

В.В. Бредер^{1}, И.А. Джанян¹, М.В. Натрусова⁴, А.Р. Зарецкий^{2,3}, К.К. Лактионов¹*

Метастатическая холангиокарцинома как мишень молекулярно-направленной терапии

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,

²ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России,

³ООО «ЕврогенЛаб»,

⁴МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва

В статье представлен уникальный клинический случай применения кризотиниба (Ксалкори®) у пациента 14 лет с ALK-позитивной метастатической холангиокарциномой (ХК) и врожденным вирусным гепатитом В. В статье обсуждаются «драйверные» онкогенные мутации, потенциально чувствительные к таргетной терапии, а также причины кратковременности полученного эффекта кризотиниба и возможные пути её преодоления.

Ключевые слова: холангиокарцинома, транслокация ALK, кризотиниб

Введение

Холангиокарцинома (ХК) — агрессивная злокачественная опухоль с ограниченным набором лечебных опций. Медиана общей выживаемости больных метастатической ХК при использовании современных схем полихимиотерапии не превышает 12 мес. [2, 5, 25]. Одним из перспективных подходов к терапии химиорезистентных опухолей является поиск в опухолевых клетках «драйверных» молекулярных нарушений, которые могут быть мишенью направленного, т.е. «таргетного» лечения. В клетках ХК достаточно часто выявляются «драйверные» (активирующие) мутации, описанные при других солидных опухолях — немелкоклеточном раке легкого, раке молочной железы, ставшие мишенью высокоэффективной таргетной терапии [13, 14, 21]. Более того, описаны случаи успешного применения некоторых таргетных препаратов у пациентов с метастатической ХК, преимущественно в формате «терапии спасения» [1, 15, 17, 24]. Опыт клинических исследований [11, 12 и др.] показывает, что эффективность таргетных препаратов может зависеть не только от вида мутации, но и от гистологического типа опухоли. «Адаптация» режимов молекулярно-направленного лечения для терапии различных опухолей с одной и той же мутацией может потребовать существенных

изменений дозировки и режима введения или подбора схемы комбинированной терапии. С другой стороны, необходимо понять практическую целесообразность поиска активирующих онкогенных нарушений в опухоли при заболеваниях, не имеющих официально зарегистрированных показаний к соответствующей таргетной терапии.

Клиническое наблюдение. У 14-летнего подростка М., 1998 г.р., с врожденным вирусным гепатитом В в декабре 2012 г. выявлена внутрипеченочная холангиокарцинома печени T2N0M0: солитарное образование размерами 4,7x4,5 см в S3 печени. Выполнена (г. Москва) резекция (R0) S2-S3 сегментов печени. Гистологический диагноз — умеренно-дифференцированная холангиокарцинома. Адьювантная терапия не проводилась.

В 07.2013 — прогрессирование: по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) — множественные очаги в S4, S5 и S6 печени (наиболее крупный — до 11 мм — в S6), а также метастазы в мезентеральных, паракавальных и парааортальных лимфатических узлах. С 08.2013 по 01.2014 проведено 8 курсов химиотерапии по схеме GemOx (гемцитабин + оксалиплатин) без клинически значимой токсичности; зарегистрирована стабилизация процесса. В 03-04.2014 проведена дистанционная лучевая терапия в 2 этапа: на весь объем печени, РОД 2 Гр до СОД 20Гр, а затем локально на 3 опухолевых очага в печени, РОД 3 Гр до СОД 30 Гр.

В 11.2014 прогрессирование в печени (МРТ): рост опухолевых узлов в S4, S6 и на уровне шейки желчного пузыря, появление новых очагов в S4. В 12.2014 — резекция печени в объеме R1 (S4, частично S7), холецистэктомия. Гистологическое заключение: холангиокарцинома.

Дальнейшее прогрессирование заболевания в 01.2015: метастатическое поражение обоих легких (множественные очаги до 2 мм по РКТ), множественные очаги во всех сегментах печени, а также 2 крупных очага — по правому краю резекции печени и между S7 и S8 (МРТ) (рис. 1).

* — авторы внесли равный вклад в работу

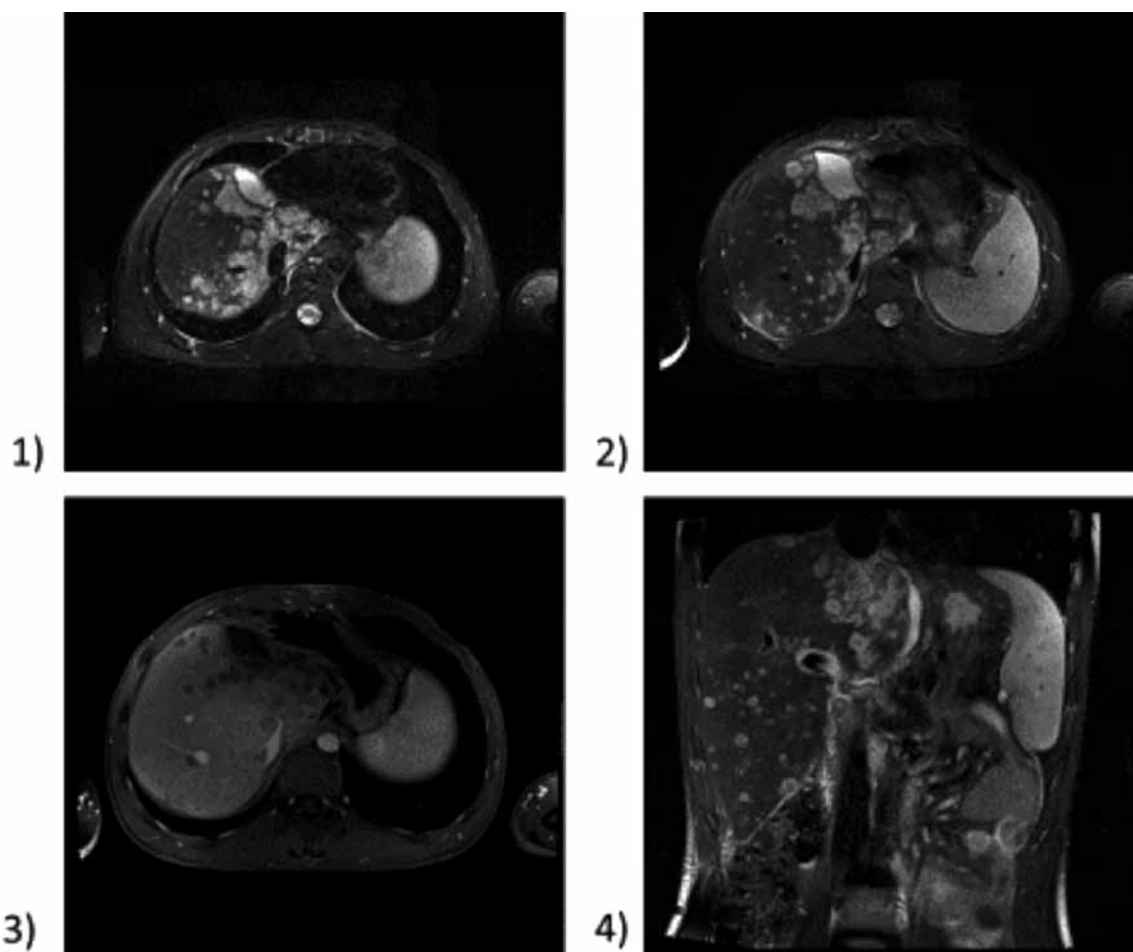


Рис. 1. Пациент М.; МРТ от 09.02.15

С целью поиска вариантов «терапии спасения» было выполнено молекулярно-генетическое исследование образцов удаленной в 12.2015 г. рецидивной опухоли пациента: произведен поиск мутаций в «горячих точках» генов *EGFR*, *KRAS*, *NRAS*, *BRAF*, *PIK3CA*, *IDH1* и *IDH2*, транслокаций с участием генов *ALK*, *ROS1* и *FGFR1-FGFR4* и нарушений копийности генов *ERBB2 (HER2/Neu)* и *MET* (лаборатория ООО «Евроген», Москва). В опухолевых клетках выявлена транслокация с участием гена *ALK* (метод FISH, рис.2). С учетом быстрого прогрессирования заболевания, удовлетворительного состояния пациента в отсутствие клинически значимых отклонений в анализах крови, выявленного молекулярного нарушения, литературных данных о возможности достижения эффекта на таргетной терапии [17, 15, 21] при отсутствии стандартных лечебных опций, было принято решение о попытке таргетной терапии ингибитором ALK, и 10.02.2015 года пациенту была начата терапия кризотинибом по 250 мг 2 раза в день. В отсутствие официальных рекомендаций по лечению рефрактерной к цитостатикам ХК, при согласии пациента и его родителей, это лечение было начато при поддержке благотворительного обще-

ства (предоставлен кризотиниб), а, в последующем, Департамента здравоохранения г. Москвы.

Через 2 мес. лечения кризотинибом (МРТ от 04.2015 г., рис. 3) зафиксирован выраженный эффект в виде сокращения количества и размеров множественных опухолевых узлов во всех оставшихся сегментах печени. Суммарный объем измеримых опухолевых очагов уменьшился на 26,5%. Наиболее крупный очаг, располагавшийся по правому краю резекции печени, уменьшился в размере более чем на 50% (был: 57x79 мм; стал: 38x65 мм), аналогичный очаг между S7 и S8 печени также уменьшился (был: 42x18 мм; стал: 36x13 мм). По данным КТ грудной клетки от 09.04.2015 — положительная динамика в виде уменьшения количества и размеров ранее выявленных очагов в легких. Зарегистрирован объективный ответ опухоли на лечение — положительная динамика в рамках стабилизации. Побочных эффектов терапии отмечено не было, лечение продолжено в прежней дозе.

В конце мая 2015 г. состояние пациента ухудшилось — появились жалобы на головную боль, не снимающуюся анальгетиками, тошноту и общую слабость; МРТ головного мозга не выявило каких-либо патологических объемных об-

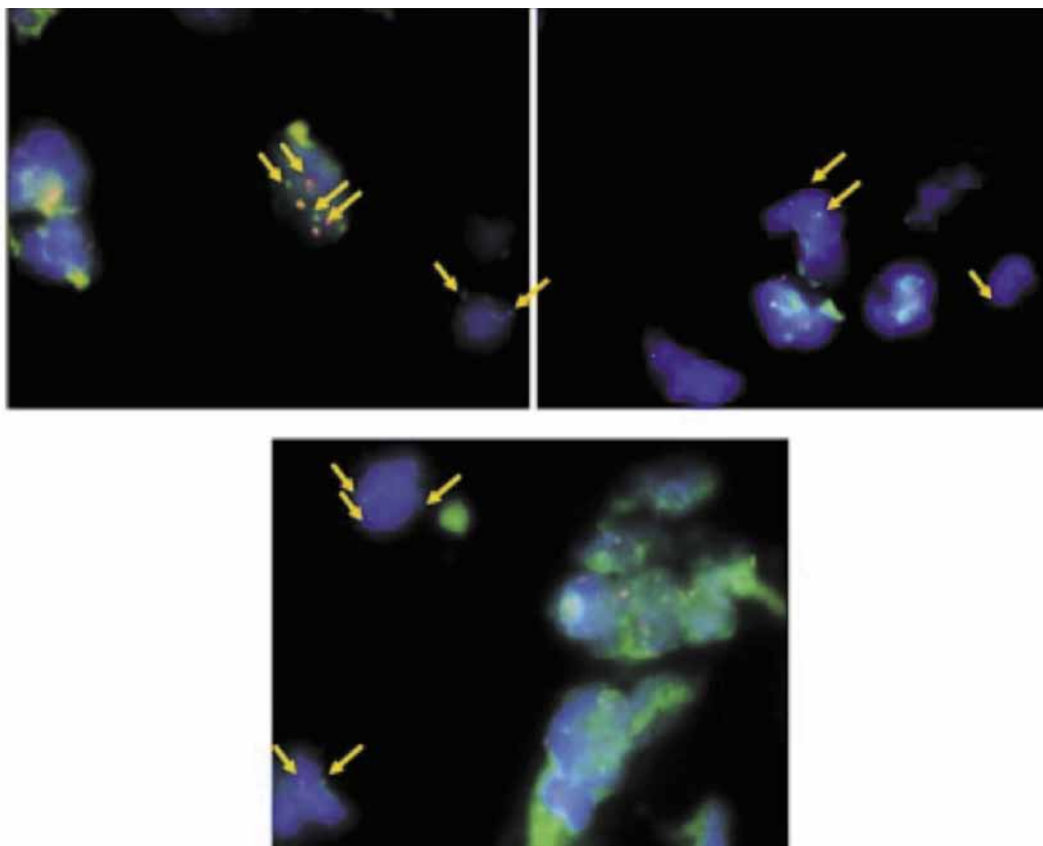


Рис. 2. Результаты FISH-исследования пациента М. Использованы флуоресцентные зонды для детекции транслокаций с участием гена *ALK* (реагенты серии XL; MetaSystems GmbH, Германия). Стрелками отмечены отдельные оранжевые и зеленые сигналы, присутствие которых указывает на наличие транслокации в опухолевых клетках

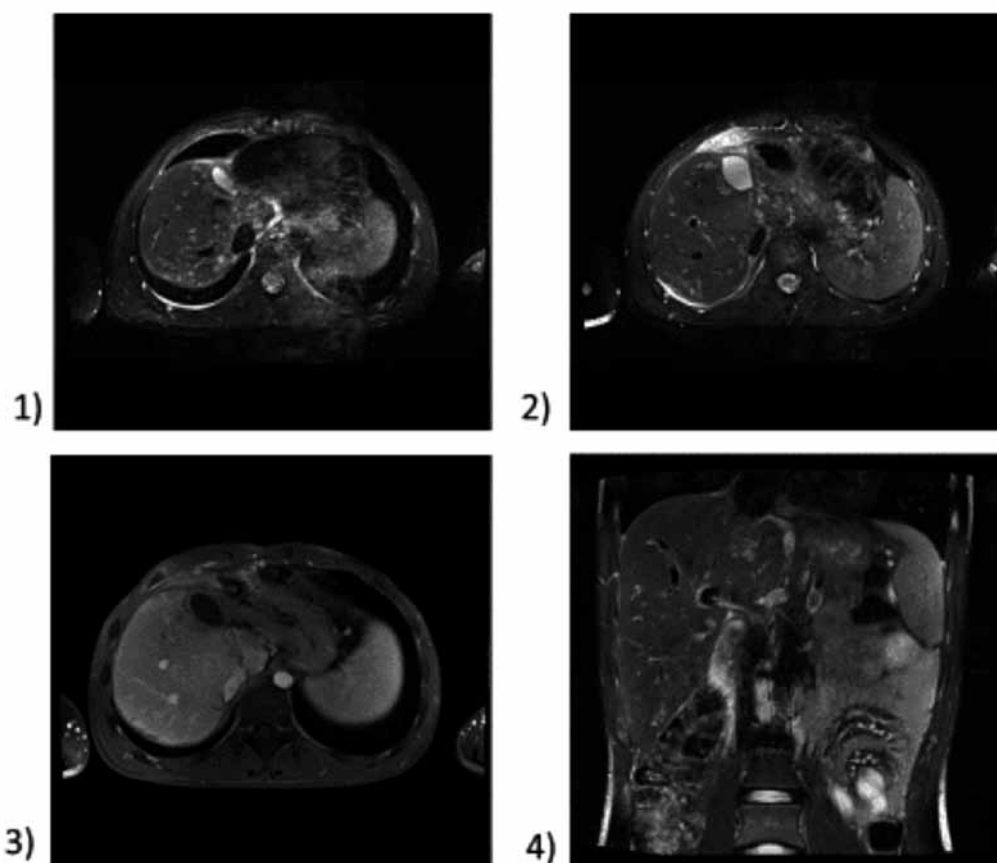


Рис. 3. МРТ пациента М. от 09.04.15. Положительный эффект от лечения кризотинибом

разований. Уже в начале июня 2015 г. появились жалобы на двоение и помутнение в глазах, что поначалу интерпретировалось как побочный эффект кризотиниба. Обследование в 06.2015 (КТ и МРТ) выявило незначительное увеличение (стабилизация) размеров очагов в легких и во всех сегментах печени; в отсутствие альтернативы терапия кризотинибом была продолжена.

В начале июля 2015 г. у пациента на коже волосистой части головы появился опухолевый узел размером около 2 см (цитологическое исследование — злокачественное новообразование негемопоэтической природы, вероятнее всего, метастаз). В связи с прогрессированием опухолевого процесса (асцит, правосторонний плеврит) продолжение терапии кризотинибом было признано нецелесообразным. Вследствие быстрого ухудшения объективного состояния пациент был госпитализирован для симптоматического лечения, и 19.07.2015 была зарегистрирована смерть от прогрессирования холангиокарциномы.

Обсуждение

Анализ доступной литературы позволил нам считать это клиническое наблюдение первым случаем обнаружения транслокации гена *ALK* в клетках метастатической ХК, эффективно леченным таргетной терапией кризотинибом. Приведенное клиническое наблюдение демонстрирует возможность эффективного контроля при проведении молекулярно-направленного лекарственного лечения метастатической ХК, направленного на подавление «драйверного» нарушения, обнаруженного по результатам широкого молекулярно-генетического профилирования опухолевой ткани. Быстрый объективный эффект был достигнут в результате «таргетирования» ингибитором тирозинкиназы рецептора АЛК, во многом случайно выявленной в нетипичной для данного вида опухолей активирующей мутации в ткани редкой для подросткового возраста опухоли, развившейся на фоне врожденного хронического вирусного гепатита В у 17-летнего пациента. Вместе с тем, кратковременность описанного противоопухолевого эффекта таргетной терапии показывает, что в данной области необходимы серьезные дальнейшие исследования на стыке фундаментальной и клинической онкологии.

«Драйверные» онкогенные мутации не являются строго тканеспецифичными; поэтому мы можем наблюдать схожий мутационный профиль, близкие механизмы канцерогенеза и опухолевой прогрессии, а также сопоставимый уровень чувствительности опухолевых клеток к одним и тем же таргетным препаратам при таких гистогене-

тически несхожих злокачественных опухолях, как, например, меланома, немелкоклеточный рак легкого, колоректальный рак, злокачественные глиомы и некоторые лимфопролиферативные заболевания. К примеру, во всех этих опухолях, хотя и с разной частотой, встречаются активирующие мутации в кодоне 600 гена *BRAF* и в этом случае вне зависимости от гистогенеза конкретной опухоли мы можем говорить о высокой чувствительности опухолевых клеток к ингибиторам мутантного белка *BRAF* — вемурафенибу и дабрафенибу [12]. Встречается данная мутация и при ХК; коллегами [17] и нами [1] описаны случаи достижения длительного полного ответа у пациентов с *BRAF*-мутированной метастатической ХК при использовании соответствующей таргетной терапии.

Аналогично, транслокации с участием гена *ALK* встречаются при немелкоклеточном раке легкого, анапластической лимфоме, воспалительной миофибробластической опухоли, раке щитовидной железы, раке молочной железы, колоректальном раке, светлоклеточном раке почки. Во всех случаях мы можем говорить о потенциальной чувствительности опухолевых клеток к таргетной терапии, а именно к ингибиторам ферментативной активности белка *ALK*, к уже зарегистрированным (кризотиниб, бригаитиниб, церитиниб и алектиниб) и находящимся на II–III фазах клинических исследований препаратам (лорлатиниб, энсартииниб и форетиниб) [3, 10 и др.]. Механизм их действия во всех случаях связан с блокировкой передачи сигнала от патологически активированного белка *ALK* на ряд внутриклеточных белков, активирующих нисходящие внутриклеточные сигнальные каскады *MAPK*, *PIK3*, *STAT* и некоторые другие. В норме эта активация происходит только в случае получения клеткой соответствующего сигнала в виде молекул белков-лигандов (для *ALK* такими лигандами являются, прежде всего, плейотропин и мидкин); причем, в норме белок *ALK* нарабатывается (экспрессируется) только в клетках эмбриона и в нейронах, но не в других клетках и тканях взрослого организма. Однако, в случае активирующей транслокации образуется новый функционально активный онкоген, кодирующий химерный белок, составленный из фрагмента гена-партнера и тирозинкиназного домена гена *ALK*. Благодаря наличию тирозинкиназного домена гена *ALK* этот химерный белок обладает способностью передавать внутриклеточный сигнал, а наличие фрагмента гена-партнера, во-первых, обеспечивает непрерывность сигнала, независимо от наличия соответствующих внеклеточных стимулов, а во-вторых, нарабатывается в опухолевых клетках в большом количестве. В результате мы можем наблюдать в опухолевых

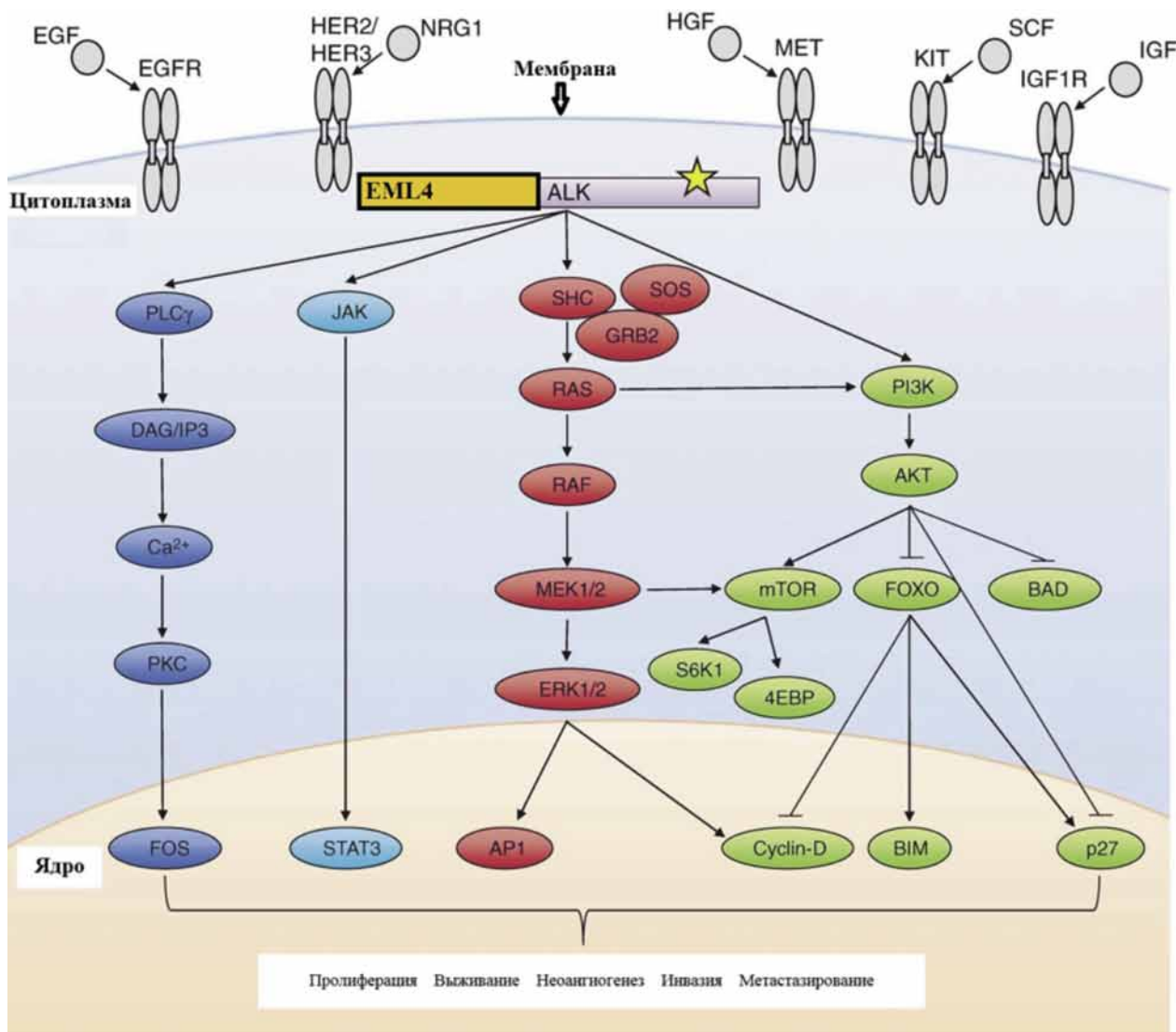


Рис. 4. Последствия транслокации с участием гена *ALK* для внутриклеточной физиологии на примере транслокации *EML4-ALK* (по [16], с незначительными изменениями)

клетках с транслокацией *ALK* постоянную активацию ряда внутриклеточных каскадов, которая вызывает неконтролируемую пролиферацию этих клеток, их устойчивость к апоптозу, формирование новых питающих опухоль кровеносных сосудов, способность опухолевых клеток к инвазии, интравасации, метастазированию и др. (см. рис. 4).

Транслокации с участием гена *ALK* при ХК до настоящего наблюдения не были описаны в научной литературе. Однако в клетках ХК достаточно регулярно (в 5–10% случаев) обнаруживаются транслокации с участием гена *ROS1* [9, 19], которые демонстрируют максимальное структурное и функциональное сходство с транслокациями *ALK* [20], что также делает опухолевые клетки потенциально чувствительными к кризотинибу [10, 20]. Также в литературе описан один случай точечной активирующей мутации в гене *ALK* в ткани метастатической вне-

печеночной ХК с быстрым прогрессированием [22]. В настоящее время идет набор пациентов как минимум в 2 клинических исследования по терапии кризотинибом или церитинибом у пациентов с метастатической ХК с активацией *ROS1* или *ALK* [26, 27]; сведений о результатах этих или подобных клинических исследований в доступной литературе нам обнаружить не удалось.

Кратковременность полученного эффекта кризотиниба в описанном нами случае может объясняться одним из многих различных механизмов [7, 16], в числе которых следует отметить прежде всего:

- 1) тканеспецифические особенности передачи внутриклеточного сигнала в клетках ХК (аналогичные явления описаны для мутаций *BRAF* при ХК и при колоректальном раке [11, 24 и др.]);
- 2) появление в опухолевых клетках на фоне терапии кризотинибом дополнительной мутации в гене *ALK*, препятствующей связыванию бел-

ка ALK с кризотинибом (подобно тому, как это происходит в ALK-положительной аденокарциноме легкого [3, 10, 20]);

3) внутриопухолевую гетерогенность [22] — наличие в опухоли популяции клеток без транслокации *ALK*, которые в условиях терапии кризотинибом могли получить избирательное преимущество с точки зрения выживания и пролиферации.

Уточнение конкретного механизма формирования приобретенной резистентности путем молекулярного тестирования образца опухолевой ткани, полученного при прогрессировании, могло бы дать основания для подбора следующей линии таргетной терапии — подобно тому, как это сейчас делается для *ALK*- и *EGFR*-положительного немелкоклеточного рака легкого, *KIT*-положительных гастроинтестинальных стромальных опухолей, *BCR-ABL*-положительного хронического миелоидного лейкоза и некоторых других опухолей [4, 6, 18, 23]. К сожалению, в июне-июле 2015 г. проведение подобного молекулярного тестирования прогрессирующей опухоли было невозможно по техническим причинам, а таргетные препараты, потенциально активные в отношении белка ALK при кризотиниб-рефрактерном процессе, в то время не были доступны в РФ вне рамок мультицентровых исследований, включавших только пациентов с немелкоклеточным раком легкого.

Описанный клинический случай подтверждает необходимость планирования и проведения клинических исследований, нацеленных на поиск потенциально таргетируемых молекулярных нарушений-«драйверов» при различных злокачественных новообразованиях. Применение препаратов, использующих молекулярно-генетическую «уязвимость» опухолевых клеток без привязки к органопринадлежности, может значительно улучшить результаты противоопухолевого лечения ряда злокачественных опухолей, включая, в том числе и метастатическую химиорезистентную холангиокарциному.

Сегодня технические возможности молекулярного профилирования опухолей и вероятность выявления мишеней для таргетной терапии в разных опухолях значительно выросли. Уже сегодня необходимо обсуждать правомочность внесения молекулярно-направленного лечения безотносительно органопринадлежности опухоли в официальные рекомендации профессиональных медицинских сообществ, как средство внедрения в широкую клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Перегудова М.В., Зарецкий А.Р., Бредер В.В. и др. Эффективность таргетной терапии у пациентки с BRAF-положительной метастатической холангиокарциномой // ЭКГ. — 2017. — № 144 (8). — С. 87–90.
2. Моисеенко В.М. Практические рекомендации по лекарственному лечению злокачественных опухолей (RUSSCO) // Общероссийская общественная организация «Российское общество клинической онкологии». — 2015. — С. 456.
3. Awad M., Shaw A. ALK Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer: Crizotinib and Beyond // Clin. Adv. Hematol. Oncol. — 2014. — Vol. 12. — P. 429–439.
4. Bauer S., Joensuu H. Emerging Agents for the Treatment of Advanced, Imatinib-Resistant Gastrointestinal Stromal Tumors: Current Status and Future Directions // Drugs. — 2015. — Vol. 75(12). — P. 1323–1334.
5. Charbel H., Al.Kawas F.H. Cholangiocarcinoma: epidemiology, risk factors, pathogenesis, and diagnosis // Curr. Gastroenterol Rep. — 2011. — Vol. 13. — P. 182–187.
6. Clark J.W., Chabner B.A. Limits to Precision Cancer Medicine // N. Engl. J. Med. — 2017. — Vol. 376(1). — P. 96.
7. Duchemann B., Friboulet L., Besse B. Therapeutic management of ALK+ non-small cell lung cancer patients // EurRespir. J. — 2015. — Vol. 46(1). — P. 230–242.
8. Gao X., Le X., Costa D.B. The safety and efficacy of osimertinib for the treatment of EGFR T790M mutation positive non-small-cell lung cancer // Expert. Rev. Anticancer. Ther. — 2016. — Vol. 16(4). — P. 383–390.
9. Gu T.L., Deng X., Huang F. et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma // PLoSOne. — 2011. — Vol. 6(1). — e15640.
10. Holla V., Elamin Y., Bailey A. et al. R. ALK: a tyrosine kinase target for cancertherapy // Cold Spring HarbMol. Case Stud. — 2017. — Vol. 3 (1). — doi: 10.1101/mcs.a001115.
11. Hong D.S., Morris V.K., El Osta B. et al. Phase 1B Study of Vemurafenib in Combination with Irinotecan and Cetuximab in Patients with Metastatic Colorectal Cancer with BRAF V600E Mutation // Cancer Discov. — 2016. — Vol. 6 (12). — P. 1352–1365.
12. Hyman D., Puzanov I., Subbiah V. et al. Vemurafenib in Multiple Nonmelanoma Cancers with BRAF V600 Mutations // N. Engl. J. Med. — 2015. — Vol. 373 (8). — P. 726–736.
13. Javle M., Bekaii-Saab T., Jain A. et al. Biliary Cancer: Utility of Next-Generation Sequencing for Clinical Management // Cancer. — 2016. — P. 3838–3847.
14. Kayhanian H., Smyth E., Braconi C. Emerging molecular targets and therapy for cholangiocarcinoma // World J. Gastrointest. Oncol. — 2017. — Vol. 9(7). — P. 268–280.
15. Law L. Dramatic Response to Trastuzumab and Paclitaxel in a Patient With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Metastatic Cholangiocarcinoma // J. Clin. Oncol. — 2015. — Vol. 30(27). — P. 271–273.
16. Lin J.J., Riely G.J., Shaw A.T. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance // Cancer Discov. — 2017. — Vol. 7(2). — P. 137–155.
17. Loaza-Bonilla A., Clayton E., Furth E. et al. Dramatic response to dabrafenib and trametinib combination in a BRAF V600E-mutated cholangiocarcinoma: implementation of a molecular tumour board and next-generation sequencing for personalized medicine // Ecanermediscience. — 2014. — Vol. 8. — P.479.
18. Lussana F., Intermesoli T., Stefanoni P., Rambaldi A. Mechanisms of Resistance to Targeted Therapies in Chronic

- Myeloid Leukemia // *HandbExpPharmacol.* — 2017. — doi:10.1007/164_2017_81.
19. PeraldoNeia C., Cavalloni G., Balsamo A. et al. Screening for the FIG-ROS1 fusion in biliary tract carcinomas by nested PCR // *Genes Chromosomes Cancer.* — 2014. — Vol. 53(12). — P. 1033–1040.
 20. Puig de la Bellacasa R., Karachaliou N., Estrada-Tejedor R. et al. ALK and ROS1 as a joint target for the treatment of lung cancer: a review // *Transl. Lung Cancer Res.* — 2013. — Vol. 2(2). — P. 72-86.
 21. Putra J., de Abreu F.B., Peterson J.D. et al. Molecular profiling of intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma using next generation sequencing // *ExpMolPathol.* — 2015. — Vol. 99(2). — P. 240–244.
 22. Ruzzenente A., Fassan M., Conci S. et al. Cholangiocarcinoma Heterogeneity Revealed by Multigene Mutational Profiling: Clinical and Prognostic Relevance in Surgically Resected Patients // *Ann SurgOncol.* — 2016. — Vol. 23(5). — P. 1699-1707.
 23. Schram A.M., Chang M.T., Jonsson P. Drilon A. Fusions in solid tumours: diagnostic strategies, targeted therapy, and acquired resistance // *Nat. Rev. ClinOncol.* — 2017. — Vol. 14(12). — P. 735-748.
 24. Silkin S., Startsev S., Krasnova M. et al. Complete Clinical Response of BRAF-Mutated Cholangiocarcinoma to Vemurafenib, Panitumumab, and Irinotecan // *J. Gastrointest. Cancer.* — 2015. — Vol. 47(4). — P. 502-505.
 25. Valle J., Wasan H., Palmer D.H. et al. Cisplatin plus gemcitabine versus Gemcitabine for biliary tract cancer // *N. Engl. J. Med.* — 2010. — Vol. 362. — P. 1273-1281.
 26. Phase 2 Study Assessing Efficacy and Safety of Crizotinib in Patients Harboring an Alteration on ALK, MET or ROS1. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034981> (дата обращения 24.01.2017).
 27. A Phase II Trial of LDK378 in ROS1 and /or ALK Over-expressed Advanced Intrahepatic or Hilar Cholangiocarcinoma. URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02374489> (дата обращения 24.01.2017).

*V.V. Breder¹, I.A. Dzhanyan¹, M.V. Natrusova⁴,
A.R. Zaretsky^{2,3}, K.K. Laktionov¹*

Metastatic cholangiocarcinoma as a target of molecular-directed therapy

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University

³Ltd. EvrogenLab

⁴Lomonosov Moscow State University Moscow

It is reported a unique clinical case of administration of crizotinib in a 14-year-old patient with ALK-positive metastatic cholangiocarcinoma and congenital viral hepatitis B. Driver oncogenic mutations potentially responsive to targeted therapy as well as possible ways to prolong crizotinib short-term effect are discussed.

Key words: cholangiocarcinoma, ALK-gene translocation, crizotinib

Поступила в редакцию 12.02.2018 г.