

А.Е. Друй^{1,2}, Л.И. Папуша¹, Е.А. Сальникова¹, Ю.В. Ольшанская¹, А.А. Масчан¹

Молекулярно-биологические характеристики медуллобластомы и их прогностическое значение

¹ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева» Минздрава Российской Федерации, Москва

²ГАУЗ Свердловской области «Институт медицинских клеточных технологий», Екатеринбург

Медуллобластома – наиболее распространенная злокачественная опухоль центральной нервной системы у детей, клинические проявления, ответ на проводимую терапию и прогноз которой значительно варьируемы. В многочисленных работах была продемонстрирована прогностическая значимость различных клинических, морфологических, цитогенетических и молекулярно-биологических характеристик заболевания. С внедрением в исследовательскую практику высокопроизводительных молекулярно-генетических технологий удалось идентифицировать четыре независимые подгруппы медуллобластомы, имеющие различный источник гистогенеза, молекулярный патогенез, клинические проявления и исход. Данный обзор посвящен молекулярно-биологическим свойствам медуллобластомы, лежащим в основе ее клинической гетерогенности и создающим основы стратификации пациентов для проведения риск-адаптированного и таргетного лечения.

Ключевые слова: медуллобластома; молекулярно-генетические подгруппы WNT, SHH, группа 3, группа 4; прогноз

Введение

Медуллобластома является самой распространенной злокачественной опухолью центральной нервной системы у детей, составляя около 15-20% от всех интракраниальных опухолей и до 40% опухолей задней черепной ямки. При этом, заболевание не строго специфично для педиатрической когорты и встречается также у подростков и взрослых, преимущественно до 40 лет (до 30% случаев медуллобластомы). Уровень заболеваемости медуллобластомой составляет 0,49 на 100 000 человек [11, 41, 43, 55].

Медуллобластома в большинстве случаев является спорадическим заболеванием, однако в ряде случаев (до 5%) она ассоциирована с наследственными синдромами предрасположенности к опухолям: семейным аденоматозным полипозом (синдром Тюрко), синдромом невоидных

базальноклеточных карцином (синдром Горлина) и синдромом развития сарком, опухолей молочных желез, лейкозов и опухолей надпочечников (SBLA, синдром Ли-Фраумени) [15, 43].

Неблагоприятными клиническими прогностическими факторами медуллобластомы являются наличие лептоменингеального распространения и опухолевых клеток в ликворе, степень радикальности резекции и увеличенное время до проведения лучевой терапии. С точки зрения патоморфологии, крупноклеточное анапластическое строение опухоли также признано прогностически неблагоприятным [8]. Значительная вариабельность клинических проявлений и исходов у пациентов с медуллобластомой, в том числе, с одинаковым гистологическим строением опухоли, позволили предположить наличие гетерогенности медуллобластомы на молекулярном уровне. Изучение молекулярных маркеров различными исследователями позволили выделить четыре независимые подгруппы (WNT, SHH, группа 3 и группа 4), которые в 2010 году были закреплены в виде консенсуса. В последующих исследованиях было продемонстрировано, что принадлежность к молекулярно-генетической подгруппе является мощным прогностическим критерием и дальнейший поиск биологических маркеров, определяющих прогноз, целесообразен внутри соответствующих подгрупп [20, 57, 66].

В настоящее время схемы лечения пациентов с медуллобластомой включают все терапевтические опции: резекцию опухоли, лучевую и полихимиотерапию. Агрессивное лечение, в первую очередь, высокие дозы краниоспинального облучения, сопровождается значительной частотой отсроченных неблагоприятных эффектов (нарушение интеллекта, эндокринопатии и вторичные опухоли) [34]. Соответственно, редукция интенсивности лечения пациентов с прогностически неблагоприятными опухолями с сохранением эффективности представляется целесообразной. В настоящее время проводятся два зарубежных исследования PNET5 (Германия) и SJMB12 (США), где оценивается безопасность и эффективность редукции дозы краниоспинального облучения с

23,4 до 18 Гр и 15 Гр, соответственно, в группах пациентов с медуллобластомой низкого риска.

Напротив, высокоагрессивные прогностически-неблагоприятные опухоли требуют активной тактики и применения всех доступных терапевтических технологий. Вышесказанное определяет необходимость корректной стратификации больных медуллобластомой на группы риска с целью проведения риск-адаптированного лечения.

В 2016 году была опубликована обновленная классификация опухолей центральной нервной системы Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ). Нозологическая форма «медуллобластома» была впервые систематизирована на основании сведений о молекулярной биологии опухоли, а также данных о ее морфологическом строении. Данный подход позволил осуществлять диагностику и классификацию медуллобластомы в лабораториях, имеющих различный доступ к анализу молекулярно-генетических повреждений в опухолевых клетках. В то же время сохраняется возможность для дополнения формулировки диагноза при проведении более углубленного исследования, а разделение на группы в соответствии с генетическими критериями отражает не только молекулярный патогенез опухоли, но и соотносится с прогнозом заболевания [42].

Данный обзор посвящен биологическим характеристикам медуллобластомы, многие из которых лежат в основе современной молекулярно-генетической классификации, а также методам, применяемым для их определения. Представлены алгоритмы стратификации пациентов внутри молекулярно-генетических подгрупп, которые представляются перспективными для создания прецизионных риск-адаптированных схем терапии.

Подгруппа WNT

Медуллобластомы подгруппы WNT составляют около 10% всех случаев. Опухоль развивается из производных нижней ромбической губы и имеет центральное расположение, примыкая к стволу мозга [22]. Наиболее часто медуллобластома данной подгруппы встречается у детей старшего возраста, подростков и взрослых. В редких случаях – у детей раннего возраста [50].

Гистологическое строение опухоли подгруппы WNT в подавляющем большинстве случаев представлено классическим вариантом медуллобластомы. В очень редких случаях возможна морфология опухоли, соответствующая крупноклеточному анапластическому варианту. Наличие метастатической диссеминации нетипично для данного типа медуллобластомы [21, 50].

Основной молекулярно-генетической характеристикой WNT медуллобластомы является гиперактивация соответствующего сигнального пути. В норме данный каскад вовлечен в регуляцию энергетического метаболизма и пролиферации клетки, в процессы самоподдержания и дифференцировки стволовых клеток, а также принимает участие в посттравматической регенерации тканей [4, 26, 27, 35, 46]. Герминальные мутации гена *APC* приводят к потере его онкосупрессорной функции и активации сигнального каскада в отсутствие лиганда WNT [44, 69]. Это приводит к развитию полипоза толстой кишки со склонностью к трансформации в колоректальный рак и повышенному риску развития медуллобластомы, из чего и состоят клинические проявления синдрома Тюрко [30]. Соматические мутации при медуллобластоме подгруппы WNT определяются в подавляющем большинстве случаев (85%) в гене *CTNNB1*, кодирующем эффекторный белок сигнального пути WNT – β-катенин. Аминокислотная замена S33P приводит к ингибированию его убиквитин-зависимой протеасомной деградации и ядерной аккумуляции, которая выявляется с помощью иммуногистохимии и служит дифференциально-диагностическим критерием медуллобластомы подгруппы WNT [21, 50]. Кроме того, соматические мутации в гене *DDX3X* (50%) – позитивном регуляторе сигнального пути WNT и *TP53* (13%) описаны у пациентов данной подгруппы [10, 33, 58, 62]. При этом мутации *TP53* не ассоциированы с синдромом Ли-Фраумени и, в отличие от пациентов с медуллобластомой подгруппы SHH, не ухудшают прогноз заболевания [21, 75]. Также в значительном количестве случаев (49,5%) в клетках выявляются мутации в генах ремоделирования хроматина, наиболее часто в генах *SMARCA4* (25%) и *MLL2* (12,5%) [21].

Моносомия 6, выявляемая у пациентов детского возраста, служит маркером опухоли подгруппы WNT, и определяется с частотой до 80%. При этом потеря хромосомы 6 у взрослых пациентов не является патогномичной для WNT варианта медуллобластомы и может выявляться в подгруппах SHH и 4. Другие аномалии числа копий генов и хромосомных регионов редко встречаются в опухолях подгруппы WNT и не имеют диагностического значения [50, 61, 73].

Прогноз у пациентов с WNT вариантом медуллобластомы благоприятный, долгосрочная выживаемость больных превышает 90% [50, 57, 66]. Известные молекулярно-биологические факторы не ухудшают прогноз в данной когорте пациентов. Неблагоприятные события представлены в основном осложнениями проводимо-

го лечения и развитием вторичных опухолей в зоне, подвергшейся воздействию ионизирующего излучения в процессе лучевой терапии [18, 13, 14]. Соответственно, дальнейшая стратификация пациентов с медуллобластомой подгруппы WNT не оправдана, а отнесение пациента в данную подгруппу может служить показанием для деэскалации терапии, в том числе, снижения дозы краниоспинального облучения, в рамках предстоящих клинических исследований. При этом корректная классификация пациента приобретает принципиальное значение [21, 66]. Таргетная терапия, направленная на мутантный белок TP53 или на ингибирование aberrантной активности сигнального пути WNT (блокаторы APC, эффективные при колоректальном раке) не продемонстрировала эффективности при медуллобластоме подгруппы WNT [50]. Проводятся доклинические испытания норкантаридина, ингибитора фосфатазы, который способствует утилизации внутриядерного β -катенина [6, 9]. Была выявлена способность ресвератрола *in vitro* препятствовать взаимодействию β -катенина и TCF4, необходимого для запуска транскрипции эффекторных генов. Однако *in vivo* она ничтожна из-за крайне низкой биодоступности вещества [5].

Подгруппа SHH

В 25-30% случаев медуллобластомы опухоль развивается из клеток-предшественниц нейронов гранулярного слоя коры мозжечка и локализуется в его полушариях [22]. Данные опухоли характеризуются чрезмерной активацией эмбрионального сигнального пути SHH, онкогенная роль которого реализуется через индукцию экспрессии генов, стимулирующих деление клетки (*MYC*, циклины D, E) и блокирующих апоптоз (*BCL2*) [3, 16]. Медуллобластомы подгруппы SHH встречаются преимущественно у детей раннего возраста и взрослых, при этом опухоли, развивающиеся у пациентов разных возрастных групп, имеют значительные клинические и молекулярно-биологические различия [38]. Молекулярно-генетическими аномалиями, встречающимися в значительном количестве медуллобластом подгруппы SHH вне зависимости от возраста, являются мутации или делеции в генах *PTCH1* и *SUFU* [21, 50]. *PTCH1* - трансмембранный белок-рецептор, лигандами которого являются факторы паракринной регуляции системы hedgehog (IHH, DHH и SHH) [1, 3, 74]. Мутации в гене *PTCH1* приводят к снятию репрессии с трансмембранного белка SMO, опосредующего эффекты сигнального пути SHH [45, 72]. Основу синдрома Горлина составляют герминальные мутации в гене *PTCH1*, которые приводят к развитию базальноклеточных карцином и склонно-

сти к возникновению медуллобластомы [50, 74]. Однако в большинстве случаев развитие опухоли носит спорадический характер, а мутация в гене *PTCH1* является соматической [69, 73].

SUFU является ключевым внутриклеточным регулятором сигнального пути, модифицирующим эффекторные компоненты каскада – белки семейства GLI [3, 67, 70, 74]. При его активации афферентным сигналом или в результате мутации происходит дифференциальное фосфорилирование белков GLI1/2 и приобретение ими свойств транскрипционных факторов. В отсутствие активации *SUFU* образуется вариант эффекторной молекулы GLI3, служащей ингибитором сигнального пути [1, 32]. Мутации в генах, кодирующих различные компоненты сигнального каскада SHH, определяются с неодинаковой частотой у пациентов разного возраста. В группе пациентов до 4 лет наиболее часто выявляются делеции или мутации гена *SUFU* (32%), тогда как среди больных 4-17 лет аномалии данного гена обнаруживаются только у 3%. В то же время, в 48% случаев присутствуют мутации в гене *TP53* (являющиеся герминальными в большинстве случаев), амплификация генов *MYCN* (42%) и *GLI2* (30%) [21]. Среди взрослых больных SHH медуллобластомой с одинаковой частотой (около 30%) выявляются мутации гена *SMO* – внутриклеточного мессенджера каскада SHH и аномалии компонентов сигнальных путей PI3K и mTOR, регулирующих пролиферацию и энергетический метаболизм клеток [21, 38]. Среди всех больных медуллобластомой данной подгруппы 21% имеют мутации в генах ремоделирования хроматина, наиболее часто в гене *MLL2* [21]. Типичными несбалансированными генетическими aberrациями в подгруппе SHH являются увеличение генетического материала длинного плеча хромосомы 3 и делеция длинного плеча хромосомы 9 [50].

До половины всех случаев SHH медуллобластомы имеют нодулярно-десмопластическое гистологическое строение или представлены формой медуллобластомы с обширной нодулярностью. Кроме того, ряд опухолей данной подгруппы имеют классическую гистологию и в редких случаях – крупноклеточную анапластическую форму. В то же время, в большинстве случаев десмопластической медуллобластомы молекулярным вариантом является SHH [36, 50].

Прогноз у пациентов с медуллобластомой подгруппы SHH варьирует в широких пределах. Больные раннего возраста имеют хороший прогноз при проведении только химиотерапии без применения лучевой терапии, отказ от которой важен для сокращения числа отдаленных побочных эффектов лечения и инвалидизации пациентов [64]. Пациенты средней возрастной группы

(4-17 лет), имеющие мутации в гене *TP53*, напротив, отличаются наихудшим прогнозом среди всех больных с SHH медуллобластомой. Долгосрочная бессобытийная выживаемость среди взрослых пациентов с SHH вариантом опухоли не превышает 40% [21,37].

Учитывая значительную клиническую гетерогенность и различный прогноз у пациентов с медуллобластомой подгруппы SHH Shih et al. предложили модель, позволяющую оценить степень риска в данной когорте пациентов. В случае выявления амплификации гена *GLI2* пациент относился в группу высокого риска. При отсутствии – анализировалось наличие делеции длинного плеча хромосомы 14 (14q). В случае обнаружения данной аберрации и наличия метастатического распространения больной также был стратифицирован в группу высокого риска. При наличии делеции 14q и отсутствии метастазов и наоборот риск оценивался как промежуточный, а при отсутствии обоих факторов – как низкий [66]. Амплификация гена *MYCN*, выявляемая у 42% пациентов средней возрастной группы, делеция длинного плеча хромосомы 10, включающая ген *SUFU*, также ухудшают прогноз в подгруппе SHH [21, 66].

Для таргетной терапии опухолей подгруппы SHH предложено наибольшее количество препаратов по сравнению с другими вариантами медуллобластомы [9]. Наиболее перспективными представляются ингибиторы SMO первого (висмодегид, сонидегид) и второго поколения (саридегид), которые находятся в I, II фазах клинических испытаний или на стадии доклинических исследований, соответственно [19, 39, 59, 63, 65]. Препараты лития блокируют гликоген синтазу-киназу 3, вызывают стабилизацию цитоплазматического β-катенина и переключение клеточного сигнализирования с SHH на WNT путь [76]. Ингибиторы BET бромодомена уменьшает экспрессию эффекторов каскада SHH – белков *GLI1* и 2 (бромодомен *BRD4* связывается с промоторными регионами данных генов) и, следовательно, генов, активированных *GLI1/2* [2, 68]. Препараты для эпигенетической терапии, как и стабилизаторы β-катенина, находятся на стадии доклинических испытаний [9].

Подгруппа 3

Среди всех больных медуллобластомой пациенты подгруппы 3, составляющие 25%, имеют наиболее неблагоприятный прогноз, несмотря на проведение высокоагрессивной терапии. Данный вариант опухоли встречается исключительно в педиатрической популяции, редко отмечается у подростков и никогда – у взрослых, что рядом авторов объясняется отсутствием у них субстрата

гистогенеза данной опухоли, который в настоящее время остается неясным [48, 61]. Гистологическое строение опухолей подгруппы 3 соответствует крупноклеточному анапластическому либо классическому варианту. Большинство пациентов на момент первичной диагностики имеют метастатическое распространение опухоли, что иногда рассматривается как косвенный признак медуллобластомы данной подгруппы [50].

К молекулярно-генетическим аберрациям, характерным для подгруппы 3 следует отнести хромосомные перестройки с участием эмбриональных протоонкогенов *GFI1* и *GFI1B* (41%), сопровождающиеся их гиперэкспрессией в результате попадания под действие активных энхансеров; образование изохромосомы 17q (26%), с утратой гена-супрессора опухолевого роста *TP53* и дупликацией гена топоизомеразы *TOP2A* [21, 53, 57]. Кроме того, выявляются амплификации генов *MYC* (17%), *OTX2* (8%) и аномалии количества копий компонентов сигнального пути *TGFβ* (20%) [47, 49, 52]. Следует отметить, что вышеуказанные цитогенетические аберрации, за исключением изохромосомы 17q, со значительно более низкой вероятностью встречаются среди пациентов с медуллобластомой подгруппы 4. Напротив, образование изохромосомы 17q наиболее характерно для подгруппы 4 [21]. Большинство опухолей подгруппы 3 характеризуются гиперэкспрессией гена *MYC*, в том числе те, где он представлен в нормальном количестве копий. У пациентов подгруппы 3 в редких случаях отмечаются амплификации генов *MYCN* (4%) и *CDK6* (1%). Среди генов, подвергающихся мутациям в опухолях данного типа, следует выделить *PVT1* (12%), *DDX3X* (3%) и гены ремоделирования хроматина, наиболее часто из которых – *SMARCA4* (10,5%) [21].

Прогноз у больных медуллобластомой подгруппы 3 значительно хуже, чем при других молекулярных вариантах. Вместе с тем, пациенты, не имеющие амплификации гена *MYC*, изохромосомы 17q или метастатического распространения опухоли характеризуются значительно более высокими показателями выживаемости. В противном случае прогноз пациентов, страдающих медуллобластомой подгруппы 3, остается крайне неблагоприятным. При этом, делеция длинного плеча хромосомы 8 или увеличение генетического материала длинного плеча хромосомы 1 рассматривается как маркер более благоприятного исхода заболевания [66].

Подгруппа 4

Опухоль подгруппы 4 является наиболее распространенным вариантом медуллобластомы, составляя 35% всех случаев. Он встречается в раз-

личных возрастных группах, однако не типичен для детей раннего возраста. Медуллобластомы данной подгруппы нечасто демонстрируют метастатическое распространение на момент инициальной диагностики и в большинстве случаев имеют классическое гистологическое строение, а в редких случаях – крупноклеточное анапластическое [50]. В течение длительного времени источник гистогенеза медуллобластомы подгруппы 4 остается неизвестным. Однако современные исследования регуляции экспрессии онкогенов методом высокопроизводительного секвенирования ДНК иммунопреципитированного хроматина (ChIP-seq) позволили обнаружить сходство энхансерных элементов в опухоли и в дериватах верхней ромбической губы. Это позволило предположить, что клетки данных структур могут быть источником гистогенеза медуллобластомы подгруппы 4 [40].

Молекулярно-генетические характеристики медуллобластом подгрупп 3 и 4 различны, однако частично перекрываются. Наиболее частой хромосомной аберрацией у пациентов с медуллобластомой подгруппы 4 является изохромосома 17q (80%). Также определяются амплификации генов *OTX2* (5,5%), *MYCN* (5%), *CDK6* (5%), *MYC* (1%) и тандемные дубликации гена *SNCAIP* (10%) [21]. При этом, гиперэкспрессия генов семейства *MYC* для подгруппы 4 не характерна [50]. Аналогично подгруппе 3 выявляются мутации в генах *GFII/IB*, но со значительно меньшей частотой (10%). У трети пациентов присутствуют мутации генов ремоделирования хроматина, наиболее часто *KDMA6A* (13%) [21].

Прогноз у различных больных с медуллобластомой подгруппы 4 неодинаков. У взрослых пациентов он хуже, чем в педиатрической когорте. Больные с высокой экспрессией белка *FSTL5* по данным иммуногистохимического исследования имеют худший прогноз по сравнению с пациентами, у которых экспрессия данного протеина не выявляется [50, 61]. Моносомия 11 и трисомия 17, напротив, являются маркерами благоприятного исхода. В модели, предложенной D. Shih et al., пациенты с указанными аберрациями относились к группе низкого риска, а оставшиеся были дополнительно стратифицированы на основании наличия метастатического распространения опухоли [66].

Исследования таргетной терапии медуллобластомы подгрупп 3 и 4 представлены очень малым количеством препаратов, относящихся к группам ингибиторов ВЕГ бромодомена, гистон-деацетилазы и Аигога-киназа, находящимся на стадии доклинических исследований [9]. Химических веществ, позволяющих эффективно блокировать сигнальный путь *MYC*, равно как и

других потенциальных мишеней для направленной терапии медуллобластомы подгрупп 3 и 4, в настоящее время не выявлено [9, 50].

Молекулярно-биологические методы исследования медуллобластомы

Значительная вариабельность клинических характеристик опухоли и прогноза заболевания в зависимости от принадлежности к молекулярно-генетической подгруппе и дополнительных прогностических биомаркеров открывает перспективы более прецизионной стратификации пациентов на группы риска и проведения риск-адаптированного лечения. Это, в свою очередь, делает критически важным корректное отнесение пациента к соответствующей подгруппе.

До внедрения в исследовательскую и клиническую практику высокопроизводительных технологий, позволяющих оценивать молекулярно-генетические события на уровне совокупностей генов или целого генома, были предприняты успешные попытки идентифицировать прогностические биологические маркеры медуллобластомы стандартными морфологическими (гистологическое строение, экспрессия β -катенина, TP53, ERBB2, TRKC), цитогенетическими (аберрации хромосомы 17, моносомия 6) и молекулярно-генетическими методами (мутации в гене *CTNNB1*, амплификация генов *MYCN* и *MYC*). Были выявлены ассоциации ядерного накопления β -катенина с мутациями в его кодирующей последовательности (ген *CTNNB1*) и моносомией 6; десмопластического гистологического строения с делециями 10q и 14q; анапластического варианта с наличием амплификации гена *MYC* [7, 12, 17, 24, 25, 27, 29, 55, 56, 60]. Значительное количество выявленных генетических аномалий продемонстрировало прогностическое значение [17, 28]. P.A. Northcott et al. представили результаты исследования экспрессии 84 генов, которые после проведения иерархической кластеризации позволили выделить четыре неперекрывающиеся группы [48]. С этого момента стало очевидно, что нозологическая единица «медуллобластома» включает четыре формы, отличающиеся друг от друга не только молекулярно-генетическими характеристиками, но также эпидемиологическими, клиническими и морфологическими. Дальнейшие работы по выявлению прогностических биологических маркеров медуллобластомы были наиболее успешны при их анализе применительно к молекулярно-генетическим подгруппам [8, 66].

Основным методом разделения пациентов на подгруппы остается анализ экспрессии генов (microarray), который позволяет получать надежные и воспроизводимые результаты [21,

50, 57, 66]. В то же время, технология имеет существенное ограничение – она чрезвычайно чувствительна к качеству РНК, выделенной из опухоли. Это накладывает ограничения на ее использование для анализа ткани, фиксированной в формалине и залитой в парафиновый блок.

Технология исследования экспрессии генов «NanoString» лишена этапа предварительной амплификации нуклеиновых кислот и предъявляет значительно меньшие требования к качеству исходной РНК. При сопоставлении величин экспрессии генов, полученных при анализе нативных и фиксированных образцов ткани легких и почек, были определены высокие значения коэффициентов корреляции (0,91 и 0,96, соответственно). Результаты, полученные при использовании в качестве исходного материала РНК, выделенной из ткани, залитой в парафиновый блок и лизата соответствующей ткани после депарафинизации коррелировали полностью ($R^2=0.999$) [23]. В исследовании Р.А. Northcott и соавторов было показано, что для корректного разделения образцов медуллобластомы на молекулярно-генетические подгруппы достаточно информации об уровнях экспрессии 22 генов [51, 57]. Таким образом, анализ экспрессии генов с помощью технологии NanoString может служить надежным инструментом для классификации архивных образцов.

Альтернативой исследования экспрессии генов является полногеномный анализ метилирования ДНК. Наиболее распространенная технология 450k Illumina основана на исследовании статуса метилирования 485000 CpG регионов, равномерно распределенных по геному. Более современная технология 850k осуществляет анализ более 850 тысяч сайтов метилирования. Результаты разделения образцов медуллобластомы на подгруппы на основании полногеномного исследования метилирования полностью соответствуют данным, полученным с помощью анализа экспрессии генов, что позволяет рассматривать технологии как равнозначные [31, 57]. При этом методика лишена ограничений, связанных с низкой стабильностью РНК *ex vivo*, так как основана на использовании ДНК и может быть применена для исследования архивных образцов ткани из парафиновых блоков, а также проводится в параллели с анализом аномалий числа копий генов и хромосомных регионов [31].

Высокопроизводительные технологии позволяют уверенно классифицировать пациента с медуллобластомой в ту или иную молекулярно-генетическую подгруппу. Вместе с тем, в большинстве патологических и молекулярно-биологических лабораторий они недоступны. В отсутствие доступа к данным методикам стандартные морфологические и генетические

методы могут оказать помощь в разделении пациентов на подгруппы. Сочетание ядерной аккумуляции β -катенина и однонуклеотидной замены в экзоне 3 гена *CTNNB1*, которые выявляются с использованием иммуногистохимии и секвенирования по Сэнгеру, соответственно, является необходимыми и достаточными признаками медуллобластомы подгруппы WNT [57]. Результат может быть дополнен определением моносомии 6, но данный маркер абсолютной специфичностью не обладает [21, 66]. Выявление амплификации гена *MYC* методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) может служить маркером подгруппы 3, особенно в сочетании с анапластическим гистологическим строением и наличием лептоменингеальной диссеминации опухоли. Однако в данном случае чувствительность признаков невысока [21, 57]. Наряду с FISH для анализа количества копий генов может быть применен метод множественной лигазно-зависимой амплификации зондов (MLPA), позволяющий выявлять аномалии локусов, наиболее часто задействованных в молекулярном патогенезе медуллобластомы. При этом необходимо подчеркнуть, что aberrации, связанные с изменением числа копий гена или хромосомного региона (делеции или амплификации), с одной стороны, не являются строго специфичными для той или иной подгруппы, а, с другой – даже наиболее специфичные мутации не выявляются в абсолютном числе образцов соответствующего молекулярно-генетического варианта. Поэтому ни одна из указанных aberrаций не может служить основанием для однозначной классификации опухоли в какую-либо подгруппу, а для точной интерпретации должны быть применены современные высокопроизводительные технологии, в особенности для разделения пациентов 3 и 4 подгрупп, экспрессионный и мутационный спектр которых частично перекрывается (медуллобластома «не-WNT/не-SHN, согласно классификации опухолей ЦНС ВОЗ 2016 года).

Все вышесказанное указывает на то, что медуллобластома представляет собой чрезвычайно гетерогенное заболевание, характеризующееся различными механизмами онкогенеза, прогнозом и ответом на проводимую терапию. Подобная гетерогенность нашла отражение в обновленной классификации опухолей ЦНС ВОЗ 2016 года. Корректная интерпретация молекулярно-генетических aberrаций в клетках опухоли и инициальная стратификация пациентов на группы риска являются перспективными с целью проведения индивидуализированного лечения, включающего деэскалацию терапии у больных с прогностически-благоприятной опухолью (медуллобластома подгрупп WNT с классическим гистологическим строением и SHN без мутаций

в гене *TP53* у детей раннего возраста), и поиска новых терапевтических опций, в том числе таргетной терапии, у пациентов с опухолью стандартного (медуллобластома SHH без мутаций в гене *TP53*, подгрупп 3 и 4 с классическим гистологическим строением) и высокого риска (медуллобластома SHH с мутацией в гене *TP53*, подгруппы 3 с крупноклеточным или анапластическим гистологическим строением) [42].

ЛИТЕРАТУРА

1. Beachy P.A., Hymowitz S.G., Lazarus R.A. et al. Interactions between Hedgehog proteins and their binding partners come into view // *Genes. Dev.* – 2010. – Vol. 24. – № 18. – P. 2001-2012.
2. Belkina A.C., Denis G.V. BET domain co-regulators in obesity, inflammation and cancer // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12. – № 7. – P. 465-477.
3. Briscoe J., Théron P.P. The mechanisms of Hedgehog signalling and its roles in development and disease // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2013. – Vol. 14. – № 7. – P. 416-429.
4. Cadigan K.M. TCFs and Wnt/ β -catenin signaling: more than one way to throw the switch // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2012. – Vol. 98. – P. 1-34.
5. Chen H.J., Hsu L.S., Shia Y.T. et al. The β -catenin/TCF complex as a novel target of resveratrol in the Wnt/ β -catenin signaling pathway // *Biochem Pharmacol.* – 2012. – Vol. 84. – № 9. – P. 1143-1153.
6. Cimmino F., Scoppettuolo M.N., Carotenuto M. et al. Norcantharidin impairs medulloblastoma growth by inhibition of Wnt/ β -catenin signaling // *J. Neurooncol.* – 2012. – Vol. 106. – № 1. – P. 59-70.
7. Clifford S.C., Lusher M.E., Lindsey J.C. et al. Wnt/Wingless pathway activation and chromosome 6 loss characterize a distinct molecular sub-group of medulloblastomas associated with a favorable prognosis // *Cell Cycle.* – 2006. – Vol. 5. – № 22. – P. 2666-2670.
8. Clifford S.C., Lannering B., Schwalbe E.C. et al. Biomarker-driven stratification of disease-risk in non-metastatic medulloblastoma: Results from the multi-center HIT-SIOP-PNET4 clinical trial // *Oncotarget.* – 2015. – Vol. 6. – № 36. – P. 38827-38839.
9. Coluccia D., Figuereido C., Isik S. et al. Medulloblastoma: Tumor Biology and Relevance to Treatment and Prognosis Paradigm // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2016. – Vol. 16. – № 5. – P. 43-54.
10. Cruciat C.M., Dolde C., de Groot R.E. et al. RNA helicase DDX3 is a regulatory subunit of casein kinase 1 in Wnt/ β -catenin signaling // *Science.* – 2013. – Vol. 339. – № 6126. – P. 1436-1441.
11. Dhall G. Medulloblastoma // *J. Child Neurol.* – 2009. – Vol. 24. – № 11. – P. 1418-1430.
12. Ellison D.W., Onilude O.E., Lindsey J.C. et al. beta-Catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: the United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23. – № 31. – P. 7951-7957.
13. Ellison D.W., Dalton J., Kocak M. et al. Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups // *Acta. Neuropathol.* – 2011. – Vol. 121. – № 3. – P. 381-396.
14. Ellison D.W., Kocak M., Dalton J. et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined clinical, pathologic, and molecular variables // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – № 11. – P. 400-407.
15. Evans G., Burnell L., Campbell R. et al. Congenital anomalies and genetic syndromes in 173 cases of medulloblastoma // *Med. Pediatr. Oncol.* – 1993. – Vol. 21. – № 6. – P. 433-434.
16. Falkenstein K.N., Vokes S.A. Transcriptional regulation of graded Hedgehog signaling // *Semin. Cell Dev. Biol.* – 2014. – № 33. – P. 73-80.
17. Gajjar A., Hernan R., Kocak M. et al. Clinical, histopathologic, and molecular markers of prognosis: toward a new disease risk stratification system for medulloblastoma // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – № 6. – P. 984-993.
18. Gajjar A., Chintagumpala M., Ashley D. et al. Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term results from a prospective, multicentre trial // *Lancet Oncol.* – 2006. – Vol. 7. – № 10. – P. 813-820.
19. Gajjar A., Stewart C.F., Ellison D.W. et al. Phase I study of vismodegib in children with recurrent or refractory medulloblastoma: a pediatric brain tumor consortium study // *Clin. Cancer Res.* – 2013. – Vol. 19. – № 22. – P. 6305-6312.
20. Gajjar A.J., Robinson G.W. Medulloblastoma-translating discoveries from the bench to the bedside // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 11. – № 12. – P. 714-722.
21. Gajjar A., Bowers D.C., Karajannis M.A. et al. Pediatric Brain Tumors: Innovative Genomic Information Is Transforming the Diagnostic and Clinical Landscape // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – № 27. – P. 2986-2998.
22. Gibson P., Tong Y., Robinson G. et al. Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins // *Nature.* – 2010. – Vol. 468. – № 7327. – P. 1095-1099.
23. Geiss G.K., Bumgarner R.E., Birditt B. et al. Direct multiplexed measurement of gene expression with color-coded probe pairs // *Nat. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 26. – № 3. – P. 317-325.
24. Gilbertson R.J., Perry R.H., Kelly P.J. et al. Prognostic significance of HER2 and HER4 coexpression in childhood medulloblastoma // *Cancer Res.* – 1997. – Vol. 57. – № 15. – P. 3272-3280.
25. Gilbertson R., Wickramasinghe C., Hernan R. et al. Clinical and molecular stratification of disease risk in medulloblastoma // *Br. J. Cancer.* – 2001. – Vol. 85. – № 5. – P. 705-712.
26. Gougelet A., Colnot S. A Complex Interplay between Wnt/ β -Catenin Signalling and the Cell Cycle in the Adult Liver // *Int. J. Hepatol.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-7.
27. Grotzer M.A., Janss A.J., Phillips P.C., Trojanowski J.Q. Neurotrophin receptor TrkC predicts good clinical outcome in medulloblastoma and other primitive neuroectodermal brain tumors // *Klin. Padiatr.* – 2000. – Vol. 212. – № 4. – P. 196-199.
28. Grotzer M.A., Hogart M.D., Janss A.J. et al. MYC messenger RNA expression predicts survival outcome in childhood primitive neuroectodermal tumor/medulloblastoma // *Clin. Cancer Res.* – 2001. – Vol. 7. – № 8. – P. 2425-2433.
29. Hadjihannas M.V., Bernkopf D.B., Brückner M., Behrens J. Cell cycle control of Wnt/ β -catenin signalling by con-

- ductin/axin2 through CDC20 // *EMBO Rep.* – 2012. – Vol. 13. – № 4. – P. 347-354.
30. Hamilton S.R., Liu B., Parsons R.E. et al. The molecular basis of Turcot's syndrome // *N. Engl. J. Med.* – 1995. – Vol. 332. – № 13. – P. 839-847.
 31. Hovestadt V., Remke M., Kool M. et al. Robust molecular subgrouping and copy-number profiling of medulloblastoma from small amounts of archival tumour material using high-density DNA methylation arrays // *Acta Neuropathol.* – 2013. – Vol. 125. – № 6. – P. 913-916.
 32. Hui C.C., Angers S. Gli proteins in development and disease // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* – 2011. – Vol. 27. – P. 513-537.
 33. Jones D.T., Jäger N., Kool M. et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma // *Nature.* – 2012. – Vol. 488. – № 7409. – P. 100-105.
 34. Jozwiak J., Grajkowska W., Wlodarski P. Pathogenesis of medulloblastoma and current treatment outlook // *Med. Res. Rev.* – 2007. – Vol. 27. – № 6. – P. 869-890.
 35. Komiya Y., Habas R. Wnt signal transduction pathways // *Organogenesis.* – 2008. – Vol. 4. – № 2. – P. 68-75.
 36. Kool M., Korshunov A., Remke M. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas // *Acta Neuropathol.* – 2012. – Vol. 123. – № 4. – P. 473-484.
 37. Kool M., Korshunov A., Pfister S.M. Update on molecular and genetic alterations in adult medulloblastoma // *Memo.* – 2012. – Vol. 5. – № 3. – P. 228-232.
 38. Kool M., Jones D.T., Jäger N. et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothed inhibition // *Cancer Cell.* – 2014. – Vol. 25. – № 3. – P. 393-405.
 39. Lee M.J., Hatton B.A., Villavicencio E.H. et al. Hedgehog pathway inhibitor saridegib (IPI-926) increases lifespan in a mouse medulloblastoma model // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2012. – Vol. 109. – № 20. – P. 7859-7864.
 40. Lin C.Y., Erkek S., Tong Y. et al. Active medulloblastoma enhancers reveal subgroup-specific cellular origins // *Nature.* – 2016. – Vol. 530. – № 7588. – P. 57-62.
 41. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system // *Acta Neuropathol.* – 2007. – Vol. 114. – № 2. – P. 97-109.
 42. Louis D.N., Perry A., Reifenberger G. et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary // *Acta Neuropathol.* – 2016. – Vol. 131. – № 6. – P. 803-820.
 43. Millard N.E., De Braganca K.C. Medulloblastoma // *J. Child Neurol.* – 2015. – Vol. 2. – P. 1-13.
 44. Minde D.P., Anvarian Z., Rüdiger S.G., Maurice M.M. Messing up disorder: how do missense mutations in the tumor suppressor protein APC lead to cancer? // *Mol. Cancer.* – 2011. – Vol. 10. – P. 101-110.
 45. Ng J.M., Curran T. The Hedgehog's tale: developing strategies for targeting cancer // *Nat. Rev. Cancer.* – 2011. – Vol. 11. – № 7. – P. 493-501.
 46. Niehrs C. The complex world of WNT receptor signaling // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2012. – Vol. 13. – № 12. – P. 767-79.
 47. Northcott P.A., Nakahara Y., Wu X. et al. Multiple recurrent genetic events converge on control of histone lysine methylation in medulloblastoma // *Nat. Genet.* – 2009. – Vol. 41. – № 4. – P. 465-472.
 48. Northcott P.A., Korshunov A., Witt H. et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – № 11. – P. 1408-1414.
 49. Northcott P.A., Jones D.T., Kool M. et al. Medulloblastomics: the end of the beginning // *Nat. Rev. Cancer.* – 2012. – Vol. 12. – № 12. – P. 818-834.
 50. Northcott P.A., Korshunov A., Pfister S.M., Taylor M.D. The clinical implications of medulloblastoma subgroups // *Nat. Rev. Neurol.* – 2012. – Vol. 8. – № 6. – P. 340-351.
 51. Northcott P.A., Shih D.J., Remke M. et al. Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples // *Acta Neuropathol.* – 2012. – Vol. 123. – № 4. – P. 615-626.
 52. Northcott P.A., Shih D.J., Peacock J. et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes // *Nature.* – 2012. – Vol. 488. – № 7409. – P. 49-56.
 53. Northcott P.A., Lee C., Zichner T., Stutz A.M. et al. Enhancer hijacking activates GF11 family oncogenes in medulloblastoma // *Nature.* – 2014. – Vol. 511. – № 7510. – P. 428-434.
 54. Ostrom Q.T., de Blank P.M., Kruchko C. et al. Alex's Lemonade Stand Foundation Infant and Childhood Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007-2011 // *Neuro Oncol.* – 2015. – Vol. Suppl. 10. – P. 1-36.
 55. Pan E., Pellarin M., Holmes E. et al. Isochromosome 17q is a negative prognostic factor in poor-risk childhood medulloblastoma patients // *Clin. Cancer Res.* – 2005. – Vol. 11. – № 13. – P. 4733-4740.
 56. Pfister S., Remke M., Benner A. et al. Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – Vol. 27. – № 10. – P. 1627-1636.
 57. Pietsch T., Schmidt R., Remke M. et al. Prognostic significance of clinical, histopathological, and molecular characteristics of medulloblastomas in the prospective HIT2000 multicenter clinical trial cohort // *Acta Neuropathol.* – 2014. – Vol. 128. – № 1. – P. 137-149.
 58. Pugh T.J., Weeraratne S.D., Archer T.C. et al. Medulloblastoma exome sequencing uncovers subtype-specific somatic mutations // *Nature.* – 2012. – Vol. 488. – № 7409. – P. 106-110.
 59. Ransohoff K.J., Sarin K.Y., Tang J.Y. Smoothed Inhibitors in Sonic Hedgehog Subgroup Medulloblastoma // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – № 24. – P. 2692-2694.
 60. Ray A., Ho M., Ma J. et al. A clinicobiological model predicting survival in medulloblastoma // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol. 10. – № 22. – P. 7613-7620.
 61. Remke M., Hielscher T., Korshunov A. et al. FSTL5 is a marker of poor prognosis in non-WNT/non-SHH medulloblastoma // *J. Clin. Oncol.* – 2011. – Vol. 29. – № 29. – P. 3852-3861.
 62. Robinson G., Parker M., Kranenburg T.A. et al. Novel mutations target distinct subgroups of medulloblastoma // *Nature.* – 2012. – Vol. 488. – № 7409. – P. 43-48.
 63. Robinson G.W., Orr B.A., Wu G. et al. Vismodegib Exerts Targeted Efficacy Against Recurrent Sonic Hedgehog-Subgroup Medulloblastoma: Results From Phase II Pediatric Brain Tumor Consortium Studies PBTC-025B

- and PBTC-032 // *J. Clin. Oncol.* – 2015. – Vol. 33. – № 24. – P. 2646-2654.
64. Rutkowski S., Bode U., Deinlein F. et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone // *N. Engl. J. Med.* – 2005. – Vol. 352. – № 10. – P. 978-986.
 65. Sekulic A., Migden M.R., Oro A.E. et al. Efficacy and safety of vismodegib in advanced basal-cell carcinoma // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366. – № 23. – P. 2171-2179.
 66. Shih D.J., Northcott P.A., Remke M. et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups // *J. Clin. Oncol.* – 2014. – Vol. 32. – № 9. – P. 886-896.
 67. Slade I., Murray A., Hanks S. et al. Heterogeneity of familial medulloblastoma and contribution of germline PTCH1 and SUFU mutations to sporadic medulloblastoma // *Fam. Cancer.* – 2011. – Vol. 10. – № 2. – P. 337-342.
 68. Tang Y., Gholamin S., Schubert S. et al. Epigenetic targeting of Hedgehog pathway transcriptional output through BET bromodomain inhibition // *Nat. Med.* – 2014. – Vol. 20. – № 7. – P. 732-740.
 69. Taylor M.D., Mainprize T.G., Rutka J.T. Molecular insight into medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor biology from hereditary syndromes: a review // *Neurosurgery.* – 2000. – Vol. 47. – № 4. – P. 888-901.
 70. Taylor M.D., Liu L., Raffel C. et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma // *Nat. Genet.* – 2002. – Vol. 31. – № 3. – P. 306-310.
 71. Taylor M.D., Northcott P.A., Korshunov A. et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus // *Acta. Neuropathol.* – 2012. – Vol. 123. – № 4. – P. 465-472.
 72. Teglund S., Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2010. – Vol. 1805. – № 2. – P. 181-208.
 73. Thompson E.M., Whitney N.L., Wu Y.J., Neuwelt E.A. The effect of alpha-v integrin inhibition on the malignant characteristics of medulloblastoma // *J. Neurosurg. Pediatr.* – 2013. – Vol. 11. – № 1. – P. 60-67.
 74. Wilson C.W., Chuang P.T. Mechanism and evolution of cytosolic Hedgehog signal transduction // *Development.* – 2010. – Vol. 137. – № 13. – P. 2079-2094.
 75. Zhukova N., Ramaswamy V., Remke M. et al. Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma // *J. Clin. Oncol.* – 2013. – Vol. 31. – № 23. – P. 2927-2935.
 76. Zinke J., Schneider F.T., Harter P.N. et al. β -Catenin-Gli1 interaction regulates proliferation and tumor growth in medulloblastoma // *Mol Cancer.* – 2015. – Vol. 14. – № 1. – P. 17-26.

*A.E. Druy^{1,2}, L.I. Papusha¹, E.A. Salnikova¹,
Yu.V. Olshanskaya¹, A.A. Maschan¹*

Molecular-biological features of medulloblastoma and their prognostic significance

¹D. Rogachev Federal Research and Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

²Research Institute of Medical Cell Technologies, Ekaterinburg

Medulloblastoma is more frequent central nervous system malignancy in childhood. It is characterized by wide range of clinical heterogeneity, response to therapy and outcome. Many authors demonstrated prognostic significance of clinical, morphological, cytogenetic and molecular-biological features of the tumor. Implementation of high-throughput molecular-genetic techniques allows the medulloblastoma patients discrimination into 4 independent subgroups with distinct source of histogenesis, molecular pathogenesis, clinical manifestation and outcome. This review is devoted to molecular-biological features of medulloblastoma, underlying its clinical heterogeneity and forming the basis for individualized risk adapted and targeted treatment.

Key words: medulloblastoma, molecular-genetic subgroups WNT, SHH, group 3, group 4, prognosis

Поступила в редакцию 10.06.2016 г.