diagnosi, reseccabilità, sopravvivenza e mortalità. Lo studio Multicentrico è stato approvato dal Comitato Etico del nostro Istituto. Tutti i volontari hanno dato il proprio consenso ad eseguire annualmente per 5 anni consecutivi la TC-LD

Metodologia Statistica

La performance della signature dei 34 microRNA è valutata in termini di AUC [8]. La sensibilità, la specificità, i falsi positivi e i falsi negativi della signature sono calcolati utilizzando il cut-off fissato a 0,325 durante il training del classificatore. Il numero di casi di tumore al polmone rilevato alla TC di screening basale sarà confrontato con quello atteso utilizzando il punteggio di rischio ricalibrato sviluppato nello studio COSMOS.

La discriminazione è valutata come area under the receiver operating characteristic (ROC) curve. La verifica della taratura viene poi effettuata mediante valutazione visiva del plot confrontando il rischio di tumore al polmone previsto dal modello con la percentuale di tumori polmonari osservati nei gruppi di partecipanti definite per decili di probabilità previsti e valutati secondo il test del chi quadrato di Hosmer-Lemeshow [16,17,18]. Impatto clinico dello studio nell'ambito dello screening del tumore polmonare.

Alla luce delle recenti acquisizioni scientifiche, in vista di una sempre maggiore diffusione di metodiche di screening su scala nazionale e di una potenziale copertura con il sistema sanitario nazionale, sarà cruciale avere a disposizione criteri di selezione della popolazione target precisi e personalizzati e criteri di stratificazione della popolazione a rischio per identificare il migliore intervallo di screening. Tale obiettivo potrà essere raggiunto mediante la validazione del "modello di rischio Cosmos", in grado di fornire un semplice calcolatore automatico del rischio personalizzato di tumore. Il principale beneficio, proveniente dalla validazione prospettica della signature di miRNA sierici, sarà quello di ottenere uno strumento di diagnosi precoce del tumore polmonare standardizzato e potenzialmente a basso costo con una maggiore possibilità di diffondere la metodica su ampia scala con un semplice test sierologico. Globalmente la diffusione di tecniche di diagnosi precoce permetterà di individuare un numero maggiore di tumori polmonari in stadio iniziale che richiedono trattamenti chirurgici poco invasivi con notevoli vantaggi in termini di qualità di vita, di sopravvivenza e di costi.



Disegno dello studio.

Risultati attesi

Lo studio si propone di validare in modo prospettico la "signature" di marcatori molecolari, microRNA, presenti nel siero e di validare il modello di rischio del tumore polmonare messo a punto grazie al Cosmos per personalizzare la prevenzione a seconda di caratteristiche di rischio individuali con significativo risparmio in termini economici e di esposizione a radiazioni inutili.

Gli investigatori prevedono di arruolare 10.000 persone a rischio in un anno e di identificare in 5 anni più di 320 tumori del polmone di cui la maggior parte in fase iniziale. Questi tumori, se tempestivamente curati, hanno buone probabilità di guarigione.

Ad oggi lo studio ha arruolato circa 3000 soggetti ad alto rischio con la previsione di chiudere l'arruolamento entro settembre 2013.

Per ulteriori dettagli: www.10secondi.it e www.ieo.it ■

Disclosure: gli autori dichiarano l'assenza di conflitto d'interessi.

BIBLIOGRAFIA

- Jemal, A. et al., Global cancer statistics. CA: a cancer journal for clinicians 61 (2), 69 (2011).
- Aberle, D. R. et al., Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. The New England journal of medicine 365 (5), 395 (2011).
- Van't Westeinde, S. C. and van Klaveren, R. J., Screening and early detection of lung cancer. Cancer journal 17 (1), 3 (2011).
- Yendamuri, S. and Kratzke, R., MicroRNA biomarkers in lung cancer: MiRacle or quag-MiRe? Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine 157 (4), 209 (2011).
- Krol, J., Loedige, I., and Filipowicz, W., The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. Nature reviews. Genetics 11 (9), 597 (2010).
- Schwarzenbach, H., Hoon, D. S., and Pantel, K., Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. Nature reviews. Cancer 11 (6), 426 (2011).
- Bianchi, F. et al., A serum circulating miRNA diagnostic test to identify asymptomatic high-risk individuals with early stage lung cancer. EMBO molecular medicine 3 (8), 495 (2011).
- Obuchowski N, McClish D. Sample Size Determination for Diagnostic Accuracy Studies Involving Binormal ROC Curve Indices. Statistics in Medicine 1997;16:1529-42.
- Swets J. Measuring the accuracy of diagnostic systems. Science 1988;240:1285-93.
- Hosmer DW, Hosmer T, Le Cessie S, et al. A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model. Stat Med 1997;16:965-80.
- Van Houwelingen HC. Validation, calibration, revision and combination of prognostic survival models. Stat Med 2000;19:3401-15.