

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОБОСНОВАНИЯ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

Член-корреспондент РАМН СЕМИГЛАЗОВ В. Ф., ИМЯНИТОВ Е. Н., ДАШЯН Г. А., СЕМИГЛАЗОВ В. В., МАЦКО Е. Д., ИВАНОВ В. Г., БОЖОК А. А., ПАЛТУЕВ Р. М., ВОСКРЕСЕНСКИЙ Д. А., ШАМИНА Е. А.

ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова Росмедтехнологий»,

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова»,
Санкт-Петербург

Семиглазов В. Ф., Имянитов Е. Н., Дашян Г. А., Семиглазов В. В., Мацко Е. Д., Иванов В. Г., Божок А. А., Палтуев Р. М., Воскресенский Д. А., Шамина Е. А. Молекулярно-генетические обоснования гетерогенности злокачественных опухолей // Мед. акад. журн. 2009. Т. 9. № 4. С. 37–40. ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. проф. Н. Н. Петрова Росздрава», Санкт-Петербург, 197758, п/о Песочный-2, ул. Ленинградская, д. 68; ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова», Санкт-Петербург, 197022, ул. Л. Толстого, 6/8.

Молекулярная гетерогенность онкологических заболеваний в наиболее полной мере получила развитие в клинике лейкозов (открытие «филадельфийской хромосомы» – транслокация 9-й и 22-й хромосомы). Молекулярный анализ позволил выделить несколько подтипов рака молочной железы: 1) люминальный А (явно гормоночувствительный), 2) люминальный В (относительно гормонозависимый), 3) рак молочной железы с высокой экспрессией HER2/neu, 4) базально-подобный рак (часто у больных с мутацией BRCA 1, отсутствием экспрессии HER 2, ER, PR). Молекулярно-генетические подтипы рака отличаются по прогнозу и ответу на различные типы терапии. Многие открытые факторы роста оказались мишенями для успешной таргетной терапии.

Ключевые слова: рак, молекулярная гетерогенность, таргетная терапия.

Semiglazov V. F., Imyanitov E. N., Dashyan G. A., Semiglazov V. V., Mazcko E. D., Ivanov V. G., Bojok A. A., Paltuyev R. M., Voskresenskiy D. A., Shamina E. A. Molecular genetic basis of malignant tumor heterogeneity // Med. Acad. Journ. 2009. Vol. 9. № 4. P. 37–40. N. N. Petrov Institute of Oncology, St. Petersburg, 197758; I. P. Pavlov State Medical University, 197022, St. Petersburg.

Molecular heterogeneity of oncological diseases is revealed to the greatest extent in the case of leucosis (the discovery of «Philadelphia chromosome», i.e. translocation between the 9th and 22nd chromosome). Molecular analysis has allowed defining several subtypes of breast cancer: (i) luminal A (clearly hormone-sensitive), (ii) luminal B (relatively hormone-sensitive), (iii) breast cancer with an upregulation of HER2/neu, (iv) basal-like cancer (frequent in patients with BRCA1 mutation and without HER 2, ER and PR expression). Molecular genetic cancer subtypes differ in their prognosis and responsiveness to various therapies. Many of the discovered growth factors have proved to be targets for successful therapy.

Key words: cancer, molecular heterogeneity, target therapy.

Непредсказуемость течения онкологических заболеваний отмечалась врачами с момента зарождения клинической онкологии. Действительно, известны случаи, когда относительно благополучные (небольшие) опухоли распространялись в считанные месяцы и приводили к гибели больного, в то время как отдельные пациенты с далеко запущенной стадией злокачественного процесса годами оставались в стабильном состоянии. В еще большей степени подобная гетерогенность опухоли проявляется в неодинаковом, опять же плохо предсказуемом ответе на проводимую терапию. В чем причина данного феномена? Как минимум, одним из объяснений могут считаться появившиеся недавно сведения о существовании различных молекулярных вариантов патогенеза одних и тех же разновидностей новообразований. Подобное явление можно сравнить с существованием фенокопий в классической генетике;

фенокопиями называются одинаковые по своему проявлению признаки, которые кодируются разными генами. По аналогии, в контексте молекулярной классификации онкологических заболеваний речь идет о существовании молекулярного разнообразия опухолей, характеризующихся одинаковыми клиническими проявлениями и морфологическими характеристиками.

Представления о молекулярной гетерогенности онкологических заболеваний в наиболее полной мере получили развитие в клинике лейкозов. Молекулярная диагностика стала неотъемлемым компонентом современной онкогематологии. Действительно, на сегодняшний день практически любое клиническое описание гемобластоза сопровождается идентификацией и характеристикой хромосомной транслокации, лежащей в основе патогенеза заболевания. Наиболее ярким примером успеха подобного подхода является

ся эволюция знаний о хроническом миелолейкозе (ХМЛ). Несколько десятилетий назад цитогенетики обнаружили характерную для данного заболевания хромосомную перестройку – транслокацию 9-й и 22-й хромосом («филадельфийскую хромосому»). Данное открытие было моментально внедрено в дифференциальную диагностику лейкозов: присутствие вышеупомянутой транслокации стали расценивать как маркер ХМЛ. Развитие методов молекулярной генетики позволило идентифицировать гены, вовлеченные в данную перестройку, – BCR и ABL. Оказалось, что биохимический смысл формирования «филадельфийской хромосомы» – активация гена ABL. Последовавшая вслед за этими исследованиями разработка специфического ингибитора тирозинкиназы ABL – препарата Гливек (Glivec, Gleevec-imatinib) – революционизировала лечение хронических миелолейкозов, позволив при помощи нетоксичных, легко переносимых терапевтических воздействий достигать длительных ремиссий и полного излечения от данного заболевания [4].

Интересно, что создание Гливека неожиданно привело к дальнейшему усовершенствованию молекулярной классификации опухолей. Оказалось, что Гливек проявляет исключительную активность по отношению к опухолям, у которых присутствует мутация в онкогене KIT. Подобное молекулярное событие характерно для так называемых гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСТ). Существенно, что до изобретения Гливека дифференциальная диагностика между ГИСТ и сходными разновидностями сарком практически не проводилась – соответствующие усилия не имели никакого клинического смысла и не были подкреплены достаточным арсеналом диагностических методов. Открытие ассоциации между активацией онкогена KIT и терапевтическим ответом на Гливек позволило расценивать гиперэкспрессию и мутационные повреждения данного гена как маркер принадлежности мезенхимальной опухоли к категории ГИСТ. Данный пример прекрасно иллюстрирует роль прогресса молекулярной онкологии в развитии методов диагностики и лечения новообразований [14].

Еще одним интересным примером молекулярной гетерогенности опухолей являются новообразования толстой кишки. Примерно 10–15% карцином этого органа характеризуются феноменом так называемой микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI). Для MSI⁺-неоплазм характерен резкий контраст между морфологическим диагнозом и клиническим течением заболевания: в то время как гистологическое исследование MSI⁺-карцином выявляет чрезвычайно низкую степень дифференцировки, раки данного молекулярного подтипа отличаются относительно доброкачественным течением и низкой

чувствительностью к цитостатической химиотерапии. Таким образом, выявление MSI⁺-статуса опухолевой ткани является серьезным основанием для модификации плана лечения, в частности отказа от адьювантной химиотерапии [7].

Одно из самых гетерогенных заболеваний у человека – рак молочной железы (РМЖ). Исследования подтвердили, что давно известные клинические и фенотипические различия коррелируют с различиями на уровне экспрессии генов [8, 10]. Молекулярный анализ профиля РМЖ с использованием матричной технологии показал, что биологическая и клиническая гетерогенность РМЖ объясняется различиями генетического строения первичной опухоли. Применение микрочипов к ДНК и независимый анализ позволили выделить подтипы рака молочной железы с выраженными схемами экспрессии генов и различными прогнозами [9, 12], которые остаются актуальными как для первичной опухоли молочной железы, так и для метастазов [8, 13].

Пять основных подтипов рака молочной железы были выявлены путем иерархической классификации данных по регулярной экспрессии генов и включают в себя: 2 группы с положительным статусом эстрогеновых рецепторов, относящиеся к люминальным подтипам А и В, поскольку имеют с люминальными эпителиальными клетками схожие черты; 1 группу, в избытке экспрессирующую рецепторы HER2/neu; 1 группу, в которой экспрессия генов молочной железы остается в норме. Пятая выделенная группа представляет собой базальный подтип рака.

Тем не менее специалисты сходятся в том, что, хотя комплексная иерархическая классификация генов создает фундаментальную основу, схожую классификацию РМЖ (иммуногистохимический биоаналог) можно создать путем иммуногистохимического исследования операционного материала. Схема экспрессии белка нескольких биомаркеров, таких как эстрогеновые, прогестероновые рецепторы, рецепторы HER2, HER1 и цитокератины, может использоваться для распределения раков молочной железы по различным группам, которые могут соответствовать данным подтипам [2, 3, 5, 6]. Базальный подтип рака характеризуется определенными особенностями экспрессии генов, включая низкую экспрессию генов, связанных с гормональными рецепторами, и генов HER-2, и его часто называют «трижды негативным» раком молочной железы [10].

Выделение подтипов РМЖ имеет смысл не только для выбора терапии и оценки эффективности лечения, но и для прогнозирования, в том числе отдаленной, безрецидивной выживаемости.

В частности, РМЖ подразделяется на гормоночувствительную и гормононечувствительную формы. Для гормоночувствительного РМЖ харак-

эра-
пу-
для
а от

терно присутствие в опухолевой ткани рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR). Подобные опухоли зачастую протекают относительно благополучно: они отличаются умеренной скоростью роста и могут характеризоваться длительной ремиссией при использовании антиэстрогеновой терапии (в частности, в случае применения тамоксифена, ингибиторов ароматазы, инактиваторов гормональных рецепторов и т. д.).

че-
ния
фе-
ями
ый
ной
ес-
ями
ри-
лиз
езы
ич-
ль-
зы,

Ингибиторы ароматазы третьего поколения (анастрозол, летрозол, экземестан) являются сейчас неотъемлемой частью гормонотерапии постменопаузальных женщин с эндокриночувствительным РМЖ. Недавние результаты клинических исследований показывают преимущество этих препаратов над тамоксифеном. Однако наилучшие и оптимальные терапевтические стратегии адъювантного применения ингибиторов ароматазы пока не определены, особенно в отношении «последовательной» эндокринотерапии и продолжительности терапии свыше 5 лет.

езы
ции
ют
ро-
ым
ми
пу,
еи;
же-
ппа

Общий терапевтический индекс ингибиторов ароматазы выше, чем при лечении тамоксифеном, с доказанным улучшением эффективности и более безопасным профилем токсичности.

Тамоксифен уже не является «золотым стандартом» гормонотерапии постменопаузальных женщин с ER⁺ РМЖ, а ингибиторы ароматазы должны применяться у этой категории пациентов.

ито,
ге-
ас-
на-
ого
кс-
как
еп-
зо-
по
ать
ака
кс-
ов,
нов
им»

В то же время выраженные ответы ER⁺/PR⁺ РМЖ на назначение цитостатических препаратов регистрируются редко [1]. В противоположность эндокринозависимым РМЖ, гормононечувствительные опухоли отличаются отсутствием или низкой экспрессией рецепторов стероидных гормонов. Подобной разновидности РМЖ присущи стремительный рост, агрессивное течение, отсутствие эффекта антиэстрогеновых воздействий, но нередко выраженная чувствительность к химиотерапии. К сожалению, быстрая ремиссия заболевания под воздействием лечения цитостатиками может сопровождаться скорым и стремительным рецидивом злокачественного процесса.

ль-
ле-
да-

И, наконец, третьей, клинически значимой молекулярной разновидностью РМЖ являются опухоли, характеризующиеся активацией онкогена HER2 (ERBB2). Для новообразований этой группы типично стремительное метастазирование. Значительным успехом онкологии является разработка и внедрение препарата трастузумаб (Герцептин®), представляющего из себя антитело к рецептору HER2.

мо-
ую
ак-

В целом представленные данные крупных исследований адъювантного применения Герцептина подтверждают первые сообщения 2005 г.: биологическая терапия, направленная против специфического

амплифицированного гена HER 2/neu или сверхэкспрессированного рецепторного протеина, полезна у женщин с HER 2/neu-положительным РМЖ, когда препарат назначается после завершения адъювантной химиотерапии или одновременно с ней. Очевидный выигрыш в выживаемости даже в столь короткие сроки наблюдения свидетельствует о высоком потенциале такого подхода и целесообразности специфической терапии, направленной на конкретные мишени (target) при РМЖ и других злокачественных опухолях.

В Международном исследовании NOAH с участием НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова (Санкт-Петербург) исследовалась роль трастузумаба в комбинации с химиотерапией у больных с HER 2/neu-позитивной местнораспространенной или воспалительной карциномой молочной железы [1]. Оно представляло собой рандомизированное клиническое испытание, сравнивающее одностороннее адъювантное и адъювантное лечение трастузумабом в комбинации с последовательной (10 циклов) неoadъювантной химиотерапией, включавшей доксорубин, паклитаксел, циклофосфамид, метотрексат и 5-фторурацил с такой же химиотерапией (но без трастузумаба) у больных с HER 2/neu-позитивным местнораспространенным или воспалительным раком молочной железы. Параллельная группа больных такими же формами РМЖ с HER 2/neu-негативными опухолями получала одну химиотерапию по той же схеме. В исследование включено 327 больных: 228 больных с HER 2/neu-позитивным заболеванием (115 больных, получавших трастузумаб + химиотерапию, 113 – одну химиотерапию) и 99 больных с HER 2/neu-отрицательными опухолями, получавших такую же химиотерапию. После среднего периода наблюдения 3 года отмечено достоверное улучшение безрецидивной выживаемости на 44% (HR 0.56, p=0.006) среди получавших дополнительно трастузумаб. Трастузумаб также явно увеличивал частоту полного патоморфологического регресса первичной опухоли (pCR) и регионарных метастазов при HER2+ опухолях (43% против 23%, p=0.001). Трастузумаб хорошо переносился больными и, несмотря на одновременное назначение доксорубина, только у 2% больных развилась симптомная сердечная недостаточность.

Таким образом, добавление таргетной терапии трастузумабом к неoadъювантной химиотерапии значительно и достоверно улучшает ответ на лечение, приводя к увеличению выживаемости у больных с HER2-положительным местнораспространенным или воспалительным РМЖ.

Исследования показали более низкие показатели общей и безрецидивной выживаемости в подгруп-

пе триждынегативных РМЖ в сравнении с другими подтипами РМЖ, исключая HER2+ РМЖ.

Мониторинг за пациентами с триждынегативным РМЖ выявил, что в течение первых 3 лет после терапии у них часто развиваются отдаленные метастазы, включая метастазы в ЦНС.

Таргетная терапия. В настоящее время проводятся клинические исследования целого ряда новых молекулярных «мишеней» и испытания соответствующих препаратов, направленных на эти мишени. Есть надежда, что таргетная (биологически направленная) терапия обеспечит лучший контроль заболевания с применением менее токсичных видов терапии и что сочетание таргетной терапии с цитотоксической химиотерапией облегчит индивидуализацию лечения триждынегативного РМЖ.

К многообещающим таргетным разработкам относятся антиангиогенезные препараты, антиEGFR-таргетные агенты, поли(ADP-рибоза)полимераз (PARP) ингибиторы и ингибиторы метаболического пути Р1ЗК.

Антиангиогенная терапия. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor – VEGF) является наиболее мощным специфичным стимулятором ангиогенеза из всех известных и служит ключевым регулятором формирования новых кровеносных сосудов при эмбриогенезе, росте скелета и реализации репродуктивной функции. Он также участвует в патологическом ангиогенезе, в частности связанном с ростом опухоли.

Эти данные свидетельствуют о том, что подавление механизма VEGF может оказаться полезным при лечении таких заболеваний. Другими словами, VEGF является той мишенью, воздействие на которую может тормозить опухолевую прогрессию и распространение по органам.

Одним из таких подходов «таргетной» (антиангиогенной) терапии является использование моноклональных антител к VEGF, в частности препарат бевацизумаб [1–5].

В целом следует подчеркнуть, что за последнее время коренным образом изменился стандарт формулирования диагноза РМЖ. Если еще 10–15 лет назад считалось допустимым ограничивать описание РМЖ клиническими и морфологическими особенностями (TNM-стадия, гистологический тип, степень дифференцировки и т. д.), то сейчас определение молекулярных мишеней статус упомянутых выше рецепторов является неотъемлемым компонентом диагностики РМЖ. Подобные требования связаны с разработкой терапевтических средств, избирательно

поражающих определенные молекулярные подтипы опухолей молочной железы.

Литература

1. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Клетсель А.Е. Неoadъювантное и адъювантное лечение рака молочной железы. МИА, 2008. 288 с.
2. Abd El-Rehim D.M., Pinder S.E., Paish C.E. et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma // J. Pathol. 2004. Vol. 203. P. 661–671.
3. Callagy G., Cattaneo E., Daigo Y. et al. Molecular classification of breast carcinomas using tissue microarrays // Diagn. Mol. Pathol. 2003. Vol. 12. P. 27–34.
4. Gora-Tybor J., Robak T. Targeted drugs in chronic myeloid leukemia // Cur. Med. Chem. 2008. Vol. 15 (29). P. 3036–3051.
5. Jacquemier J., Ginestier C., Rougemont J. et al. Protein expression profiling identifies subclasses of breast cancer and predicts prognosis // Cancer Res. 2005. Vol. 65. P. 767–779.
6. Nielsen T.O., Hsu F.D., Jensen K. et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma // Clin. Cancer Res. 2004. Vol. 10. P. 5367–5374.
7. Ogino S., Goel A. Molecular classification and correlates in colorectal cancer // J. Mol. Diagn. 2008 (Jan). Vol. 10 (1). P. 13–27.
8. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumors // Nature. 2000. Vol. 406. P. 747–752.
9. 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. USA. 2001. Vol. 98. P. 10869–10874.
10. Sorlie T., Tibshirani R., Parker J. et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100. P. 8418–8423.
11. Sorlie T. Molecular portraits of breast cancer: Tumour subtypes as distinct disease entities // Eur. J. Cancer. 2004. Vol. 40. P. 2667–2675.
12. Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M. et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100. P. 10393–10398.
13. Weigelt B., Glas A.M., Wessels L.F. et al. Gene expression profiles of primary breast tumors maintained in distant metastases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2003. Vol. 100. P. 15901–15905.
14. Yang J., Du X., Lazar A.J. et al. Genetic aberrations of gastrointestinal stromal tumors // Cancer. 2008 (Oct). Vol. 113 (7). № 1. P. 1532–1543.