

ЗНАЧЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТАКТИКИ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

РОНЦ РАМН
им. Н.Н.Блохина,
Москва

А.В.Снеговой, Л.В.Манзюк

Выявление и идентификация биомаркеров очень важны для предсказания эффективности последующей таргетной терапии, которая коррелирует с противоопухолевым ответом, временем до прогрессирования и общей выживаемостью в клинических исследованиях.

Введение

Химиотерапия является одним из ведущих методов лечения злокачественных опухолей. Высокая токсичность цитостатиков зачастую не позволяет вводить их в оптимальных дозах для достижения максимального терапевтического эффекта.

С развитием молекулярной биологии принципиально изменился подход к разработке противоопухолевых препаратов, благодаря чему появились лекарства нового поколения, так называемые таргетные, или молекулярно-нацеленные препараты, многие из которых уже эффективно используются в повседневной клинической практике.

В настоящий момент идентифицировано большое количество клеточных мишеней, на которые направлено воздействие синтезированных противоопухолевых препаратов. Эти мишени называются биомаркерами и используются в клинической практике для выбора оптимального таргетного препарата каждому конкретному пациенту.

Биомаркеры представлены определенными белками, генами или ферментами, которые можно идентифицировать различными методами (ИГХ, ПЦР и др.) и оценить их роль в нормальных биологических и патогенетических процессах в клетке.

Выявление и идентификация биомаркеров очень важны для предсказания эффективности последующей таргетной терапии, которая коррелирует с противоопухолевым ответом, временем до прогрессирования и общей выживаемостью в клинических исследованиях.

Классификация биомаркеров:

Биомаркеры можно разделить на две большие группы: 1) диагностические, 2) «клинические». Целью данной публикации является оценка клинических биомаркеров, которые в свою очередь делятся на прогностические и предиктивные.

Прогностические биомаркеры связаны с опухолевой клеточной пролиферацией, дифференцировкой, ангиогенезом, инвазией или метастазированием. Они позволяют предсказывать характер течения болезни, выживаемость, но никак не связаны с проводимым противоопухолевым лечением.

Предиктивные биомаркеры позволяют предсказывать клинический эффект, безрецидивный период, выживаемость, а также токсичность различных видов планируемого лекарственного лечения. Предиктивные маркеры напрямую связаны с молекулярной мишенью для таргетного препарата, каскадом внутриклеточных сигналов.

Необходимо учитывать тот факт, что одни и те же биомаркеры могут обладать как прогностическими, так и предиктивными свойствами.

Например, высокая экспрессия ERCC1, определяемая у пациентов с резектабельным НМРЛ после оперативного лечения, является прогностически благоприятным маркером выживаемости, по сравнению с низкой экспрессией ERCC1. С другой стороны, у пациентов с IV стадией НМРЛ, имеющих низкую экспрессию ERCC1, частота объективных ответов и прогноз химиотерапии комбинацией гемцитабина с цисплатином лучше, чем у пациентов той же группы, но с высокой экспрессией ERCC1. Таким образом, биомаркер ERCC1 является как предиктивным - определяющим эффективность платиносодержащих комбинаций при НМРЛ, так и прогностическим - определяющим выживаемость.

Ниже в таблице 1 приведена классификация биомаркеров [1].

Таблица 1.
Классификация биомаркеров

Классификация биомаркеров		
Известные, значимые биомаркеры	Her-2/neu, мутации EGFR, KRAS, BRCA 1и2, EML4-ALK, Oncotype DX	Определение требуется
Предположительно значимые биомаркеры	UGT1A1*28*6, цитидин диаминаза*3	Тест рекомендуется
Изучаемые биомаркеры (возможно значимые, возможно - нет)	Геномные и белковые предикторы	Только для накопления информации

Биомаркеры при раке молочной железы (РМЖ)

Эндокринная терапия РМЖ с использованием антиэстрогенов с успехом используется в клинической практике уже в течение 40 лет. Молекулярной мишенью для нее являются рецепторы эстрогенов (ЭР). При этом по молекулярной нацеленности и эффективности тамоксифен до сих пор является наилучшим примером таргетной терапии. Важность ЭР, как предиктивного маркера для гормонотерапии, подтверждена в ходе исследований, проведенных в 70-х годах 20 века. Было показано, что около 50% больных с ЭР-положительным распространенным РМЖ отвечают на проводимую аблативную (овариэктомия, адреналэктомия, гипофизэктомия) или аддитивную гормонотерапию высокими дозами эстрогенов или андрогенов.

Спустя еще 30 лет доказано, что уровень ЭР ассоциируются с эффективностью адъювантной гормонотерапии у пациенток с ранним инвазивным РМЖ. В 1998 году мета-анализ ряда исследований, сравнивающих эффективность тамоксифена и плацебо при адъювантном лечении раннего РМЖ, показал увеличение времени до прогрессирования и общей выживаемости у пациенток с высокой экспрессией ЭР. Риск рецидива в группе тамоксифена снизился соответственно на 21% и 28% в течение 1 и 2 лет лечения и на 50% при терапии длительностью около 5 лет. Проведенный через 15 лет обновленный мета-анализ подтвердил, что адъювантное применение тамоксифена на протяжении 5 лет снижает

риск смерти на 31% у пациенток с ЭР положительным РМЖ [2].

Предиктивная ценность прогестероновых рецепторов (ПР) значительно ниже. Проведенные исследования показывают противоречивые результаты. Данные мета-анализа EBCTCG 1998 года не подтвердили, что положительные ПР являются достаточными предикторами для назначения гормонотерапии [2].

Однако в крупном рандомизированном исследовании проведенным Bardou с соавт. в 2003 году, доказано, что экспрессия ЭР и ПР обладает большей предиктивной значимостью, чем только экспрессия ЭР. У пациенток с ЭР и ПР положительным РМЖ адъювантная гормонотерапия - более эффективна, чем в группе с ЭР-положительным и ПР-отрицательным раком молочной железы [3].

Современная таргетная терапия злокачественных опухолей началась с открытия рецепторов Her-2, также известных как ErbB2/HER2 (Her2/neu). Рецепторы Her-2 входят в состав суперсемейства трансмембранных рецепторов EGF (epidermal growth factor): EGFR/ErbB1/HER1, ErbB2/HER2 (HER2/neu), ErbB3/HER3, ErbB4/HER4. Все четыре рецептора HER имеют общую структурную организацию: внеклеточный (экстрацеллюлярный) домен, отвечающий за связь с лигандом и взаимодействие с другими рецепторами данного семейства; трансмембранный домен, отвечающий за промежуточную передачу сигнала; внутриклеточный тирозин-киназный домен, запускающий каскад реакций, необходимый для конечной реализации действия рецептора (рис.1).

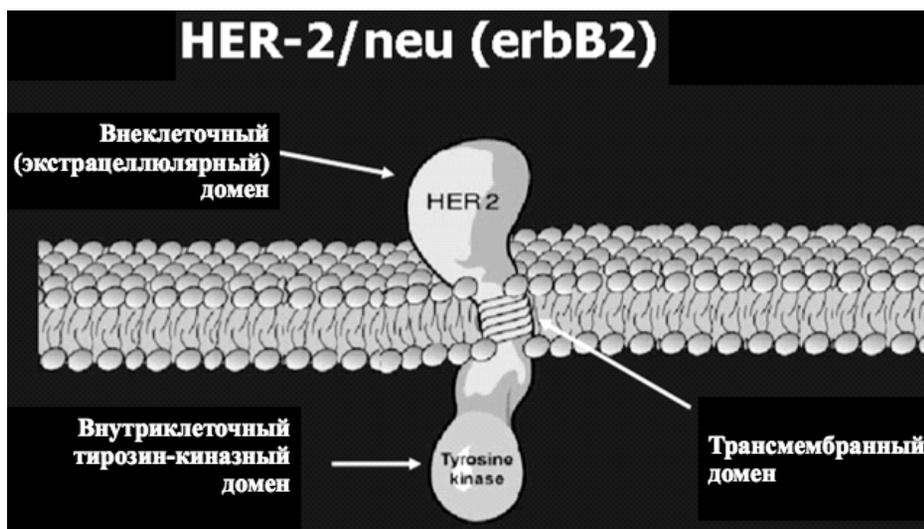


Рис.1. Строение HER-2/neu рецептора [4].

Антител-зависимая клеточная цитотоксичность: стимуляция NK клеток

Препятствует димеризации рецептора Her-2

Уменьшает или полностью прекращает передачу сигнала от рецептора по внутриклеточным каскадам

Напрямую ингибирует клеточный цикл:
индуцирует p27^{kip1} циклин-зависимую киназу, которая ингибирует фазу G1

Антиангиогенное действие: снижает ангиогенные факторы: VEGF, TGF-альфа, PAI-1

Проапоптотическое действие: ингибирует Akt киназный путь

Гиперэкспрессия Her-2 обычно является результатом генной амплификации, которая наблюдается у 15-25% больных РМЖ. Гиперэкспрессия Her-2 приводит к активации внутриклеточных сигнальных каскадов MAPK, PI3/Akt, JAK/STAT и усилению процессов клеточной пролиферации, ангиогенеза и метастазирования. Учитывая эти обстоятельства, рецептор Her-2 был признан перспективной мишенью для противоопухолевой терапии. На сегодняшний день используется два препарата: трастузумаб и лапатиниб, блокирующие рецептор Her-2.

Трастузумаб – гуманизованное моноклональное антитело к экстрацеллюлярному домену Her-2. Механизмы действия представлены в табл. 2 [4].

Her-2 относится к предиктивным биомаркерам, и его ценность была доказана при использовании трастузумаба, как в лечебном режиме, так и в адъювантной терапии. Ранние исследования Baselga J. с соавт., и Cobleigh MA с соавт., показали, что монотерапия трастузумабом у больных Her-2 положительным распространенным РМЖ индуцирует опухолевую регрессию у 12-34% пациентов. В исследовании Slamon с соавт. добавление трастузумаба к химиотерапии способствовало высокой частоте объективных ответов (50% против 32%, $p < 0.001$), увеличению медианы времени до прогрессирования (7.4 против 4.6 мес., $p < 0.001$), медианы длительности ответа (9.1 против 6.1 мес., $p < 0.001$), низкой частоте смерти в течение 1 года (22% против 33%, $p = 0.008$), увеличению медианы выживаемости (25.1 против 20.3 мес., $p = 0.01$) и снижению на 20% риска смерти [5]. Несмотря на доступность биомаркера Her-2 для селекции пациентов, подлежащих терапии трастузумабом, только 30% из них с распространенным Her-2 положительным РМЖ имеют пользу от монотерапии трастузумабом [5].

Проблемой является развитие резистентности к трастузумабу. Недавние исследования показали, что мутации в гене PI3KCA, потеря PTEN, гиперэкспрессия IGFR и экспрессия расщепленных форм Her-2 (p95Her-2, Her-2¹¹⁶) играют роль в развитии этой резистентности [5].

Лапатиниб относится к тирозин-киназным ингибиторам, он конкурирует с АТФ при связывании с внутриклеточным доменом, а также блокирует связывание АТФ с тирозин-киназным доменом EGFR. Таким образом лапатиниб оказывает ингибирующее влияние на рецепторы Her-2 и EGFR. Уч-

тывая частое развитие резистентности к трастузумабу, в клинической практике стали использовать метод так называемой «двойной блокады», т.е. комбинацию трастузумаба и лапатиниба. Данный подход позволяет преодолеть резистентность к трастузумабу и повысить эффективность лечения при лечении Her-2 позитивного РМЖ.

Биомаркеры при раке легкого (НМРЛ)

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) является наиболее исследуемой терапевтической мишенью у пациентов с НМРЛ и относится к предиктивным биомаркерам.

Гиперэкспрессия EGFR наблюдается более чем в 60% случаев НМРЛ. Развитие точковых мутаций, делеции, амплификации приводят к активации EGFR. Эти мутации обнаруживаются в 30% случаев НМРЛ в странах восточной Азии и в 10% среди других национальностей и рас. Делеции и миссенс мутации тирозинкиназного домена EGFR, кодируемого 18-21 экзонами гена EGFR, являются предикторами ответа к группе препаратов - ингибиторов тирозинкиназ (гефитиниб, эрлотиниб). Мутации EGFR чаще встречаются в аденокарциномах, у женщин, монголоидов и никогда не куривших. Редко мутации EGFR встречаются в плоскоклеточном, мелкоклеточном раке легких. Большинство всех мутаций (90%) тирозин-киназного домена EGFR приходится на 19 и 21 экзон, 3-5% приходится на 18 и 20 экзоны. Мутации активируют сигнальный путь EGFR и содействуют EGFR-опосредованной передаче антиапоптотических сигналов и выживаемости опухолевых клеток.

Эрлотиниб и гефитиниб блокируют АТФ-связывающий внутриклеточный домен EGFR и тем самым ингибируют сигналы, поступающие от рецептора EGFR. Высокий клинический эффект терапии эрлотинибом или гефитинибом наблюдается преимущественно при НМРЛ с мутацией в рецепторе мишени EGFR. Исследование Dahabreh с соавт., 2010 (n=3101) при НМРЛ с мутацией EGFR показало эффективность монотерапии ингибиторами тирозинкиназ, доказало высокую чувствительность и специфичность «мутаций EGFR» (0.78; 95% CI, 0.74-0.82), (0.86; 95% CI, 0.82-0.89). Амплификация гена EGFR также ассоциируется с ответом на ингибиторы тирозинкиназ, но характеризуется меньшей чувствительностью и спе-

цифичностью, чем мутации рецептора EGFR [5]. В связи с этим экспертами ESMO и ASCO рекомендовано проводить исследование на мутации EGFR у пациентов с диссеминированным НМРЛ. При наличии мутаций EGFR может быть рекомендовано назначение ингибиторов тирозинкиназ в 1-линии терапии.

В ряде случаев, несмотря на наличие мутации рецептора EGFR, эффекта от лечения ингибиторами тирозинкиназ не наблюдается, что может быть обусловлено одновременной мутацией гена KRAS или мутацией в 20 экзоне гена EGFR (T790M), или амплификацией гена MET.

Ген ERCC1 относится к группе генов, участвующих в репарации ДНК. Исследование IALT (n=761) показало увеличение общей выживаемости у пациентов с I-III стадией НМРЛ, получивших адъювантное лечение платиносодержащей химиотерапией при ERCC1-негативных опухолях (p=0.002).

Ген RRM1 кодирует фермент рибонуклеозиддифосфатредуктазу и локализуется в коротком плече 11-й хромосомы в локусе 11p15.4-p15.5, ассоциируется с метаболизмом нуклеозидов. RRM1 является молекулярной мишенью для гемцитабина. Исследования Rosell и Verplер показало, что увеличенная экспрессия RRM1 определяет резистентность к гемцитабину, тогда как снижение экспрессии RRM1 коррелирует с чувствительностью к гемцитабину у пациентов, получающих адъювантную химиотерапию при НМРЛ [6].

EML4-ALK – слитный ген. Гены ALK и EML4 расположены на коротком плече 2 хромосомы. Ген ALK (киназы анапластической лимфомы) кодирует эту тирозинкиназу. Ген EML4 (белка иглокожих, ассоциированный с микротрубочками, тип 4) участвует в формировании и стабилизации микротрубочек. На сегодняшний день выявлено 9 различных вариантов слияния EML4-ALK. Это слияние приводит к изменению в структуре тирозинкиназ, ингибированию апоптоза и пролиферации опухолевых клеток посредством активации PI3K/Akt и MAPK сигнальных путей.

По данным Wong DW с соавт., у больных НМРЛ в Японии частота слияния EML4-ALK составляет 6.7%, в Корее – 1.4%, в США 13%. Высокий процент EML4-ALK (16.1%; 19.2%) отмечается при аденокарциноме и у никогда не куривших пациентов [7].

EML4-ALK является предиктивной мишенью, которая предсказывает эффективность нового таргетного препарата кризотиниб (PF20341066). Кризотиниб ингибирует не только ALK рецептор тирозинкиназы, но и c-Met. Исследование Kwak с соавт., показало, что в группе пациентов с ALK-позитивным распространенным НМРЛ приме-



Рис.2. Активация цикла RAS [9].

нение Кризотиниба позволило достичь объективного ответа у 57% больных, а стабилизации процесса в 33% случаев. При медиане наблюдения 6.4 месяца выживаемость без прогрессирования составила 72% [8].

Биомаркеры при колоректальном раке (КРР)

Несколько онкогенов играют ключевую роль в развитии колоректального рака. Мутации в гене RAS и BRAF активируют сигнальный путь MAPK. Около 1/3 больных колоректальным раком имеют мутации в гене PI3K и PTEN.

Ген RAS имеет два подтипа: Ha-RAS (Harvey) и K-RAS (Kristen) и картирован на коротком плече 12 хромосомы (12p12.1). Мутации в гене K-RAS в опухолях толстой кишки встречаются в 30-60%. Наиболее часто мутации K-RAS определяются в экзоне 2, кодоне 12 и 13. Однако описаны мутации в кодонах 61 и 146. При диком типе (не мутированом) K-RAS передача сигнала внутри клетки ограничена превращением гуанин дифосфата (ГДФ) в гуанин трифосфат (ГТФ) и обратно в ГДФ. При мутированом K-RAS переход ГТФ в ГДФ ослаблен, в результате чего происходит постоянная активация гена RAS и внутриклеточных сигналов (рис.2).

Для лечения пациентов колоректальным раком в клинической практике используются два моноклональных антитела (панитумумаб и цетуксимаб), которые связываются и ингибируют активность EGFR сигнального пути. Согласно существующим на сегодняшний день международным рекомендациям все пациенты с метастатическим колоректальным раком должны быть проверены на наличие мутаций K-RAS. Если имеется мутация, они не должны получать лечение антителами к EGFR (панитумумаб или цетуксимаб). Проведенные исследования CRYSTAL,

OPUS, PRIME показали, что комбинация химиопрепаратов (иринотекан, оксалиплатин) с антителами к EGFR (панитумумаб или цетуксимаб) эффективна только при опухолях диким типом K-RAS.

Биомаркер K-RAS в ряде случаев является прогностическим. Исследования RASCAL, RASCAL II показали, что мутации K-RAS у пациентов с колоректальным раком стадии Duke's C коррелирует со снижением безрецидивной и общей выживаемости [9].

Заключение

Определение ЭР остается наилучшим образцом предиктивного биомаркера в онкологии. Определение Her-2/neu у больных раком молочной железы является обязательным для определения необходимости терапии трастузумабом и лапатинибом. Определение мутации EGFR является обязательным для назначения

малых ингибиторов тирозинкиназ (гефитиниб, эрлотиниб) при распространенном НМРЛ в первой линии терапии. Гены ERCC1 и RRM1 являются прогностическими маркерами при резектабельном немелкоклеточном раке легкого, они предсказывают эффективность адъювантной химиотерапии производными платины и гемцитабином. На сегодняшний день представляется целесообразным и перспективным идентификация EML4-ALK при диссеминированном НМРЛ с последующим лечением кризотинибом. Определению мутации K-RAS при КРР являются маркером устойчивости к терапии моноклональными антителами (панитумумаб или цетуксимаб).

Продолжающийся активный поиск биомаркеров для селекции пациентов, подлежащих лечению таргетными препаратами, несомненно повысит эффективность противоопухолевой терапии.

Список литературы

1. *N.Saijo* Critical comments for role of biomarkers in the diagnosis and treatment of cancer // J.Cancer Treatment Reviews, 2011, doi:10.1016/j.ctrv.2011.02.004.
2. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Tamoxifen for early breast cancer: an overview of randomized trials // Lancet. – 1998. – Vol.351. – P.1451-1467.
3. *Bardou V.J. et al.* Progesterone receptor status significantly improves outcome prediction over estrogen receptor status alone for adjuvant endocrine therapy in 2 large breast cancer databases // J. Clin. Oncol. – 2003. – Vol.21. – P.1973-1979.
4. *Ross J.S.* Target therapy in breast cancer // J. Molecular & Cellular Proteomics. – 2004. – P.379-398.
5. *Duffy M.J.* Use of molecular markers for predicting therapy response in cancer patients // J.Cancer Treatment Reviews. – 2011. – P.151-159.
6. *Ganti K.A.* Update on Non-Small Cell Lung Cancer: Current State of Knowledge Regarding Diagnosis, Staging, and Treatment // Abeloff's Clinical. Oncology 4th Edition. – 2011. – P.1-18.
7. *Wong D.W.* The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS // J. Cancer. – 2009. – Vol.115. – P.1723-1733.
8. *Kwak E.L.* Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer // N.E.J.M. – 2010. – Vol.363(18). – P.1693-1703.
9. *Linardou H.* All about KRAS for clinical oncology practice: Gene profile, clinical implications and laboratory recommendations for somatic mutational testing in colorectal cancer // J. Cancer Treatment Reviews. – 2011. – Vol.37. – P.221-233.