

## А. Клинические исследования

© Коллектив авторов, 2021  
УДК 618.19  
DOI 10.37469/0507-3758-2021-67-5-646-657

Вопросы онкологии, 2021. Том 67, № 5

А.Г. Иевлева<sup>1,2</sup>, М.М. Крамчанинов<sup>3</sup>, С.Н. Алексахина<sup>1</sup>, Т.Н. Соколова<sup>1</sup>, Т.И. Соловьева<sup>1</sup>,  
А.В. Косьмин<sup>1</sup>, В.Н. Дмитриев<sup>4,5</sup>, В.В. Петкау<sup>6,7</sup>, В.М. Моисеенко<sup>3</sup>, Е.Н. Имянитов<sup>1,2,8</sup>

### Предиктивная роль амплификаций генов *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA* при гормонотерапии первично-метастатического рака молочной железы

<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России

<sup>3</sup> ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»

<sup>4</sup> ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

<sup>5</sup> ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер»

<sup>6</sup> ГАУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер», г. Екатеринбург

<sup>7</sup> Центр лекарственной терапии, г. Екатеринбург

<sup>8</sup> ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург

**Актуальность.** Более половины карцином молочной железы экспрессируют рецепторы эстрогенов (ER) и прогестерона (PR) и сохраняют зависимость от эстрогенов. Эндокринная терапия ингибиторами эстрогенового каскада позволяет длительно и эффективно контролировать заболевание у значительного числа пациенток, однако у части больных наблюдается первичная, и у большинства — вторичная резистентность к подобному лечению.

Целью работы являлось изучение факторов, ассоциированных с резистентностью к эндокринной терапии рака молочной железы (РМЖ). Конкретными задачами стал анализ предиктивной значимости амплификаций генов *CCND1*, *FGFR1* и мутаций в гене *PIK3CA*.

**Материалы и методы.** В исследование вошли 133 женщины с ER-позитивным первично-метастатическим РМЖ, которые получали эндокринную терапию ингибиторами ароматазы (ИА) (n=69) или тамоксифеном (n=64) в качестве первой линии. Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* были протестированы при помощи цифровой капельной ПЦР. Мутации в 7, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* определялись при помощи высокоточного анализа кривых плавления ПЦР-продукта с последующим секвенированием, а также аллель-специфической ПЦР. Было проанализировано влияние изучаемых генетических факторов на показатели выживаемости без прогрессирования (ВБП) и клинический ответ на терапию.

**Результаты.** Амплификации *CCND1* и *FGFR1* были обнаружены в 24 (18,6%) и 28 (21,7%) из 129 успешно проанализированных случаев соответственно; в 9 карциномах наблюдалась коамплификация двух генов. Амплификации по крайней мере в одном из двух локусов чаще детектировались в менее дифференцированных опухолях (p=0,030). Амплификация гена *CCND1* ассоциировалась с меньшей выживаемостью без прогрессирования у пациентов, получавших ингибиторы ароматазы (16,0 мес против 32,4 мес, относительные риски=3,16 [95% доверительный интервал: 1,26–7,93], p=0,014). Статус гена *FGFR1* не оказывал значительного влияния на ВБП у женщин, получавших ИА, однако в РМЖ с амплификацией *FGFR1* использование ингибиторов ароматазы реже приводило к частичному регрессу опухоли (13,3%), чем в опухолях без амплификации (47,8%, p=0,031).

Частота мутаций в гене *PIK3CA* составила 39,3% (46/117). Они чаще наблюдались в опухолях меньших размеров (p=0,029), в PR-позитивных карциномах (p=0,013), и в случаях с более обширным метастатическим поражением (p=0,039). Наличие мутаций *PIK3CA* не влияло на результаты лечения ИА или тамоксифеном.

**Заключение.** Присутствие амплификаций *CCND1* и, вероятно, *FGFR1* сопряжено с худшими результатами лечения ингибиторами ароматазы при метастатическом РМЖ.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, мутация, амплификация, тамоксифен, ингибиторы ароматазы, резистентность к лечению

## Введение

Примерно 60–70% карцином молочной железы позитивны в отношении экспрессии рецепторов эстрогенов и нуждаются в постоянной эстрогенной стимуляции. Стандартом в лечении эстроген-зависимых опухолей является эндокринная терапия, однако у части пациентов наблюдается первичная, и у большинства — вторичная резистентность к применяемым препаратам. Единственными доступными маркерами чувствительности к эндокринной терапии пока остаются экспрессия рецепторов эстрогенов (ER), рецепторов прогестерона (PR) и онкогена HER2. Наличие дополнительных предиктивных факторов позволило бы более эффективно планировать терапию ER-позитивного рака молочной железы (РМЖ).

Вклад генов *CCND1* и *FGFR1* в развитие РМЖ уже давно является объектом активного изучения, однако достаточной ясности относительно их предиктивного и прогностического значения пока нет. Ген *CCND1* кодирует фермент циклин D1, один из ключевых регуляторов клеточного цикла. Помимо регуляции клеточного деления, онкогенный эффект *CCND1* при РМЖ может реализовываться при помощи других механизмов: например, циклин D1 способен связываться с эстрогеновыми рецепторами и стимулировать ER-зависимую транскрипцию в отсутствие эстрогенов [1]. Также было показано участие циклина D1 непосредственно в регуляции транскрипции и процессов репарации ДНК [2, 3].

Высокая экспрессия *CCND1* встречается примерно в половине РМЖ, преимущественно в ER-позитивных опухолях, а частота амплификации гена при этом составляет 5–20% [4–6]. Многими исследователями было обнаружено негативное влияние как амплификации, так и гиперэкспрессии *CCND1* на прогноз заболевания [7–12] и на результаты терапии тамоксифеном [7, 13–16]. В ряде работ, включая крупное исследование более чем 1000 пациентов [5], гиперэкспрессия *CCND1*, напротив, ассоциировалась с лучшим прогнозом [5, 8]. Данные противоречия могут быть обусловлены отличиями в критериях отбора больных (например, включение всех случаев РМЖ или только ER-позитивных, анализ пре- или постменопаузальных случаев, пациентов, ранее получавших и не получавших терапию, и др.), а также разными методами определения статуса *CCND1* (учет амплификации, экспрессии гена или обоих параметров).

Ген *FGFR1*, кодирующий рецептор фактора роста фибробластов, амплифицирован примерно в 10–15% ER-позитивных РМЖ [17–20]. Связывание *FGFR1* с лигандом запускает серию за-

действованных в канцерогенезе сигнальных путей (PI3K/AKT, RAS/RAF/MEK/ERK). Как было продемонстрировано, *FGFR1* также способен ассоциироваться с рецепторами эстрогенов и влиять на ER-зависимую транскрипционную активность [21]. Высокая экспрессия и амплификация *FGFR1* коррелируют с неблагоприятным течением заболевания [19, 22, 23], и, предположительно, с резистентностью к гормонотерапии [18, 21]. Лocus, содержащие гены *CCND1* (11q13) и *FGFR1* (8p12), часто коамплифицированы [24].

Мутации в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую субъединицу киназы PI3K, присутствуют примерно в трети всех опухолей молочной железы, при этом их частота максимальна ( $\approx 30$ –50%) в ER+/HER2- РМЖ [25]. Прогностический эффект повреждений *PIK3CA*, по-видимому, отличается при ранних и поздних формах заболевания: если в опухолях начальных стадий мутации *PIK3CA* ассоциируются с лучшими показателями выживаемости [26], то при метастатических карциномах они связаны с худшим прогнозом и плохим ответом на химиотерапию [27]. При HER2-позитивном РМЖ наличие мутаций *PIK3CA* негативно влияет на результаты лечения [28]. Детекция соматических нарушений *PIK3CA* приобрела особую актуальность после успешного клинического испытания комбинации гормонотерапии и PI3K-ингибитора алпелисиба при *PIK3CA*-позитивном метастатическом РМЖ [29]. Подавляющее большинство генетических дефектов *PIK3CA* локализуется в 9 (спиральный домен) или 20 (каталитический домен) экзонах гена. Повреждения в разных доменах сопровождаются разными механизмами активации PI3K и ассоциируются с разными клинико-морфологическими свойствами опухолей [30, 31].

Целью исследования стала оценка предиктивной роли амплификаций *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA* в группе первично-метастатических опухолей молочной железы от пациенток, получавших эндокринную терапию в качестве первой линии.

## Материалы и методы

В исследование вошли 133 случая первично-метастатического РМЖ у пациенток, получавших гормонотерапию в качестве первой линии лечения, наблюдавшихся в Санкт-Петербургском клиническом научно-практическом центре специализированных видов медицинской помощи (онкологическом) (n=111) и в Свердловском областном онкологическом диспансере (n=22). Гормонотерапия первой линии состояла из ингибиторов ароматазы (ИА, n=69, включая анастрозол: n=60; летрозол: n=3; экземестан: n=5; анастрозол и летрозол: n=1) или тамоксифена (n=64). ДНК для генетического анализа была выделена из архивных гистологических образцов по опубликованному ранее протоколу [32]. Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* были

протестированы при помощи цифровой капельной ПЦР. Мутации в 7, 9 и 20 экзонах гена *PIK3CA* определялись при помощи высокоточного анализа кривых плавления ПЦР-продукта (High resolution melting analysis, HRMA) с последующим секвенированием, а также аллель-специфической ПЦР. Последовательности праймеров и условия реакций приведены в табл. 1.

Сравнение частот проводилось с помощью критерия хи-квадрат или точного критерия Фишера. U-критерий Манна-Уитни применялся для сравнения непрерывных переменных. Выживаемость без прогрессирования (ВБП), определяемая как время от начала гормональной терапии до прогрессирования заболевания или смерти, анализировалась с помощью метода Каплана-Мейера и логарифмического рангового критерия. Регрессионный анализ пропорциональных рисков Кокса использовался для оценки влияния нескольких переменных на ВБП.

### Результаты

#### Общая характеристика исследуемой группы.

Основные клиничко-морфологические характеристики изучаемой выборки представлены в табл. 2. Первичная резистентность к терапии,

определяемая как прогрессирование в первые 6 мес после начала лечения, была зафиксирована у 15 из 133 (11,3%) больных. Клинический ответ по критериям RECIST 1,1 был оценен у 114 женщин: частичный ответ, стабилизация заболевания и прогрессирование были зарегистрированы в 35 (30,7%), 61 (53,5%) и 18 (15,8%) случаях соответственно. Медиана выживаемости без прогрессирования (ВБП) в анализируемой группе РМЖ достигла 21,4 мес (95% доверительный интервал (ДИ): 18,4–23,1). ВБП была несколько более продолжительной у женщин, получавших ИА, чем у больных, получавших тамоксифен (23,1 мес [95% ДИ: 18,7–35,0 мес] vs. 18,7 мес [95% ДИ: 14,7–22,7 мес]; отношение рисков (ОР)=1,55 [95% ДИ: 0,98–2,45], p=0,060). Более длительный период до прогрессирования также ассоциировался со старшим возрастом (> 70 лет), низкой степенью злокачественности опухоли (G1–2) и высокой экспрессией ER (7–8 баллов) (рис. 1).

Таблица 1. Методы детекции амплификаций *CCND1/FGFR1* и мутаций в гене *PIK3CA*

Исследуемый параметр, метод детекции	Последовательности праймеров и меток	Состав ПЦР-смеси	Условия реакции, оборудование
Амплификация <i>CCND1</i> : цифровая капельная ПЦР	CCND1-F: accaacgtagctgagccca	1 µl ДНК, 10 µl PCR Supermix (Bio-Rad), 1,0 µM каждого праймера CCND1, 0,5 µM метки CCND1, 1,5 µM каждого праймера Alb, 0,5 µM метки Alb в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 57 °C — 60 с, [CFX96 Thermal Cycler; QX100 Droplet Digital PCR system (Bio-Rad)]
	CCND1-R: gaacacgcccctagaaaatgc		
	CCND1 probe: ctcaaaaaaccgtccacagcaga		
	Alb-F: gcattgccgaagtggaaaat		
	Alb-R: gcaaacatccttacttcaaca		
Амплификация <i>FGFR1</i> : цифровая капельная ПЦР	Alb probe: actgcctcattagctgctgat	1 µl ДНК, 10 µl PCR Supermix (Bio-Rad), 1,0 µM каждого праймера и 0,5 µM каждой метки в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 57 °C — 60 с [CFX96 Thermal Cycler; QX100 Droplet Digital PCR system (Bio-Rad)]
	FGFR1-F: aactctatcgactctccca		
	FGFR1-R: caggacatcgagaggagaag		
	FGFR1 probe: ctccagaacggtaaccatgc		
	Alb-F: gcattgccgaagtggaaaat		
Мутации <i>PIK3CA</i> : плавление ПЦР-продукта с высоким разрешением	Alb-R: gcaaacatccttacttcaaca	1 µl ДНК, 0,75 и ДНК-полимеразы hot-start, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 µM MgCl <sub>2</sub> , 1X EvaGreen, 200 µM дНТФ, 0,3 µM праймеров в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с, высокоразрешающее плавление ДНК [CFX96 Thermal Cycler; (Bio-Rad); CEQ 8000 (Beckman-Coulter, USA)]
	Alb probe: actgcctcattagctgctgat		
	PIK3CAex7F: tgttgaatttcttttgggg		
	PIK3CAex7R: actggcacaagattcaaac		
	PIK3CAex9F: ctgagacaatgaattaaggaa		
Мутации <i>PIK3CA</i> : аллель-специфическая ПЦР	PIK3CAex9R: cattttagcacttacctgtgac	1 µl ДНК, 0,75 и ДНК-полимеразы hot-start, 1X ПЦР-буфер (pH 8,3), 2,5 mM MgCl <sub>2</sub> , 0,2X Sybr Green, 200 µM дНТФ, 0,3 µM праймеров в общем объеме 20 µl	45 ПЦР-циклов: 95 °C — 15 с, 60 °C — 30 с, 72 °C — 30 с, плавление ДНК [CFX96 Thermal Cycler (Bio-Rad)]
	PIK3CA_20F: ttgcatacttccgaagacc		
	PIK3CA_20R: tgctgttaattgtgtggaaga		
	PIK3CA_E542Kwt: tttctcctgctcagtgattc		
	PIK3CA_E542Kmut: tttctcctgctcagtgattt		
	PIK3CA_E542com: tctgtaaatcatctgtgaatcc		
	PIK3CA_E545Kwt: atagaaaatcttctcctgctc		
	PIK3CA_E545Kmut: atagaaaatcttctcctgctt		
	PIK3CA_E545com: ggaaaaatgatgacaagaaagc		
	PIK3CA_H1047wt: tgttgaccagccaccttgat		
	PIK3CA_H1047R: tgttgaccagccaccttgac		
PIK3CA_H1047L: tgttgaccagccaccttgaa			
PIK3CA_H1047Y: gttgaccagccaccttgata			
PIK3CA_H1047ComF: ctggaatgccagaactacaat			

**Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики случаев РМЖ с амплификациями *CCND1/FGFR1***

	Амплификация <i>CCND1/FGFR1</i> есть (n=43)	Нет амплификации (n=86)	Сравнение групп (p)
Средний возраст (диапазон)	68,0 (53–87)	68,6 (46–89)	0,518
Размер опухоли (T)			
T1	1 (2,3%)	11 (12,8%)	
T2	12 (27,9%)	20 (23,3%)	
T3	8 (18,6%)	10 (11,6%)	0,559
T4	22 (51,2%)	45 (52,3%)	(T1–2 vs. T3–4)
Статус лимфоузлов (N)			
N0	7 (16,7%)	15 (17,4%)	
N1	15 (35,7%)	35 (40,7%)	
N2	8 (19,0%)	23 (26,7%)	
N3	12 (28,6%)	13 (15,1%)	1,000
Nd	1	0	(N0 vs. N1–3)
Степень дифференцировки			
G1	1 (2,9%)	15 (23,1%)	
G2	25 (71,4%)	38 (58,5%)	
G3	9 (25,7%)	12 (18,5%)	0,009
Nd	8	21	(G1 vs. G2–3)
Гистологический тип			
Инвазивный протоковый неспецифицированный	38 (90,5%)	66 (83,5%)	
Инвазивный дольковый рак	1 (2,4%)	9 (11,4%)	
Муцинозная карцинома	3 (7,1%)	2 (2,5%)	0,162
Папиллярная карцинома	0 (0%)	2 (2,5%)	(ИДР vs.
Nd	1	7	остальные типы)
ER (баллы по шкале Allred)			
7–8	41 (97,6%)	81 (94,2%)	
4–6	0 (0%)	4 (4,7%)	
2–3	1 (2,4%)	1 (1,2%)	0,663
Nd	1		(7–8 vs. 2–6)
PR (баллы по шкале Allred)			
4–8	32 (76,2%)	72 (83,7%)	
0–3	10 (23,8%)	14 (16,3%)	
Nd	1		0,339
HER2 гиперэкспрессия			
HER2+	2 (4,8%)	3 (3,7%)	
HER2-	40 (95,2%)	78 (96,3%)	
Nd	1	5	1,000
Индекс Ki67, %			
Mean (min-max)	29,8 (5–80)	21,7 (3–70)	
Nd	4	9	0,033
Терапия 1 линии			
Ингибиторы ароматазы	25 (58,1%)	42 (48,8%)	
Тамоксифен	18 (41,9%)	44 (51,2%)	0,354
Количество зон отдаленных метастазов			
1	31 (72,1%)	59 (68,6%)	
2	10 (23,3%)	15 (17,4%)	
3	0 (0%)	9 (10,5%)	
4	1 (2,3%)	3 (3,5%)	0,839
5	1 (2,3%)	0 (0%)	(1 vs. 2–5)
Отдаленные метастазы в органы помимо костей			
Нет	20 (46,5%)	30 (34,9%)	
Есть	23 (53,5%)	56 (65,1%)	0,251

Примечание. Nd — нет данных.

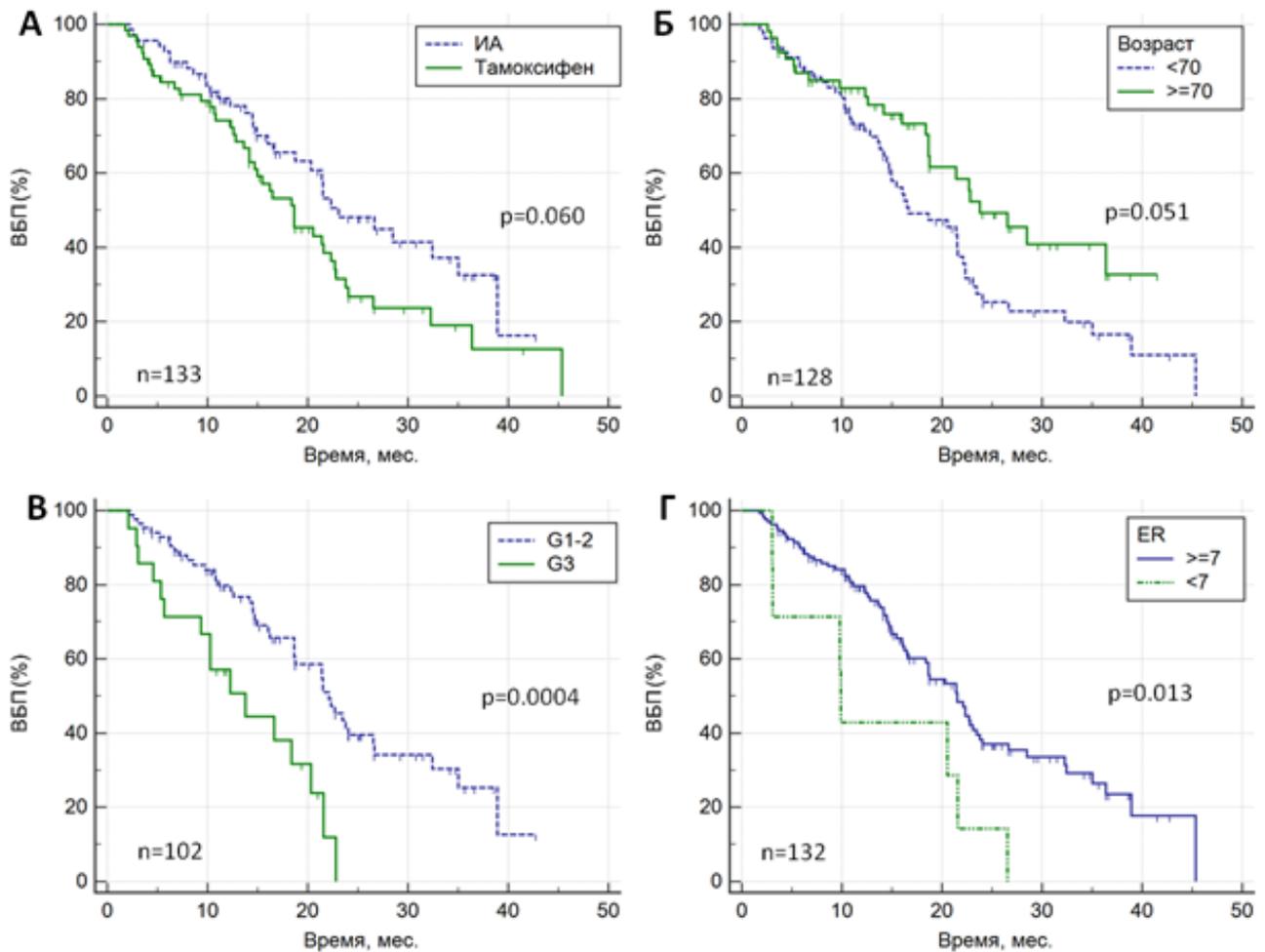


Рис. 1. Кривые выживаемости без прогрессирования (ВБП) в группах пациентов, получавших эндокринную терапию первой линии, в зависимости от типа препарата (ингибиторы ароматазы или тамоксифен) (А), возраста (Б), степени дифференцировки опухоли (В), уровня экспрессии ER по шкале Allred (Г)

**Амплификации генов *CCND1* и *FGFR1* и результаты эндокринной терапии.** Амплификации *CCND1* и *FGFR1* были обнаружены в 24 (18,6%) и 28 (21,7%) из 129 успешно проанализированных случаев соответственно; в 9 карциномах наблюдалась коамплификация двух генов. Наличие амплификации хотя бы одного локуса чаще обнаруживалось в менее дифференцированных опухолях (G1: 1/16 (6,3%); G2: 25/63 (39,7%); G3: 9/21 (42,9%);  $p=0,030$ ) и было связано с более высоким индексом пролиферации Ki-67 ( $p=0,033$ ) (см. табл. 2).

Присутствие амплификации *CCND1* ассоциировалось с результатами применения ингибиторов ароматазы: у пациенток, получавших анастрозол, летрозол или аромазин, безрецидивный период оказался короче в случае наличия амплификации (медиана: 16,0 мес, 95% ДИ: 6,3–28,5 мес), чем при нормальной копии гена (медиана: 32,4 мес [95% ДИ 18,7–38,9 мес];  $OR=3,16$  [95% CI: 1,26–7,93],  $p=0,014$ ) (рис. 2, А; табл. 3).

В РМЖ с амплификацией *FGFR1* использование ингибиторов ароматазы реже приводило к частичному регрессу опухоли (2/15, 13,3%), чем в опухолях без амплификации (22/46, 47,8%,  $p=0,031$ ), однако связь между увеличением копияности *FGFR1* и длительностью периода до прогрессирования не была обнаружена (см. рис. 2, В; табл. 3).

Примечательно, что среди пациенток, получавших ингибиторы ароматазы, амплификация хотя бы одного из двух локусов (*CCND1* и *FGFR1*) наблюдалась в большинстве — 5/7 (71,4%) случаев с прогрессированием заболевания на фоне лечения, и значительно реже — в 5/24 (20,8%) карцином, продемонстрировавших частичный регресс ( $p=0,022$ ). Многофакторный анализ, включающий возраст, степень дифференцировки и индекс Ki-67, подтвердил связь амплификации *CCND1* с прогрессированием заболевания ( $p=0,020$ ). В отличие от ингибиторов ароматазы, присутствие амплификаций *CCND1/FGFR1* не влияло на результаты лечения тамоксифеном (см. рис. 2, Б, Г; табл. 3).

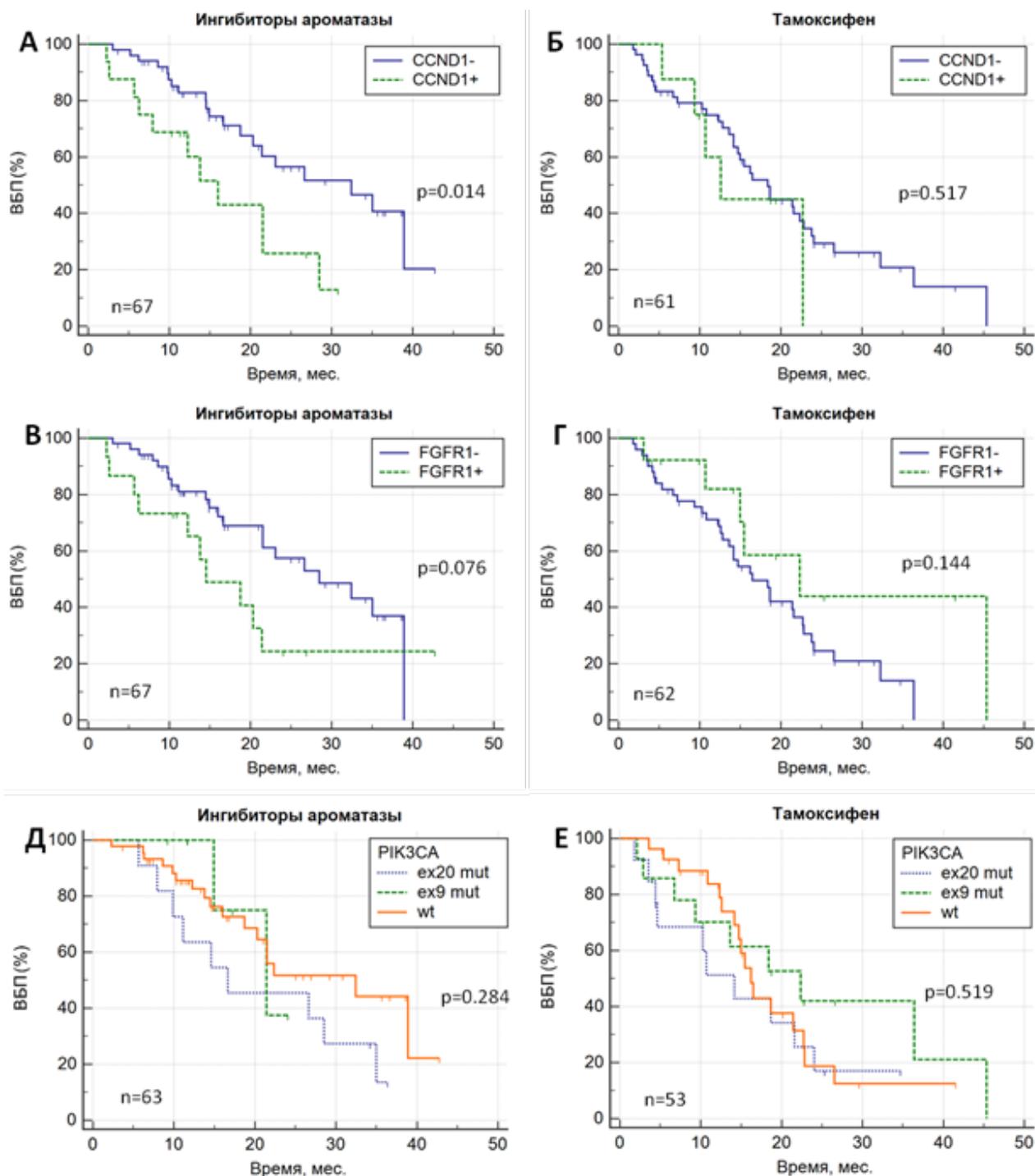


Рис. 2. Кривые выживаемости без прогрессирования (ВБП) в группах пациентов, получавших ингибиторы ароматазы (А, В, Д) и тамоксифен (Б, Г, Е), в зависимости от наличия амплификаций *CCND1* (А, Б), амплификаций *FGFR1* (В, Г) или мутаций *PIK3CA* (Д, Е)

**Мутации в гене *PIK3CA* и результаты эндокринной терапии.** Мутации в гене *PIK3CA* были обнаружены в 46/117 (39,3%) проанализированных случаев. Они оказались примерно поровну распределены между киназным (экзон 20, 24/46, 52,2%) и спиральным (экзон 9, 21/46, 45,7%) доменами, ещё одна замена локализовалась в 7 экзоне гена (р.С420R). В 20 экзоне наиболее частым повреждением была замена р.Н1047R (n=19), а в 9 экзоне — мутации р.Е542К (n=11) и р.Е545К (n=8). Мутации

чаще наблюдались в опухолях меньших размеров (Т1–2: 53,7% vs. Т3–4: 31,6%, p=0,029) и в карциномах с высокой экспрессией PR (частота среди PR-положительных: 44,8% vs. среди PR-негативных: 15,0%, p=0,013) (табл. 4). В случаях с повреждениями *PIK3CA* чаще имелись висцеральные метастазы (p=0,012), а также присутствовало метастатическое поражение более, чем одной зоны (p=0,039) (см. табл. 4). В 13 опухолях одновременно присутствовали амплификации *CCND1/FGFR1* и замены *PIK3CA*.

**Таблица 3. Ответ на лечение и выживаемость без прогрессирования (ВБП) у пациентов, получавших ингибиторы ароматазы и тамоксифен, в зависимости от присутствия амплификаций *CCND1*, *FGFR1* и мутаций *PIK3CA***

Ответ на лечение	Амплификация/мутация+	Амплификация/мутация–	p
Амплификация <i>CCND1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	4/15 (26,7%)	3/46 (6,5%)	0,055
PR+SD	11/15 (73,3%)	43/46 (93,5%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	16,0 (6,3–28,5)	32,4 (18,7–38,9)	0,014
Амплификация <i>CCND1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	1/6 (16,7%)	10/44 (22,7%)	1,000
PR+SD	5/6 (83,3%)	34/44 (77,3%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	12,6 (5,4–22,7)	18,6 (14,2–22,8)	0,517
Амплификация <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	4/15 (26,7%)	3/46 (6,5%)	0,055
PR+SD	11/15 (73,3%)	43/46 (93,5%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	14,6 (5,7–21,4)	28,5 (21,5–38,9)	0,076
Амплификация <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	1/10 (10,0%)	10/41 (24,4%)	0,428
PR+SD	9/10 (90,0%)	31/41 (75,6%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	22,3 (10,7–45,3)	18,4 (12,8–22,7)	0,144
Амплификация <i>CCND1</i> и/или <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	5/24 (20,8%)	2/37 (5,4%)	0,101
PR+SD	19/24	35/37	
Медиана ВБП (95% ДИ)	18,7 (12,3–21,5)	35 (23,1–38,9)	0,033
Амплификация <i>CCND1</i> и/или <i>FGFR1</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	2/15 (13,3%)	9/36 (25,0%)	0,472
PR+SD	13/15	27/36	
Медиана ВБП (95% ДИ)	22,3 (10,7–45,3)	18,4 (13,6–22,8)	0,394
Мутация <i>PIK3CA</i> (пациенты, получавшие ИА)			
PD	1/15 (6,7%)	3/42 (7,1%)	1,000
PR+SD	14/15 (93,3%)	39/42 (92,9%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	21,4 (11,1–35,0)	32,4 (18,7–38,9)	0,214
Мутация <i>PIK3CA</i> (пациенты, получавшие тамоксифен)			
PD	7/23 (30,4%)	2/20 (10,0%)	0,142
PR+SD	16/23 (69,6%)	18/20 (90,0%)	
Медиана ВБП (95% ДИ)	18,4 (9,3–36,4)	16,5 (14,2–22,7)	0,937

Примечание. PD — прогрессирование заболевания (progressive disease); PR — частичный регресс (partial response); SD — стабилизация заболевания (stable disease); сравнение частот выполнялось при помощи точного критерия Фишера; анализ ВБП — при помощи лог-рангового критерия.

**Таблица 4. Клинико-морфологические характеристики случаев РМЖ с мутациями PIK3CA**

	PIK3CA mut (n=46)	PIK3CA wt (n=71)	Сравнение групп (p)	PIK3CA mut (exon 9) (n=21)	PIK3CA mut (exon 20) (n=24)	Сравнение групп (p)
Средний возраст (диапазон)	67,7 (49–86)	69,1 (46–89)	0,444	69,7 (57–83)	66,0 (49–86)	0,249
Размер опухоли (T)						
T1	8 (17,4%)	3 (4,2%)		6 (28,6%)	2 (8,3%)	
T2	14 (30,4%)	16 (22,5%)		5 (23,8%)	8 (33,3%)	
T3	3 (6,5%)	15 (21,1%)	0,029	1 (4,8%)	2 (8,3%)	0,556
T4	21 (45,7%)	37 (52,1%)	(T1–2 vs. T3–4)	9 (42,9%)	12 (50,0%)	(T1–2 vs. T3–4)
Статус лимфоузлов (N)						
N0	9 (19,6%)	10 (14,3%)		3 (14,3%)	5 (20,8%)	
N1	21 (45,7%)	26 (37,1%)		10 (47,6%)	11 (45,8%)	
N2	10 (21,7%)	18 (25,7%)		6 (28,6%)	4 (16,7%)	
N3	6 (13,0%)	16 (22,9%)	0,456	2 (9,5%)	4 (16,7%)	0,705
Nd	0	1	(N0 vs. N1–3)	0	0	(N0 vs. N1–3)
Степень дифференцировки						
G1	6 (16,7%)	7 (12,5%)		3 (20,0%)	3 (15,0%)	
G2	20 (55,6%)	40 (71,4%)		7 (46,7%)	12 (60,0%)	
G3	10 (27,8%)	9 (16,1%)	0,196	5 (33,3%)	5 (25,0%)	0,712
Nd	10	15	(G1–2 vs. G3)	6	4	(G1–2 vs. G3)
Гистологический тип						
Инвазивный протоковый неспецифицированный (ИПН)	38 (90,5%)	55 (83,3%)		19 (90,5%)	18 (90,0%)	
Инвазивный дольковый (ИДР)	3 (7,1%)	6 (9,1%)		1 (4,8%)	2 (10,3%)	
Муцинозная карцинома	0 (0%)	4 (6,1%)	0,396	0 (0%)	0 (0%)	1,000
Папиллярная карцинома	1 (2,4%)	1 (1,5%)	(ИПН vs.	1 (4,8%)	0 (0%)	(ИДР vs.
Nd	4	5	остальные типы)	0	4	остальные типы)
ER (баллы по шкале Allred)						
7–8	44 (95,7%)	68 (97,1%)		21 (100,0%)	22 (91,7%)	
4–6	2 (4,3%)	2 (2,9%)	0,648	0 (0%)	2 (8,3%)	0,491
Nd	0	1	(7–8 vs. 2–6)	0	0	(7–8 vs. 2–6)
PR (баллы по шкале Allred)						
4–8	43 (93,5%)	53 (75,7%)		19 (90,5%)	23 (95,8%)	
0–3	3 (6,5%)	17 (24,3%)		2 (9,5%)	1 (4,2%)	
Nd	0	1	0,013	0	0	0,594
HER2 гиперэкспрессия						
HER2+	0 (0%)	4 (5,9%)		0 (0%)	0 (0%)	
HER2-	44 (100,0%)	64 (94,1%)		19 (100,0%)	24 (100,0%)	
Nd	2	3	0,153	2	0	1,000
Индекс Ki67, %						
Mean (min-max)	23,4 (9–80)	24,2 (3–80)		24,5 (10–80)	22,9 (9–70)	
Nd	5	8	0,596	2	3	0,860
Терапия 1 линии						
Ингибиторы ароматазы (ИА)	18 (39,3%)	45 (63,4%)	0,014	7 (33,3%)	11 (45,8%)	0,543
Тамоксифен (Там)	28 (60,9%)	26 (36,6%)	(ИА vs Там)	14 (66,7%)	13 (54,2%)	(ИА vs Там)

	PIK3CA mut (n=46)	PIK3CA wt (n=71)	Сравнение групп (p)	PIK3CA mut (exon 9) (n=21)	PIK3CA mut (exon 20) (n=24)	Сравнение групп (p)
Количество зон отдаленных метастазов						
1	27 (58,7%)	55 (77,5%)		13 (61,9%)	13 (54,2%)	
2	12 (26,1%)	10 (14,1%)		5 (23,8%)	7 (29,2%)	
3	5 (10,9%)	3 (4,2%)		3 (14,3%)	2 (8,3%)	
4	2 (4,4%)	2 (2,8%)	0,039	0 (0%)	2 (8,3%)	0,764
5	0 (0%)	1 (1,4%)	(1 vs. 2–5)	0 (0%)	0 (0%)	(1 vs. 2–5)
Отдаленные метастазы в органы помимо костей						
Нет	13 (28,3%)	33 (46,5%)		8 (38,1%)	5 (20,8%)	
Есть	33 (71,7%)	38 (53,5%)	0,055	13 (61,9%)	19 (79,2%)	0,323
Локализация отдалённых метастазов						
Кости	28 (60,9%)	42 (59,2%)		13 (61,9%)	15 (62,5%)	
Печень	9 (19,6%)	7 (9,9%)		4 (19,1%)	5 (20,8%)	
Плевра	6 (13,0%)	5 (7,0%)		1 (4,8%)	5 (20,8%)	
Легкие	15 (32,6%)	17 (23,9%)	0,428 (печень)	10 (47,6%)	5 (20,8%)	0,079 (легкие)
Кожа	3 (6,5%)	4 (5,6%)	vs. другие зоны)	0 (0%)	3 (12,5%)	vs. другие зоны)
Головной мозг	0 (0%)	2 (2,8%)		0 (0%)	0 (0%)	
Отдалённые лимфоузлы (кроме внутригрудных)	5 (10,9%)	11 (15,5%)		2 (9,5%)	3 (12,5%)	
Внутригрудные лимфоузлы	7 (15,2%)	5 (7,0%)		2 (9,5%)	4 (16,7%)	

Примечание. Mut — случаи с мутацией; wt (wild-type) — случаи без мутации; Nd — нет данных.

Мутации в 9 или 20 экзоне гена *PIK3CA* не ассоциировались с длительностью периода без прогрессирования или ответом на терапию у пациенток, получавших ингибиторы ароматазы или тамоксифен (см. рис. 2, Д, Е; табл. 3). Тем не менее, среди всех случаев с прогрессированием заболевания частота мутаций оказалась выше (8/13, 61,5%), чем среди больных с объективным ответом на гормонотерапию (9/32, 28,1%,  $p=0,048$ ).

### Обсуждение

Несмотря на длительную историю изучения амплификаций *CCND1* и *FGFR1* при РМЖ, их влияние на эффективность разных типов эндокринной терапии, а именно ингибиторов ароматазы и тамоксифена, до сих пор окончательно не установлено. Первоначально данные об ассоциации этих амплификаций с резистентностью к гормонотерапии были получены в экспериментах на клеточных культурах [7, 18, 21]. Клинические данные относительно предиктивной роли статуса гена *CCND1* оказались противоречивыми, при этом большинство исследований основывалось на анализе пациенток, получавших тамоксифен в адъювантном режиме [5, 13, 14, 33–35]. В некоторых работах активация *CCND1*, детектированная на уровне ДНК (амплификация) или белка (гиперэкспрессия), ассоциировалась с худшим эффектом тамоксифена [13–16],

в то время как другие авторы не обнаружили эту взаимосвязь [33–35]. В нашей выборке данная ассоциация не наблюдалась. К числу причин подобных расхождений можно отнести как минимум несколько факторов. Во-первых, вероятно, что помимо *CCND1*, амплификации других генов, расположенных в локусе 11q13 (*PAK1*, *RSF1*, *EMSY*), влияют на резистентность к тамоксифену [16, 34, 35]. Кроме этого, объектом нашего исследования стала относительно редкая категория больных РМЖ — пациентки, у которых заболевание было впервые выявлено уже на метастатической стадии. С одной стороны, эта группа высокоинформативна в отношении оценки ответа на лечение, так как больные получали гормонотерапию в качестве первой линии лечения. С другой стороны, такие случаи РМЖ, вероятно, обогащены более агрессивными опухолями и не репрезентативны в отношении всех ER-позитивных карцином. По-видимому, результаты исследования нельзя экстраполировать на больных с рецидивом заболевания, возникшим после операции и адъювантной терапии.

Влияние амплификаций *CCND1* и *FGFR1* на эффективность лечения ингибиторами ароматазы остается малоизученным. Подробный анализ статуса *CCND1* у пациенток, вошедших в клиническое испытание адъювантного лечения АТАС (Arimidex, Tamoxifen, Alone or in Combination) не выявил сокращения времени до прогрессирования у женщин, получавших анастрозол

или тамоксифен, при наличии амплификации *CCND1*; в то же время, присутствие амплификации ассоциировалось с большей частотой рецидивов во всей изученной выборке [5]. В исследовании Giltnane и соавт. (2017) было показано, что амплификации *CCND1* и *FGFR1* могут быть связаны с резистентностью к летрозолу в неoadьювантном режиме [36]. Drago и соавт. проанализировали пациентов с метастатическим РМЖ и обнаружили, что амплификация гена *FGFR1* ассоциировалась с более коротким временем до прогрессирования у пациентов, получавших различные типы эндокринной терапии первой линии [37]. Эти авторы также показали, что амплификация *FGFR1* вызывает устойчивость к ингибиторам PI3K и CDK4/6, но не к ингибиторам TORC1. Наши результаты подтверждают предиктивное значение амплификаций *CCND1* и, возможно, *FGFR1* для ответа на ингибиторы ароматазы.

Активация PIK3CA-опосредованного сигнального пути в экспериментах на клеточных линиях связана с резистентностью к гормонотерапии [38]. Вместе с тем, по клиническим данным, присутствие соматических мутаций *PIK3CA* не оказывает значимого влияния или даже улучшает эффект эндокринной терапии. Например, мутации *PIK3CA* не ассоциировались с результатами применения тамоксифена у пациенток с распространённым РМЖ [39], летрозол в неoadьювантном режиме [40] или адьювантной гормонотерапии [41, 42]. В то же время, имеются данные о разном эффекте мутаций в спиральном и киназном доменах *PIK3CA*, а также о неодинаковом влиянии мутаций на результаты применения тамоксифена и ингибиторов ароматазы [39]. В исследуемой нами когорте больных не было выявлено достоверной связи между мутациями в киназном или спиральном домене *PIK3CA* и эффектом эндокринной терапии. Отсутствие значимого влияния мутаций *PIK3CA* на эффективность антиэстрогенов может объясняться тем, что мутации не сопровождаются выраженной активацией конечных мишеней соответствующих сигнальных путей [43].

### Заключение

Полученные данные подтверждают, что присутствие амплификации *CCND1* и, вероятно, *FGFR1* сопряжено с худшими результатами лечения ингибиторами ароматазы при метастатическом РМЖ. Можно предположить, что у пациенток с амплификациями более эффективно будет использование других групп антиэстрогенов и/или сочетания ингибиторов ароматазы с таргетными анти-CDK4/6, анти-FGFR или анти-TORC1 препаратами.

### Вклад авторов:

Иевлева А.Г., Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М. — концепция и дизайн исследования;  
Крамчанинов М.М., Дмитриев В.Н., Петкау В.В. — сбор и обработка клинического материала;  
Алексахина С.Н., Соколова Т.Н., Соловьева Т.И., Косьмин А.В. — молекулярно-генетические исследования;  
Иевлева А.Г., Крамчанинов М.М., Имянитов Е.Н. — анализ результатов, подготовка и редактирование рукописи.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии в статье конфликта интересов.

### Финансирование

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант №\_17-04-01281).

### ЛИТЕРАТУРА

- Zwijsen RM, Buckle RS, Hijmans EM et al. Ligand-independent recruitment of steroid receptor coactivators to estrogen receptor by cyclin D1 // *Genes Dev.* 1998;12:3488–98. <https://doi.org/10.1101/gad.12.22.3488>
- Jirawatnotai S, Hu Y, Michowski W et al. A function for cyclin D1 in DNA repair uncovered by protein interactome analyses in human cancers // *Nature.* 2011;474:230–4. <https://doi.org/10.1038/nature10155>
- Casimiro MC., Di Sante G, Crosariol M et al. Kinase-independent role of cyclin D1 in chromosomal instability and mammary tumorigenesis // *Oncotarget.* 2015;6:8525–38. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3267>
- Gillett C, Fantl V, Smith R et al. Amplification and overexpression of cyclin D1 in breast cancer detected by immunohistochemical staining // *Cancer Res.* 1994;54:1812–7.
- Lundgren K, Brown M, Pineda S et al. Effects of cyclin D1 gene amplification and protein expression on time to recurrence in postmenopausal breast cancer patients treated with anastrozole or tamoxifen: a TransATAC study // *Breast Cancer Res.* 2012;14:R57. <https://doi.org/10.1186/bcr3161>
- Roy PG, Pratt N, Purdie CA et al. High CCND1 amplification identifies a group of poor prognosis women with estrogen receptor positive breast cancer // *Int J Cancer.* 2010;127:355–60. <https://doi.org/10.1002/ijc.25034>
- Kenny FS, Hui R, Musgrove EA et al. Overexpression of cyclin D1 messenger RNA predicts for poor prognosis in estrogen receptor-positive breast cancer // *Clin Cancer Res.* 1999;5:2069–76.
- Bièche I, Olivi M, Noguès C et al. Prognostic value of CCND1 gene status in sporadic breast tumours, as determined by real-time quantitative PCR assays // *Br J Cancer.* 2002;86:580–6. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600109>
- Rudas M, Lehnert M, Huynh A et al. Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy // *Clin Cancer Res.* 2008;14:1767–74. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4122>
- Beca F, Pereira M, Cameselle-Teijeiro JF et al. Altered PPP2R2A and Cyclin D1 expression defines a subgroup

- of aggressive luminal-like breast cancer // *BMC Cancer*. 2015;15:285. <https://doi.org/10.1186/s12885-015-1266-1>
11. Ahlin C, Lundgren C, Embretsén-Varro E et al. High expression of cyclin D1 is associated to high proliferation rate and increased risk of mortality in women with ER-positive but not in ER-negative breast cancers // *Breast Cancer Res Treat*. 2017;164:667–678. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4294-5>
  12. Lundberg A, Lindström LS, Li J et al. The long-term prognostic and predictive capacity of cyclin D1 gene amplification in 2305 breast tumours // *Breast Cancer Res*. 2019;21:34. <https://doi.org/10.1186/s13058-019-1121-4>
  13. Stendahl M, Kronblad A, Rydén L et al. Cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients // *Br J Cancer*. 2004;90:1942–8. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601831>
  14. Jirstrom K, Stendahl M, Rydén L et al. Adverse effect of adjuvant tamoxifen in premenopausal breast cancer with cyclin D1 gene amplification // *Cancer Res*. 2005;65:8009–16. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0746>
  15. Ahnström M, Nordenskjöld B, Rutqvist LE et al. Role of cyclin D1 in ErbB2-positive breast cancer and tamoxifen resistance // *Breast Cancer Res Treat*. 2005;91:145–51. <https://doi.org/10.1007/s10549-004-6457-4>
  16. Brown LA, Johnson K, Leung S et al. Co-amplification of CCND1 and EMSY is associated with an adverse outcome in ER-positive tamoxifen-treated breast cancers // *Breast Cancer Res Treat*. 2010;121:347–54. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0479-x>
  17. Theillet C, Adelaide J, Louason G et al. FGFR1 and PLAT genes and DNA amplification at 8p12 in breast and ovarian cancers // *Genes Chromosomes Cancer*. 1993;7(4):219–26.
  18. Turner N, Pearson A, Sharpe R et al. FGFR1 amplification drives endocrine therapy resistance and is a therapeutic target in breast cancer // *Cancer Res*. 2010;70:2085–94. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-09-3746>
  19. Tomiguchi M, Yamamoto Y, Yamamoto-Ibusuki M et al. Fibroblast growth factor receptor-1 protein expression is associated with prognosis in estrogen receptor-positive/human epidermal growth factor receptor-2-negative primary breast cancer // *Cancer Sci*. 2016;107:491–8. <https://doi.org/10.1111/cas.12897>
  20. Elbauomy Elsheikh S, Green AR, Lambros MB et al. FGFR1 amplification in breast carcinomas: a chromogenic in situ hybridisation analysis // *Breast Cancer Res*. 2007;9:R23. <https://doi.org/10.1186/bcr1665>
  21. Formisano L, Stauffer KM, Young CD et al. Association of FGFR1 with ER Maintains Ligand-Independent ER Transcription and Mediates Resistance to Estrogen Deprivation in ER<sub>+</sub> Breast Cancer // *Clin Cancer Res*. 2017;23:6138–6150. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-1232>
  22. Jang M, Kim E, Choi Y et al. FGFR1 is amplified during the progression of in situ to invasive breast carcinoma // *Breast Cancer Res*. 2012;14:R115. <https://doi.org/10.1186/bcr3239>
  23. Shi YJ, Tsang JY, Ni YB et al. FGFR1 is an adverse outcome indicator for luminal A breast cancers // *Oncotarget*. 2016;7:5063–73. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6563>
  24. Karlsson E, Waltersson MA, Bostner J et al. High-resolution genomic analysis of the 11q13 amplicon in breast cancers identifies synergy with 8p12 amplification, involving the mTOR targets S6K2 and 4EBP1 // *Genes Chromosomes Cancer*. 2011;50:775–87. <https://doi.org/10.1002/gcc.20900>
  25. Anderson EJ, Mollon LE, Dean JL et al. A Systematic Review of the Prevalence and Diagnostic Workup of PIK3CA Mutations in HR+/HER2- Metastatic Breast Cancer // *Int J Breast Cancer*. 2020;2020:3759179. <https://doi.org/10.1155/2020/3759179>
  26. Zardavas D, Te Marvelde L, Milne RL et al. Tumor PIK3CA Genotype and Prognosis in Early-Stage Breast Cancer: A Pooled Analysis of Individual Patient Data // *J Clin Oncol*. 2018;36(10):981–990. <https://doi.org/10.1200/JCO.2017.74.8301>
  27. Mosele F, Stefanovska B, Lusque A et al. Outcome and molecular landscape of patients with PIK3CA-mutated metastatic breast cancer // *Ann Oncol*. 2020;31:377–386. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2019.11.006>
  28. Perez EA, de Haas SL, Eiermann W et al. Relationship between tumor biomarkers and efficacy in MARIANNE, a phase III study of trastuzumab emtansine ± pertuzumab versus trastuzumab plus taxane in HER2-positive advanced breast cancer. *BMC Cancer*. 2019;19(1):517. <https://doi.org/10.1186/s12885-019-5687-0>
  29. Andr F, Ciruelos EM, Juric D et al. Alpelisib plus fulvestrant for PIK3CA-mutated, hormone receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative advanced breast cancer: final overall survival results from SOLAR-1 // *Ann Oncol*. 2021;32:208–217. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2020.11.011>
  30. Barbareschi M, Buttitta F, Felicioni L et al. Different prognostic roles of mutations in the helical and kinase domains of the PIK3CA gene in breast carcinomas // *Clin Cancer Res*. 2007;13:6064–9. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-0266>
  31. Willis O, Choucair K, Alloghbi A et al. PIK3CA gene aberrancy and role in targeted therapy of solid malignancies // *Cancer Gene Ther*. 2020;27:634–644. <https://doi.org/10.1038/s41417-020-0164-0>
  32. Yanus GA, Belyaeva AV, Ivantsov AO et al. Pattern of clinically relevant mutations in consecutive series of Russian colorectal cancer patients // *Med Oncol*. 2013;30:686. <https://doi.org/10.1007/s12032-013-0686-5>
  33. Han S, Park K, Bae BN et al. Cyclin D1 expression and patient outcome after tamoxifen therapy in estrogen receptor positive metastatic breast cancer // *Oncol Rep*. 2003;10:141–4.
  34. Bostner J, Ahnström Waltersson M, Fornander T et al. Amplification of CCND1 and PAK1 as predictors of recurrence and tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer // *Oncogene*. 2007;26:6997–7005. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210506>
  35. Keilty D, Buchanan M, Ntapolias K et al. RSF1 and not cyclin D1 gene amplification may predict lack of benefit from adjuvant tamoxifen in high-risk premenopausal women in the MA.12 randomized clinical trial // *PLoS One*. 2013;8:e81740. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081740>
  36. Giltnane JM, Hutchinson KE, Stricker TP et al. Genomic profiling of ER<sub>+</sub> breast cancers after short-term estrogen suppression reveals alterations associated with endocrine resistance // *Sci Transl Med*. 2017;9(402). <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai7993>
  37. Drago JZ, Formisano L, Juric D et al. FGFR1 Amplification Mediates Endocrine Resistance but Retains TORC Sensitivity in Metastatic Hormone Receptor-Positive (HR(+))

- Breast Cancer // Clin Cancer Res. 2019;25:6443–6451. <https://doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-0138>
38. Miller TW, Balko JM, Arteaga CL Phosphatidylinositol 3-kinase and antiestrogen resistance in breast cancer // J Clin Oncol. 2011;29:4452–61. <https://doi:10.1200/JCO.2010.34.4879>
  39. Ramirez-Ardila DE, Helmijr JC, Look MP et al. Hotspot mutations in PIK3CA associate with first-line treatment outcome for aromatase inhibitors but not for tamoxifen // Breast Cancer Res Treat. 2013;139:39–49. <https://doi:10.1007/s10549-013-2529-7>
  40. Ellis MJ, Lin L, Crowder R et al. Phosphatidylinositol-3-kinase alpha catalytic subunit mutation and response to neoadjuvant endocrine therapy for estrogen receptor positive breast cancer // Breast Cancer Res Treat. 2010;119:379–90. <https://doi:10.1007/s10549-009-0575-y>
  41. Beelen K, Opdam M, Severson TM et al. PIK3CA mutations, phosphatase and tensin homolog, human epidermal growth factor receptor 2, and insulin-like growth factor 1 receptor and adjuvant tamoxifen resistance in postmenopausal breast cancer patients // Breast Cancer Res. 2014;16(1):R13. <https://doi:10.1186/bcr3606>
  42. Sabine VS, Crozier C, Brookes CL et al. Mutational analysis of PI3K/AKT signaling pathway in tamoxifen exemestane adjuvant multinational pathology study // J Clin Oncol. 2014;32:2951–8. <https://doi:10.1200/JCO.2013.53.8272>
  43. Loi S, Haibe-Kains B, Majjaj S et al. PIK3CA mutations associated with gene signature of low mTORC1 signaling and better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancer // Proc Natl Acad Sci USA. 2010;107:10208–13. <https://doi:10.1073/pnas.0907011107>

Поступила в редакцию 15.02.2021 г.

A.G. Iyevleva<sup>1,2</sup>, M.M. Kramchaninov<sup>3</sup>,  
S.N. Aleksakhina<sup>1</sup>, T.N. Sokolova<sup>1</sup>, T.I. Solovieva<sup>1</sup>,  
A.V. Kosmin<sup>1</sup>, V.N. Dmitriev<sup>4,5</sup>, V.V. Petkat<sup>6,7</sup>,  
V.M. Moiseenko<sup>3</sup>, E.N. Imyanitov<sup>1,2,8</sup>

### Predictive role of *CCND1*, *FGFR1* gene amplifications and *PIK3CA* mutations for endocrine therapy of primary metastatic breast cancer

- <sup>1</sup> NMRC of Oncology named after N.N. Petrov of MoH of Russia, St Petersburg
- <sup>2</sup> Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St Petersburg
- <sup>3</sup> Saint-Petersburg clinical scientific and practical center for specialised types of medical care (oncological), St Petersburg
- <sup>4</sup> Medical Institute of Belgorod University, Belgorod
- <sup>5</sup> Belgorod Oncological Dispensary, Belgorod
- <sup>6</sup> Sverdlovskiy Regional Oncological Hospital, Ekatherinburg
- <sup>7</sup> Center for drug therapy in Ekatherinburg, Ekatherinburg
- <sup>8</sup> I.I. Mechnikov North-Western State Medical University, St Petersburg

**Background.** More than half of breast carcinomas express estrogen and progesterone receptors (ER and PR) and remain estrogen-dependent. Endocrine therapy with inhibitors of the estrogen cascade allows long-term and effective control of the disease in a significant number of patients, however, some patients demonstrate primary, and the majority — secondary resistance to such treatment.

The aim of the study was to evaluate the predictive significance of the *CCND1* and *FGFR1* gene amplifications and *PIK3CA* mutations for endocrine therapy.

**Materials and methods.** The study included 133 women with ER-positive primary metastatic breast cancer (BC) who received hormone therapy with aromatase inhibitors (AIs) (n=69) or tamoxifen (n=64) as the first line treatment. *CCND1* and *FGFR1* gene amplifications were tested by digital droplet PCR, while mutations in exons 7, 9, and 20 of the *PIK3CA* gene were determined using high-resolution melting analysis and allele-specific PCR. We analyzed the associations between the presence of the mentioned genetic lesions, progression-free-survival (PFS) and response to treatment.

**Results.** Amplifications of *CCND1* and *FGFR1* genes were identified in 24 (18.6%) and 28 (21.7%) of 129 successfully tested cases, respectively; 9 tumors were positive for both alterations. Amplifications were more prevalent in less differentiated tumors (p=0.030). *CCND1* amplification was associated with shorter PFS in patients receiving aromatase inhibitors (16.0 months vs. 32.4 months, HR=3.16 [95% CI: 1.26–7.93], p=0.014). *FGFR1* status did not significantly affect PFS of AI-treated women, however, partial regress as a result of AI implementation was less frequent in *FGFR1*-amplified BC as compared to cases with normal *FGFR1* copy number (p=0.031).

The frequency of *PIK3CA* mutations was 39.3% (46/117). They were more often observed in smaller tumors (p=0.029), in PR-positive carcinomas (p=0.013), and in cases with more extensive metastatic involvement (p=0.039). The presence of *PIK3CA* mutations did not affect the results of treatment with AI or tamoxifen.

**Conclusion** The presence of *CCND1* and/or *FGFR1* amplification is associated with worse results of AI therapy of metastatic breast cancer.

**Key words:** breast cancer; mutation; amplification; tamoxifen; aromatase inhibitors; resistance to treatment