

В.О. БАШЛЫК, А.Г. КУДАЙБЕРГЕНОВА, к.м.н., А.С. АРТЕМЬЕВА, к.м.н., А.Л. МУРАВЦЕВА, В.С. ЧИРСКИЙ, д.м.н., профессор, Т.Ю. СЕМИГЛАЗОВА, д.м.н., В.В. КЛИМЕНКО, к.м.н., В.Ф. СЕМИГЛАЗОВ, чл.-корр. РАН, д.м.н., профессор
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

СМЕНА ФЕНОТИПА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (ER, PR, HER2) ПОСЛЕ НЕОАДЪЮВАНТНОГО ЛЕЧЕНИЯ

Цель: исследовать фенотип рака молочной железы (ER/PR, FOXA1, HER2, Ki67), а также динамику изменений данных маркеров в опухоли до и после неoadъювантной химиотерапии (НХТ), сравнить их с метастазами в регионарных лимфоузлах (ЛУ). **Материалы и методы.** Предметом исследования являлась группа пациентов с карциномами молочной железы, получавших НХТ по схемам ТАС и ТС, у которых на фоне лечения были выявлены метастазы в регионарных ЛУ (урN1,2,3). **Результаты.** Пациенты были разделены на три группы. Первая группа (n = 11, первичная опухоль и опухоль после НХТ). Конверсия экспрессии гормональных рецепторов была как в сторону увеличения (37,5%), так и в сторону снижения (62,5%). Экспрессия HER2 изменилась на 36,4%, только в сторону увеличения.

Вторая группа (n = 32, резидуальная опухоль и региональные метастазы). Конверсия гормональных рецепторов была отмечена в 12,5%. Экспрессия HER2 изменилась на 21,87%. В третьей группе (n = 11, первичная опухоль до начала НХТ и метастазы в ЛУ после лечения). Конверсия ER в 18,2% в виде полной потери, PR в 54,5%. Экспрессия HER2 возросла в 45,5%. Экспрессия FOXA1 оставалась стабильной во всех случаях после НХТ, где экспрессия гормональных рецепторов уменьшалась или исчезала. **Выводы.** В эру персонализированной терапии и НХТ патоморфологическое изучение иммуногистохимического статуса метастазов в ЛУ необходимо, поскольку почти в 20% случаев изменяется гормонально-рецепторный статус, при этом сигнальный путь для рецепторов стероидных гормонов сохраняется. Статус экспрессии онкопротеина HER2 изменяется почти в половине случаев при сравнении первичной биопсии и метастаза после проведенной НХТ.

Ключевые слова: рак молочной железы, неoadъювантная химиотерапия, иммунофенотип опухоли.

V.O. BASHLYK, A.G. KUDAIBERGENOVA, A.S. ARTEMYEVA, A.L. MURAVTSEVA, V.S. CHIRSKY, T.Yu. SEMIGLAZOVA, V.V. KLIMENKO, V.F. SEMIGLAZOV

N.N.Petrov National Medical Research Cancer Centre of Oncology, Federal State Budgetary Institution of the Ministry of Health of Russia, St. Petersburg

BREAST CANCER BIOMARKER (ER, PR, HER2) CHANGES IN THE PHENOTYPE AFTER NEOADJUVANT TREATMENT

Objective: to study the breast cancer phenotype (ER/PR, FOXA1, HER2, Ki67) and the dynamics of changes in these markers in the tumour before and after neoadjuvant chemotherapy (NAT), compare them with metastases in the regional lymph nodes (LN). **Materials and methods.** The subject of the study was a group of patients with breast carcinomas receiving NAT according to the TAC and TC regimens, who had metastases in regional LUs in the course of the treatment (urN1,2,3). **Results.** Patients were divided into three groups. The first group (n = 11, primary tumour and tumour after NAT). The conversion of hormone receptor expression was both upward (37.5%) and downward (62.5%). Expression of HER2 has only changed upward by 36.4%.

The second group (n = 32, residual tumour and regional metastases). The conversion of hormonal receptors was reported in 12.5%. Expression of HER2 has changed by 21.87%. In the third group (n = 11, the primary tumour before the onset of NAT and metastasis in LN after treatment). Conversion of ER in 18.2% in the form of a total loss, PR in 54.5%. Expression of HER2 increased by 45.5%. Expression of FOXA1 remained stable in all cases after NAT, where expression of hormonal receptors decreased or disappeared. **Conclusions.** In the era of personalized therapy and NAT, it is required to conduct a pathomorphological study of the immunohistochemical status of metastases in LN, since the hormone receptor status changes in almost 20% of cases, with the signal pathway for steroid hormone receptors remaining unchanged. The HER-2 oncoprotein expression status changes in almost half of cases when comparing the primary biopsy and metastasis after NAT.

Keywords: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, tumor immunophenotype.

В настоящее время рак молочной железы (PMЖ) устойчиво занимает лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности среди женщин, несмотря на то что это заболевание является наиболее изученным и изучаемым в онкологической практике [1]. Значительные успехи, достигнутые в лечении PMЖ, позволяют констатировать высокие показатели 5- и 10-летней выживаемости, а в оценках риска рецидива шкала продвигается уже к оценке 15-летних и более показателей выживаемости. В связи с этим интерес к метастатическим и рецидивным процессам после прове-

дения адекватной терапии и, казалось бы, успешного лечения приобретает особую актуальность. Несоответствие иммунофенотипа опухоли, определенного при первичном исследовании (трепан-биоптат) иммунофенотипа, полученного по результатам исследования в резидуальной опухоли в операционном материале после проведенного неoadъювантного лечения, нечасто встречается в повседневной практике. А сопоставление иммунофенотипов первичной опухоли (до и после НХТ) и ее метастазов является вообще малоисследованной областью. Иммуногистохимический профиль метастаза обычно

остаётся за рамками рутинного исследования. Между тем именно иммуногистохимический статус лимфатического узла является более важным биологическим индикатором прогноза после проведенной НХТ [2], чем статус опухоли.

Как в зарубежной [3–10], так и в отечественной литературе [11] встречаются работы, посвященные динамике изменений иммуногистохимических характеристик рецидивных и метастатических опухолей молочной железы, в которых авторы обращали внимание на диссонанс в иммунофенотипе между первичной опухолью и ее рецидивом. Размах продолжительности наблюдений колебался от 5 до 15 лет [12, 13]. В эру персонализированного подхода к неoadъювантной и адъювантной терапии РМЖ [14, 15] смена иммунофенотипа в рецидивной опухоли диктует изменение схемы лечения в зависимости от нового иммунофенотипа опухоли, имеющейся на момент рецидива.

В исследовательских работах [16, 17] прослежена динамика иммуногистохимических показателей рака молочной железы на фоне неoadъювантного лечения, где также зафиксировано изменение иммунофенотипа остаточной опухоли по сравнению с дооперационной диагностической биопсией. Смена фенотипа остаётся недостаточно изученным феноменом и часто интерпретируется как свидетельство изменения биологии РМЖ на фоне терапии [18]. Из этого следует закономерный вывод о том, что рецидивные и метастатические опухоли, в особенности спустя значительные промежутки времени после первичной терапии, отличны от первичной опухоли, удаленной многие годы назад. Возможно, что смена иммунофенотипа и является проявлением биологической гетерогенности опухоли. При таком подходе априори метастатическая опухоль может отличаться от первичной. Сама постановка таких вопросов стала возможной только благодаря успехам современной онкологии и широкому внедрению в практику иммуногистохимического исследования опухоли.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на архивном материале патолого-анатомического отделения с прозектурой и хирургического отделения опухолей молочной железы ФГБУ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова за период 2011–2015 гг. Предметом исследования являлась группа пациентов с карциномами молочной железы, получавших неoadъювантную терапию по схемам ТАС (доцетаксел (Таксотер) + доксорубин + циклофосфамид) и ТС (доцетаксел (Таксотер) + циклофосфамид), у которых на фоне лечения были выявлены метастазы в регионарных лимфатических лимфоузлах (урN1,2,3). Материалом для исследования служили трепан-биоптаты опухолей молочной железы до начала системного неoadъювантного лечения (диагностические гистологические и иммуногистохимические препараты, парафиновые блоки) и операционный материал (хирургические препараты) после завершения лекарственного лечения. Гистологическое исследование трепан-биоптатов и операционных препаратов выполнено с использованием методики тканевых матриц (ТМА) для одномоментного стандартизированного анализа

больших массивов данных (трепан-биопсия, операционный материал, метастаз в лимфатический узел).

Оценивался гистологический тип опухоли, гормональный рецепторный статус (ER/PR), транскрипционный фактор FOXA1, экспрессия HER2, индекс пролиферативной активности Ki67, а также динамика изменений данных маркеров от начала до окончания неoadъювантного лечения, в резидуальной опухоли после лечения, а также сравнение иммуногистохимических характеристик первичной опухоли и регионарных метастазов до и после терапии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для исследования выбрана группа пациентов, у которых после операции были диагностированы метастазы в регионарных лимфатических узлах (n = 32). Полноценно проследить динамику иммунофенотипа (нативная опухоль – резидуальная опухоль – метастаз в лимфатический узел) оказалось возможно в 11 случаях. В оставшихся случаях (n = 32) прослежено изменение фенотипа только в остаточной опухоли и в регионарном метастазе. При сравнительном анализе результаты исследования разделены на три группы:

- 1) нативная опухоль (биоптат) и резидуальная опухоль (n = 11);
- 2) резидуальная опухоль и метастаз в лимфатический узел (n = 32);
- 3) нативная опухоль (биоптат) и метастаз в лимфатический узел (n = 11).

В первой группе (сравнивали опухоль до и после НХТ) изменение статуса гормональных рецепторов после лечения по рецепторам эстрогена произошло в 1 случае (9%), по рецепторам прогестерона – в 7 случаях (63,6%). Конверсия экспрессии гормональных рецепторов случалась разнонаправленно как с повышением (37,5%), так и со снижением экспрессии (62,5%), вплоть до ее полного исчезновения (50%). Также отмечено изменение экспрессии HER2 в 4 случаях (36,4%), примечательно, что только в сторону повышения.

Во второй группе (сравнивали резидуальную опухоль и регионарный метастаз) конверсия гормональных рецепторов была отмечена в 12,5% случаев (в 4 случаях по рецепторам эстрогена и в 4 случаях по рецепторам прогестерона). Изменение экспрессии HER2 зафиксировано в 7 случаях (21,87%). Таким образом, можно сделать вывод, что резидуальная опухоль и ее метастаз в лимфатический узел отличаются между собой в меньшем проценте случаев, чем в 1 группе.

Наибольший интерес представляет 3 группа, где сравнивались между собой опухоль до начала терапии и ее метастаз в лимфатический узел после проведенного лечения. Конверсия гормональных рецепторов по рецепторам эстрогена зафиксирована в 18,2% (2 случая) и в 54,5% (6 случаев) для рецепторов прогестерона. Важно, что рецепторы эстрогена в метастазах только исчезали, в то время как рецепторы прогестерона как исчезали (4 случая), так и появлялись (2 случая). Также интересным оказался факт

только повышения экспрессии HER2, которое отмечено в 5 случаях (45,5%), при этом в 3 случаях повышение зафиксировано до достоверной сверхэкспрессии (HER2 3+).

Заметив такую частоту изменений экспрессии гормональных рецепторов, возникла мысль оценить материал на предмет экспрессии протеинового белка A1 (FOXA1), который является членом семейства транскрипционных факторов и может связывать с промоторами более 100 ассоциированных генов, регулирующих сигнальные пути и клеточный цикл [19, 20]. FOXA1 взаимодействует с регуляторными областями гетерохроматина и потенцирует связь между рецепторами эстрогена и хроматином. Известно, что FOXA1 необходим для экспрессии 50% всех регулируемых ER-генов и требует почти всех случаев связывания ER при раке молочной железы [21].

В нашем исследовании белок FOXA1 не изменялся на фоне проводимой НХТ, во всех случаях, где присутствовала экспрессия гормональных рецепторов, была отмечена стабильная экспрессия FOXA1. В 3-й группе во всех случаях, где после проведенного неoadъювантного системного лечения происходило снижение или исчезновение экспрессии гормональных рецепторов (эстрогена и прогестерона), экспрессия FOXA1 оставалась устойчивой (табл.).

Таблица. Экспрессия рецепторов после неoadъювантной химиотерапии

| Нативная опухоль | п | % | Резидуальная опухоль | п | % | Метастаз в лимфатический узел | п | % |
|------------------|----|------|----------------------|----|------|-------------------------------|----|------|
| ER ≥4 балла | 10 | 90,1 | ER ≥4 балла | 7 | 63,6 | ER ≥4 балла | 8 | 72,7 |
| PR ≥4 балла | 5 | 45,5 | PR ≥4 балла | 5 | 45,5 | PR ≥4 балла | 4 | 36,4 |
| FOXA1 ≥4 балла | 10 | 90,1 | FOXA1 ≥4 балла | 10 | 90,1 | FOXA1 ≥4 балла | 10 | 90,1 |

ОБСУЖДЕНИЕ

По данным метаанализа [22] было проанализировано 48 статей, опубликованных в период с 1983 г. по 2011 г., где сравнивались изменения рецепторного статуса и статуса HER2. В основном это данные ретроспективных исследований, где в 33 статьях исследовали изменение рецепторов эстрогена (ER), в 24 статьях – рецепторов прогестерона (PR), а в 31 – изменение экспрессии HER2. Объединенные данные по изменению ER составляли 20%, 33% для PgR и 8% для HER2. Пропорции смещения гормонального статуса от положительного до отрицательного и от отрицательного к положительному – 24% и 14% для ER ($p = 0,0183$). Эти же показатели составляли 46% и 15% для PgR ($p < 0,0001$) и 13% и 5% для HER2 ($p = 0,0004$).

По данным Pusztai et al. [18], дискордантные показатели рецепторов могут быть вызваны любым из трех



РЕПРЕНТ
УСЛУГИ ПО АРЕНДЕ
МЕДИЦИНСКИХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ



Компания «РепРент» предоставляет весь спектр услуг по аренде медицинских представителей, проведению независимого аудита, а также по выводу продуктов на рынки России.

ГРУППА КОМПАНИЙ «РЕМЕДИУМ»

**ПЛАНИРОВАТЬ СТРАТЕГИЧЕСКИ
УПРАВЛЯТЬ ЭФФЕКТИВНО**

105082,
Москва, ул. Бакунинская, 71, стр. 10.
Тел.: 8 495 780 3425
факс: 8 495 780 3426
info@reprent.ru

www.remedium.ru

факторов: (а) подлинное изменение в биологии заболевания, (б) гетерогенность опухоли в фокально-рецепторно-положительных карциномах и (в) ограничение точности и воспроизводимость данных.

Относительный вклад каждого из этих факторов в несоответствие результатов неизвестен. Однако в нашем исследовании достоверно исключена третья причина несоответствия, поскольку препараты приготовлены одновременно и исследовались с помощью цифровой обработки данных – image-analysis.

В зарубежной литературе опубликованы результаты исследований, которые посвящены изучению роли экспрессии транскрипционного белка FOXA1 для определения прогноза заболевания при раке молочной железы. По данным Hisamatsu et al. [23], экспрессия FOXA1 была положительно коррелирована с рецепторами эстрогена ($P = 0,0001$) и прогестерона ($P = 0,0011$) и обратно коррелирует с ядерным полиморфизмом ($P = 0,0048$) и индексом Ki67 ($P = 0,0112$). Высокий FOXA1 был связан с более благоприятным прогнозом и безрецидивной выживаемостью (RFS) во всех случаях в группе эстроген-положительных карцином ($P = 0,0001$) по сравнению с эстроген-негативными. Кроме того, экспрессия FOXA1 связана с хорошим

прогнозом, независимо от индекса Ki67, в гормонально-положительных карциномах. По результатам многофакторного анализа FOXA1 был независимым предиктором благоприятного прогноза в группе ER/PR-положительных карцином.

Таким образом, результаты нашего исследования относительно экспрессии FOXA1 свидетельствуют о том, что НХТ влияет на изменения статуса рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2, но не изменяет статус FOXA1.

ВЫВОДЫ

В эру персонализированной терапии и НХТ патоморфологическое изучение иммуногистохимического статуса метастазов в лимфатические узлы необходимо, поскольку почти в 20% случаев изменяется гормонально-рецепторный статус, при этом сигнальный путь для рецепторов стероидных гормонов сохраняется без изменений. Статус экспрессии онкопротеина HER2 изменяется почти в половине случаев при сравнении первичной биопсии и метастаза после проведенной НХТ.



Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в ходе написания данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В. Рак молочной железы, биология, местное и системное лечение. Специальное издание для медицинских книг. М., 2014. С. 352. /Semiglazov VF, Semiglazov VV. Breast cancer, biology, local and systemic treatment. Special publishing of medical books. M., 2014. P. 352.
2. Provenzano E, Bossuyt V, Viale G et al. Standardization of pathologic evaluation and reporting of postneoadjuvant specimens in clinical trials of breast cancer: recommendations from an international working group. *Modern Pathology*, 2018, 28: 1185–1201.
3. Kamby C, Rasmussen BB, Kristensen B. Oestrogen receptor status of primary breast carcinomas and their metastases. Relation to pattern of spread and survival after recurrence. *Br J Cancer*, 1989, 60(2): 252–7.
4. Nedergaard L, Haerslev T, Jacobsen GK. Immunohistochemical study of estrogen receptors in primary breast carcinomas and their lymph node metastases including comparison of two monoclonal antibodies. *APMIS*, 1995, 103(1): 20–4.
5. Masood S, Bui MM. Assessment of Her-2/neu overexpression in primary breast cancers and their metastatic lesions: an immunohistochemical study. *Ann Clin Lab Sci*, 2000, 30(3): 259–65.
6. Simon R, Nocolo A, Hu'bscher T, et al. Patterns of her-2/neu amplification and overexpression in primary and metastatic breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2001, 93(15): 1141–6.
7. Zheng WQ, Lu J, Zheng JM, Hu FX, Ni CR. Variation of ER status between primary and metastatic breast cancer and relationship to p53 expression. *Steroids*, 2001, 66(12): 905–10.
8. Gancberg D, Di Leo A, Cardoso F, et al. Comparison of HER-2 status between primary breast cancer and corresponding distant metastatic sites. *Ann Oncol*, 2002, 13(7): 1036–43.
9. Iguchi C, Nio Y, Itakura M. Heterogeneous expression of estrogen receptor between the primary tumor and the corresponding involved lymph nodes in patients with node-positive breast cancer and its implications in patient outcome. *J Surg Oncol*, 2003, 83(2): 85–93.
10. Carlsson J, Nordgren H, Sjo'stro'm J, et al. HER2 expression in breast cancer primary tumours and corresponding metastases. Original data and literature review. *Br J Cancer*, 2004, 90(12): 2344–8.
11. Дружков О.Б., Гатаулин И.Г., Дружков М.О. Динамика иммунофенотипа рака молочной железы. *Казанский медицинский журнал*, 2012, 63(5): 731–734. / Druzhkov OB, Gataullin IG, Druzhkov MO. Dynamics of breast cancer immunophenotype. *Kazanskiy Meditsinskiy Zhurnal*, 2012, 63 (5): 731–734
12. Bogina G, Bortesi L, Marconi M, et al. Comparison of hormonal receptor and HER-2 status between breast primary tumours and relapsing tumours: clinical implications of progesterone receptor loss. *Virchows Arch*, 2011, 459(1): 1–10.
13. Dieci MV, Barbieri E, Piacentini F, et al. Discordance in receptor status between primary and recurrent breast cancer has a prognostic impact: a single-Institution analysis. *Ann Oncol*, 2013, 24(1): 101–8.
14. Семиглазов В.Ф., Патлуев Р.М., Манихас А.Г. и др. «Золотой стандарт» диагностики и лечения рака молочной железы. М.: ИД «АБВ-пресс», 2016. С. 447. Semiglazov VF, Patluev RM, Manikhas AG, et al. The Gold standard in breast cancer diagnosis and treatment. M.: ABV-press Publishing house, 2016. p. 447.
15. Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В. Лечение рака молочной железы. Клинико-биологическое обоснование. Руководство для врачей. Москва. СММК. 2017. 277 с. Semiglazov VF, Semiglazov VV. Treatment of breast cancer. Clinical and Biological Substantiation. A guide for doctors. Moscow. SNMK. 2017. 277 p.
16. Башлык В.О., Хаджиматова Ш.М., Криворотко П.В. и др. Клеточная плотность и пролиферативная активность в промежуточных биоптатах рака молочной железы при неоадьювантной химиотерапии. *Злокачественные опухоли*, 2016, 4S-1(20): 136. Bashlyk VO, Khadzhimatova ShM, Krivorotko PV. Cellular density and proliferative activity in intermediate biopsy specimens of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy. *Zlokachestvennyye Opukholy*, 2016, 4S-1 (20): 136.
17. Башлык В.О., Семиглазов В.Ф., Кудайбергенова А.Г. и др. Оценка изменения морфологических и иммуногистохимических характеристик карцином молочной железы при проведении неоадьювантной системной терапии. *Опухоли женской репродуктивной системы*, 2018, 14(1): 12–19. Bashlyk VO, Semiglazov VF, Kudaibergenova AG et al. Evaluation of changes in morphological and immunohistochemical characteristics of the breast carcinoma during neoadjuvant systemic therapy. *Opukholy Zhenskoy Reproduktivnoy Sistemy*, 2018, 14 (1): 12–19.
18. Pusztai L, Viale G, Kelly CM, Hudis CA. Estrogen and HER-2 receptor discordance between primary breast cancer and metastasis. *Oncologist*, 2010, 15(11): 1164–8.
19. Carlsson P, Mahlapuu M. Forkhead transcription factors: key players in development and metabolism. *Dev Biol*, 2002, 250: 1–23.
20. Kaestner KH. The hepatocyte nuclear factor 3 (HNF3 or FOXA) family in metabolism. *Trends Endocrinol Metab*, 2000, 11: 281–5.
21. Hurtado A, Holmes KA, Ross-Innes CS, Schmidt D, Carroll JS. FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nat Genet*, 2011, 43: 27–33.
22. Aurillo G, Disalvatore D, Pruneri G et al. A meta-analysis of oestrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor 2 discordance between primary breast cancer and metastases. *Eur J Cancer*, 2014, 50: 277–289.
23. Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, Akiyoshi S, Okada S, Nakashima Y, Aishima S, Morita M, Kakeji Y, Maehara Y. Impact of FOXA1 Expression on the Prognosis of Patients with Hormone Receptor-Positive Breast Cancer. *Ann Surg Oncol*, 2012, 19: 1145–1152.