

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ЭКСПРЕССИИ АНДРОГЕНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗЛИЧНЫХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ТИПАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Д.А. Рябчиков¹, И.К. Воротников¹, Н.А. Козлов¹, Н.В. Чхиквадзе¹, К.С. Титов², А.С. Шушарин¹

¹ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ГБУЗ Московский клинический научный центр ДЗМ; Россия, 111123 Москва, ш. Энтузиастов, 86

Контакты: Денис Анатольевич Рябчиков dr.denisr@mail.ru

Введение. В настоящее время данные литературы не отражают единого мнения о связи уровня андрогенов и их метаболитов в различных биологических жидкостях и тканях с развитием рака молочной железы (РМЖ). Как полагают многие исследователи, определение уровня андрогеновых рецепторов (АР) в опухоли у больных РМЖ способно открыть ряд перспективных направлений в изучении прогноза заболевания и поиске новых подходов в эндокринной терапии различных молекулярных подтипов РМЖ.

Цель исследования — оценка клинической и прогностической значимости иммуногистохимической экспрессии АР в различных молекулярных типах РМЖ.

Материалы и методы. В настоящей работе изучалась экспрессия АР в опухолевой ткани у пациентов с различными молекулярными типами РМЖ.

Результаты. Риск смерти у больных с АР-позитивным РМЖ на 88 % ниже, чем у больных с АР-негативными опухолями.

Заключение. Сделан вывод, что изучение экспрессии АР является перспективным направлением не только в оценке прогноза заболевания, но и при поиске дополнительных подходов к лечению РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторы андрогенов, факторы прогноза, молекулярный подтип

DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-32-37

PROGNOSTIC VALUE OF EXPRESSION OF ANDROGENETIC RECEPTORS IN DIFFERENT MOLECULAR TYPES OF BREAST CANCER

D.A. Ryabchikov¹, I.K. Vorotnikov¹, N.A. Kozlov¹, N.V. Chkhikvadze¹, K.S. Titov², A.S. Shusharin¹

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Sh., Moscow, 115478, Russia;

²Moscow Clinical Research Center; 86 Sh. Entuziastov, Moscow, 111123, Russia

Introduction. So far in the literature there is no consensus on the relationship between the level of androgens and their metabolites in various biological fluids and tissues with the development of breast cancer. As suggested by many researchers, determining the level of androgenetic receptors (AR) in the tumor in patients with breast cancer are able to access a number of promising directions in the study of prognosis of the disease and the search for new approaches to endocrine therapy of different molecular subtypes of breast cancer.

Objective. To evaluate the clinical and prognostic significance of the immunohistochemical expression of AR in different molecular types of breast cancer.

Materials and methods. In the present work we have studied the expression of AR in tumor tissue in patients of different molecular types of breast cancer.

Results. The risk of death in patients with AR-positive breast cancer is 88 % lower than in patients with AR-negative tumors.

Conclusion. It was concluded that the study of the expression of AR, is a promising direction not only in the assessment of the prognosis of the disease, but when searching for additional approaches to the treatment of breast cancer.

Key words: breast cancer, androgen receptor, prognostic factors, molecular subtype

Введение

Сегодня рак молочной железы (РМЖ) является одной из самых распространенных злокачественных опухолей в мире и в России. Так, в 2014 г. 18,2 % из всего объема злокачественных новообразований

составила именно эта патология [1]. В отечественной и зарубежной литературе в последнее время отмечается повышенный интерес к изучению экспрессии андрогеновых рецепторов (АР) при различных молекулярных типах РМЖ. В частности, было показано,

что эстрогены стимулируют, а андрогены угнетают развитие молочной железы вне зависимости от пола [2]. Кроме того, установлено, что АР являются важным элементом регуляции клеточных процессов в гормонально-зависимых тканях (предстательная железа, молочная железа и др.), и их исследование может позволить улучшить результаты лечения РМЖ, а также оптимизировать стратификацию больных по терапевтическим и прогностическим группам [2–5]. Однако в имеющихся публикациях нет единого мнения о влиянии уровня экспрессии АР на течение и прогноз заболевания, что указывает на необходимость их более пристального исследования с помощью молекулярно-биологических методов, в том числе с помощью иммуногистохимического (ИГХ) исследования. Актуальность проблемы обусловлена еще и тем, что существующие данные о связи АР-статуса опухоли с течением и прогнозом РМЖ носят весьма противоречивый характер, при этом преобладает мнение о том, что у пациенток с АР-позитивными опухолями прогноз заболевания является более благоприятным. В этой связи становится понятной необходимость дальнейшего изучения экспрессии АР в различных молекулярных типах РМЖ [6–9].

Цель исследования — оценить клиническую и прогностическую значимость ИГХ-экспрессии АР в различных молекулярных типах РМЖ.

Материалы и методы

Настоящая работа основана на анализе ретроспективных данных комплексного обследования и лечения 70 пациенток, страдающих РМЖ, наблюдавшихся и получавших лечение в отделениях ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина». Среднее время наблюдения за больными составило $87,9 \pm 47,4$ мес (от 3,4 до 179,2 мес, медиана — 87,9 мес). Возраст пациенток варьировал от 32 до 79 лет (средний возраст $54,4 \pm 11,5$ года, медиана — 55 лет). Распределение пациенток в зависимости от вида проводимого лечения представлено на рис. 1.

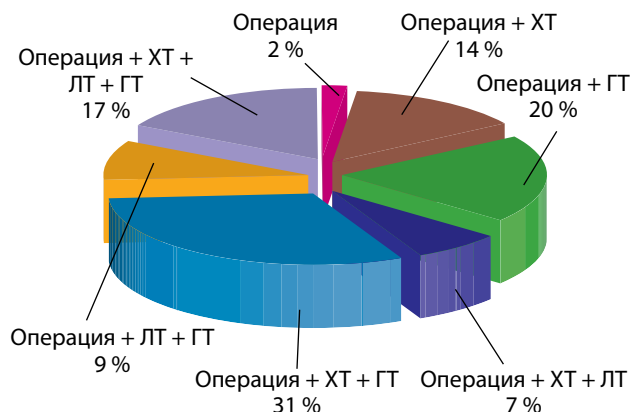


Рис. 1. Характеристика видов лечения РМЖ

Из рис. 1 видно, что большинство пациенток — 68 (97 %) — получали комбинированное или комплексное лечение: химио-, гормоно-, лучевую терапию; 2 (3 %) больных были пролечены только хирургическим методом.

Всем пациенткам на материале удаленной опухоли выполнены рутинное гистологическое и ИГХ-исследование. Во всех случаях одним морфологом был проведен пересмотр гистологических препаратов операционного материала, хранящихся в архиве патологоанатомического отделения: проведено уточнение гистологического типа опухоли и степени дифференцирования в соответствии с действующей Классификацией опухолей молочной железы ВОЗ (2013). Во всех случаях сделано ИГХ-исследование экспрессии АР, эстрогеновых рецепторов (ЭР) и прогестерона (ПР), эпидермального фактора роста 2-го типа (Her2/neu) и пролиферативной активности опухоли (индекс Ki-67).

ИГХ-исследование и интерпретация результатов.

Исследование выполнялось на серийных депарафинизированных срезах опухолевой ткани с помощью биотин-стрептавидинового иммунопероксидазного метода с антителами к рецепторам Е ЭР α (SP1, Cell Marque), ПР (SP42, Cell Marque), АР (F39.4.1, Biogenex), Her2/neu (Herceptest, Dako) и Ki-67 (MIB1, Dako). Срезы толщиной 3–4 мкм депарафинизировали и регидратировали по стандартной схеме. Оценка реакции гормональных рецепторов проводилась в опухоли полуколичественным методом с учетом интенсивности окрашивания и количества антиген-позитивных клеток, согласно методике Allred и соавт. [10]. В связи с отсутствием установленных пороговых значений для оценки экспрессии АР в опухолях молочной железы, результаты экспрессии были оценены по схеме Allred, применяемой для рецепторов эстрогенов и прогестерона.

В табл. 1 представлено распределение пациенток в зависимости от уровня экспрессии АР в баллах.

Таблица 1. Уровень экспрессии АР в баллах в инвазивном РМЖ

Число пациенток	Показатель, %	Сумма баллов
6	8,6	0
2	2,9	2
1	1,4	3
5	7,1	4
4	5,7	5
12	17,1	6
33	47,2	7
7	10,0	8

Таблица 2. Клинико-морфологические характеристики РМЖ в зависимости от уровня андрогенов

Показатель	Градация	AP-негативные (n = 6)		AP-позитивные (n = 64)		Всего (n = 70)	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
Стадия	I	1	16,7	25	39,0	26	37,1
	IIa	1	16,7	12	18,8	13	18,6
	IIb	1	16,7	14	21,9	15	21,4
	IIIa	2	33,2	8	12,5	10	14,3
	IIIb	1	16,7	3	4,7	4	5,7
	IV	—	—	2	3,1	2	2,9
Гистология	НСТ*	6	100	55	86,0	61	87,1
	дольковый	—	—	2	3,1	2	2,9
	смешанный	—	—	5	7,8	5	7,1
	редкие формы	—	—	2	3,1	2	2,9
Степень злокачественности	I степень	—	—	10	15,6	10	14,3
	II степень	2	33,3	35	54,7	37	52,9
	III степень	4	66,7	18	28,1	22	31,4
	Cis	—	—	1	1,6	1	1,4

*Инвазивный рак неспецифического типа (в предыдущей классификации ВОЗ — инвазивный протоковый рак)

Как видно из табл. 1, наибольшее число пациенток — 33 (47,2 %) — имели уровень экспрессии AP 7 баллов, у остальных пациенток уровень экспрессии AP был меньше, при этом у 6 больных экспрессия AP не определялась (0 баллов).

С учетом уровня экспрессии AP в опухоли пациентки были разделены на 2 группы: AP-негативные (n = 6) и AP-позитивные (n = 64). Клинико-морфологические характеристики РМЖ в обеих исследуемых группах представлены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что наибольшее число пациенток — 26 (37,1 %) — имели I стадию заболевания. Из морфологических форм чаще всего выявлялся инвазивный рак неспецифического типа — 87,1 % случаев. Инвазивный рак II степени злокачественности наблюдался гораздо чаще, составив 52,9 % случаев. Все опухоли с отсутствием экспрессии AP были представлены инвазивным раком неспецифического типа (100 %) и имели II или III степень злокачественности.

Согласно молекулярно-генетической классификации, учитывая параметры РЭ, РП, Her2/neu и Ki-67, все опухоли были разделены на 4 группы в зависимости от молекулярно-генетического типа.

Данные о частоте выявления позитивного AP-статуса РМЖ в зависимости от молекулярного типа представлены в табл. 3.

Люминальные подтипы встречались гораздо чаще остальных и составили 77,1 % случаев, при этом самым распространенным из них оказался люминальный B Her2-негативный подтип — 41,4 % случаев. В группе AP-негативных опухолей отмечено достоверно большее число случаев тройного негативного рака, чем в группе AP-позитивных, — 50 и 10,9 % случаев соответственно (p = 0,034).

Результаты исследования

За время наблюдения смертность в группе больных с AP-негативным РМЖ составила 66,7 % (n = 4), что достоверно выше, чем в группе с AP-позитивными опухолями — 12,5 % (n = 8, p = 0,007).

Анализ выживаемости пациентов (по методу Каплана—Майера) в зависимости от уровня экспрессии AP представлен в табл. 4 и на рис. 2.

Статистический анализ данных табл. 4 и рис. 2 показал, что продолжительность жизни достоверно выше в группе больных с высоким уровнем экспрессии AP в опухоли. Так, из пациенток с высокой экспрессией AP через 5 лет были живы 91 %, через 10 лет — 83 %. В то же время в группе с негативным AP-статусом опухоли 10-летний рубеж не прошла ни одна больная. Пятилетняя выживаемость у пациентов с негативным AP-статусом опухоли составила 33,3 % (p = 0,0007). С учетом приведенных данных

Таблица 3. Частота выявления позитивного AP-статуса РМЖ в зависимости от молекулярного типа

Тип	AP-негативные (n = 6)		AP-позитивные (n = 64)		Всего (n = 70)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Люминальный А	2	33,3	16	25,0	18	25,7
Люминальный В Her-	1	16,7	28	43,8	29	41,4
Люминальный В Her+	—	—	7	10,9	7	10,0
Erb-B2 гиперэкспрессирующий (Her2-тип)	—	—	6	9,4	6	8,6
Базальноподобный (тройной негативный)	3	50,0	7	10,9*	10	14,3

*Статистически достоверные различия между группами AP- и AP+, $p = 0,034$.

можно сделать вывод: отсутствие экспрессии AP в опухоли является неблагоприятным прогностическим фактором, независимо от молекулярного типа.

Таблица 4. Общая выживаемость (% \pm δ) больных РМЖ в зависимости от AP-статуса опухоли

Срок	AP—	AP+	Всего
	6	64	70
1-летняя	100	98,4 \pm 1,6	95,4 \pm 2,6
3-летняя	66,7 \pm 19,2	94,9 \pm 2,9	87,1 \pm 4,3
5-летняя	33,3 \pm 19,2	91,0 \pm 3,9	81,4 \pm 5,1
10-летняя	—	83,3 \pm 5,6	81,4 \pm 5,1
Медиана	39,9	Не достигнута*	Не достигнута

* Достоверные различия между группами, $p = 0,0007$.

Регрессионный анализ по Коксу показал: отношение рисков (ОР) 0,119, $p = 0,0008$, 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,034–0,41. Последнее доказывает, что риск смерти у больных с AP-позитивным РМЖ на 88 % ниже, чем у больных с AP-негативными опухолями. Общая выживаемость пациентов с люминальными и нелюминальными типами РМЖ в зависимости от уровня андрогенов представлена на рис. 3 и 4. Для люминального рака ($n = 54$) величина риска так же значима: ОР 0,015, $p = 0,0003$, 95 % ДИ 0,002–0,150. Для нелюминального рака ($n = 16$) экспрессия AP не оказывает существенного влияния на риск смерти: ОР 0,596, $p = 0,658$, 95 % ДИ 0,061–5,866).

Обсуждение

За последние годы существенно расширились представления о молекулярно-биологических особенностях РМЖ, выявлен ряд характерных для разных типов опухолей генетических аномалий. Про-

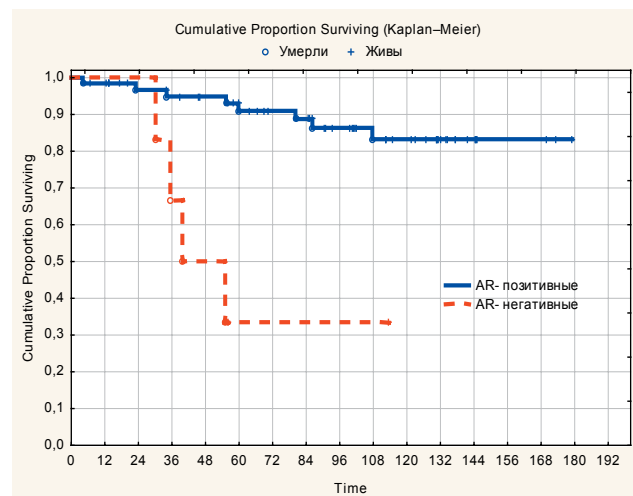


Рис. 2. Общая выживаемость в зависимости от уровня андрогенов, $p = 0,0007$

должаются исследования различных биологических показателей РМЖ, которые могут иметь прогностическое значение, изучаются различные маркеры прогноза заболевания [11, 12].

Как показали исследования V. Panet-Raymond и соавт., при люминальных типах РМЖ экспрессия AP была ассоциирована с низким показателем pT, более низкой степенью злокачественности и, соответственно, благоприятным прогнозом. Авторы пришли к выводу, что позитивный эффект экспрессии AP мог быть результатом подавления рецепторами андрогенов сигнальных путей рецепторов эстрогена, стимулирующих рост опухоли [13]. Аналогичные данные были получены нами. Так, у больных с AP-позитивными опухолями в подавляющем большинстве случаев определялась I стадия заболевания и II степень злокачественности. Результаты, во многом согласующиеся с нашими данными, получены японскими исследователями E. Tokunaga и соавт., которые изучали экспрессию AP в люминальных типах РМЖ. Ими был проанализирован уровень экспрессии AP

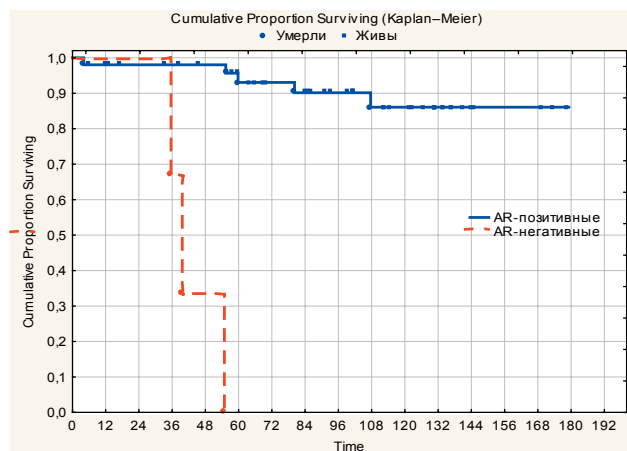


Рис. 3. Общая выживаемость пациентов с люминальными типами РМЖ в зависимости от уровня андрогенов, $p = 0,00001$

у 250 больных и сопоставлен с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Экспрессия АР увеличивалась с возрастом в ЭР-позитивных опухолях. У пациентов старше 51 года высокий уровень экспрессии АР достоверно коррелировал с хорошим прогнозом, и незначительно — у пациентов моложе 50 лет. Авторы пришли к выводу, что выраженная экспрессия АР ассоциирована с хорошим прогнозом у больных люминальными типами РМЖ [14]. Противоположные результаты были получены L.J. McGhan и соавт., обнаружившими, что экспрессия АР коррелирует с более поздней клинической стадией и уве-

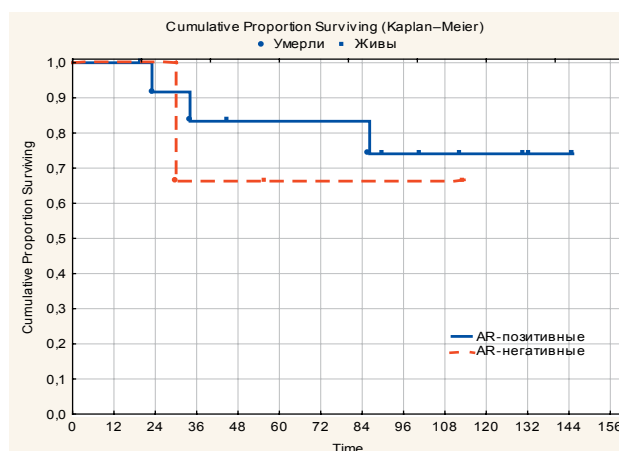


Рис. 4. Общая выживаемость пациентов с нелюминальными типами РМЖ в зависимости от уровня андрогенов, $p = 0,668$

личением частоты обнаружения метастазов в подмышечных лимфатических узлах [15]. I. Mrklic и соавт. также не нашли связи между экспрессией АР и прогнозом РМЖ [16].

Заключение

Сопоставляя наши данные с данными других исследований, можно сделать вывод, что изучение экспрессии АР в опухолевой ткани у пациентов РМЖ является перспективным направлением не только в оценке прогноза заболевания, но и при поиске дополнительных подходов к лечению РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Состояние онкологической помощи населению России в 2014 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2015. С. 5–11.
2. Safarpour D., Tavassoli F.A. A Targetable Androgen Receptor – Positive Breast Cancer Subtype Hidden Among the Triple-Negative Cancers. Arch Pathol Lab Med 2015;139(5):612–7. DOI: 10.5858/arpa.2014–0122-RA. PMID: 25310144.
3. Крылов А.Ю., Крылов Ю.В. Андрогены и рак молочной железы (обзор литературы). Вестник Витебского гос. мед. ин-та 2015;5(14):5–15.
4. Brys M. Androgens and androgen receptor: do they play a role in breast cancer? Med Sci Monit 2000;6(2):433–8. PMID: 11208351.
5. Liao D.J., Dickson R.B. Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland. J Steroid Biochem Mol Biol 2002;80(2):175–89. PMID: 11897502.
6. Isola J.J. Immunohistochemical demonstration of androgen receptor in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. J Pathol 1993;170(1):31–5. DOI: 10.1002/path.1711700106. PMID: 8100853.
7. Hu R., Dawood S., Holmes M.D. et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women. Clin Cancer Res 2011;17(7):1867–74. DOI: 10.1158/1078–0432.CCR-10–2021. PMID: 21325075. PMID: PMC3076683.
8. Moinfar F., Okcu M., Tsybrovskyy O. et al. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: potential relevance to new therapeutic strategies. Cancer 2003;98(4):703–11. DOI: 10.1002/cncr.11532. PMID: 12910513.
9. Ogawa Y., Hai E., Matsumoto K. et al. Androgen receptor expression in breast cancer: relationship with clinicopathological factors and biomarkers. Int J Clin Oncol 2008;13(5):431–5. DOI: 10.1007/s10147-008-0770-6. PMID: 18946753.
10. Lester S.C., Bose S., Chen Y.Y. et al. Protocol for the examination of specimens from patients with invasive carcinoma of the breast. Arch Pathol Lab Med 2009;133(10):1515–38. DOI: 10.1043/1543-2165-133.10.1515. PMID: 19792042.
11. Tang D., Xu S., Zhang Q., Zhao W. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. Medical Oncol 2012;29(2):526–33. DOI: 10.1007/s12032-011-9948-2. PMID: 21519872.
12. Federici C., Petrucci F., Caimi S. et al. Exosome Release and Low pH Belong

- to a Framework of Resistance of Human Melanoma Cells to Cisplatin. PLoS ONE 2014;9(2):e88193. DOI: 10.1371/journal.pone.0088193. PMID: 24516610. PMCID: PMC3916404.
13. Panet-Raymond V., Gottlieb B., Beitel L.K. et al. Interactions between androgen and estrogen receptors and the effects on their transactivational properties. Mol Cell Endocrinol 2000;167(1–2):139–50. PMID: 11000528.
14. Tokunaga E., Hisamatsu Y., Taketani K. et al. Differential impact of the expression of the androgen receptor by age in estrogen receptor-positive breast cancer. Cancer Med 2013;2(6):763–73. DOI: 10.1002/cam4.138. PMID: 24403250. PMCID: PMC3892381.
15. McGhan L. J., McCullough A.E., Protheroe C.A. et al. Androgen receptor-positive triple negative breast cancer: a unique breast cancer subtype. Ann Surg Oncol 2014;21(2):361–67. DOI: 10.1245/s10434-013-3260-7. PMID: 24046116.
16. Mrklic I., Pogorelic Z., Capkun V., Tomic S. Expression of androgen receptors in triple negative breast carcinomas. Acta Histochemica 2013; 115(4):344–48. DOI: 10.1016/j.acthis.2012.09.006. PMID: 23031358.