



Классификация подтипов рака молочной железы на основе РНК-профилирования и иммуногистохимических методов: клинические и биологические нюансы

Е.Н. Имянитов[✉]

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова», Санкт-Петербург, Россия; ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Использование транскриптомного анализа позволило выявить экспрессионные подтипы рака молочной железы (РМЖ). Значительную часть РМЖ составляют карциномы, которые отличаются экспрессией маркеров люминального эпителия протоков молочной железы и генов сигнального каскада эстрогенов (люминальные подтипы А и Б). Другая группа РМЖ характеризуется экспрессией генов базальной выстилки протоков. Еще один подтип РМЖ обогащен генами, экспрессия которых типична для HER2-индуцированных опухолей. Зачастую иммуногистохимическое (ИГХ) исследование достаточно достоверно отражает подтип опухоли. Опухоли с высокими индексами ИГХ-экспрессии рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PR), отличающиеся отсутствием признаков активации гена *HER2* и невысокой пролиферативной активностью, рекомендовано относить к люминальному типу А. Отсутствие экспрессии ER, PR и *HER2* предлагается расценивать как признак базального подтипа опухоли. В то же время ИГХ-классификация практически отождествляет HER2-позитивные опухоли и HER2-обогащенный подтип, что не отражает биологические особенности некоторых РМЖ. Например, значительное количество ER-позитивных РМЖ, включенных в клиническое исследование рибоциклиба MONALEESA, имели транскрипционные признаки HER2-подтипа в отсутствие экспрессии рецептора *HER2*, и именно они демонстрировали выраженный ответ на лечение.

Ключевые слова: рак молочной железы, экспрессия генов, классификация опухолей

Для цитирования: Имянитов Е.Н. Классификация подтипов рака молочной железы на основе РНК-профилирования и иммуногистохимических методов: клинические и биологические нюансы. Современная Онкология. 2022;24(3):351–354. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201832

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

REVIEW

Classification of breast cancer subtypes based on RNA profiling and immunohistochemical methods: clinical and biological aspects: A review

Evgeny N. Imyanitov[✉]

Petrov National Medicine Research Center of Oncology, Saint Petersburg, Russia; Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Transcriptome analysis provided a tool to identify expression subtypes of breast cancer (BC). A significant part of BCs are carcinomas that differ in the expression of luminal mammary ductal epithelium markers and estrogen signaling cascade genes (luminal subtypes A and B). Another group of BCs is characterized by the expression of ductal basal lining genes. Another subtype of BC has genes typically expressed in HER2-induced tumors. Immunohistochemical (IHC) examination is reliable in identifying the tumor subtype. Tumors with high IHC-expression of estrogen (ER) and progesterone (PR) receptors with no signs of *HER2* gene activation and low proliferative activity should be referred to as luminal type A. The absence of ER, PR, and *HER2* expression should be considered a sign of basal tumor subtype. However, the IHC classification cannot reliably distinguish HER2-positive tumors and HER2-enriched subtypes, which do not reflect the biological features of some BCs. For instance, a significant number of ER-positive breast cancer patients included in the MONALEESA ribociclib clinical study had HER2-subtype transcriptional signatures in the absence of *HER2* receptor expression, and these were the ones who demonstrated a pronounced response to treatment.

Keywords: breast cancer, gene expression, tumor classification

For citation: Imyanitov EN. Classification of breast cancer subtypes based on RNA profiling and immunohistochemical methods: clinical and biological aspects: A review. Journal of Modern Oncology. 2022;24(3):351–354. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201832

Информация об авторе / Information about the author

[✉]Имянитов Евгений Наумович – чл.-кор. РАН, д-р мед. наук, проф., рук. отд. биологии опухолевого роста ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова», зав. каф. общей и молекулярной медицинской генетики ФГБОУ ВО СПбГПМУ. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru; ORCID: 0000-0003-4529-7891

[✉]Evgeny N. Imyanitov – D. Sci. (Med.), Prof., Corr. Memb. RAS, Petrov National Medicine Research Center of Oncology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru; ORCID: 0000-0003-4529-7891

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является самым частым онкологическим заболеванием у женщин: в развитых странах, характеризующихся преобладанием населения европейской расы, индивидуальный риск возникновения РМЖ на протяжении жизни составляет примерно 1:8. Наиболее значимыми факторами риска РМЖ являются отсутствие или малое количество беременностей, закончившихся родами, поздний возраст деторождения, избыточный вес и отягощенная наследственность. Большинство практикующих онкологов имеют значительный опыт наблюдения за пациентками с РМЖ. Уже на первых этапах формирования онкологии как отдельного направления медицины врачи отмечали многообразие клинических проявлений РМЖ и характера его течения. Например, не без основания считалось, что опухоли у женщин пожилого возраста зачастую могут протекать достаточно индолентно, в частности не метастазировать в висцеральные органы или головной мозг.

Рецепторный статус опухолей

Существенную роль в понимании причин многообразия вариантов РМЖ сыграло открытие нескольких разновидностей рецепторов. Несомненной революцией в диагностике РМЖ стала идентификация рецептора эстрогенов (estrogen receptor – ER). Примерно 60–80% опухолей экспрессируют данный рецептор, при этом именно они зачастую регрессируют после назначения мультигормональной терапии, включающей медикаментозное подавление функции яичников и двустороннюю овариэктомию у молодых женщин. Отсутствие экспрессии ER отмечается примерно в 30–40% случаев РМЖ; эта особенность коррелирует с низкой вероятностью ответа на эндокринную терапию. Не подвергается сомнению тот факт, что именно ER является медиатором стимулирующего влияния эстрогенов на клетки РМЖ, поэтому нарушение взаимодействия между лигандом и рецептором является основной причиной терапевтического эффекта гормональной абляции [1].

Роль рецептора прогестерона (progesterone receptor – PR), тестирование которого является стандартным компонентом клинической практики, понята в меньшей степени. Многие клинические испытания, направленные на анализ эффективности эндокринной абляции в отношении РМЖ, использовали в качестве минимального требования для назначения терапии либо присутствие в трансформированных клетках ER, либо наличие экспрессии PR. Целесообразность использования PR в качестве самостоятельного предиктивного маркера может ставиться под сомнение [2]. Считается, что PR может использоваться в качестве маркера активации сигнального каскада эстрогенов – именно этим объясняется более выраженная чувствительность к эндокринной терапии РМЖ с фенотипом ER+/PR+ по сравнению с опухолями категории ER+/PR-. Некоторые данные свидетельствуют о выполнении PR функций супрессорного белка [3]. Немаловажно отметить, что сам по себе факт существования РМЖ, у которых наблюдается экспрессия PR в отсутствие ER, ставится под сомнение. Тем не менее детальный анализ доступных данных указывает, что примерно 1–5% РМЖ характеризуется статусом ER-/PR+. Эти новообразования по своим клинико-биологическим характеристикам могут отличаться как от опухолей с фенотипом ER+/PR+, так и от трижды негативных карцином [4, 5].

Ген *ERBB2/HER2* был идентифицирован в рамках исследовательских программ, направленных на поиск новых онкогенов. Последующие исследования показали, что примерно в каждой 4-й карциноме молочной железы наблюдаются амплификация и экспрессия данного рецептора. Активация *ERBB2/HER2* демонстрирует выраженную корреляцию с агрессивностью течения и плохим прогнозом заболевания. Более того, эксперименты на клеточных линиях продемонстрировали, что угнетение активности *ERBB2/HER2* сдерживает рост *ERBB2/HER2*-позитивных РМЖ [6]. Именно эти наблюдения легли в основу разра-

ботки целого спектра препаратов, направленных на инактивацию тирозинкиназы *ERBB2/HER2*. Существенно подчеркнуть, что, несмотря на очевидное прогностическое значение, анализ статуса *ERBB2/HER2* не использовался в клинической практике вплоть до появления соответствующих таргетных препаратов.

В целом включение в стандарты диагностики РМЖ анализа рецепторного статуса трех упомянутых выше рецепторов привело к появлению интуитивно понятной классификации РМЖ. Присутствие экспрессии ER и/или PR указывает на потенциальную чувствительность опухолей к гормональной абляции и является основанием для назначения эндокринной терапии. Активация HER2 свидетельствует о потенциальной эффективности антагонистов данного рецептора. В отдельную группу выделились трижды негативные РМЖ, которые не имеют перечисленных молекулярных мишеней и могут характеризоваться высокой чувствительностью к цитостатическим препаратам [1].

Экспрессионные подтипы карцином молочной железы

В конце 1990-х годов стали появляться технологии, которые позволяют оценить экспрессионный статус всего генома. Первые методы транскриптомного анализа основывались на методе гибридизации. Для выполнения исследования используется пластинка (микрочип), которая содержит копии всех генов человека, причем каждый из этих генов расположен в строго определенном месте. Из опухолевой ткани выделяется РНК, которая конвертируется в кДНК методом обратной транскрипции. Затем осуществляется процедура гибридизации тотальной кДНК с микрочипом. Если экспрессия того или иного гена является высокой, то это будет сопровождаться появлением сильного сигнала на соответствующей точке микрочипа [7, 8].

Подобные технологии открыли новую эру в клинико-биологической классификации опухолей. Ученые подвергли транскриптомному анализу достаточно большие выборки карцином, а затем пытались при помощи методов биоинформатики разделить новообразования на определенные категории. Существенно, что в подобных исследованиях компьютер формирует группы опухолей без какой-либо гипотезы или учета функциональной значимости генов, основываясь исключительно на результатах экспрессионного профилирования. Оказалось, что практически все виды карцином могут разделяться на подтипы, которые характеризуются определенным паттерном активных и неактивных генов. Наибольшую известность получили транскриптомные исследования, выполненные на карциномах молочной железы [7, 8].

Оказалось, что значительную часть РМЖ составляют карциномы, которые отличаются экспрессией маркеров люминального эпителия протоков молочной железы и генов сигнального каскада эстрогенов. Дальнейшие работы позволили выделить 2 категории люминальных опухолей, а именно люминальные подтипы А и Б. Другую группу РМЖ составили гены, экспрессия которых характерна для базальной выстилки протоков. Еще один подтип РМЖ оказался обогащен генами, экспрессия которых характерна для HER2-индуцированных опухолей. И, наконец, работы начала 2000-х годов выделяли категорию опухолей, которые по своему экспрессионному профилю напоминают нормальные клетки молочной железы. Сам факт существования «нормальных» экспрессионных разновидностей РМЖ до сих пор ставится под сомнение – многие специалисты полагают, что эта категория РМЖ отражает скорее погрешности микродиссекции, а не истинный подтип карцином [7, 8].

Дальнейшее развитие исследований по экспрессионному профилированию позволило заметно упростить эту методику. Было идентифицировано 50 генов, экспрессия которых отражает статус транскриптома в целом. Активность этих генов можно определять с помощью относительно доступных методик, при этом в качестве источника РНК можно использовать архивные образцы опухолей [9, 10].

Популярность использования классификации РМЖ на основе экспрессионных подтипов объясняется интуитивной понятностью клиничко-биологических корреляций, обнаруженных в ходе транскриптомных исследований. Люминальный подтип А характеризуется относительно благоприятным течением РМЖ и хорошей эффективностью эндокринной терапии. Заметную часть HER2-обогащенных опухолей составляют карциномы, действительно связанные с активацией рецептора HER2. Базальный экспрессионный подтип демонстрирует заметную корреляцию с трижды негативным рецепторным статусом опухолей.

Использование ИГХ-метода в качестве суррогата экспрессионного профилирования

Сопоставление результатов экспрессионного профилирования и стандартного иммуногистохимического (ИГХ) анализа продемонстрировало, что зачастую ИГХ достаточно достоверно отражает подтип опухоли. Опухоли с высокими индексами ИГХ-экспрессии ER и PR, отличающиеся отсутствием признаков активации гена *HER2* и невысокой пролиферативной активностью, рекомендовано относить к люминальному типу А. Люминальный тип Б характерен для ER-позитивных карцином, у которых либо отсутствует экспрессия PR, либо имеются клинически значимые признаки амплификации и гиперэкспрессии гена *HER2* (ИГХ-статус HER2+++ либо HER2++ в сочетании с наличием дополнительных копий гена, выявленных методом FISH). Считается, что обязательной характеристикой карциномы люминального подтипа Б является высокое значение индекса Ki-67. ИГХ-классификация практически отождествляет HER2-позитивные опухоли и HER2-обогащенный подтип; это упрощение не учитывает много существенных моментов, которые будут прокомментированы ниже. И, наконец, отсутствие экспрессии ER, PR и HER2 предложено расценивать как признак базального подтипа опухоли [11].

Расхождения между ИГХ- и РНК-экспрессионными классификациями РМЖ

Следует понимать, что упрощенные ИГХ-классификации не могут считаться эквивалентом РНК-профилирования и при этом не учитывают крайне существенные нюансы, которые напрямую влияют на тактику лечения РМЖ. Примечательно, что весьма часто экспрессионный подтип, выявленный на основе ИГХ, не соответствует варианту РМЖ, установленному на основе РНК-анализа. Например, гормонально зависимые карциномы демонстрируют не только присутствие ER, но и активацию эстроген-зависимых сигнальных каскадов. Транскриптомные исследования показывают, что некоторые РМЖ, классифицируемые как люминальные А на основе ИГХ, отличаются низкой активностью мишеней ER. Подобная дискордантность может быть обусловлена, например, недостаточно высокой экспрессией ER, мутацией в генах-участниках сигнального каскада и т.д. Напротив, определенная доля ER-негативных РМЖ классифицируется при помощи РНК-профилирования как люминальный А подтип. Подобные наблюдения могут быть связаны как с погрешностями ИГХ-детекции ER, так и с активацией коллатеральных путей сигнального каскада эстрогенов [12].

Наибольшие трудности возникают при сопоставлении HER2-позитивных и HER2-обогащенных карцином молочной железы. Исследования РМЖ, отличающихся признаками активации сигнального каскада HER2, демонстрируют, что до 1/2 этих карцином не содержит значительных количеств самого рецептора. Действительно, активация этого же сигнального пути может опосредоваться не только рецептором HER2, но и другими тирозинкиназными рецепторами, например EGFR. В то же время само по себе присутствие белка HER2 на клеточной поверхности вовсе не гарантирует наличие активации HER2-зависимых пролиферативных каскадов. Выявлены опухоли, которые являются HER2-позитивными по ИГХ или FISH, но при этом классифицируются как люминальные или базальные на основе РНК-профилирования [13].

Клиническая значимость комбинирования ИГХ- и РНК-тестов

ИГХ- и РНК-профилирование представляются комплементарными методиками, которые крайне полезно использовать в сочетании. Если опухоль демонстрирует высокую интенсивность ИГХ-окраски ER, но при этом в ней не наблюдается признаков активации ER-зависимых каскадов, то в такой ситуации нет оснований ожидать значительной эффективности эндокринной терапии. Совершенно очевидно, что на анти-HER2-терапии могут отвечать только те карциномы, в которых присутствие больших количеств рецептора HER2 на мембране клеток сочетается с увеличением экспрессии HER2-зависимых генов. В то же время HER2-обогащенные карциномы, у которых белок HER2 представлен в небольших количествах, не могут отвечать на трастузумаб или аналогичные препараты вследствие отсутствия молекулярной мишени [12, 13].

Следует понимать, что потенциальная клиническая значимость интеграции ИГХ- и РНК-профилирования не ограничивается достаточно простыми закономерностями, связанными с наличием и функциональным состоянием мишеней для таргетной терапии. В этом контексте очень интересны исследования ингибитора циклин-зависимых киназ – рибоциклиба. CDK4/6-ингибиторы испытывались только для тех категорий неоплазм, которые отличаются присутствием рецепторов стероидных гормонов, т.е. наличием показаний к эндокринной терапии, но при этом не имеют признаков активации гена *HER2*, т.е. не нуждаются в HER2-специфической терапии [14]. Интересно, что только 2/3 женщин, включенных в серию испытаний MONALEESA, продемонстрировали признаки люминального РМЖ. Каждая 8-я пациентка, получавшая рибоциклиб в рамках исследования MONALEESA, продемонстрировала HER2-обогащенный экспрессионный подтип, несмотря на отсутствие ИГХ-позитивности HER2 в качестве обязательного критерия отбора. Примечательно, что добавление рибоциклиба к эндокринной терапии сопровождалось улучшением результатов лечения для большинства экспрессионных подтипов (люминальный А, люминальный Б, HER2-обогащенный, нормальный), при этом наибольшая прибавка во времени до прогрессирования наблюдалась именно в HER2-негативных опухолях с признаками активации HER2-сигнального каскада. Базальные РМЖ составляли только 2,6% от общего числа случаев РМЖ, включенных в MONALEESA, при этом только этот экспрессионный подтип характеризовался отсутствием эффекта от добавления рибоциклиба [14].

Перспективы

Мы являемся свидетелями значительного увеличения доступности молекулярно-генетических технологий. Комбинированное использование ИГХ-тестирования и РНК-профилирования вполне соответствует возможностям современной клинической онкологии. Подобный подход может, с одной стороны, снизить частоту ошибок в определении статуса мишеней, преимущественно за счет дублирования тестирования на уровне белка и РНК, а также выявить ситуацию, когда присутствие той или иной молекулярной мишени не оказывает соответствующего влияния на биологию опухоли. Подобные расхождения являются достаточно частыми, поэтому сочетанное применение ИГХ- и РНК-тестирования может привести к модификации схем лечения у значительной части пациентов.

Внесение дополнений в существующие классификации РМЖ не ограничивается потребностями в интеграции ИГХ- и РНК-профилирования. Около 5–8% случаев РМЖ связано с наследованием мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. *BRCA1*-ассоциированные опухоли составляют около 15% случаев трижды негативного РМЖ. Они отличаются высокой чувствительностью к цитостатической терапии, особенно к производным платины, а также к PARP-ингибиторам [15]. В отличие от РМЖ, возникающих у носительниц мутаций *BRCA1*, *BRCA2*-индуцированные РМЖ обычно

демонстрируют высокую экспрессию ER. Тем не менее эта группа карцином схожа с *BRCA1*-индуцированными раками как по уровню хромосомной нестабильности, так и по спектру лекарственной чувствительности.

Раскрытие интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The author declares that he has no competing interests.

Вклад автора. Автор декларирует соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

Author's contribution. The author declares the compliance of his authorship according to the international ICMJE criteria.

Источник финансирования. Автор декларирует отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The author declares that there is no external funding for the exploration and analysis work.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Loibl S, Poortmans P, Morrow M, et al. Breast cancer. *Lancet*. 2021;397(10286):1750–69. DOI:10.1016/S0140-6736(20)32381-3
- Olivotto IA, Truong PT, Speers CH, et al. Time to stop progesterone receptor testing in breast cancer management. *J Clin Oncol*. 2004;22(9):1769–70. DOI:10.1200/JCO.2004.99.251
- Mohammed H, Russell IA, Stark R, et al. Progesterone receptor modulates ERα action in breast cancer. *Nature*. 2015;523(7560):313–7. DOI:10.1038/nature14583
- Kunc M, Biernat W, Senkus-Konefka E. Estrogen receptor-negative progesterone receptor-positive breast cancer – “Nobody’s land” or just an artifact? *Cancer Treat Rev*. 2018;67:78–87. DOI:10.1016/j.ctrv.2018.05.005
- Kunc M, Pełksa R, Cserni G, et al. High expression of progesterone receptor may be an adverse prognostic factor in oestrogen receptor-negative/progesterone receptor-positive breast cancer: results of comprehensive re-evaluation of multi-institutional case series. *Pathology*. 2022;54(3):269–78. DOI:10.1016/j.pathol.2021.10.003
- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science*. 1989;244(4905):707–12. DOI:10.1126/science.2470152
- Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747–52. DOI:10.1038/35021093
- Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(14):8418–23. DOI:10.1073/pnas.0932692100
- Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol*. 2009;27(8):1160–7. DOI:10.1200/JCO.2008.18.1370
- Wallden B, Storhoff J, Nielsen T, et al. Development and verification of the PAM50-based Prosigna breast cancer gene signature assay. *BMC Med Genomics*. 2015;8:54. DOI:10.1186/s12920-015-0129-6
- Bao T, Davidson NE. Gene expression profiling of breast cancer. *Adv Surg*. 2008;42:249–60. DOI:10.1016/j.jyasu.2008.03.002
- Szymiczek A, Lone A, Akbari MR. Molecular intrinsic versus clinical subtyping in breast cancer: A comprehensive review. *Clin Genet*. 2021;99(5):613–37. DOI:10.1111/cge.13900
- Schettini F, Prat A. Dissecting the biological heterogeneity of HER2-positive breast cancer. *Breast*. 2021;59:339–50. DOI:10.1016/j.breast.2021.07.019
- Prat A, Chaudhury A, Solovieff N, et al. Correlative Biomarker Analysis of Intrinsic Subtypes and Efficacy Across the MONALEESA Phase III Studies. *J Clin Oncol*. 2021;39(13):1458–67. DOI:10.1200/JCO.20.02977
- Imyanitov EN. Cytotoxic and targeted therapy for BRCA1/2-driven cancers. *Hered Cancer Clin Pract*. 2021;19(1):36. DOI:10.1186/s13053-021-00193-y



Статья поступила в редакцию / The article received: 05.08.2022

Статья принята к печати / The article approved for publication: 04.10.2022

OMNIDOCTOR.RU