

УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ЭСТРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ β В ТКАНИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА И МЕТАСТАЗОВ В ЛЕГКОМ

Б.Е. Полоцкий, Б.Б. Ахмедов, Е.А. Богущ, Е.А. Дудко, Т.А. Богущ, М.М. Давыдов

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Евгений Александрович Дудко labmedchem@mail.ru

Введение. Поиск патогенетически обоснованных подходов к лечению немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) является несомненно одной из первоочередных задач, так как результаты лекарственного лечения этого заболевания нельзя признать удовлетворительными. Открытие нового класса ядерных рецепторов — эстрогеновых рецепторов β (ЭР β), которые экспрессируются в ткани НМРЛ, послужило серьезным основанием для развития новой стратегии лечения НМРЛ — антиэстрогеновой терапии.

Цель исследования — получение ответа на клинически значимый вопрос, какое число пациентов с НМРЛ и с метастазами в легком опухолей другой первичной локализации являются потенциальными кандидатами на проведение антиэстрогеновой терапии.

Материалы и методы. Проведена сравнительная количественная оценка частоты и уровня экспрессии ЭР β в ткани НМРЛ и метастазов в легком (суммарно 74 образца) при использовании иммунофлуоресцентного метода и проточной цитофлуориметрии.

Результаты. Экспрессия ЭР β выявлена в подавляющем числе образцов НМРЛ и метастазов в легком (92 и 86 % соответственно). Средний уровень экспрессии ЭР β в ткани НМРЛ статистически значимо выше по сравнению с метастазами (42,0 % против 34,6 %, $p = 0,03$). Первичные опухоли с высоким (≥ 50 %) уровнем экспрессии ЭР β и суммарно с низким и умеренным (< 50 %) уровнем выявлены в 35 и 65 % случаев, а метастазы с аналогичными показателями экспрессии маркера — у 14 и 86 % пациентов соответственно.

Заключение. Экспрессия в опухоли ЭР β прогнозирует более благоприятное течение болезни, одной из причин этого может быть больший метастатический потенциал опухолевых клеток с низким уровнем экспрессии ЭР β . Около 70 % пациентов с НМРЛ и с метастатическим поражением органа являются потенциальными кандидатами на проведение антиэстрогеновой терапии в адъювантном режиме.

Ключевые слова: BRCA1, рецепторы эстрогенов, рак молочной железы, проточная цитофлуориметрия, прогноз

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-34-36

EXPRESSION LEVEL OF ESTROGEN RECEPTOR β IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER AND LUNG METASTASIS

B.E. Polotsky, B.B. Akhmedov, E.A. Dudko, E.A. Bogush, T.A. Bogush, M.M. Davydov

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia;
24 Kashyrskoe shosse, Moscow, 115478, Russia

Background. A search for pathogenetically grounded approaches to the treatment of non-small cell lung cancer is undoubtedly one of the top priorities, because of the results of its treatment cannot be regarded as satisfactory. Discovery of a new type of receptors, estrogen receptors β , that expressed in non-small cell lung cancer, created the preconditions for the development of a new treatment strategy for non-small cell lung cancer, namely antiestrogen therapy.

Objective was to answer to the clinically significant question of how many patients with non-small cell lung cancer and lung metastases are potential candidates for antiestrogen treatment.

Materials and methods. A comparative quantitative estimation of the level and frequency of the estrogen receptors β expression in non-small cell lung cancer tissues and also in lung metastases (74 in total) was carried out by flow cytometry.

Results. The estrogen receptors β expression was detected in the majority of the investigated tumors and lung metastases, in 92 and 86 % of patients, respectively. The average level of estrogen receptors β expression in non-small cell lung cancer tissue was higher than in metastases (42 % and 34.6 % respectively). The differences was statistically significant ($p = 0.03$). Primary tumors with a high and low+moderate estrogen receptors β expression levels were detected in 35 % and 65 % of cases respectively and metastases with such expression levels — in 14 % and 86 % of cases respectively.

Conclusion. 1. The estrogen receptors β expression in the tumor predicts a more favorable course of the disease. One of the reasons for this may be a greater metastatic potential of tumor cells with low estrogen receptors β expression. 2. The group of potential candidates for carrying out the adjuvant antiestrogen therapy comprises about 70 % of patients with primary lung tumors and with metastatic lesions of lung.

Key words: BRCA1, estrogen receptors, breast cancer, flow cytometry, prognosis

Введение

Поиск патогенетически обоснованных подходов к лечению немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) является несомненно одной из первоочередных задач, так как результаты лекарственного лечения этого заболевания нельзя признать удовлетворительными. Поэтому открытие нового класса рецепторов — эстрогеновых рецепторов β (ЭР β), которые выявляются в солидных опухолях разных локализаций, служит серьезным основанием для развития новой стратегии лечения НМРЛ — антиэстрогеновой терапии.

По данным разных авторов, ЭР β выявляются в 60–80 % случаев НМРЛ [1–3]. Экспрессия маркера прогнозирует более благоприятное течение болезни [4, 5], а отсутствие ЭР β является независимым фактором, ухудшающим прогноз НМРЛ [6].

В настоящем исследовании проведена сравнительная количественная оценка частоты и уровня экспрессии ЭР β в ткани НМРЛ, а также метастазов в легком опухолей другой первичной локализации, чтобы ответить на клинически значимый вопрос, какое число пациентов с НМРЛ и с метастазами в легком опухолей другой первичной локализации являются потенциальными кандидатами на проведение антиэстрогеновой терапии.

Материалы и методы

Исследование проведено количественным иммунофлуоресцентным методом, разработанным и запатентованным авторами [7], с использованием моноклональных антител к ЭР β (Abcam, 14C8), изотипических (Abcam, MG2a — 53) и вторичных антител, конъюгированных с флуоресцентным красителем FITC в конечном разведении 1:500 (Sigma, F2772).

Измерение флуоресценции проводили на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson) с применением программного обеспечения FACSDiva 6.0. Количество специфически флуоресцирующих клеток (%), уровень экспрессии ЭР β определяли с помощью теста Колмогорова—Смирнова, включенного в программу FlowJo 7.6, статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0. Различия между группами сравнения оценивали по t-критерию Стьюдента. Для контроля активности антител использовали культуру клеток аденокарциномы молочной железы человека линии MCF-7. Суммарно исследовано

74 образца опухолей, полученных во время хирургических операций в РОНЦ им. Н.Н. Блохина (37 — первичные опухоли, 37 — метастазы).

Результаты и обсуждение

Экспрессия ЭР β выявлена в подавляющем числе исследованных образцов НМРЛ и метастазов в легком — в 92 и 86 % случаев соответственно.

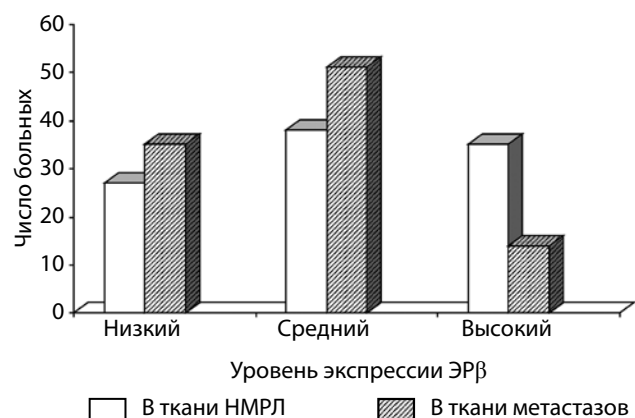
Результаты сравнительной оценки уровня экспрессии ЭР β в ткани первичной опухоли и метастазов в легком представлены в таблице. Видно, что средний уровень экспрессии ЭР β в ткани НМРЛ составил 42 %, а в метастазах оказался статистически значимо ниже — 34,6 % ($p = 0,03$).

На рисунке представлено распределение исследованных образцов опухолей в зависимости от уровня

Частота эстрогеновых рецепторов β в ткани немелкоклеточного рака легкого и метастазов в легком опухолей других первичных локализаций

Группы сравнения	Размер выборки	Уровень экспрессии ЭР β , %*	Достоверность различия между группами
НМРЛ	37	42,0 \pm 15,3	$p = 0,03$
МТС	37	34,6 \pm 12,1	

Примечание. НМРЛ — немелкоклеточный рак легкого; МТС — метастазы в легком; ЭР β — эстрогеновые рецепторы β .
*Количество специфически флуоресцирующих клеток \pm стандартное отклонение.



Распределение больных в зависимости от уровня экспрессии эстрогеновых рецепторов β в клетках немелкоклеточного рака легкого и метастазов в легком опухолей других первичных локализаций. НМРЛ — немелкоклеточный рак легкого; ЭР β — эстрогеновые рецепторы β

экспрессии ЭРβ в опухолевой ткани: низкий уровень — ЭРβ выявлены менее чем в 30 % клеток, умеренный — в 30–49 %, высокий — в 50 % и более.

Видны значительные различия в числе больных с высоким уровнем экспрессии ЭРβ в ткани НМРЛ и метастазов — 35 % против 14 % случаев соответственно ($p = 0,03$). Суммарное число опухолей с низким и умеренным уровнем экспрессии ЭРβ у больных НМРЛ составило 65 %, а у пациентов с метастазом в легком было статистически значимо выше — 86 % случаев ($p = 0,03$).

Чем вызвано выявленное снижение уровня и частоты экспрессии ЭРβ в метастазах по сравнению с первичной опухолью? Если опустить возможный вклад гистологической разнородности метастазов, наиболее вероятной причиной этого может быть больший метастатический потенциал опухолевых клеток с низким уровнем экспрессии ЭРβ, что согласуется с данными ряда авторов о прогностически

благоприятной значимости экспрессии в опухоли ЭРβ [4–6].

Заключение

Таким образом, в настоящем исследовании продемонстрирован клинически важный факт. Показано, что значительное число пациентов с НМРЛ и с метастазами в легком опухолей другой первичной локализации являются потенциальными кандидатами на проведение антиэстрогеновой терапии. По аналогии с раком молочной железы речь может идти об адъювантном применении антиэстрогенов у радикально оперированных больных с первичным или метастатическим поражением легкого с положительным статусом ЭРβ в опухоли, и в первую очередь — с высоким уровнем экспрессии рецепторов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (№№ 15-04-06991-а, 16-34-01049-мол-а) и гранта Президента РФ МК-7709.2016.7.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Raso M.G., Behrens C., Herynk M.H. et al. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors identifies a subset of NSCLCs and correlates with EGFR mutation. Clin Cancer Res 2009;15(17):5359–68. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0033. PMID: 19706809.
2. Давыдов М.И., Полоцкий Б.Е., Жураев Э.Э. и др. Особенности клинического течения и прогноза периферического рака легкого у женщин. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2011;22(3):47–54.
3. Шатурова А.С., Богуш Т.А., Дудко Е.А. и др. Экспрессия эстрогеновых рецепторов β и β1 в ткани немелкоклеточного рака легкого человека. Антибиотики и химиотерапия 2012;57(5–6):11–7.
4. Wu C.T., Chang Y.L., Shih J.Y., Lee Y.C. The significance of estrogen receptor beta in 301 surgically treated non-small cell lung cancers. J Thorac Cardiovasc Surg 2005;130 (4):979–86. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2005.06.012. PMID: 16214508.
5. Kawai H., Ishii A., Washiya K. et al. Combined overexpression of EGFR and estrogen receptor alpha correlates with a poor outcome in lung cancer. Anticancer Res 2005;25 (6C): 4693–4698. PMID: 16334162.
6. Kawai H., Ishii A., Washiya K. et al. Estrogen receptor alpha and beta are prognostic factors in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res 2005;11(14):5084–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0200. PMID: 16033821.
7. Богуш Т.А., Шатурова А.С., Дудко Е.А. и др. Количественная иммунофлуоресцентная оценка с использованием проточной цитофлуориметрии экспрессии эстрогеновых рецепторов β в солидных опухолях человека. Вестник Московского университета, сер. 2, Химия 2011;52(4):305–12.