

*Ф.В. Моисеенко<sup>1,2,3</sup> Н.М. Волков<sup>1</sup>, А.А. Богданов<sup>2</sup>, В.Ф. Семиглазов<sup>3</sup>, М.В. Дубина<sup>2</sup>*

## **Современные возможности клинического применения экспрессионного типирования опухолей молочной железы**

<sup>1</sup> ГБУЗ Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специальных видов медицинской помощи (онкологический)

<sup>2</sup> ФГБОУВО «Санкт-Петербургский национальный исследовательский Академический университет Российской академии наук»

<sup>3</sup> ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

**Полногеномные методы экспрессионного анализа значительно уточнили существующую классификацию опухолей молочной железы. Однако до настоящего момента их применение ограничено сложностью методики, последующего анализа, а также отсутствием возможностей клинического применения. Дальнейшее изучение экспрессионных характеристик рака молочной железы и проведение клинических исследований со стратификацией больных на основании фенотипических особенностей может повысить эффективность существующих методов терапии. Необходимо формирование ограниченной клинически применимой тест-системы, учитывающей все специфические подтипы опухолей этой локализации.**

**Ключевые слова:** рак молочной железы, предиктивные маркеры, прогностические маркеры, подтипы

Опухоли молочной железы представляют собой нозологическую форму, для которой экспрессия различных маркеров играет значимую предиктивную роль [10,12]. Исторически опухоли принципиально подразделялись на связанные и несвязанные с нарушениями функционирования сигнальной системы рецептора эстрогенов (РЭ) [8,9]. На последующих этапах клинические наблюдения получили подтверждение за счет выявления прямой корреляции между уровнем экспрессии рецепторов эстрогенов, характером течения заболевания и чувствительностью к эндокринотерапии [12]. HER2 является еще одним предиктивным фактором, экспрессионный уровень которого играет ключевую роль для определения прогноза больных, а также чувствительности к его таргетному блокированию при помощи анти-HER2 препаратов [7].

Даже на основании ИГХ оценки уровня экспрессии трех маркеров: РЭ, РП, HER2 можно выделить три принципиальные группы опухолей молочной железы, различающиеся клиническими проявлениями и подходами к терапии [13].

Так, опухоли, характеризующиеся относительно высоким уровнем экспрессии РЭ и отсутствием экспрессии HER2, являются наиболее индолентными и высоко чувствительными к действию эндокринотерапии. Опухоли с высокой экспрессией HER2, наличием или отсутствием экспрессии РЭ/РП протекают агрессивно, имеют высокую частоту поражения головного мозга [14]. При этом, использование анти-HER2 терапии для группы больных с этим подтипом РМЖ приводит к значительному увеличению показателей выживаемости и частоты объективных ответов, что говорит о патогенетической роли сигнального каскада HER2 для этих новообразований [17]. Важно заметить, что в рамках текущей классификации опухоли с наличием одновременной экспрессии РЭ/РП и HER2 не выделяются в отдельную группу, а входят в состав опухолей люминального подтипа В. При этом клинически наличие экспрессии HER2 зачастую определяет для подобных больных агрессивное лечение с использованием цитостатической терапии. В свою очередь, отсутствие экспрессии всех трех показателей выделяет группу новообразований с негативным прогнозом и крайне высокой агрессивностью течения, что сопровождается относительно высокой эффективностью стандартной цитотоксической терапии [4].

Значительное уточнение существующей классификации было достигнуто за счет расширения числа исследуемых экспрессионных маркеров. Наибольший прорыв в изучении гетерогенности РМЖ был достигнут при использовании полногеномного подхода к экспрессионному анализу [15,18]. Исследование экспрессии генов позволило выделить несколько подтипов, характеризовавшихся различными показателями выживаемости. При этом авторам удалось выделить отдельные черты, имевшие биологическое значение для описания выделенных подтипов. Экспрессированные гены, определяющие результат иерархического подразделения, были объединены в кластеры. На ранних этапах кластеризация производилась на основании схожести с профилем экспрессии клеточных линий

различного происхождения: эпителиальной, мезенхимальной, жировой тканью. Тем не менее, были также идентифицированы и группы генов, определяющих активность биологически значимых сигнальных каскадов: группа РЭ-связанных генов, кластер HER2.

Кроме того, в последующих работах был предложен метод мультиплексного анализа 50 генов, получивший название PAM50. М его помощью стало возможно без использования сложнейшей системы анализа данных экспрессионного профилирования распределить опухоли на предложенные ранее подтипы [2]. Отбор 50 генов для минимизации диагностической панели был произведен практически исключительно за счет математических методов корреляции с центроидами для каждого из подтипов и последующей редукцией общего числа генов методом исключения наименее значимых [14]. Здесь важно отметить, что одной из особенностей экспрессионного профилирования является то, что гены, экспрессия которых играет ключевую роль для кластеризации того или иного подтипа, могут не иметь определенной или подтвержденной биологической роли, связанной с патогенезом кластеризуемых новообразований. Тем не менее, в PAM50 оказались включенными гены, кодирующие рецептор эстрогенов, прогестерона, HER2, а также большое число генов, коррелирующих с пролиферативной активностью, то есть фактически основные известные на настоящий момент прогностические маркеры для опухолей молочной железы.

Интересно, что предложенная на основании экспрессионных методов молекулярного анализа классификация, в том числе и при использовании PAM50, в значительной степени повторяла существовавшее уже на протяжении многих лет клинико-морфологическое разделение опухолей на связанные со стероидными рецепторами формы, при экспрессионном анализе получившие название люминальных; связанные с HER2 – HER2-обогащенный кластер; а также трижды-негативные – базальный кластер. Тем не менее, в работах посвященных сравнительной классификации конкретных образцов методами экспрессионного анализа и иммуногистохимической окраски, была выявлена значительная дискордантность распределения одних и тех же образцов. Так, 6% HER2 иммуногистохимически позитивных опухолей экспрессионно оценивались как базальноподобные [14]. Кроме того, около трети опухолей HER2-обогащенного экспрессионного подтипа не имели экспрессии HER2 по данным ИГХ. В другой работе, посвященной сравнению результатов иммуногистохимического и экспрессионного методов типирования более 1500 опухолей молочной железы, подтвер-

дилось наличие значительной дискордантности во всех исследованных группах, среди которых были представлены HER2 позитивный, РЭ/РП позитивный и трижды-негативный РМЖ [5]. В качестве примера можно привести группу с негативной экспрессией стероидных гормонов в которой по результатам экспрессионного анализа присутствовало более 5% опухолей люминального подтипа. Данные наблюдения позволяют предположить, что несмотря на несомненную значимость экспрессии РЭ, РП и HER2 как предиктивных маркеров, определение тактики только с их учетом заведомо включает клинически значимый процент ошибочных решений.

Применение более широкой панели экспрессированных генов привело не только к уточнению существовавшей клинико-морфологической классификации, но и в некоторых случаях к пересмотру принадлежности отдельных случаев. Представляется крайне важным, что клиническое внедрение типирования опухолей на основании тест-систем экспрессионного профилирования может позволить повысить эффективность существующих на настоящий момент методов системной терапии. Тем не менее, несмотря на повсеместное применение новой классификации опухолей молочной железы на основании экспрессионного анализа, говорить о радикальном изменении тактики лечения больных при использовании этого подхода пока не представляется возможным.

Несколько позднее было установлено, что число выявленных на первом этапе подтипов не в полной мере отражает гетерогенность опухолей молочной железы. Последующие работы по более детальному изучению экспрессионного профиля отдельных подтипов опухолей молочной железы позволили установить значимую гетерогенность в пределах выявленных ранее групп. Подобная тенденция связана, в первую очередь, с особенностями математического анализа данных экспрессионного профилирования, когда число кластеризуемых генов практически всегда будет больше, чем число включенных в исследование образцов, что определяет значительную статистическую погрешность, которая практически всегда сопровождает подобный молекулярный подход. По-видимому, именно это является одним из возможных объяснений неполной корреляции подтипов опухолей и лечебных эффектов при использовании патогенетически детерминированных лекарственных подходов.

В качестве примера более детального разделения опухолей в пределах подтипа может служить классификация трижды-негативных опухолей молочной железы. Было предложено 4 варианта классификации этого типа РМЖ,

отражающих различия в методах кластеризации данных экспрессионного профилирования [3,11,16,18]. Мета-анализ этих работ позволил выделить 5 основных подтипов трижды-негативного РМЖ, различающихся активными патогенетически значимыми кластерами генов: базальноподобный (basal-like), характеризующийся дефицитом репаративной функции ДНК, а также высокой активностью пролиферативного кластера; мезенхимальноподобный (mesenchymal-like) с высокой активностью генов, участвующих в мезенхимально-эпителиальном переходе, а также генов, свойственных стволовым клеткам; иммуноассоциированный подтип; люминальный/апокринный (luminal/apocrine) с высокой экспрессией кластера генов, связанных с рецептором андрогенов; HER2-обогащенный (HER2-enriched). Обобщение активных кластеров каждого из подтипов позволяет предположить оптимальный подход к выбору фармсредства (антиметаболиты, алкилирующие агенты, таксаны или др.) или даже метода лекарственной терапии (иммунотерапия, таргетная терапия, цитостатическая терапия). Сходные результаты были получены и для опухолей других форм РМЖ: для HER2-обогащенного и люминального В [6].

Сходные выводы авторы могут сделать и на основании собственных исследований. Так, полногеномный экспрессионный анализ 46 опухолей молочной железы с одновременной экспрессией РЭ/РП и HER2 позволил выделить две группы, неразличимые на основании клинических характеристик, однако обладающие различ-

ными биологическими чертами и различными показателями отдаленной выживаемости. При этом увеличение выборки больных с опухолями сходного фенотипа за счет публично доступных баз данных позволило не только подтвердить разделение на два кластера, но и выявить достоверные различия в показателях выживаемости (рис. 1) [1].

Таким образом, с одной стороны, очевидно, что опухоли с точки зрения молекулярного профиля различаются у всех больных, с другой, – понятно, что существуют отдельные группы пациентов, имеющие опухоли с близкими патогенетическими механизмами развития и вследствие этого характеризующиеся сходными молекулярными профилями. До настоящего времени в практической деятельности определение молекулярных особенностей опухоли у больных РМЖ не проводится, а используются косвенные показатели (прежде всего данные о экспрессии рецепторов стероидных гормонов и HER2), которые, как было показано, далеко не всегда коррелируют с истинной принадлежностью пациентки к той или иной группе. В связи с этим выбор терапии для каждой конкретной больной не всегда можно назвать индивидуальным. Это, не исключено, является одной из причин неудовлетворительных результатов лечения.

Серьезным шагом в сторону индивидуализации терапии может стать подбор лекарственного лечения на основе молекулярного анализа. Для этого необходимо формирование новой

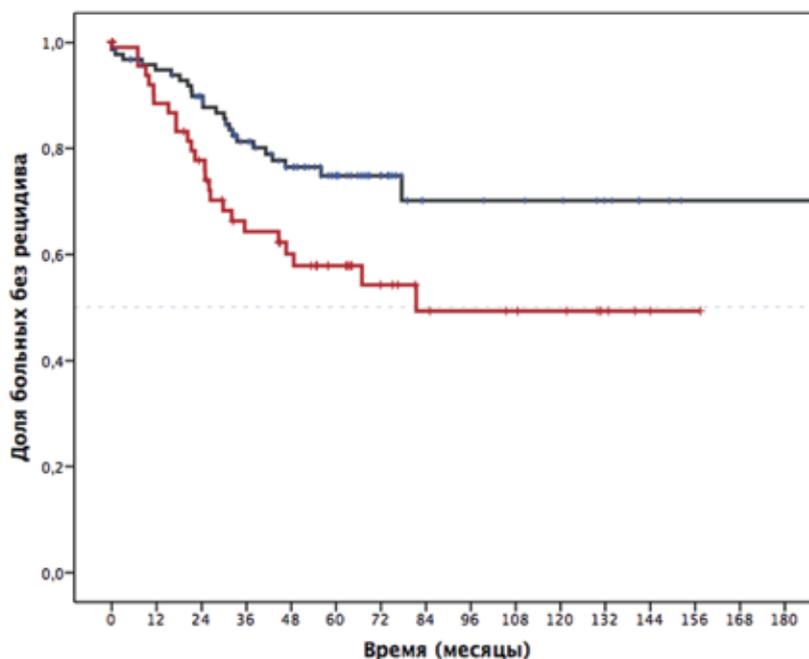


Рисунок 1. Кривые безрецидивной выживаемости больных раком молочной железы (n = 164). Регрессионный анализ по методу Каплана-Мейера безрецидивной выживаемости у больных, отобранных из публично доступных баз данных. Черная линия соответствует первому кластеру, красная – второму (p = 0,01)

диагностической тест-системы экспрессионного анализа, которая позволит классифицировать опухоли с максимальным учетом гетерогенности опухолей.

*Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Уникальный идентификатор прикладных научных исследований: RFMEFI60414X0070; Соглашение от 27 июня 2014 № 14.604.21.0070, Федеральная целевая программа «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы»)*

#### ЛИТЕРАТУРА

- Моисеенко Ф. В., Бужинский И., Александров А. и др. Гетерогенность РЭ/РП+HER2+ рака молочной железы // 1-й Российский онкологический научно-образовательный форум с международным участием «Белые Ночи – 2015». Сборник тезисов. – 2015. – С. 97.
- Bastien R.R., Rodriguez-Lescure A., Ebbert M.T. et al. PAM50 breast cancer subtyping by RT-qPCR and concordance with standard clinical molecular markers // BMC Med Genomics. – 2012. – Vol. 5. – P. 44.
- Burstein M.D., Tsimelzon A., Poage G.M., et al. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer // Clin Cancer Res. – 2015. – Vol. 21 (7). – P. 1688-1698.
- Carey L.A., Dees E.C., Sawyer L. et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes // Clin Cancer Res. – 2007. – Vol. 13 (8). – P. 2329-2334.
- Cheang M.C., Martin M., Nielsen T.O. et al. Defining breast cancer intrinsic subtypes by quantitative receptor expression // Oncologist. – 2015. – Vol. 20 (5). – P. 474-482.
- Creighton C.J. The molecular profile of luminal B breast cancer // Biologics. – 2012. – Vol. 6. – P. 289-297.
- Fendly B.M., Winget M., Hudziak R.M. et al. Characterization of murine monoclonal antibodies reactive to either the human epidermal growth factor receptor or HER2/neu gene product // Cancer Res. – 1990. – Vol. 50 (5). – P. 1550-1558.
- Gruvberger S., Ringner M., Chen Y. et al. Estrogen receptor status in breast cancer is associated with remarkably distinct gene expression patterns // Cancer Res. – 2001. – Vol. 61 (16). – P. 5979-5984.
- Habel L.A., Shak S., Jacobs M.K. et al. A population-based study of tumor gene expression and risk of breast cancer death among lymph node-negative patients // Breast Cancer Res. – 2006. – Vol. 8 (3). – P. R25.
- Jensen E.V., Desombre E.R., Hurst D.J. et al. Estrogen-receptor interactions in target tissues // Arch Anat Microsc Morphol Exp. – 1967. – Vol. 56 (3). – P. 547-569.
- Lehmann B.D., Bauer J.A., Chen X. et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies // J Clin Invest. – 2011. – Vol. 121 (7). – P. 2750-2767.
- McGuire W.L. Estrogen receptors in human breast cancer // J Clin Invest. – 1973. – Vol. 52 (1). – P. 73-77.
- Nadji M., Gomez-Fernandez C., Ganjei-Azar P. et al. Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5,993 breast cancers // Am J Clin Pathol. – 2005. – Vol. 123 (1). – P. 21-27.
- Parker J.S., Mullins M., Cheang M.C. et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes // J Clin Oncol. – 2009. – Vol. 27 (8). – P. 1160-1167.
- Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumours // Nature. – 2000. – Vol. 406 (6797). – P. 747-752.
- Prat A., Parker J.S., Karginova O. et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer // Breast Cancer Res. – 2010. – Vol. 12 (5). – P. R68.
- Slamon D.J., Leyland-Jones B., Shak S. et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2 // N Engl J Med. – 2001. – Vol. 344 (11). – P. 783-792.
- Sorlie T., Perou C.M., Tibshirani R. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2001. – Vol. 98 (19). – P. 10869-10874.

Поступила в редакцию 03.08. 2015 г.

*F.V.Moiseenko<sup>1,2,3</sup>, N.M.Volkov<sup>1</sup>, A.A.Bogdanov<sup>2</sup>,  
V.F.Semiglazov<sup>3</sup>, M.V.Dubina<sup>2</sup>*

#### **Current possibilities of clinical applications of breast tumors typing expression**

<sup>1</sup>St. Petersburg Clinical Scientific-Practical Center of Special Types of Medical Care (Oncology)

<sup>2</sup>St. Petersburg National Research Academic University of Russian Academy of Sciences

<sup>3</sup>N.N.Petrov Research Institute of Oncology  
St. Petersburg, Russia

Whole-genome expression analysis methods significantly clarified contemporary breast cancer classification. Besides today clinical practice lacks the use of expression methods due to complexity of conduction, analysis and lack of clinical application. Further studies of breast cancer expression characteristics and clinical trials with stratification based of phenotypical features may improve the results of existing anticancer agents. Creation of limited clinically applicable test system, which incorporates all the specific breast cancer subtypes is currently needed.

Key words: breast cancer, predictive markers, prognostic markers, subtypes