



Bài báo gốc

# Phân tích hiệu suất thực tế của một phương pháp tính toán mới trong ung thư học chính xác đối với các khối u nhi khoa

Barbara Vodicska<sup>1</sup>, Júlia Déri<sup>1</sup>, Dóra Tihanyi<sup>1</sup>, Edit Várkonyi<sup>1</sup>, Enikő Kispéter<sup>1</sup>, Róbert Dóczi<sup>1</sup>, Dóra Lakatos<sup>1</sup>, Anna Dirner<sup>1</sup>, Mátyás Vidermann<sup>1</sup>, Péter Filotás<sup>1</sup>, Réka Szalkai-Dénes<sup>1</sup>, István Szegedi<sup>2</sup>, Katalin Bartyik<sup>3</sup>, Krisztina Mita Gábor<sup>3</sup>, Réka Simon<sup>4</sup>, Péter Hauser<sup>5</sup>, György Péter<sup>6</sup>, Csongor Kiss<sup>2</sup>, Miklós Garami<sup>5</sup>, István Peták<sup>1,7,8,9</sup>  
(Ghi chú: thông tin chi tiết về các tác giả vui lòng tham khảo trang cuối của tài liệu)

Nhận bài: 20 tháng 10 năm 2022 / Phê duyệt: 31 tháng 1 năm 2023  
© The Author(s) 2023

## Tóm tắt

**Tổng quan** Việc sử dụng thường quy các phương pháp lập hồ sơ phân tử mở rộng đối với các khối u nhi khoa vẫn đang là vấn đề gây tranh cãi do số lượng lớn các đột biến di truyền chưa rõ ý nghĩa hoặc có bằng chứng thấp và thiếu các phương pháp hỗ trợ ra quyết định chuẩn hóa và cá nhân hóa. Chỉ định thuốc ứng dụng AI (DDA) là một phương pháp tính toán mới để ưu tiên các lựa chọn điều trị bằng cách tổng hợp nhiều bằng chứng liên quan dựa trên nhiều yếu tố điều khiển, mục tiêu và các thuốc nhắm mục tiêu. Hệ thống DDA đã được xác nhận có thể hỗ trợ các quyết định điều trị cá nhân hóa dựa trên dữ liệu bệnh nhân người lớn được điều trị trong thử nghiệm lâm sàng SHIVA01. Mục tiêu của nghiên cứu này là đánh giá tính hữu ích của DDA trong ung thư học nhi khoa.

**Phương pháp** Từ năm 2017 đến năm 2020, 103 bệnh nhân ung thư nhi khoa có nguy cơ cao (<21 tuổi) đã tham gia vào chương trình ung thư học chính xác của chúng tôi, và mẫu từ 100 bệnh nhân đủ điều kiện để phân tích trong nghiên cứu. Mẫu mô hoặc mẫu máu được phân tích bằng giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa (WES) hoặc giải trình tự theo bảng mục tiêu và các phương thức chẩn đoán phân tử khác, dữ liệu được xử lý và phân tích bằng một hệ thống phần mềm sử dụng thuật toán DDA để hỗ trợ ra quyết định điều trị. Cuối cùng, Hội đồng khối u phân tử (MTB) đánh giá kết quả để đưa ra các khuyến nghị về liệu pháp điều trị.

**Kết quả** Trong số 100 trường hợp có dữ liệu chẩn đoán phân tử toàn diện, 88 trường hợp thu được kết quả WES và 12 trường hợp thu được kết quả giải trình tự bảng mục tiêu. DDA đã xác định các lựa chọn điều trị nhắm mục tiêu ngoài nhãn (có khả năng điều trị) trong 72/100 trường hợp (72%), trong khi 57/100 trường hợp (57%) cho thấy có khả năng kháng thuốc. Tính khả dụng đạt 88% (29/33) vào năm 2020 nhờ việc cơ sở dữ liệu bằng chứng được cập nhật liên tục. MTB đã chọn chỉ định sử dụng lâm sàng 56/72 trường hợp có các lựa chọn được xác định bởi DDA (tỷ lệ đồng thuận 78%). Các liệu pháp được MTB chọn sử dụng có mức độ bằng chứng tổng hợp (AEL) cao hơn đáng kể so với các liệu pháp bị loại bỏ. Việc lọc kết quả WES để lấy các bảng gen mục tiêu đã bỏ sót các đột biến quan trọng ảnh hưởng đến việc lựa chọn liệu pháp.

**Kết luận** DDA là một phương pháp đầy hứa hẹn để vượt qua các thách thức trong việc phiên giải hồ sơ phân tử mở rộng trong chăm sóc thường xuyên cho các bệnh ung thư nhi khoa có nguy cơ cao. Việc cập nhật liên tục cơ sở dữ liệu bằng chứng cho phép tự động phiên giải một tập hợp gen mở rộng, một bảng "áo", được lọc ra từ phân tích toàn bộ hệ gen sẽ luôn tối đa hóa hiệu suất của việc lập kế hoạch điều trị chính xác.

**Từ khóa:** Hỗ trợ quyết định bằng máy tính · Khối u nhi khoa · Ung thư học chính xác · Hội đồng khối u

Xuất bản trực tuyến: 13 tháng 3 năm 2023

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Các phương pháp giải trình tự hệ gen thế hệ mới (NGS) như giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa hoặc toàn bộ hệ gen (WES/WGS) đã có những đóng góp quan trọng cho sự hiểu biết về nền tảng phân tử của ung thư<sup>1</sup>. Nhờ vào khả năng cải thiện kết quả, ngày càng có nhiều nhà ung thư học áp dụng phương pháp y học chính xác dựa trên quan niệm rằng điều trị bằng liệu pháp nhắm mục tiêu phù hợp có thể mang lại những lợi ích lâm sàng vượt trội<sup>2-6</sup>.

Ngược lại, các khả năng triển khai điều trị cá nhân hóa trong chăm sóc ung thư nhi khoa còn khá hạn chế, mặc dù ung thư là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do bệnh tật ở trẻ em sau giai đoạn sơ sinh<sup>7</sup>. Tỷ lệ đáp ứng cao đối với các liệu pháp hóa trị và chỉ có một số ít thuốc nhắm mục tiêu được phê duyệt cho trẻ em. Tuy nhiên, các loại ung thư nhi khoa có nguy cơ cao, tái phát hoặc khó chữa có tiên lượng xấu và không thể điều trị hiệu quả, như trẻ em mắc u nguyên bào thần kinh tái phát có tỉ lệ sống sót tổng thể 5 năm là 20%<sup>8,9</sup>. Do đó, một số tổ chức đã bắt đầu mở đường cho ung thư học chính xác nhi khoa bằng xác định giá trị của việc lập hồ sơ phân tử toàn diện cho các khối u ở trẻ em<sup>10,11</sup>. Những sáng kiến này đã phát hiện 15%–87% trường hợp có thể chỉ định. Hơn nữa, liệu pháp nhắm mục tiêu đã được chứng minh có thể cải thiện kết quả ở một phần các bệnh nhân nhi khoa<sup>19,20,36-40</sup>.

Phương pháp chung để phiên giải hồ sơ phân tử là khớp từng đột biến di truyền với các liệu pháp nhắm mục tiêu một cách riêng lẻ và xếp hạng chúng dựa trên mức độ bằng chứng cao nhất<sup>41</sup>. Tuy nhiên, việc khớp từng liệu pháp một mà không xem xét toàn bộ hồ sơ phân tử đã không đem lại lợi ích lâm sàng đáng kể với một nhóm các khối u rắn<sup>42</sup>. Tuy nhiên, các lựa chọn điều trị có mức độ bằng chứng cao có thể mang lại lợi ích lâm sàng trong một số loại ung thư ở người lớn<sup>5,43</sup> và trẻ em<sup>19,20</sup>. Hạn chế của phương pháp đơn giản này là hầu hết các loại ung thư đều do sự phức tạp của tổ hợp nhiều đột biến điều khiển, làm cho các quyết định chuẩn hóa trở nên khó khăn<sup>44</sup>. Hai hội đồng khối u phân tử (MTB) ở cùng một quốc gia chỉ đạt tỉ lệ đồng thuận 44% trên cùng dữ liệu đa chiều<sup>45</sup>. Một khả năng khác là sử dụng các liệu pháp kết hợp để ghép với hơn một nửa số đột biến điều khiển. "Điểm số Khớp", tỉ lệ các đột biến điều khiển được nhắm mục tiêu, được chứng minh là có tương quan với kết quả điều trị trong thử nghiệm lâm sàng I-PREDICT<sup>2</sup>, điều này cho thấy sự cần thiết của các thuật toán ghép cặp phức tạp đối với việc lập kế hoạch điều trị. Phương pháp này thiếu việc xếp hạng các đột biến điều khiển để lựa chọn các liệu pháp phù hợp với các đột biến điều khiển quan trọng nhất và các mục tiêu gián tiếp liên quan. Hơn nữa, trong nhiều trường hợp, không có liệu pháp nhắm mục tiêu nào có sẵn cho tất cả các đột biến điều khiển, hoặc việc sử dụng các liệu pháp kết hợp bị hạn chế bởi độc tính hoặc chi phí. Vừa qua, chúng tôi đã đề xuất một thuật toán mới, chỉ định thuốc ứng dụng AI (DDA), để

xác định các liệu pháp nhắm vào các mục tiêu quan trọng nhất của các đột biến điều khiển quan trọng trong bối cảnh xem xét toàn bộ hệ gen khối u dựa trên điểm số tích lũy và mức độ bằng chứng tổng hợp (AEL). Thuật toán này xem xét nhiều mối quan hệ trực tiếp và gián tiếp giữa các gen điều khiển khác nhau với các liệu pháp nhắm mục tiêu tương ứng. DDA đã được triển khai vào một hệ thống phần mềm và được đánh giá dựa trên dữ liệu từ thử nghiệm lâm sàng SHIVA01<sup>46</sup>. Kết quả thử nghiệm cho thấy có mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa kết quả điều trị và điểm số AEL và DDA có thể là một phương pháp hữu ích hỗ trợ lựa chọn liệu pháp điều trị dựa trên thông tin về gen.

Tần suất các đột biến điều khiển có thể có sự khác biệt rõ rệt ở bệnh ung thư nhi khoa so với các khối u rắn ở người lớn được phân tích trong SHIVA01. Vì vậy, trong nghiên cứu này chúng tôi bằng chứng thực tế về hiệu quả điều trị của việc sử dụng DDA hỗ trợ điều trị trong ung thư nhi khoa. Việc phiên giải kết quả tính toán cho phép chúng tôi phân tích hiệu suất của hệ thống tính toán trên dữ liệu hồ sơ nhi khoa theo các tiêu chí khác nhau (tỉ lệ khả năng điều trị, dự đoán kháng thuốc, tương quan với các tiêu chí của Hiệp hội Ung thư Y khoa Châu Âu về tính khả dụng lâm sàng của các mục tiêu phân tử (ESCAT)) và so sánh năng lực của các bộ gen khác nhau được thực hiện theo các bảng gen thương mại. Cuối cùng, chúng tôi phân tích mối tương quan tuyệt đối và tương đối giữa điểm số AEL với các quyết định của hội đồng khối u.

## PHƯƠNG PHÁP

### Bệnh nhân

Trong khoảng thời gian từ năm 2017 đến năm 2020, 103 bệnh nhân (<21 tuổi) từ nhiều viện ung thư nhi khoa tại Hungary đã được đưa vào chương trình ung thư học chính xác. Các bệnh nhân được chọn vào nghiên cứu này bởi một hội đồng khối u bao gồm bác sĩ ung thư, cố vấn di truyền, bác sĩ y khoa và các nhà sinh học phân tử. Tiêu chí lựa chọn bệnh nhân có nguy cơ cao bao gồm: (1) mắc bệnh ác tính với tiêu chí của Nhóm Ung thư Hợp tác Đông Âu (ECOG) 0–2; (2) bệnh tái phát/kéo dài hoặc có tiên lượng xấu khi chẩn đoán; (3) đang nhận điều trị bước 1 được quốc tế công nhận gồm cấy ghép tủy xương và/hoặc (4) có tiên lượng sống sót tổng thể <50%.

Người tham gia hoặc cha mẹ của họ ký giấy chấp thuận cho việc phân tích dữ liệu sau khi nhận được giải thích về các rủi ro và lợi ích. Các giấy chấp thuận này mô tả mục đích của nghiên cứu, phạm vi xét nghiệm, việc hiểu rõ và chấp thuận về việc lưu trữ, phân tích và quản lý dữ liệu. Đạo đức nghiên cứu đã được Viện Dược phẩm và Dinh dưỡng Quốc gia (OGYÉI/50268/2017) phê duyệt trước khi tiến hành nghiên cứu. Việc điều trị bệnh nhân là quyết định của bác sĩ điều trị và việc theo dõi không nằm trong hoạt động của nghiên cứu này.

<b>Bảng 1. Các nghiên cứu giải trình tự ở trẻ em đã được công bố với số lượng ca &gt; 50, bao gồm tỷ số phát hiện có thể điều trị</b>						
Nghiên cứu	Phương pháp giải trình tự	Tiêu chuẩn có thể điều trị	Khả năng điều trị	Bệnh nhân	Năm	Tài liệu tham khảo
BASIC3	Khối u + WES thông thường	Đột biến soma có (hoặc có tiềm năng) lợi ích lâm sàng, các gen ung thư khác	47% (n=121)	Trẻ em, mới chẩn đoán khối u thể rắn	12–14	[28]
PIPseq	Khối u + WES thông thường, RNAseq	Thuốc đã được phê duyệt hoặc đang trong giai đoạn thử nghiệm ít chế mục tiêu hoặc đường dẫn tín hiệu hạ lưu của nó; hoặc sử dụng nhân đạo với thông tin liều lượng phù hợp theo độ tuổi	38% (n=101)	Trẻ em, ung thư nguy cơ cao, và rối loạn huyết học	14–16	[30]
PIPseq Hem	Khối u + WES thông thường hoặc NGS (467 gen), RNAseq	Thuốc đã được phê duyệt hoặc đang trong giai đoạn thử nghiệm ít chế mục tiêu hoặc đường dẫn tín hiệu hạ lưu của nó; hoặc bằng chứng tiền lâm sàng với thông tin liều lượng phù hợp theo độ tuổi	80% (n=56)	Trẻ em, bệnh máu ác tính, rối loạn máu	14–17	[17]
SMAPEDS	Khối u + NGS thông thường (80–90 gen)	OncoKB, các đột biến/SNVs của COSMIC, CNVs, mà một thử nghiệm lâm sàng đang tuyển dụng; đầu ấu sinh học dự đoán đáp ứng thuốc	51% (n=209)	≤ 24 năm, khối u rắn	16–18	[13]
MBB Program	Khối u NGS (50 gen), aCGH	Những biến đổi có khả năng gây bệnh đã biết/được dự đoán, có sẵn trong nhân hoặc ngoài nhân, sử dụng nhân đạo	40% (n=58)	Trẻ em, khối u rắn nguy cơ cao/tái phát/khó điều trị	14–15	[24]
Peds-MiOncoSeq	Khối u + WES thông thường, RNAseq	Những biến đổi làm thay đổi chẩn đoán, phân tầng nguy cơ hoặc điều trị, hoặc chẩn đoán hội chứng dễ mắc ung thư	46% (n=91)	≤ 22 năm, ung thư khó điều trị/hiếm	12–14	[29]
iCAT	Sequenom assay (47 gen) or NGS (275 gen), aCGH	Những biến đổi làm thay đổi chẩn đoán hoặc điều trị, 48% (n=89) hoặc chẩn đoán hội chứng dễ mắc ung thư	48% (n=89)	≤ 30 năm, khối u ngoài so nguy cơ cao, khó điều trị, tái phát	12–14	[30]
INFORM	Khối u + WES thông thường, WGS, RNAseq, aCGH, methylation	Có thể nhắm mục tiêu về mặt lý thuyết bởi một loại thuốc đã được phê duyệt hoặc một tác nhân thử nghiệm, trực tiếp hoặc gián tiếp trong con đường bị ảnh hưởng	86% (n=519)	1–40 năm, vùi ung thư tiên phát tái phát hoặc khó điều trị	15–19	[20]
MOSCATO-01	aCGH, NGS (75 gen), WES, RNAseq	Một biến đổi, phân tử hoặc con đường bị ảnh hưởng có thể được nhắm mục tiêu về mặt lý thuyết, trực tiếp hoặc gián tiếp bởi một loại thuốc đã được phê duyệt hoặc đang phát triển	61% (n=69)	≤ 24 năm, ác tính kháng thuốc, tái phát, không thể điều trị	12–16	[31]
Spanish initiative	Khối u + NGS thông thường (50 or 159 gen)	Một biến đổi có hoạt tính sinh học có thể được nhắm mục tiêu bằng một liệu pháp đã được sử dụng trong cơ thể sống	15% (n=84)	Trẻ em/vị thành niên khối u rắn tái phát/khó điều trị	14	[32]
FM Experience	NGS (236 gen)	Ít nhất một biến đổi được nhắm mục tiêu bởi một liệu pháp đã có trên thị trường hoặc đang trong các thử nghiệm lâm sàng	60% (n=400)	≤ 21 năm, khối u rắn, bạch cầu	14	[33]
Rady Children's Hospital	Khối u NGS (315 or 405 gen)	Đột biến làm thay đổi chẩn đoán hoặc điều trị, hoặc chẩn đoán hội chứng dễ mắc ung thư	74% (n=57)	≤ 21 năm, u thần kinh ác tính	14–16	[34]
UCSC Treehouse	Khối u WGS, WES, NGS, RNAseq	Các cần nhắc của nghiên cứu NCI Pediatric MATCH đã được sử dụng	69% (n=144)	≤ 29 năm, ung thư	16–17	[35]
Pediatric MATCH	Khối u DNA và RNA—NGS panel	Đột biến có thể điều trị lựa chọn dựa trên dữ liệu lâm sàng và tiền lâm sàng có sẵn trong ít nhất một trong 10 nhóm điều trị	23%*** (n=1000)	≤ 21 y, khối u tái phát/khó điều trị	17–22	[21]
SMC	Khối u NGS (381 gen)	Biến thể có thể nhắm mục tiêu với các loại thuốc đã được FDA phê duyệt có sẵn ở các quốc gia khác để sử dụng hoặc đang trong các thử nghiệm lâm sàng	38% (n=53)	≤ 21 năm, khối u rắn tái phát/khó điều trị	16–18	[18]
Zero Childhood Cancer Program	WGS, RNAseq, methylation array	Những biến đổi trong các mục tiêu có thể điều trị	71% (n=247)	≤ 31 năm, ác tính nguy cơ cao	15–19	[15]

Bảng 1. Tiếp	Phương pháp giải trình tự	Tiêu chuẩn có thể điều trị	Khả năng điều trị	Bệnh nhân	Năm	Tài liệu tham khảo
Nghiên cứu						
TRICEPS	WES, RNAseq	Có khả năng điều trị: biến đổi là mục tiêu hoặc dấu ấn sinh học tiêu cực của một loại thuốc đã được phê duyệt hoặc đang phát triển	87% (n=62)	≤ 21 năm, khó điều trị/tái phát	14–18	[16]
MAPPYACTS	WES, RNAseq	Biến đổi di truyền có thể đại diện cho một mục tiêu điều trị tiềm năng	69% (n=436)	≤ 18 năm, ác tính tái phát/khó điều trị	16–20	[19]
POB ofNCI	Khối u + thông thường WES, RNAseq	Biến thể có thể nhắm mục tiêu với các loại thuốc đã được phê duyệt hoặc đang phát triển, đột biến di truyền báo cáo được, hoặc thay đổi chẩn đoán	51% (n=59)	≤ 25 năm, khối u rắn không thuộc hệ thần kinh trung ương	10–14	[18]
G4K	Khối u + thông thường WGS, RNAseq	(Có khả năng) gây bệnh và có thể nhắm mục tiêu bởi một loại thuốc đã được FDA phê duyệt hoặc một tác nhân thử nghiệm, trực tiếp hoặc thông qua con đường tín hiệu hạ lưu của nó	81% (n=253)	Ung thư nhi khoa mới chẩn đoán/tái phát/ khó điều trị, loại u không được chọn	15–17	[22]
iTHER	WES, WGS, RNAseq + array, methylation array	Được cấp phép/chưa được cấp phép, thử nghiệm lâm sàng, điều trị nhân đạo	59% (n=80)	≤ 30 năm, không có phác đồ chuẩn, tái phát/khó điều trị	17–20	[23]
GAIN/iCAT2	NGS, RNAseq	Biến thể có khuyến nghị điều trị từ iCat	69% (n=345)	≤ 30 năm, khối u rắn ngoài sọ nguy cơ cao hoặc tái phát/khó điều trị	15–19	[25]
AflacPMI702 (APMP)	Khối u + WES thông thường, Khối u RNAseq	Alteration used to inform clinical management (linked to an FDA-approved drug or drugs in preclinical testing or early phase clinical trials)	65% (n=126)	≤ 30 năm, ung thư não, máu ác tính, khối u rắn ngoài sọ	18–22	[26]
PROFYLE <sup>b</sup>	Khối u + hệ gen và phiên mã thông thường	Có tiềm năng điều trị	40% (n > 900)	≤ 29 năm, ung thư khó điều trị	16–22	[27]

**BASIC3** (Trường Đại học Y Baylor) Tiến bộ trong Giải trình tự gen trong Chăm sóc Ung thư Trẻ em, PIPseq (Chương trình Giải trình tự Chính xác trong Nhi khoa), SMPAEDS (Y học Phân tử trong Nhi khoa), MBB (Hội đồng U Bệnh Sinh học Phân tử), Peds-MiOncoSeq (Giải trình tự Ung thư Nhi khoa Michigan), iCAT (Liệu pháp Ung thư Cá nhân hóa), INFORM (Liệu pháp Cá nhân hóa cho Bệnh ác tính Tái phát ở Trẻ em), MOSCATO (Sàng lọc Phân tử cho Tối ưu hóa Điều trị Ung thư), FM (Quy Y học), UCSC (Trường Đại học California, Santa Cruz), MACH (Phân tích Phân tử cho Lựa chọn Liệu pháp), SMC (Trung tâm Y tế Samsung), TRICEPS (Liệu pháp Đích Cá nhân hóa trong Ung thư Kháng trị hoặc Tái phát ở Trẻ em), MAPPYACTS (Lập Hồ sơ Phân tử cho Phân tầng Điều trị Ung thư Trẻ em và Thanh niên), POB (Chi nhánh Ung thư Nhi khoa), NCI (Viện Ung thư Quốc gia), G4K (Bộ gen cho Trẻ em), iTHER (Liệu pháp Cá nhân hóa), GAIN (Liên kết Đánh giá Genom Thông báo Liệu pháp Mới), APMP (Chương trình Y học Chính xác Aflac), PROFYLE (Ung thư Học Chính xác cho Thanh Thiếu niên), POG (Ung thư học Cá nhân hóa), KiCS (Giải trình tự Ung thư Trẻ em Bệnh Hồng cầu Liềm), WES (Giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa), RNAseq (Giải trình tự RNA), NGS (Giải trình tự Thế hệ mới), WGS (Giải trình tự toàn bộ hệ gen), aCGH (Lai phân tử so sánh dựa trên vi mảng), OncoKB (Cơ sở Kiến thức Ung thư Học Chính xác), COSMIC (Danh mục Đột biến Soma trong Ung thư), SNV (Biến thể đơn nucleotide), CNV (Biến thể số bản sao), FDA (Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm).

<sup>a</sup> Phát hiện có thể hành động được trên mỗi giải trình tự thành công

<sup>b</sup> PROFYLE được thiết kế để hợp nhất và xây dựng dựa trên ba chương trình POG, KiCS và TRICEPS



## Quy trình của chương trình ung thư học chính xác

MTB đã xem xét các mẫu có sẵn, xếp hạng chúng để thực hiện xét nghiệm phân tử và quyết định các xét nghiệm bổ sung. Các mẫu mô được xét nghiệm bằng WES, hóa mô miễn dịch (IHC), phân tích bất ổn vi vệ tinh (MSI) và lai tại chỗ huỳnh quang (FISH). Trong trường hợp các mẫu không phù hợp cho WES, một giải trình tự mục tiêu nhỏ hơn (591 gen hoặc 58 gen, hoặc giải trình tự Sanger) được thực hiện. Sau khi lọc bằng công cụ tin sinh học, các hồ sơ phân tử được đánh giá bởi hệ thống DDA. Cuối cùng, MTB xem xét kết quả để đưa ra các khuyến nghị điều trị cuối cùng cho bác sĩ điều trị. Thông tin thêm về quy trình ung thư học chính xác có thể được đăng trên trang web của hệ thống<sup>47</sup>.

## Chuẩn bị mẫu

Các xét nghiệm chẩn đoán phân tử được thực hiện trên các mẫu khối u được cố định bằng formalin và nhúng parafin (FFPE) có sẵn, được thu thập trong các quy trình thường quy (sinh thiết, phẫu thuật). Tất cả các mẫu khối u được một nhà bệnh lý phân tử xem xét, sau đó xác định tỉ lệ nhân khối u và các điều kiện lập hồ sơ phân tử. Tỉ lệ tế bào khối u/bình thường là 10% được xem là cần thiết để phát hiện các biến thể nucleotide đơn (SNV) và 30% cho phân tích biến đổi số lượng bản sao (CNV). Tối thiểu 60 tế bào khối u trong các lát mẫu được chấp nhận cho phân tích IHC và FISH.

Tổng cộng 10 lát mỏng không nhuộm có độ dày 6  $\mu$ m chứa các tế bào khối u được yêu cầu để tách chiết ADN sau khi xác nhận về mặt bệnh lý. Các mẫu được khử khoáng bằng ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) cũng được coi là đủ điều kiện cho việc lập hồ sơ phân tử. DNA được tách chiết từ các mẫu FFPE theo quy trình tiêu chuẩn sử dụng Bộ Kit QIAamp DNA FFPE Tissue (Qiagen, 56404). Lượng và chất lượng DNA được xác định bằng NanoDrop (NanoDrop Technologies, D439) và bằng PCR. Tối thiểu 1000 ng tổng ADN đã được sử dụng để chuẩn bị thư viện.

## Phân tích giải trình tự

Giải trình tự hệ gen mã hóa được thực hiện tại hai nhà cung cấp (Eurofins Genomics và MedGenome). Các xét nghiệm phát triển trong phòng thí nghiệm sử dụng các thuốc thử chung và bộ kit Agilent SureSelect Human All Exon V5/V6 để tạo thư viện. WES được thực hiện với độ sâu trung bình 100–120X trên máy HiSeq2500 sử dụng giải trình tự đầu cặp (2 $\times$ 125 bp) và sau đó là xử lý dữ liệu.

Quá trình làm sạch trình tự được thực hiện bằng cách loại bỏ các base của đoạn adapter có chất lượng thấp ở các đầu 3' và 5', các base có chất lượng phred trung bình dưới 15 và cắt bỏ các đoạn đọc ngắn hơn 36 bp. Việc sắp xếp trình tự tham chiếu GRCh37 (hg19) được thực hiện bằng Burrows–Wheeler Aligner (BWA) với các thông số mặc định. Chỉ những đoạn đọc được sắp xếp duy nhất vào các

mục tiêu mới được xử lý tiếp. Các đoạn đọc được khử trùng lặp bằng Sambamba để loại bỏ sự bao phủ giả tạo do bước khuếch đại PCR trong quá trình chuẩn bị thư viện và/hoặc giải trình tự.

Việc gọi đột biến đa hình đơn nucleotide (SNP) và chèn/xóa (InDel) được thực hiện bằng Haplotype Caller của GATK. Các biến thể được phát hiện được chú giải dựa trên ngữ cảnh gen của chúng bằng SNPefect. Các chỉ số được sử dụng để đánh giá chất lượng của một biến thể được chú giải bằng module Variant Annotator của GATK.

## Biến đổi số lượng bản sao (CNV)

CNV được phát hiện bằng gói phần mềm CNVkit, sử dụng độ sâu đọc đã được chuẩn hóa để suy luận số lượng bản sao đồng đều trên toàn bộ hệ gen mã hóa/hệ gen. CNVkit sử dụng cả các đoạn đọc mục tiêu và các đoạn đọc không mục tiêu được thu nhận không đặc hiệu để tính toán tỉ lệ bản sao log<sub>2</sub> trên toàn bộ hệ gen cho mỗi mẫu. Độ sâu đọc mục tiêu, không mục tiêu được kết hợp, chuẩn hóa với một tham chiếu được lấy từ các mẫu kiểm soát và được điều chỉnh cho một số thiên lệch hệ thống (nội dung GC, độ phức tạp của trình tự và mục tiêu) để tạo ra bảng tỉ lệ bản sao log<sub>2</sub> cuối cùng. Thuật toán phân đoạn sử dụng các giá trị tỉ lệ log<sub>2</sub> để suy luận các sự kiện số lượng bản sao rời rạc. Các sự kiện số lượng bản sao với độ phủ tối thiểu 100 $\times$  được báo cáo trong các mẫu có tỉ lệ tế bào khối u ít nhất 30%.

## Phân tích tin sinh học của kết quả giải trình tự thế hệ mới

Các tệp đầu ra giải trình tự được xử lý bằng một quy trình lọc phát triển trong phòng thí nghiệm tích hợp phần mềm tin sinh học như Ingenuity Variants Analysis hoặc VarSome Clinical. Công cụ trực quan hóa Integrative Genomics Viewer (IGV) được sử dụng để kiểm tra các biến thể ứng viên và khu vực lân cận genome của chúng. Độ sâu hơn 20 đoạn đọc là yêu cầu để xác định một biến thể, với ngưỡng chất lượng là 20 và tần suất alen là 1% trong alen thay thế. Các đột biến soma được làm giàu bằng cách lọc ra các biến thể có ít nhất 10% trong các cơ sở dữ liệu của 1000 Genomes, Exome Aggregation Consortium (ExAC) hoặc National Heart, Lung, and Blood Institute GO Exome Sequencing Project (NHLBI ESP). Các biến thể được phân loại là "lành tính" hoặc "có khả năng lành tính" theo American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) cũng bị loại trừ. Quy trình lọc của chúng tôi bao gồm một bảng gen điều khiển ảo gồm gần 1000 gen liên kết với sinh ung thư trong dữ liệu y văn và cơ sở dữ liệu bằng chứng của chúng tôi.

## Các xét nghiệm chẩn đoán phân tử bổ sung

Phân tích đoạn dựa trên PCR huỳnh quang (Hệ thống Phân tích MSI, Phiên bản 1.2, Promega, MD1641) đã được sử dụng để xác định sự bất ổn vi vệ tinh. Việc kiểm tra chiều dài của năm trình tự gen đã biết chứa các đoạn lặp đơn

nucleotide bằng điện di mao quản xác định sự hiện diện của bất ổn chỉ ra một khuyết tật trong các enzyme sửa chữa DNA (sửa chữa không phù hợp). Hai loại trạng thái MSI, MSI cao (MSI-H) và ổn định vi vệ tinh (MSS) được phân biệt dựa trên việc cho thấy nhiều hơn hoặc ít hơn 20% sự bất ổn của năm đoạn lặp đơn nucleotide (NR-21, NR-24, BAT-25, BAT-26, MONO-27).

FISH bằng hệ thống ZytoLight Direct Label (ZytoVision GmbH, Z-2028-20) được sử dụng để phát hiện các sai lệch di truyền của chuyển vị (ALK, RET, ROS1), khuếch đại (EGFR, HER2, MET, FGFR1, PIK3CA), và lệch bội nhiễm sắc thể. Các hình ảnh lai của các đầu dò được gắn nhãn huỳnh quang kẹp vào các vùng mục tiêu được quét bằng Máy quét Panoramic MIDI và được trực quan hóa bằng phần mềm Panoramic Viewer™ (3DHISTECH). Kết quả được phiên giải theo các hướng dẫn đồng thuận của Hiệp hội Ung thư lâm sàng Hoa Kỳ (ASCO) và tiêu chí của Cappuzzo thuộc Trung tâm Ung thư Đại học Colorado (UCCC), được cập nhật từ dữ liệu công bố mới nhất.

Các xét nghiệm IHC đã được thực hiện để đánh giá sự biểu hiện của ligand 1 của thụ thể chết theo chương trình 1 (PD-L1) (22C3 pharmDx, DAKO, M365329-2), thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì ở người 2 (HER2) (kháng thể đơn dòng thụ anti-HER-2/neu (4B5), Ventana, 790-2991) và chuyển vị của kinase lympho không điển hình (ALK) (kháng thể đơn dòng chuột chống CD246 người, DAKO, IS641). Quá trình chuẩn bị mẫu và nhuộm được thực hiện bằng hệ thống DAKO EnVision FLEX.

Nếu một đột biến dòng mầm quan trọng được nghi ngờ, đột biến sẽ được phân tích bằng giải trình tự Sanger trên mẫu máu hoặc nước bọt của bệnh nhân. Trình tự hai chiều được lắp ráp và căn chỉnh với trình tự gen tham chiếu dựa trên bộ hệ gen người GRCh37/hg19.

### Diễn giải y sinh với hệ thống phần mềm dựa trên chỉ định thuốc ứng dụng trí tuệ nhân tạo

Hệ thống phần mềm dựa trên DDA được sử dụng trong nghiên cứu này là Máy tính điều trị ung thư học thời gian thực v1.28-1.66 (Genomate Health Inc). Đầu tiên, cơ sở dữ liệu bằng chứng của hệ thống phần mềm dựa trên DDA được cập nhật liên quan đến tất cả các biến thể trong hồ sơ phân tử của bệnh nhân thông qua tìm kiếm thủ công. Ngoài các ấn phẩm khoa học, các cơ sở dữ liệu được sử dụng để đánh giá mức độ liên quan lâm sàng của các biến thể bao gồm: Catalog of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC), cơ sở dữ liệu của Trung tâm Công nghệ Sinh học Quốc gia Hoa Kỳ (NCBI) về các biến thể đơn nucleotide (dbSNP), NCBI ClinVar, SNPEfect, Cơ quan Nghiên cứu Ung thư Quốc tế (IARC), Breast Cancer Information Core (BIC), và UniProt.

Hệ thống DDA là một công cụ tri thức dựa trên quy tắc, có khả năng phân loại các đột biến di truyền và ưu tiên các phân tử mục tiêu và hợp chất dựa trên cơ sở dữ liệu bằng chứng liên quan và thuật toán độc quyền của nó. Một mô tả chi tiết về DDA đã được công bố trước đây. Nói ngắn gọn, cơ sở dữ liệu bằng chứng chứa dữ liệu khoa học được tham số hóa về khả năng gây ung thư và khả năng nhắm mục tiêu của các biến đổi phân tử. Việc phân loại và xếp hạng dựa trên việc chấm điểm các mục bằng chứng liên quan đến mối quan hệ giữa các đột biến của bệnh nhân, mục tiêu và/hoặc các hợp chất. Điểm số bằng chứng được tính toán dựa trên các tham số về độ tin cậy của dữ liệu (ví dụ: nghiên cứu lâm sàng hoặc tiền lâm sàng, loại ấn phẩm), được cân nhắc theo mức độ liên quan trong trường hợp cụ thể (ví dụ: cùng loại khối u hoặc khác, cùng đột biến hoặc dữ liệu về gen nói chung) và được tổng hợp cho từng biến đổi, mục tiêu và hợp chất. Tổng trọng số này tạo ra AEL. Theo cách này, việc ưu tiên tự động tích hợp nhiều nguồn dữ liệu, kết quả tiền lâm sàng và lâm sàng, thậm chí cả bằng chứng mâu thuẫn, đồng thời cũng xem xét các cơ chế kháng thuốc. Các báo cáo năm 2017 được tạo thủ công; do đó, để dễ dàng phân tích, DDA đã được phát hành cho các trường hợp này vào năm 2020. Tuy nhiên, chúng tôi vẫn giữ nguyên các khuyến nghị ban đầu.

Tiếp theo, một báo cáo chứa kết quả DDA và các tóm tắt văn bản về khả năng điều trị tiền lâm sàng và lâm sàng của tất cả các đột biến điều khiển đã được tạo và gửi để thảo luận tại MTB.

### Ý kiến chuyên gia, chuyển giao dữ liệu cho bác sĩ điều trị

Các cuộc họp của MTB được tổ chức mỗi ngày làm việc. Vai trò của MTB là điều chỉnh kết quả DDA với các đặc điểm của bệnh nhân, tình trạng sức khỏe, các liệu pháp trước đó, các liệu pháp kết hợp tiềm năng, độc tính và sự sẵn có của thuốc. Các báo cáo và khuyến nghị về thuốc đã được đưa ra cho bác sĩ điều trị để sử dụng thêm.

### Phân loại các khuyến nghị điều trị dựa trên chỉ định thuốc ứng dụng AI theo thang bằng chứng ESCAT

Dữ liệu xuất ra từ hệ thống phần mềm dựa trên DDA cho từng trường hợp đã được sử dụng cho các thống kê mô tả trong Excel. Phân tích lại ESCAT được thực hiện bằng cách sử dụng tất cả các bằng chứng đã được tính toán theo các hướng dẫn sau: ESCAT I—các hợp chất đã được phê duyệt, dựa trên dấu ấn sinh học trong cùng một chỉ định, ESCAT II—bằng chứng lâm sàng dựa trên dấu ấn sinh học cho một hợp chất trong cùng loại khối u, ESCAT III—bằng chứng lâm sàng dựa trên dấu ấn sinh học cho một hợp chất trong loại khối u khác, ESCAT IV—bằng chứng tiền lâm sàng dựa trên dấu ấn sinh học hoặc bằng chứng tiền lâm sàng gián tiếp.

## Phân tích hiệu suất dựa trên các bảng gen khác nhau

Danh sách các gen bao phủ bởi các bảng khác nhau được tải xuống từ trang web của nhà cung cấp. Các biến thể WES được lọc cho các gen của các bảng khác nhau; tỉ lệ khả năng điều trị/kháng thuốc đã được xác định và cũng được kiểm tra xem liệu đột biến điều khiển được xếp hạng cao nhất có nằm trong bảng gen điều khiển hay không. Khả năng điều trị có nghĩa là một đột biến điều khiển hoặc biến thể không xác định ý nghĩa (VUS) trong gen điều khiển có thể được nhắm mục tiêu bằng một liệu pháp nhắm mục tiêu đã được đăng ký và nếu một đột biến như vậy được phát hiện, trường hợp đó được coi là có khả năng điều trị. Số lượng các trường hợp có phát hiện khả năng điều trị trên tổng số các trường hợp có giải trình tự thành công cho tỉ lệ khả năng điều trị. Đột biến điều khiển được xếp hạng cao nhất là đột biến có điểm số AEL cao nhất. Việc lọc cũng được xem có ảnh hưởng đến việc lựa chọn liệu pháp hay không. Quyết định của MTB được thay đổi khi bảng gen không bao phủ đột biến điều khiển mà quyết định gốc của MTB dựa trên đó. Nếu bảng gen không chứa đột biến điều khiển thì quyết định của hội đồng khối u có thể bị thay đổi. Các khuyến nghị điều trị tiêu chuẩn không bị ảnh hưởng bởi việc giảm mẫu.

### Phân tích thống kê

Biểu đồ được tạo trong Excel và GraphPad Prism 9. Phân tích thống kê, nếu có thể, được thực hiện trong Prism.

## KẾT QUẢ

### Đặc điểm bệnh nhân

Trong khoảng thời gian từ năm 2017 đến 2020, 103 bệnh nhân (<21 tuổi) từ nhiều trung tâm ung thư nhi khoa tại Hungary đã được đưa vào chương trình ung thư học chính xác trong thực hành lâm sàng của chúng tôi (Hình 1a). Việc tuyển chọn được xác định bởi nhu cầu lâm sàng và chủ yếu là các bệnh nhi mắc ung thư có nguy cơ cao, khó điều trị hoặc tái phát. Đặc điểm bệnh nhân được trình bày chi tiết trong Hình 1b và Bảng bổ sung 1. Các bệnh nhân trình bày ở các giai đoạn bệnh khác nhau: bệnh được chẩn đoán mới khu trú (31%), bệnh tiến triển nặng hơn điều trị trước đó (18%), bệnh tái phát hoặc di căn (51%) và được chẩn đoán với một loạt các loại bệnh ác tính đa dạng, bao gồm các khối u hệ thần kinh trung ương (CNS) (38%), sarcoma (28%), u nguyên bào thần kinh (18%), các khối u rắn khác (11%), và các bệnh ác tính về huyết học (5%) (Hình 1c).

Một hội đồng khối u đa ngành (MTB) đã xem xét các mẫu có sẵn, xếp hạng chúng dựa trên mức độ phù hợp cho xét nghiệm phân tử và quyết định các xét nghiệm bổ sung. Các mẫu mô được phân tích bằng WES, IHC, xét nghiệm MSI, và FISH. Các xét nghiệm chẩn đoán phân tử không sử dụng NGS đã cho kết quả dương tính ở sáu bệnh nhân. Sự khuếch đại được phát hiện bằng phân tích FISH ở năm trường hợp (trong số 79, 6%, với tối đa bảy gen được xét

nghiệm) của các gen sau: ERBB2 (x2), FGFR1, MET, và PIK3CA. Một trong 73 mẫu cho thấy dương tính với PD-L1, và không có mẫu nào trong số 77 mẫu có MSI cao (Bảng bổ sung 1).

Kết quả WES đã thu được ở 88 trường hợp; các mẫu từ 15 bệnh nhân không phù hợp cho WES. Đối với những bệnh nhân này, phân tích mục tiêu đã được thực hiện dựa trên mức độ phù hợp của mẫu, cụ thể là NGS 591 gen (n=3), NGS 58 gen (n=3), NGS 591 gen từ sinh thiết lỏng (n=2), giải trình tự Sanger nhiều gen đơn (n=2), hoặc chỉ phân tích FISH (n=2) (Hình 1d). Các mẫu từ ba bệnh nhân không mang lại thông tin, dẫn đến tổng cộng 100 bệnh nhân có dữ liệu phân tử.

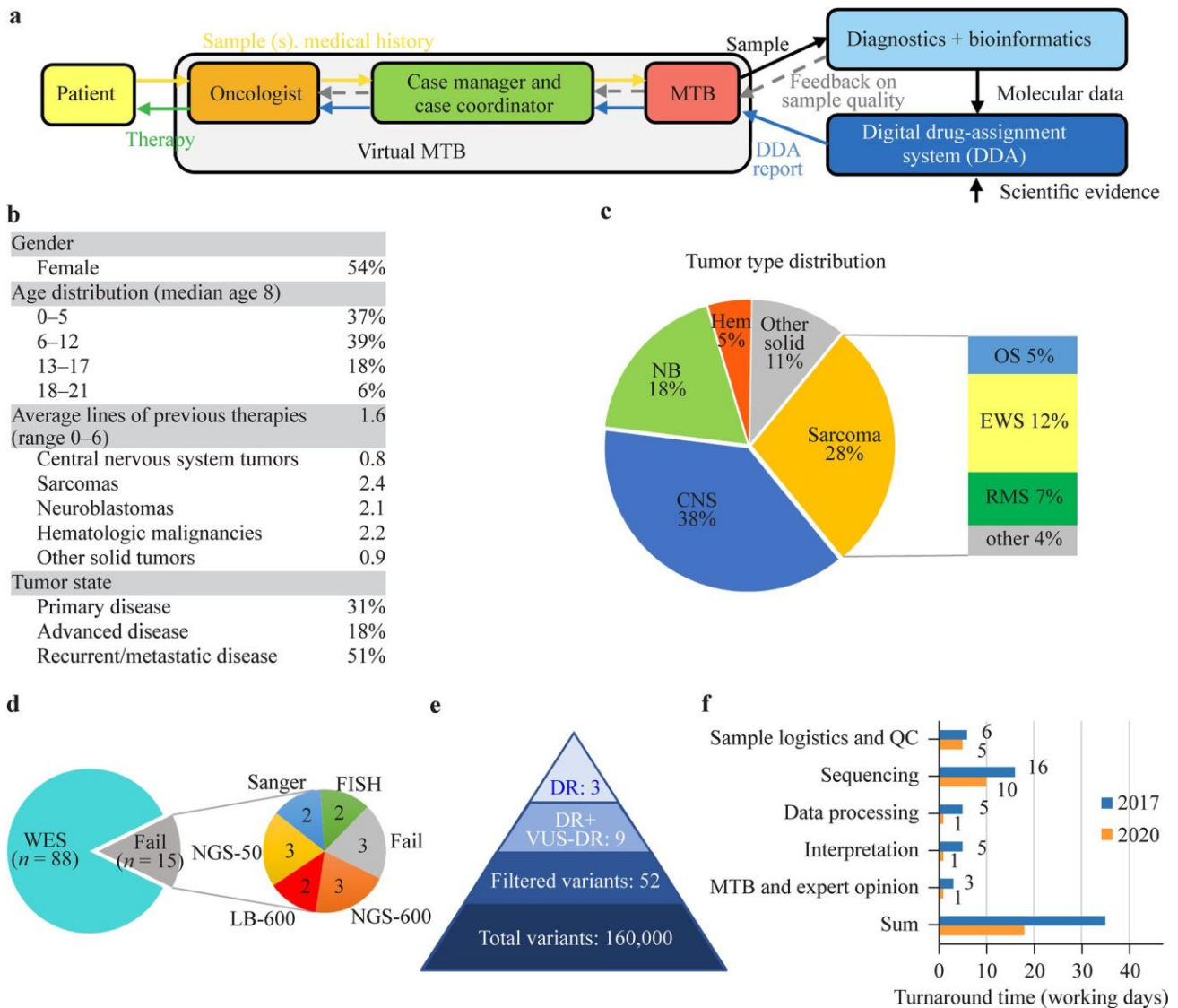
Sau khi lọc bằng công cụ tin sinh học, trung bình, 52 biến thể đã được xác định bằng WES hoặc NGS 591 gen. Tất cả các kết quả xét nghiệm được tải lên hệ thống phần mềm dựa trên DDA, hệ thống này cung cấp báo cáo xếp hạng các biến đổi phân tử, các mục tiêu liên quan và các hợp chất dựa trên cơ sở dữ liệu bằng chứng được cập nhật. Hệ thống đã xác định trung bình ba biến đổi điều khiển và sáu biến thể chưa rõ ý nghĩa trong một gen điều khiển cho mỗi trường hợp (Hình 1e). Cuối cùng, MTB đã xem xét kết quả để đưa ra các khuyến nghị điều trị cho bác sĩ điều trị.

Cùng với sự phát triển của công nghệ, thời gian xử lý toàn bộ quá trình đã giảm từ 35 xuống còn 18 ngày làm việc trong suốt 4 năm của nghiên cứu, với phần phiên giải cần ít hơn 1 ngày nhờ hệ thống chỉ định thuốc bán tự động (Hình 1f). Thời gian giải trình tự đã giảm do tiến bộ kỹ thuật, trong khi quá trình xử lý dữ liệu trở nên nhanh hơn nhờ sự phát triển của các hệ thống tin sinh học. Sự cải thiện của cơ sở dữ liệu và thuật toán cùng với việc giảm công việc thủ công đã dẫn đến giảm thời gian phiên giải. Hậu cần nâng cao và làm việc trực tuyến đã góp phần vào việc đẩy nhanh quy trình MTB.

### Khả năng điều trị của chỉ định thuốc ứng dụng trí tuệ nhân tạo trong ung thư nhi khoa

Hệ thống phần mềm dựa trên DDA đã sử dụng trung bình 427 ấn phẩm khoa học và một mạng lưới 1212 mối liên quan để phân tích mỗi hồ sơ phân tử. Hệ thống đã xác định các lựa chọn điều trị nhắm mục tiêu đã đăng ký hoặc chưa đăng ký (trên nhãn/ngoài nhãn) phù hợp ở 72% trong số 100 bệnh nhân có kết quả chẩn đoán phân tử (tỉ lệ tương tự với WES, 63/88). Với xu hướng tăng, khả năng điều trị đã đạt đỉnh ở mức 88% vào năm 2020 nhờ sự mở rộng liên tục của danh mục thuốc được phê duyệt và các cập nhật theo thời gian thực của cơ sở dữ liệu bằng chứng (Hình 2a). Khi các gen điều khiển với các biến thể chưa rõ ý nghĩa được tính toán, tổng khả năng điều trị được nâng lên mức 83%. Các nghiên cứu trước đây báo cáo tỉ lệ khả năng điều trị dao động từ 15% đến 87%; tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu này chúng tôi cũng đã xem xét các hợp chất đang phát triển khi xác định khả năng điều trị (Bảng 1). Kết quả của chúng tôi cho thấy có một tỉ lệ đáng kể các khối u rắn nguy cơ cao có các biến đổi có thể điều trị xác định bởi DDA.





**Hình 1:** Quy trình, đặc điểm bệnh nhân và phân tích.

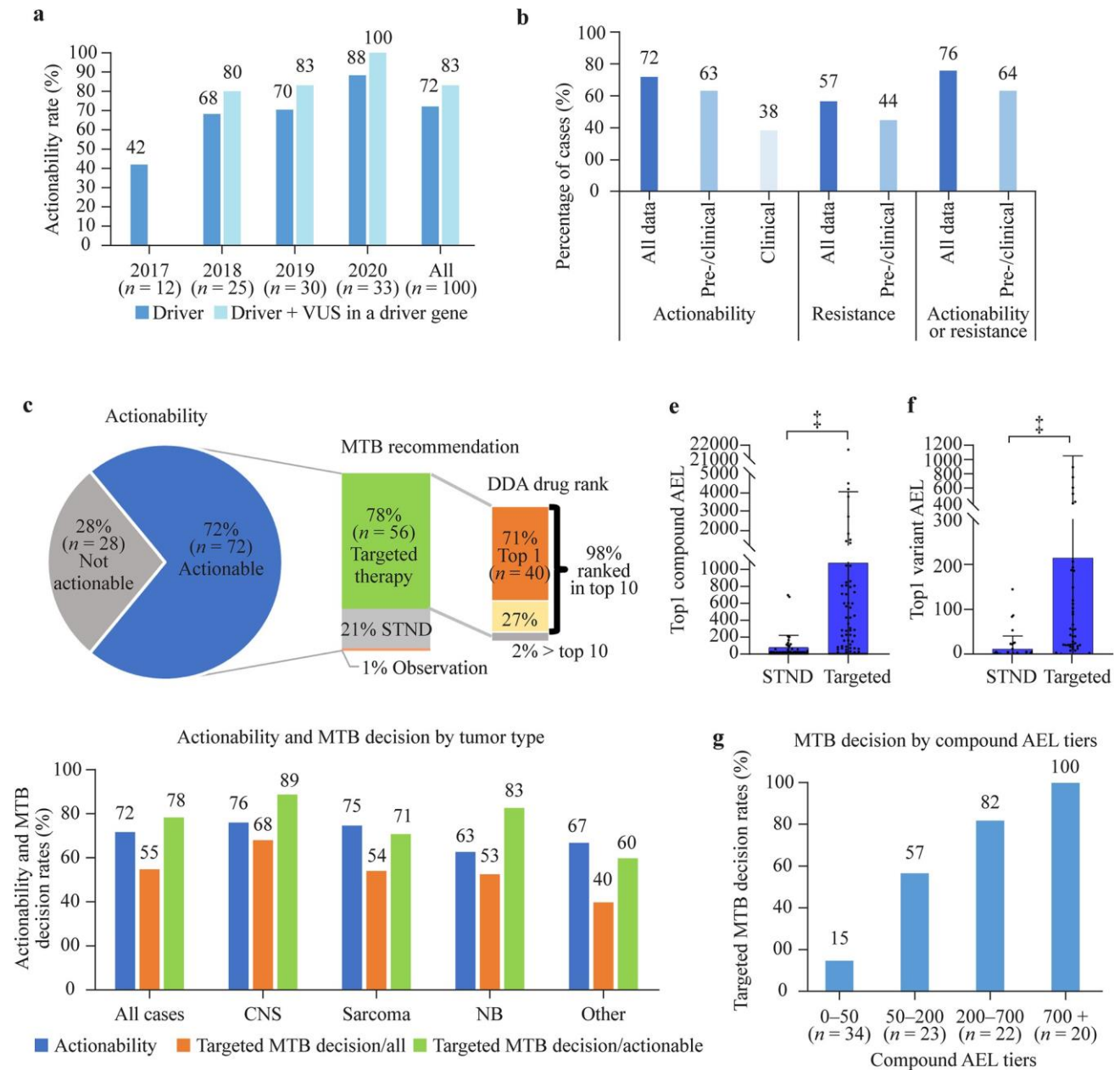
(a) Biểu diễn sơ đồ quy trình làm việc của chương trình ung thư học chính xác. Việc tuyển chọn chủ yếu được khởi xướng bởi các bác sĩ ung thư. Một quản lý ca chuyên gia và một điều phối viên ca được chỉ định cho mỗi trường hợp để thu thập tất cả thông tin cần thiết. Bác sĩ ung thư và quản lý ca trình bày dữ liệu, tiền sử bệnh và mẫu bệnh phẩm cho hội đồng khối u phân tử (MTB), nơi quyết định về xét nghiệm và mẫu được đưa ra. Sau khi chẩn đoán và phân tích tin sinh học, một báo cáo DDA được tạo ra và thảo luận với MTB để đưa ra khuyến nghị điều trị cuối cùng. (b) Đặc điểm bệnh nhân. (c) Phân bố loại khối u của các bệnh nhân. (d) Biểu diễn các loại xét nghiệm lập hồ sơ phân tử đã thực hiện. (e) Số lượng biến thể trung bình mỗi mẫu được xác định bằng WES hoặc phân tích bằng 591 gen. (f) Sự cải thiện thời gian xử lý từ năm 2017 đến 2020 được chia theo các bước quy trình.

Các ký hiệu: DDA – chỉ định thuốc ứng dụng AI, WES - giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa, QC - kiểm tra chất lượng, NB - u nguyên bào thần kinh, CNS - khối u hệ thần kinh trung ương, Hem - ung thư huyết học, EWS - sarcoma Ewing, RMS - rhabdomyosarcoma, OS - osteosarcoma, NGS-600 - giải trình tự thế hệ mới của bảng 600 gen, NGS-50 - giải trình tự thế hệ mới của bảng 50 gen, LB-600 - giải trình tự thế hệ mới của bảng 600 gen bắt đầu từ sinh thiết lỏng, DR – gen điều khiển, VUS-DR - biến thể chưa rõ ý nghĩa trong gen điều khiển

Ti lệ khả năng điều trị cũng được phân tích dựa trên việc chỉ xem xét dữ liệu lâm sàng hoặc tiền lâm sàng/lâm sàng cho việc xác định các gen điều khiển (không xem xét các gen điều khiển chỉ có dữ liệu mô phỏng - in silico và sản xuất), trong khi vẫn giữ tiêu chí thuốc đã được đăng ký. Ti lệ khả năng điều trị lần lượt là 63% và 38% dựa trên bằng chứng tiền lâm sàng/lâm sàng và lâm sàng (Hình 2b). Mặc dù quan trọng, thông tin về cơ chế kháng thuốc tiềm năng đối với các liệu pháp nhắm mục tiêu phân tử hầu hết chưa được thảo luận nhiều trong các nghiên cứu trước đây.

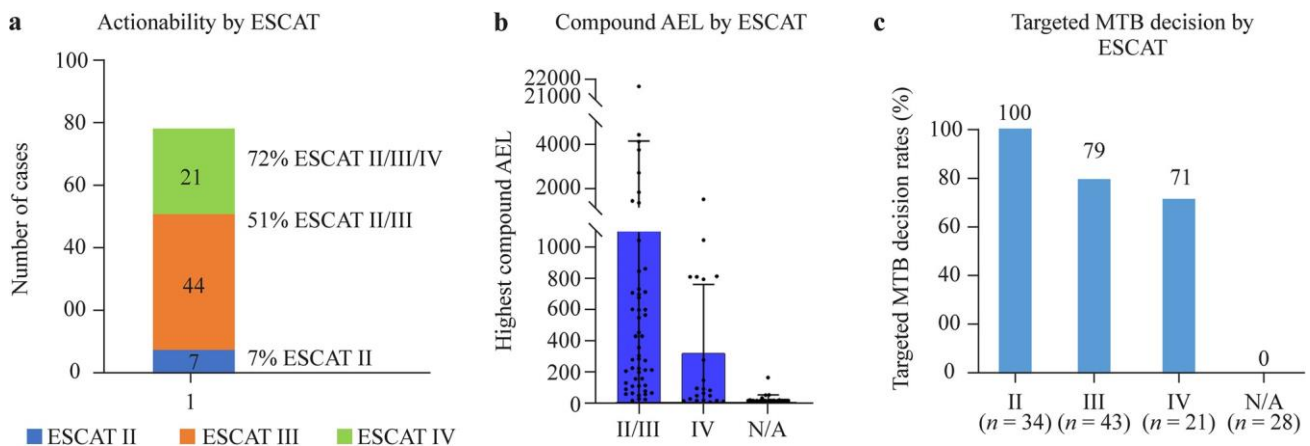
Trong nghiên cứu của chúng tôi, kháng thuốc đối với một loại thuốc đã được đăng ký được xác định ở 57% bệnh nhân, với tỉ lệ kháng thuốc dựa trên bằng chứng tiền lâm sàng/lâm sàng là 44% (Hình 2b). Tổng cộng, khả năng điều trị hoặc kháng thuốc được phát hiện ở 76% bệnh nhân, với 64% chỉ dựa trên bằng chứng tiền lâm sàng/lâm sàng (Hình 2b). Chúng tôi xác định trung bình 11,5 loại thuốc đã đăng ký có liên quan tích cực hoặc tiêu cực với mỗi hồ sơ phân tử được xét nghiệm bởi WES.





**Hình 2:** Mối quan hệ giữa khả năng điều trị được xác định bởi DDA và các quyết định của MTB. (a) Tỷ lệ khả năng có thể điều trị của tất cả các trường hợp. Một hồ sơ phân tử được coi là có thể điều trị khi ít nhất một tác nhân điều khiển (hoặc VUS trong một gen điều khiển) có thể được nhắm trúng với một loại thuốc đã được đăng ký (không giới hạn trong các chỉ định được phê duyệt, nhưng loại trừ các hợp chất đang phát triển). (b) Tỷ lệ khả năng có thể điều trị và kháng thuốc được lọc theo loại bằng chứng. Kháng thuốc được xác định khi ít nhất một loại thuốc đã được đăng ký có liên quan tiêu cực với một tác nhân điều khiển trong hồ sơ phân tử. (c) Quyết định của MTB và xếp hạng thuốc của DDA. Xếp hạng thuốc DDA là điểm xếp hạng của các hợp chất được sắp xếp theo mức độ bằng chứng tổng hợp (mức cao nhất nhận được xếp hạng 1). (d) Tỷ lệ khả năng có thể điều trị và tỷ lệ quyết định liệu pháp nhắm trúng đích của MTB theo loại khối u. (e) và (f) Hợp chất được xếp hạng cao nhất (tối đa) và biến thể AEL theo quyết định của MTB. Trung bình + SD,  $^{\ddagger}P < 0,001$ , kiểm định Mann-Whitney U hai phía. (g) Sự liên kết giữa tỷ lệ quyết định liệu pháp nhắm trúng đích của MTB (các trường hợp nhắm trúng/mang tính hành động) với các mức AEL hợp chất cao nhất,  $P < 0,001$ , kiểm định Chi-square. Tổng số ca là 99 do loại trừ một trường hợp không có liệu pháp điều trị (chỉ quan sát) được khuyến nghị.

DDA: chỉ định thuốc ứng dụng AI, MTB: hội đồng khối u phân tử, VUS: biến thể có ý nghĩa không rõ, STND: liệu pháp tiêu chuẩn, CNS: hệ thần kinh trung ương, NB: neuroblastoma, AEL: mức độ bằng chứng tổng hợp, STND: liệu pháp tiêu chuẩn, SD: độ lệch chuẩn.  $^{\ddagger}P < 0,001$



**Hình 3:** Phân tích so sánh các khuyến nghị điều trị dựa trên DDA và ESCAT. (a) Tỷ lệ có thể điều trị và số lượng ca theo các mức ESCAT. (b) Điểm AEL (mức độ bằng chứng tổng hợp) cao nhất theo các mức ESCAT. Trung bình + SD. (c) Tỷ lệ quyết định liệu pháp nhắm trúng đích của MTB theo các mức ESCAT. Tổng số ca là 99 do loại trừ một trường hợp không có liệu pháp điều trị (chỉ quan sát) được khuyến nghị. DDA: chỉ định thuốc ứng dụng AI, ESCAT: thang đo của Hiệp hội Ung thư Lâm sàng Châu Âu về khả năng điều trị lâm sàng của các mục tiêu phân tử, AEL: mức độ bằng chứng tổng hợp, SD: độ lệch chuẩn, MTB: hội đồng khối u phân tử

### Sự tương đồng giữa điểm số phân chỉ định thuốc dựa vào AI và quyết định của MTB

Sau khi báo cáo được tạo ra từ hệ thống phân mềm tích hợp DDA, một hội đồng khối u đa ngành (MTB) đã thảo luận về các khuyến nghị điều trị trong vòng 1–2 ngày. Vai trò của MTB là điều chỉnh kết quả DDA với các đặc điểm của bệnh nhân, tình trạng sức khỏe, các liệu pháp trước đó, các liệu pháp kết hợp tiềm năng, độc tính, và sự sẵn có của thuốc<sup>48-51</sup>. Tổng cộng, MTB ủng hộ việc sử dụng liệu pháp nhắm mục tiêu phân tử trong 55 trường hợp (55%). MTB đồng thuận việc sử dụng liệu pháp nhắm mục tiêu trong tương lai ở 78% (56/72) các trường hợp được coi là có khả năng điều trị (Hình 2c). Trong số đó, 55 (98%) được xếp hạng trong số 10 hợp chất đã đăng ký hàng đầu, và 40 (71%) được xếp hạng đầu tiên bởi hệ thống DDA, giúp đơn giản hóa các quyết định nhắm mục tiêu của MTB. Hợp chất được khuyến nghị nhiều nhất là olaparib (n=6), tiếp theo là selumetinib và ruxolitinib (mỗi loại n=3), erdafitinib, cetuximab, palbociclib, imatinib, trastuzumab (mỗi loại n=2), và nhiều loại thuốc nhắm mục tiêu khác đã được phê duyệt (Bảng bổ sung 1), nhấn mạnh sự đa dạng của các khối u cá nhân. Giá trị khả năng điều trị và tỷ lệ quyết định nhắm mục tiêu của MTB trong các loại khối u khác nhau được mô tả trong Hình 2d, với tỷ lệ khả năng điều trị và quyết định điều trị nhắm mục tiêu cao nhất ở các khối u hệ thần kinh trung ương (CNS).

Trong quá trình tính toán của DDA, một điểm số định lượng, mức độ bằng chứng tổng hợp (AEL), được thuật toán gán cho mỗi đột biến gen điều khiển và hợp chất. AEL đại diện cho số lượng, ảnh hưởng khoa học và mức độ liên quan lâm sàng của các mối liên hệ bằng chứng (các mảnh thông tin khoa học liên quan đến ung thư) trong hệ thống, kết nối các loại khối u, biến đổi phân tử, mục tiêu và hợp chất và cung cấp cơ sở để xếp hạng. Chúng tôi đánh giá mối tương quan giữa quyết định của MTB và điểm số AEL của các biến thể và thuốc được xếp hạng cao nhất; do

đó, chúng tôi đã chia các trường hợp theo quyết định của MTB (liệu pháp chuẩn hoặc liệu pháp nhắm mục tiêu). Trong nhóm liệu pháp nhắm mục tiêu, AEL của các biến đổi và thuốc được xếp hạng cao nhất cao hơn đáng kể so với nhóm bệnh nhân nhận liệu pháp không phụ thuộc vào hồ sơ phân tử (Hình 2e, f). Theo đó, việc chia các trường hợp thành bốn nhóm AEL có mật độ dân số tương tự cho thấy tỷ lệ quyết định nhắm mục tiêu của MTB tăng lên khi AEL của thuốc tăng (Hình 2g). Tổng hợp lại, những dữ liệu này cho thấy hệ thống phân mềm dựa trên DDA có thể là một công cụ hữu ích để xếp hạng các đột biến điều khiển và hợp chất, cung cấp đầu vào cho MTB cả trong việc quyết định giữa liệu pháp nhắm mục tiêu so với hóa trị liệu và lựa chọn giữa các lựa chọn điều trị nhắm mục tiêu.

### Phân tích so sánh giữa chỉ định thuốc ứng dụng AI và các khuyến nghị điều trị dựa trên ESCAT

Mặc dù DDA không dựa trên các tiêu chí của ESCAT, việc lưu trữ tất cả các mảnh ghép bằng chứng có cấu trúc được sử dụng cho các tính toán tự động đã cho phép chúng tôi phân tích hồi cứu các trường hợp để phân loại các lựa chọn điều trị dựa trên tiêu chí ESCAT. Chúng tôi xác định 7 trường hợp có bằng chứng ESCAT II, 44 trường hợp với ESCAT III và 21 trường hợp với ESCAT IV, dẫn đến khả năng điều trị là 7% theo ESCAT II, 51% theo ESCAT II/III, và 72% theo các danh mục ESCAT II/III/IV. Không có bằng chứng ESCAT I được xác định, vì không có mẫu nào có trạng thái bất ổn vi vệ tinh cao (MSI) hoặc gánh nặng đột biến khối u cao (TMB) hoặc sắp xếp lại thụ thể neurotrophin kinase (NTRK) (Hình 3a).

Để xác định cách các giá trị AEL liên quan đến các hạng mục ESCAT, chúng tôi đã vẽ biểu đồ AEL theo các hạng mục ESCAT. Vì hạng II chỉ chứa bảy yếu tố, chúng tôi gộp nó với hạng III. Như được minh họa trong Hình 3b, các giá trị AEL trung bình cao hơn ở hạng mục ESCAT cao hơn (II/III) so với hạng mục thấp hơn (IV) và thấp nhất

khi không có hạng mục ESCAT nào phù hợp (không có gen điều khiển hoặc tác nhân nhắm mục tiêu nào), mặc dù không có sự tương đồng mạnh mẽ do sự lệch của AEL trong các hạng mục khác nhau. Tỷ lệ quyết định nhắm mục tiêu của MTB cũng theo thứ hạng của các hạng mục ESCAT, nhưng cần lưu ý rằng ở hạng IV với bằng chứng tiền lâm sàng mạnh hoặc bằng chứng gián tiếp, chúng tôi vẫn có tỷ lệ quyết định nhắm mục tiêu trên 70% (Hình 3c).

### **Khả năng điều trị của phân bổ thuốc kỹ thuật số dựa trên các tập hợp gen khác nhau**

Mặc dù nhiều ấn phẩm ủng hộ sự cần thiết của việc lập hồ sơ phân tử toàn diện trong các khối u nhi khoa<sup>12,19,20,26</sup>, WES vẫn là xét nghiệm chưa thực hiện phổ biến ở tất cả mọi nơi. Tại nhiều trung tâm ung thư, chỉ các gen đơn hoặc bảng 50 gen NGS điểm nóng (được thiết kế cho các bệnh ác tính ở người lớn) được áp dụng. Ngay cả khi WES/WGS được sử dụng, việc diễn giải biến thể thường chỉ giới hạn trong một bảng điều khiển ảo gồm khoảng 6–700 gen liên quan đến ung thư. Trong phân tích của chúng tôi, chúng tôi đã sử dụng danh sách toàn diện gồm 995 gen, chứa tất cả các gen trong danh mục ung thư của cơ sở dữ liệu COSMIC và các gen khác được chọn lọc thủ công có liên quan đến ung thư ở người lớn hoặc trẻ em (Bảng bổ sung 1). Để cung cấp ước tính về hiệu suất giải trình tự bằng gen điều khiển cho các phân tích WES của chúng tôi (n=88), chúng tôi đã phân tích phạm vi bảo phủ ảo của các kết quả bằng các bảng NGS thương mại có sẵn (Hình 4). Trong một cách tiếp cận, chúng tôi giả định rằng tất cả các kết quả xét nghiệm không dựa trên NGS (FISH, IHC, MSI) cũng được thu thập ngoài giải trình tự bằng điều khiển; trong cách tiếp cận khác, chúng tôi chỉ tập trung vào các đột biến từ kết quả NGS.

Về khả năng điều trị tổng thể và xác định kháng thuốc, DDA đã hoạt động tương đương với các bảng điều khiển 400–800 gen so với bảng gen điều khiển ảo với 995 gen dựa trên WES (Hình 4a, b). Tuy nhiên, các bảng này chỉ bao phủ đột biến điều khiển mạnh nhất theo DDA trong khoảng 90% các trường hợp (Hình 4c). Điều này có nghĩa trong phân tích ảo này, đột biến điều khiển mạnh nhất sẽ không được tìm thấy với bảng điều khiển 400–800 gen ở 10% bệnh nhân, điều này cũng ảnh hưởng đến các quyết định nhắm mục tiêu. Hầu hết các bảng gen điều khiển từ 200 gen trở lên phát hiện >80% đột biến điều khiển mạnh nhất, nhưng các bảng có dưới 200 gen cung cấp kết quả khác biệt đáng kể, làm ảnh hưởng đáng kể đến các quyết định điều trị (Hình 4d). Tóm lại, chúng tôi có thể cung cấp ước tính về hiệu suất hỗ trợ quyết định dựa trên DDA dựa trên 995 gen xét nghiệm bởi WES so với các bảng điều khiển thương mại khác trong các khối u nhi khoa.

### **Các đột biến điều khiển có liên quan lâm sàng được xác định bởi hệ thống chỉ định thuốc ứng dụng AI trong các loại khối u nhi khoa khác nhau**

Để trình bày các đột biến điều khiển được phát hiện trong ba nhóm khối u phổ biến nhất (khối u CNS, u nguyên bào thần kinh, và sarcoma), chúng tôi đã tạo ra một bảng từ các

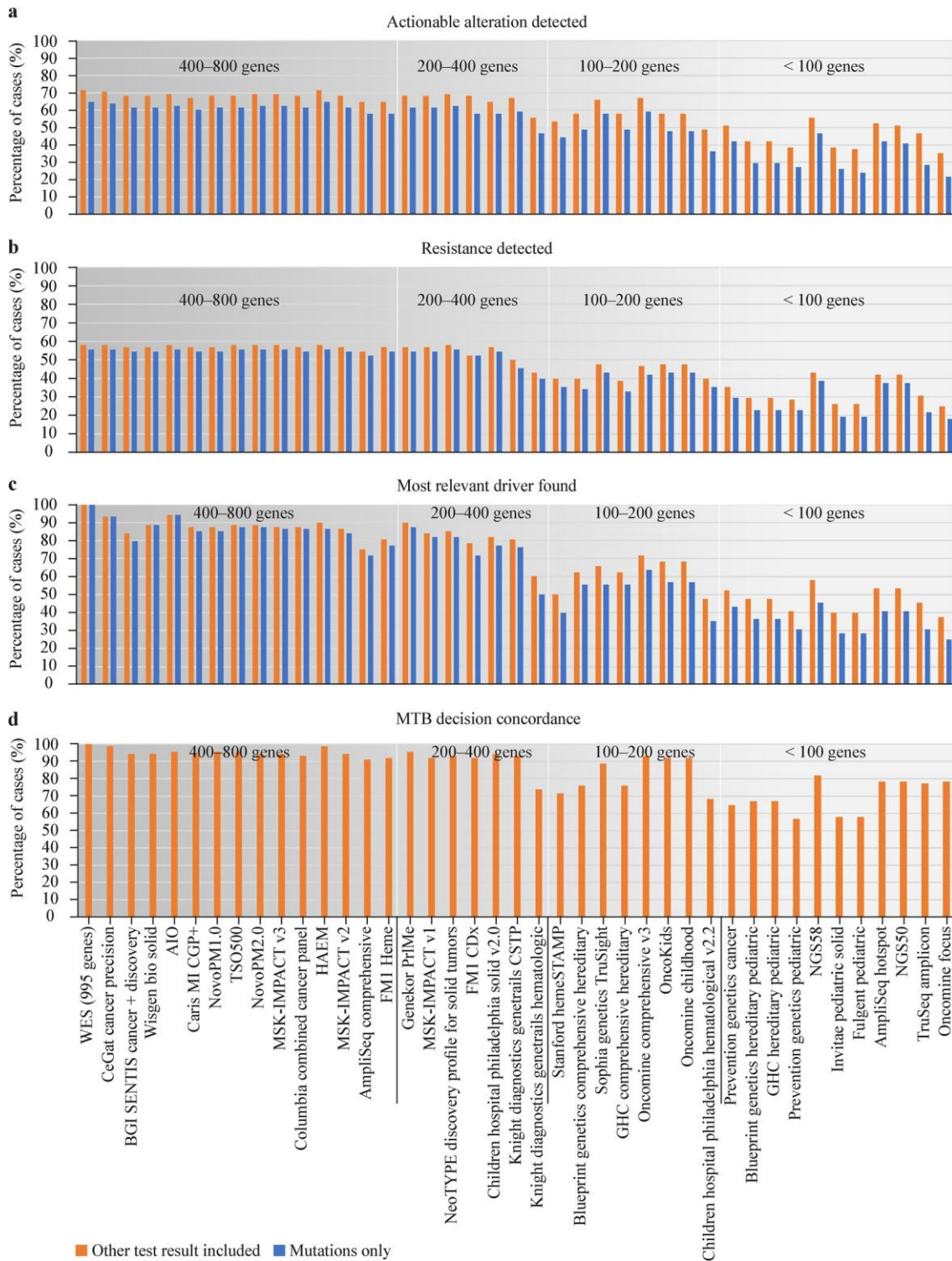
gen bị ảnh hưởng trong mỗi nhóm (Hình 5, với danh sách đầy đủ các đột biến trong Bảng bổ sung 1). Các đột biến trong các kinase thụ thể tyrosine, gen sửa chữa ADN và các gen liên quan đến điều chỉnh biểu sinh đã được tìm thấy trong cả ba phân nhóm (u nguyên bào thần kinh đệm, u nguyên bào thần kinh đệm đa hình, và u nguyên bào tủy) của các khối u CNS (Hình 5a). Các đột biến gen Hedgehog là đặc trưng của u nguyên bào tủy, các đột biến trong đường dẫn tín hiệu kinase hoạt hóa mitogen (MAPK) và phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (PI3K)/Akt là điển hình trong u nguyên bào thần kinh đệm và u nguyên bào thần kinh đệm đa hình và sự tham gia của các gen sửa chữa ADN đã được phát hiện trong u nguyên bào thần kinh đệm và u nguyên bào tủy. Ung thư mô liên kết - sarcoma có một bức tranh đa dạng hơn về các đột biến gen (Hình 5b). Thú vị là, sarcoma Ewing không xuất hiện các đột biến trong các gen đường dẫn MAPK hoặc PI3K/Akt. Trong u nguyên bào thần kinh, các gen sửa chữa ADN và các yếu tố tham gia điều chỉnh phiên mã phần lớn đã bị đột biến ngoài ALK và N-MYC (Hình 5c). Đáng chú ý, chúng tôi đã phát hiện các đột biến điều khiển đã được biết đến (AEL >20) trong các gen không thể nhắm mục tiêu sau: DICER1, MC1R, KNSTRN, DDX3X, ERCC3, và NT5C2.

Trong những trường hợp nghi ngờ có đột biến dòng mầm hoặc một bệnh được mã hóa di truyền, chúng tôi đã thực hiện giải trình tự mục tiêu cho bệnh nhân (và cha mẹ khi có thể) để tìm kiếm đột biến trong mô bình thường. Trong hai trường hợp nghi ngờ có đột biến DICER1, sự di truyền bệnh đã được loại trừ, mang lại sự giải tỏa (tâm lý) cho cha mẹ và các anh chị em. Quan trọng là, phân tích kết quả dòng mầm thậm chí đã thay đổi chẩn đoán của một bệnh nhân sang một rối loạn di truyền không phải ung thư [fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP), ACVR1 p. R258S]<sup>52</sup> và hóa trị liệu đã được ngừng ngay lập tức. Tổng hợp lại, dữ liệu của chúng tôi cũng có thể cung cấp cái nhìn có giá trị về các đột biến gen trong các khối u nhi khoa.

## **BÀN LUẬN**

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xem xét 100 trường hợp đầu tiên được đánh giá trong chương trình ung thư học chính xác nhi khoa của chúng tôi, liên quan đến các bệnh nhân từ các viện khác nhau. Kết quả của chúng tôi cho thấy rằng việc hỗ trợ quyết định dựa trên DDA sử dụng WES là khả thi và thể hiện tính hữu ích trên lâm sàng trong điều trị các bệnh ung thư ác tính nhi khoa. Chúng tôi chỉ ra rằng có một tỷ lệ đáng kể, hơn hai phần ba, các khối u rắn có nguy cơ cao có các đột biến quan trọng trong điều trị mặt lâm sàng và lợi ích lâm sàng khác của việc giải trình tự toàn diện. Tỷ lệ cao các khuyến nghị liệu pháp nhắm mục tiêu của MTB trong nhóm có khả năng điều trị (77%), trong đó 78% được xếp hạng cao nhất bởi công cụ tính toán dựa trên DDA và mối tương quan giữa các giá trị AEL của thuốc được xếp hạng cao nhất với các quyết định nhắm mục tiêu của MTB cung cấp bằng chứng rằng DDA có thể là một giải pháp đầy hứa hẹn để đưa ung thư học chính xác dựa trên hồ sơ phân tử phức tạp vào chăm sóc thường quy cho các bệnh ung thư nhi khoa.





• **Hình 4:** Phân tích lại kết quả dựa trên WES bằng DDA và MTB dựa trên các tập hợp gen khác nhau (n=88). (a) Tỷ lệ điều trị được và (b) Tỷ lệ kháng thuốc theo các bộ gen được bao gồm trong các bảng được chọn. (c) Đột biến điều khiển có liên quan nhất được bao phủ bởi các bảng so với phân tích WES-995 gen (100%). (d) Sự đồng thuận quyết định của MTB theo các bảng so với phân tích WES-995 gen (100%). Quyết định của MTB được thay đổi khi bảng gen không bao phủ đột biến điều khiển mà quyết định ban đầu của MTB dựa vào. Các khuyến nghị liệu pháp tiêu chuẩn (n=39) không bị ảnh hưởng bởi việc giám kích thước mẫu. Thanh màu cam—các kết quả xét nghiệm bổ sung được xem xét (IHC, MSI, FISH); thanh màu xanh dương—chỉ kết quả NGS. Tên của các bảng với danh sách gen được bao gồm trong bảng bổ sung 1. WES: giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa, DDA: chỉ định thuốc ứng dụng AI, MTB: hội đồng khối u phân tử, BGI: Viên Genomics Bắc Kinh, AIO: bảng INVIEW Oncopanel All-in-one của GATC trước đây, tên hiện tại là INVIEW Oncoprofling (591 gen), MI CGP+Molecular Intelligence Comprehensive Genomic Profiling PLUS, NovoPM: Novogene Precision Medicine, TSO: TruSight Oncology, MSK-IMPACT: Phân tích Phân tử Tích hợp dành cho các Mục tiêu Ung thư có thể điều trị của Memorial Sloan Kettering, HAEM: bảng làm giàu Hemato-oncology, FMI: FoundationOne, PrIME: Precision Individualized Medicine, CDx: chẩn đoán đồng hành, CSTP: Comprehensive Solid Tumor Panel, HemeSTAMP: Bảng Đột biến Hành động Khối u Stanford cho Các Bệnh Tân Sinh Huyết học và Bạch cầu

Đáng chú ý, chương trình của chúng tôi đã ảnh hưởng đến quá trình ra quyết định lâm sàng trong hơn một nửa số trường hợp. Cũng cần lưu ý rằng việc tích hợp DDA như một hệ thống hỗ trợ quyết định điều trị cá nhân hóa cho các bệnh nhi mắc ung thư không làm chậm quá trình điều trị ung thư phù hợp.

Chuẩn hóa là một nhu cầu phổ quát trong ung thư học chính xác<sup>53</sup>. Đáng chú ý, các MTB thường có tỉ lệ thống nhất thấp, từ 40%–63%, khi sử dụng cùng một bộ dữ liệu đầu vào<sup>44,45,54</sup>. Việc sử dụng DDA có thể khắc phục sự không thống nhất này và đẩy nhanh quá trình chuẩn hóa việc phiên giải các biến thể và hỗ trợ ra quyết định. Ngoài ra, DDA cũng cho phép có kết quả nhất quán khi diễn giải hoặc phân tích theo các tiêu chí khác nhau. Chúng tôi thấy rằng việc thu hẹp phạm vi để xác định các mục tiêu có tính khả dụng với bằng chứng lâm sàng đã ước tính thấp tiềm năng hữu ích của phân tích bảng gen toàn diện. Các dữ liệu được trình bày cho thấy các đột biến gen ngoài các hạng mục ESCAT II/III cũng có thể có ảnh hưởng đáng kể đến việc lựa chọn liệu pháp bởi MTB nếu mức độ bằng chứng tổng hợp hỗ trợ việc sử dụng một liệu pháp nhắm mục tiêu phân tử. Đây là một nghiên cứu tiên phong cho thấy rằng phần lớn các đột biến được phát hiện sẽ không được bao phủ bởi các xét nghiệm phân tử nhắm mục tiêu bảng nhỏ (bảng 50–100 gen) hiện như một phần của chăm sóc lâm sàng thường quy và sự thiếu thông tin này có thể ảnh hưởng đến việc lựa chọn liệu pháp nhắm mục tiêu. Hơn nữa, ngay cả các bảng điều khiển lớn hơn, từ 400–800 gen, cũng không phát hiện được đột biến gen điều khiển có mức độ bằng chứng cao nhất trong khoảng 10% bệnh nhân. Tất nhiên, phương pháp phân tích ảo có những hạn chế. Chúng tôi đã bỏ qua (1) các đột biến của các gen bổ sung tiềm năng có trong các bảng gen điều khiển nhưng không nằm trong danh sách giải thích WES 995 gen của chúng tôi, và (2) các CNV và chuyển vị trong bảng điều khiển không được phân tích trong nghiên cứu này, điều này làm tăng khả năng rằng giải trình tự bảng gen điều khiển có thể đã xác định các đột biến bổ sung. Mặt khác, chúng tôi không xét đến những hạn chế của bảng gen điểm nóng (hotspot) trong việc phát hiện các đột biến hiếm gặp nằm ngoài vùng hotspot. Với tốc độ ngày càng tăng của các

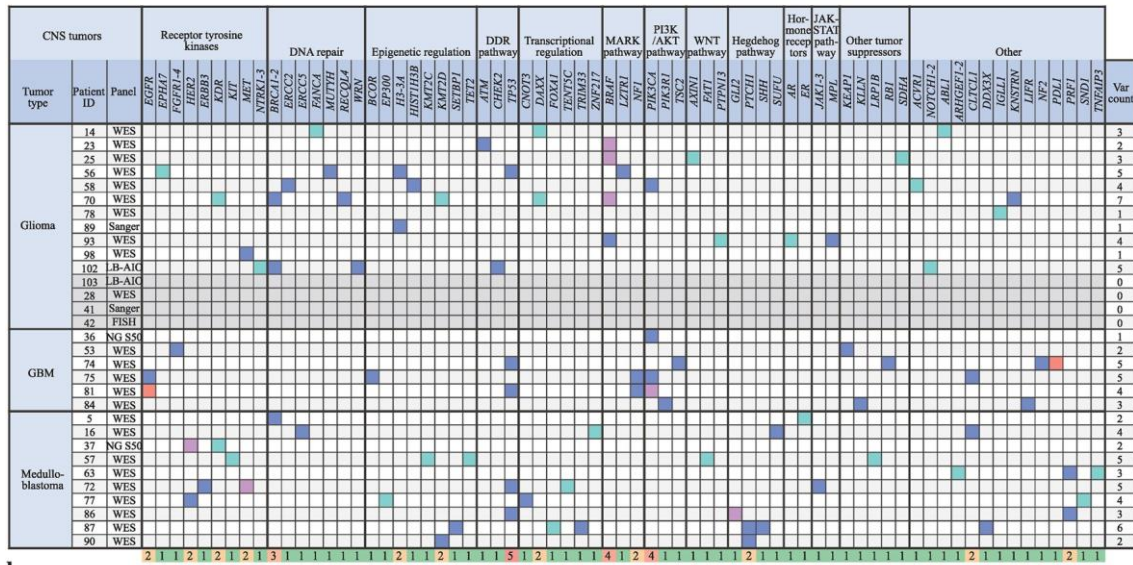
phát hiện khoa học mới, sự cải thiện và giảm thời gian của phân tích WES và sự phát triển của các hệ thống DDA, WES/WGS được kỳ vọng sẽ tiếp tục vượt xa giải trình tự bảng gen điều khiển về hiệu suất và lợi ích lâm sàng. Hơn nữa, cần có sự thiết lập hợp lý để sử dụng phân tích toàn diện nhất với yêu cầu tối thiểu về mô để tránh làm cạn kiệt mô thông qua các xét nghiệm định hướng<sup>55</sup>. Việc sử dụng các công cụ tính toán sẽ là bước hợp lý tiếp theo để giúp lựa chọn liệu pháp nhắm mục tiêu theo cách chuẩn hóa dựa trên thông tin di truyền phức tạp. Các lợi ích bổ sung bao gồm khả năng so sánh kết quả từ các viện khác nhau và xác định các loại thuốc cần được ưu tiên cho phát triển thuốc và thử nghiệm lâm sàng. Tổng hợp lại, nhất quán với kết quả từ các nghiên cứu khác<sup>20,56,57</sup>, kết quả của chúng tôi ủng hộ sự cần thiết của việc xét nghiệm phân tử toàn diện trong lĩnh vực ung thư bệnh ác tính nhi khoa.

Như với bất kỳ phân tích nào, nghiên cứu của chúng tôi cũng có những hạn chế. Thứ nhất, dữ liệu đến từ 100 bệnh nhân từ một quốc gia duy nhất, điều này có thể hạn chế việc ngoại suy kết quả. Tuy nhiên, số lượng ca bệnh không khác biệt nhiều so với trung vị số bệnh nhân (111) của các nghiên cứu được liệt kê trong Bảng 1. Thứ hai, việc thu thập thông tin về việc thực hiện liệu pháp thực tế và kết quả không phải là một phần của nghiên cứu. Các hạn chế trong việc thực hiện liệu pháp có thể ảnh hưởng đến số lượng bệnh nhân được hưởng lợi từ quyết định điều trị được xác định. Mặc dù phân tích kết quả điều trị quả không phải là một phần của nghiên cứu, đáng chú ý là nhiều bệnh nhân không đến được giai đoạn sử dụng liệu pháp nhắm mục tiêu. Một lý do cho điều này là nhiều bệnh nhân đã được điều trị nhiều lần và có các tổn thương di căn rộng; điều tương tự cũng được báo cáo trong các nghiên cứu khác<sup>20,24,34,58</sup>, kết quả của chúng tôi đề xuất việc xét nghiệm chẩn đoán phân tử cần được thực hiện sớm trong quá trình tiến triển của bệnh. Một lý do khác là hạn chế trong việc tiếp cận các liệu pháp chưa được phê duyệt. Vì vậy các nghiên cứu lâm sàng trong tương lai đánh giá hiệu quả lâm sàng của các liệu pháp được DDA khuyến nghị trong ung thư nhi khoa là cần thiết để thực hiện.

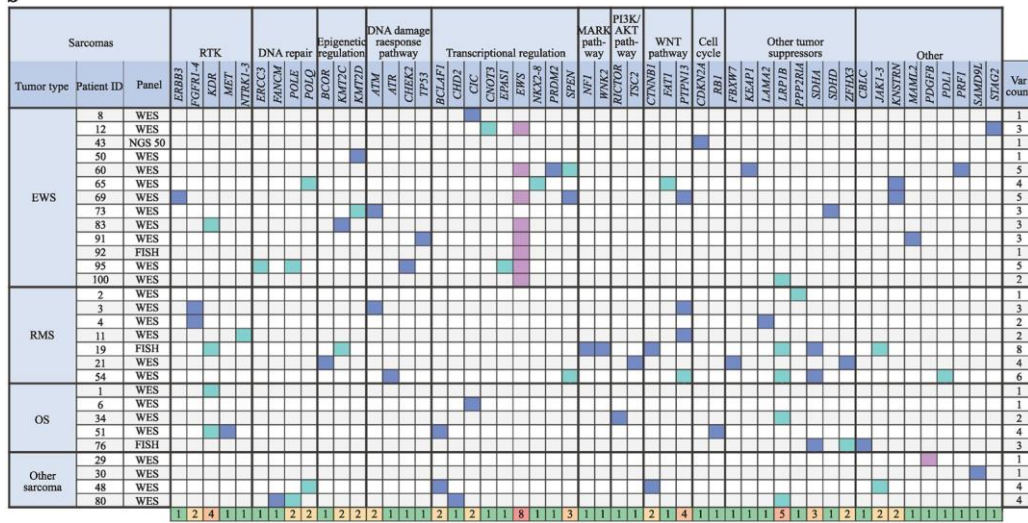
Kết luận, chúng tôi chứng minh giá trị hỗ trợ quyết định dựa trên DDA như một đầu vào thực tiễn cho các MTB làm cơ sở cho phép phân tầng liệu pháp thông tin và cải thiện chẩn đoán cho trẻ em mắc ung thư. Nghiên cứu đã chỉ ra những đích có thể điều trị và một tỉ lệ cao các liệu pháp được xếp hạng cao nhất đã được MTB đồng ý. Quan trọng hơn, điểm số AEL cao có tương quan với các quyết định của MTB về việc sử dụng liệu pháp nhắm mục tiêu phù hợp, điều này nhấn mạnh tính hữu ích của hệ thống hỗ trợ chỉ định thuốc ứng dụng AI. Phân tích rà soát dữ liệu cho thấy có sự tương đồng và khác biệt với phân tầng ESCAT và những thiếu sót trong phạm vi giải trình tự bảng nhỏ các gen điều khiển. Tóm lại, chúng tôi chứng minh được giá trị thực tiễn của giải pháp tính toán dựa trên DDA với kết quả xét nghiệm lập hồ sơ phân tử phức tạp một cách có cấu trúc và chuẩn hóa, nhằm hỗ trợ quyết định lựa chọn liệu pháp điều trị cá nhân hóa vào chăm sóc ung thư nhi khoa.



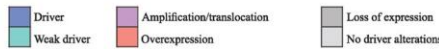
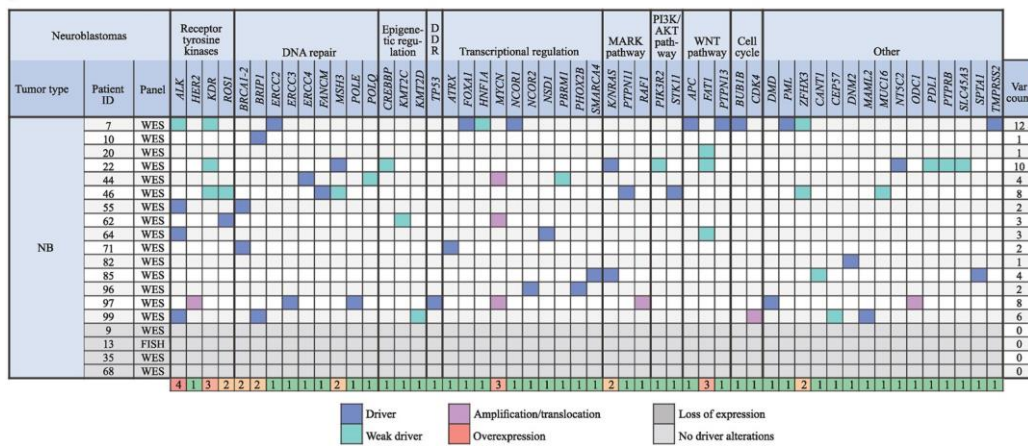
**a**



**b**



**c**





• **Hình 5:** Các đột biến điều khiển có liên quan lâm sàng được xác định theo loại khối u. Các gen bị thay đổi và các đường dẫn của chúng trong (a) khối u hệ thần kinh trung ương (CNS), (b) sarcoma, và (c) neuroblastoma (NB). Các loại đột biến khác nhau được mã hóa màu. Hàng cuối cùng của mỗi bảng cho thấy số lượng đột biến gen trong quần thể được nghiên cứu, được tô màu theo thang nhiệt. WES: giải trình tự toàn bộ hệ gen mã hóa, NGS: giải trình tự thế mới, NGS-600: giải trình tự thế mới bảng 600 gen, NGS-50: giải trình tự thế mới bảng 50 gen, LB-600: giải trình tự thế mới bảng 600 gen bắt đầu từ sinh thiết lỏng, FISH: lai tại chỗ phát huỳnh quang, GBM: u nguyên bào thần kinh đệm, RTK: thụ thể tyrosine kinase, DDR: phản ứng tổn thương ADN, EWS: Ewing sarcoma, OS: ung thư xương, NB: neuroblastoma, RMS: rhabdomyosarcoma, var: biến thể, MAPK: protein kinase được kích hoạt bởi mitogen, PI3K: phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase, JAK: Janus kinase, STAT: chất truyền tín hiệu và hoạt hóa phiên mã

**Thông tin bổ sung:** Phiên bản trực tuyến chứa tài liệu bổ sung có sẵn tại <https://doi.org/10.1007/s12519-023-00700-2>.

**Lời cảm ơn:** Chúng tôi rất biết ơn tất cả các bệnh nhân và gia đình của họ vì đã đóng góp cho nghiên cứu này.

**Đóng góp của tác giả:** IP: ý tưởng, phần mềm, viết bản thảo gốc, giám sát. BV: quản lý dữ liệu, phân tích chính thức, viết bản thảo gốc. CK, IS, KB, KMG, RS, PH, GP và EV: điều tra. BV, DT, EK, RD, DL, AD, MV, EV, RSZ-D: phân tích chính thức. JD, MG: điều tra, phân tích chính thức, tài nguyên. PF: phần mềm. Bản thảo đã được tất cả các tác giả xem xét kỹ lưỡng để đảm bảo nội dung khoa học quan trọng và phiên bản cuối cùng đã được tất cả các tác giả tán thành. MG và IP chia sẻ vai trò tác giả chính.

**Tài trợ:** Cung cấp quyền truy cập mở bởi Đại học Semmelweis. Cơ quan Đối mới Hungary dưới các dự án NVKP\_16-1-2016-0005, KFI\_16-1-2016-0048, NKFIH K\_22 143021 và 2019-1.1.1-PIACI-KFI-2019-00367, K\_143021.

**Khả năng truy cập dữ liệu:** Tất cả dữ liệu được tạo ra hoặc phân tích trong nghiên cứu này đều được bao gồm trong bài báo đã xuất bản này (và các tệp thông tin bổ sung của nó) dưới dạng được ẩn danh

## TUYÊN BỐ

**Xung đột lợi ích:** IP là nhân viên và cổ đông của Oncompass Medicine Inc. và Genomate Health Inc. BV, JD, DT, EK, RD, DL, AD, MV, EV, PF, RSZ-D là nhân viên của Oncompass Medicine Inc. Tất cả các tác giả khác tuyên bố không có xung đột lợi ích.

**Phê duyệt đạo đức:** Những người tham gia hoặc cha mẹ hoặc người giám hộ hợp pháp của họ đã ký phiếu chấp thuận tham gia nghiên cứu sau khi các rủi ro và lợi ích đã được giải thích. Giấy chấp thuận còn mô tả mục đích của nghiên cứu, giới hạn của các xét nghiệm và sự hiểu biết và chấp thuận về việc lưu trữ, phân tích và quản lý dữ liệu. Phê duyệt đạo đức đã được thực hiện bởi Viện Dược phẩm và Dinh dưỡng Quốc gia (OGYÉI/50268/2017) trước khi tiến hành nghiên cứu.

**Truy cập mở:** Bài viết này được cấp phép theo giấy phép Creative Commons Attribution 4.0 International, cho phép sử dụng, chia sẻ, điều chỉnh, phân phối và sao chép dưới bất kỳ hình thức hoặc định dạng nào, miễn là bạn ghi rõ nguồn gốc một cách phù hợp cho tác giả gốc và nguồn, cung cấp liên kết đến giấy phép Creative Commons, và chỉ ra nếu có sự thay đổi nào. Hình ảnh hoặc tài liệu của bên thứ ba khác trong bài viết này đều nằm trong giấy phép Creative Commons của bài viết, trừ khi được chỉ

định khác trong dòng ghi nguồn gốc tài liệu. Nếu tài liệu không được đề cập trong giấy phép Creative Commons của bài viết và dự định sử dụng của bạn không được quy định bởi quy định pháp luật hoặc vượt quá việc sử dụng được phép, bạn sẽ cần phải xin phép trực tiếp từ chủ sở hữu bản quyền. Để xem một bản sao của giấy phép này, vui lòng truy cập <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Campbell PJ, Getz G, Korbel JO, Stuart JM, Jennings JL, Stein LD, et al. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature*. 2020; 578:82–93.
- Sicklick JK, Kato S, Okamura R, Schwaederle M, Hahn ME, Williams CB, et al. Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat Med*. 2019; 25:744–50.
- Rodon J, Soria JC, Berger R, Miller WH, Rubin E, Kugel A, et al. Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial. *Nat Med*. 2019; 25:751–8.
- Massard C, Michiels S, Ferté C, Le Deley MC, Lacroix L, Hollebecque A, et al. High-throughput genomics and clinical outcome in hard-to-treat advanced cancers: results of the MOSCATO 01 trial. *Cancer Discov*. 2017; 7:586–95.
- André F, Gonçalves AFT. Clinical utility of molecular tumor profiling: results from the randomized trial SAFIR02-BREAST. *Cancer Res*. 2022; 82:GS1–10.
- Yuan M, Huang LL, Chen JH, Wu J, Xu Q. The emerging treatment landscape of targeted therapy in non-small-cell lung cancer. *Signal Transduct Target Ther*. 2019; 4:61.
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A, Jemal A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J Clin*. 2018; 68:7–30.
- London WB, Castel V, Monclair T, Ambros PF, Pearson AD, Cohn SL, et al. Clinical and biologic features predictive of survival after relapse of neuroblastoma: a report from the international neuroblastoma risk group project. *J Clin Oncol*. 2011; 29:3286–92.
- London WB, Bagatell R, Weigel BJ, Fox E, Guo D, Van Ryn C, et al. Historical time to disease progression and progression-free survival in patients with recurrent/refractory neuroblastoma treated in the modern era on children's oncology group early-phase trials. *Cancer*. 2017; 123:4914–23.
- Jones DTW, Banito A, Grünwald TGP, Haber M, Jäger N, Kool M, et al. Molecular characteristics and therapeutic vulnerabilities across paediatric solid tumours. *Nat Rev Cancer*. 2019; 19:420–38.
- Langenberg KPS, Looze EJ, Molenaar JJ. The landscape of pediatric precision oncology: program design, actionable alterations, and clinical trial development. *Cancers (Basel)*. 2021; 13:4324.
- Oberg JA, Glade Bender JL, Sulis ML, Pendrick D, Sireci AN, Hsiao SJ, et al. Implementation of next generation sequencing into pediatric hematology-oncology practice: moving beyond actionable alterations. *Genom Med*. 2016; 8:133.
- George SL, Izquierdo E, Campbell J, Koutroumanidou E, Proszek P, Jamal S, et al. A tailored molecular profiling programme for children with cancer to identify clinically actionable genetic alterations. *Eur J Cancer*. 2019; 121:224–35.
- Lee JW, Kim NKD, Lee SH, Cho HW, Ma Y, Ju HY, et al. Discovery of actionable genetic alterations with targeted panel sequencing in children with relapsed or refractory solid tumors. *PLoS ONE*. 2019; 14: e0224227.
- Wong M, Mayoh C, Lau LMS, Khuong-Quang DA, Pinese M, Kumar A, et al. Whole genome, transcriptome and methylome profiling enhances actionable target discovery in high-risk pediatric cancer. *Nat Med*. 2020; 26:1742–53.

16. Khater F, Vairy S, Langlois S, Dumoucel S, Sontag T, St-Onge P, et al. Molecular profiling of hard-to-treat childhood and adolescent cancers. *JAMA Netw Open*. 2019; 2: e192906.
17. Marks LJ, Oberg JA, Pendrick D, Sireci AN, Glasser C, Coval C, et al. Precision medicine in children and young adults with hematologic malignancies and blood disorders: The Columbia university experience. *Front Pediatr*. 2017; 5:12.
18. Chang W, Brohl AS, Patidar R, Sindiri S, Shern JF, Wei JS, et al. Multidimensional clinomics for precision therapy of children and adolescent young adults with relapsed and refractory cancer: a report from the center for cancer research. *Clin Cancer Res*. 2016; 22: 381020.
19. Berlanga P, Pierron G, Lacroix L, Chicard M, de Beaumais TA, Marchais A, et al. The European MAPPYACTS trial: precision medicine program in pediatric and adolescent patients with recurrent malignancies. *Cancer Discov*. 2022; 12:1266–81.
21. Van Tilburg CM, Pfaf E, Pajtler KW, Langenberg KPS, Fiesel P, Jones BC, et al. The pediatric precision oncology INFORM registry: clinical outcome and benefit for patients with very high-evidence targets. *Cancer Discov*. 2021;11: 2764–79.
22. Parsons DW, Janeway KA, Patton DR, Winter CL, Cofey B, Williams PM, et al. Actionable tumor alterations and treatment protocol enrollment of pediatric and young adult patients with refractory cancers in the national cancer institute-children's oncology group pediatric MATCH trial. *J Clin Oncol*. 2022; 40:2224–34.
23. Newman S, Nakitandwe J, Kesserwan CA, Azzato EM, Wheeler DA, Rusch M, et al. Genomes for kids: the scope of pathogenic mutations in pediatric cancer revealed by comprehensive DNA and RNA sequencing. *Cancer Discov*. 2021; 11:3008–27.
24. Langenberg K, Dolman E, Molenaar J. Abstract A40: integration of high-throughput drug screening on patient-derived organoids into pediatric precision medicine programs: the future is now! *Cancer Res*. 2021; 80:A4.
25. Pincez T, Clément N, Lapouble E, Jemal A. Feasibility and clinical integration of molecular profiling for target identification in pediatric solid tumors. *Pediatr Blood Cancer*. 2017; 64:1–9.
26. Church AJ, Corson LB, Kao PC, Imamovic-Tuco A, Reidy D, et al. Molecular profiling identifies targeted therapy opportunities in pediatric solid cancer. *Nat Med*. 2022; 28:1581–9.
27. Summers RJ, Castellino SM, Porter CC, MacDonald TJ, Basu GD, Szelinger S, et al. Comprehensive genomic profiling of high-risk pediatric cancer patients has a measurable impact on clinical care. *JCO Precis Oncol*. 2022; 6: e2100451.
28. Grover SA, Abbott L, Berman JN, Chan JA, Denburg AE, Deyell RJ, et al. Abstract 5224: the precision oncology for young people (PROFYLE) program: a national precision oncology program for children, adolescents and young adults with hard-to-cure cancer in Canada. *Cancer Res*. 2022; 82:5224.
29. Parsons DW, Roy A, Yang Y, Wang T, Scollon S, Bergstrom K, et al. Diagnostic yield of clinical tumor and germline wholeexome sequencing for children with solid tumors. *JAMA Oncol*. 2016; 2: 616–24.
30. Mody RJ, Wu YM, Lonigro RJ, Cao X, Roychowdhury S, Vats P, et al. Integrative clinical sequencing in the management of refractory or relapsed cancer in youth. *JAMA*. 2015; 314:913–25.
31. Harris MH, DuBois SG, Bender JLG, Kim A, Crompton BD, Parker E, et al. Multicenter feasibility study of tumor molecular profiling to inform therapeutic decisions in advanced pediatric solid tumors. *JAMA Oncol*. 2016; 2:608–15.
32. Harttrampf AC, Lacroix L, Deloger M, Deschamps F, Puget S, Auger N, et al. Molecular screening for cancer treatment optimization (MOSCATO-01) in pediatric patients: a single-institutional prospective molecular stratification trial. *Clin Cancer Res*. 2017; 23: 6101–12.
33. Gargallo P, de Mora JF, Berlanga P, Calabria I, Llavador M, Pedrola L, et al. Precision medicine in relapsed or refractory pediatric solid tumors: a collaborative Spanish initiative. *Transl Med Commun*. 2019;4:1–11.
34. Hawryluk MJ, Wang K, Chmielecki J, et al. Clinical application of comprehensive next-generation sequencing-based genomic profiling for identification of actionable genomic alterations in pediatric solid tumors and hematolymphoid malignancies: the foundation medicine pediatric experience. *J Clin Oncol*. 2014; 32:10035.
35. Barsan V, Paul M, Gorski H, Malicki D, Elster J, Kuo D, et al. Clinical impact of next-generation sequencing in pediatric neurooncology patients: a single-institutional experience. *Cureus*. 2019; 11: e6281.
36. Vaske OM, Bjork I, Salama SR, Beale H, Tayi Shah A, Sanders L, et al. Comparative tumor RNA sequencing analysis for difficult-to-treat pediatric and young adult patients with cancer. *JAMA Netw Open*. 2019; 2: e1913968.
37. Weidenbusch B, Richter GHS, Kesper MS, Guggemoos M, Gall K, Prexler C, et al. Transcriptome based individualized therapy of refractory pediatric sarcomas: feasibility, tolerability and efficacy. *Oncotarget*. 2018; 9:20747–60.
38. Desai AV, Robinson GW, Basu EM, et al. Updated entrectinib data in children and adolescents with recurrent or refractory solid tumors, including primary CNS tumors. *J Clin Oncol*. 2020; 38:107.
39. Laetsch TW, DuBois SG, Mascarenhas L, Turpin B, Federman N, Albert CM, et al. Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol*. 2018; 19:705–14.
40. Hargrave DR, Bouffet E, Tabori U, Broniscer A, Cohen KJ, Hansford JR, et al. Efficacy and safety of dabrafenib in pediatric patients with BRAF V600 mutation-positive relapsed or refractory low-grade glioma: results from a phase I/IIa study. *Clin Cancer Res*. 2019; 25:7303–11.
41. Ortiz MV, Gerdemann U, Raju SG, Henry D, Smith S, Rothenberg SM, et al. Activity of the highly specific RET inhibitor selpercatinib (LOXO-292) in pediatric patients with tumors harboring RET gene alterations. *JCO Precis Oncol*. 2020; 4:PO.19.00401.
42. Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N, et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO scale for clinical actionability of molecular targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018; 29:1895–902.
43. Moreira A, Masliah-Planchon J, Callens C, Vacher S, Lecerf C, Frelaut M, et al. Efficacy of molecularly targeted agents given in the randomised trial SHIVA01 according to the ESMO scale for clinical actionability of molecular targets. *Eur J Cancer*. 2019; 121:202–9.
44. Verdager H, Sauri T, Acosta DA, Guardiola M, Sierra A, Hernando J, et al. ESMO Scale for clinical actionability of molecular targets driving targeted treatment in patients with cholangiocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2022; 28:1662–71.
45. Rieke DT, Lamping M, Schuh M, Le TC, Basté N, Burkard ME, et al. Comparison of treatment recommendations by molecular tumor boards worldwide. *JCO Precis Oncol*. 2018; 2:1–14.
46. Rieke DT, de Bortoli T, Horak P, Lamping M, Benary M, Jelas I, et al. Comparison of the clinical interpretation of high-dimensional molecular data by two molecular tumor boards. *BMC Med*. 2022; 20:367.
47. Petak I, Kamal M, Dirner A, Bieche I, Doczi R, Mariani O, et al. A computational method for prioritizing targeted therapies in precision oncology: performance analysis in the SHIVA01 trial. *npj Precis Oncol*. 2021; 5:59.
48. Oncompass Medicine. Precision oncology program. Available: <https://oncompassmedicine.com/about-the-process>. Accessed 23 Jan 2023
49. van der Velden DL, van Herpen CML, van Laarhoven HWM, Smit EF, Groen HJM, Willems SM, Nederlof PM, et al. Molecular tumor boards: current practice and future needs. *Ann Oncol*. 2017; 28:3070–5.

49. Luchini C, Lawlor RT, Milella M, Scarpa A. Molecular tumor boards in clinical practice. *Trends Cancer*. 2020; 6:738–44.
50. El Saghir NS, Keating NL, Carlson RW, Khoury KE, Fallowfield L. Tumor boards: optimizing the structure and improving efficiency of multidisciplinary management of patients with cancer worldwide. *Am Soc Clin Oncol Educ B*. 2014; 34: e461–6.
51. Rolfo C, Manca P, Salgado R, Van Dam P, Dendooven A, Ferri Gandia J, et al. Multidisciplinary molecular tumour board: a tool to improve clinical practice and selection accrual for clinical trials in patients with cancer. *ESMO Open*. 2018; 3: e000398.
52. Bocciardi R, Bordo D, Di Duca M, Di Rocco M, Ravazzolo R. Mutational analysis of the ACVR1 gene in Italian patients affected with fibrodysplasia ossificans progressiva: confirmations and advancements. *Eur J Hum Genet*. 2009; 17:311.
53. Klement GL, Arkun K, Valik D, Rofdal T, Hashemi A, Klement C, et al. Future paradigms for precision oncology. *Oncotarget*. 2016; 7:46813.
54. Naito Y, Sunami K, Kage H, Komine K, Amano T, Imai M, et al. Concordance Between recommendations from multidisciplinary molecular tumor boards and central consensus for cancer treatment in Japan. *JAMA Netw Open*. 2022; 5: e2245081.
55. Beer PA, Cooke SL, Chang DK, Biankin AV. Reasons to be testing: the dawn of complex molecular profiling in routine oncology practice. *Ann Oncol of J Eur Soc Med Oncol*. 2019; 30:1691–4.
56. Palau F. Pediatric genomics and precision medicine in childhood. In: Joel Faintuch, Salomao Faintuch, editors. *Precis Med Investig Pract Provid*. 2020. Academic Press; 2020. p. 143–52.
57. Schütte M, Ogilvie LA, Rieke DT, Lange BMH, Yaspo ML, Lehrach H. Cancer precision medicine: why more is more and DNA is not enough. *Public Health Genom*. 2017; 20:70–80.
58. Gutiérrez-Jimeno M, Alba-Pavón P, Astigarraga I, Imízcoz T, Panizo-Morgado E, García-Obregón S, et al. Clinical value of NGS genomic studies for clinical management of pediatric and young adult bone sarcomas. *Cancers (Basel)*. 2021; 13:5436.

**Lưu ý của Nhà xuất bản:** Springer Nature giữ thái độ trung lập đối với các tuyên bố về quyền tài phán trong các bản đồ được xuất bản và các liên kết tổ chức.

Tác giả liên hệ (tiếp theo trang đầu):

✉ István Peták: [istvan.petak.dr@gmail.com](mailto:istvan.petak.dr@gmail.com)

<sup>1</sup> Oncompass Medicine Hungary Kft, Số 34 Đường Retek, 1024 Budapest, Hungary

<sup>2</sup> Phòng Ung thư - Huyết học Nhi khoa, Khoa Nhi, Trường Y, Đại học Debrecen, Debrecen, Hungary

<sup>3</sup> Khoa Nhi, Trường Y Albert Szent-Györgyi, Đại học Szeged, Szeged, Hungary

<sup>4</sup> Khoa Huyết học-Ung thư, Trung tâm Sức khỏe Trẻ em Velkey László, Miskolc, Hungary

<sup>5</sup> Khoa Nhi, Đại học Semmelweis, Budapest, Hungary

<sup>6</sup> Khoa Huyết học-Ung thư, Bệnh viện Nhi Heim Pál, Budapest, Hungary

<sup>7</sup> Khoa Dược điều trị và Dược lý, Đại học Semmelweis, Budapest, Hungary

<sup>8</sup> Khoa Khoa học Dược phẩm, Đại học Illinois tại Chicago, Chicago, Hoa Kỳ