

Полнотранскриптомный анализ опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии: связь с ответом на предоперационную химиотерапию

М.К. Ибрагимова^{1,2}, М.М. Цыганов¹, Н.В. Литвяков^{1,3}

¹ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, Кооперативный пер., 5;

²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»; Россия, 634050 Томск, проспект Ленина, 36;

³Северский биофизический научный центр Федерального медико-биологического агентства России; Россия, 636039 Северск, Коммунистический проспект, 87

Контакты: Марина Константиновна Ибрагимова imk1805@yandex.ru

Введение. Лечение рака молочной железы во многих случаях включает системную химиотерапию в неoadъювантном режиме. Согласно данным литературы частота полного морфологического ответа опухоли значительно варьирует в зависимости от ее молекулярного подтипа, однако даже при самом чувствительном, трижды негативном подтипе она не превышает 50 %. В связи с этим актуальны поиск генетических предикторов ответа опухоли на предоперационное лечение и оценка изменений, которые происходят в опухоли в процессе неoadъювантной химиотерапии.

Цель исследования – проведение полнотранскриптомного анализа опухоли молочной железы в ходе неoadъювантной химиотерапии в зависимости от ответа на предоперационное лечение.

Материалы и методы. В исследование включены 39 пациентов с раком молочной железы люминального B HER2-позитивного подтипа (human epidermal growth factor receptor 2, рецептор эпидермального фактора роста, тип 2), получавшие 6–8 курсов неoadъювантной химиотерапии. Были исследованы парные образцы биопсийного и операционного материала. Полнотранскриптомный микроматричный анализ проводился с использованием платформы Clariom™ S Assay, human (Affymetrix, США).

Результаты. При сравнении экспрессионного профиля пациентов с наличием и отсутствием объективного ответа на лечение до проведения неoadъювантной химиотерапии было выявлено 166 дифференциально экспрессирующихся генов (13 up-regulated, 153 down-regulated). При сравнении экспрессионного профиля до и после лечения у больных с полной и частичной регрессией выявлено 680 дифференциально экспрессирующихся генов, а у больных со стабилизацией или прогрессированием – 3240 этих генов. С помощью построения диаграммы Венна было показано, что 105 дифференциально экспрессирующихся генов являются общими для пациентов с наличием/отсутствием объективного ответа на неoadъювантную химиотерапию до и после лечения.

Заключение. Был проведен первичный скрининг генов в опухоли молочной железы до лечения. Выявлены гены, экспрессия которых до терапии статистически значимо различалась у больных с объективным ответом на неoadъювантную химиотерапию и его отсутствием. Дальнейшая валидация данных генов на независимой выборке даст возможность разработать генетическую панель для определения ответа на неoadъювантную химиотерапию. Оценка изменений экспрессии опухолевых генов в ходе лечения у больных в зависимости от ответа на эту терапию может быть полезна для разработки в дальнейшем панели генов, выявление изменений которых позволит судить о клиническом ответе опухоли на химиотерапию, а также выделить ключевые клеточные процессы, меняющие активность генов в процессе терапии.

Ключевые слова: рак молочной железы, неoadъювантная химиотерапия, полнотранскриптомный анализ, экспрессионный профиль опухоли, дифференциально экспрессирующиеся гены

Для цитирования: Ибрагимова М.К., Цыганов М.М., Литвяков Н.В. Полнотранскриптомный анализ опухоли молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии: связь с ответом на предоперационную химиотерапию. Успехи молекулярной онкологии 2022;9(1):33–41. DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-1-33-41.

Whole transcriptome analysis of breast tumors during neoadjuvant chemotherapy: association with response to preoperative chemotherapy

M.K. Ibragimova^{1,2}, M.M. Tsyganov¹, N.V. Litviakov^{1,3}

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativny Str., Tomsk 634009, Russia;

²Tomsk State University; 36 Lenin Prospekt, Tomsk 634050, Russia;

³Seversk Biophysical Research Center of the Federal Medical and Biological Agency; 87 Kommunistichesky Prospekt, Seversk 636039, Russia

Contacts: Marina Konstantinovna Ibragimova imk1805@yandex.ru

Introduction. Treatment of breast cancer often includes systemic neoadjuvant chemotherapy. The frequency of complete morphological response varies significantly depending on the molecular subtype of tumor. However, even in triple negative breast cancer, which is considered the most sensitive, it does not exceed 50 %. Therefore, the search for new genetic predictors of tumor response to preoperative treatment, as well as the assessment of tumor changes during neoadjuvant chemotherapy are highly relevant.

Objective – to perform whole-transcriptome analysis of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy depending on tumor response to preoperative treatment.

Materials and methods. This study included 39 patients with luminal B HER2-positive (human epidermal growth factor receptor 2) breast cancer who received 6 to 8 cycles of neoadjuvant chemotherapy. We performed whole-transcriptome analysis of paired biopsy and surgical specimens using the Clariom™ S Assay, human (Affymetrix, USA).

Results. We observed significant differences in the pretreatment expression of 166 genes (13 were up-regulated and 153 were down-regulated) between patients with objective response to therapy and those without it. Comparison of pre- and post-treatment expression profiles demonstrated 680 differentially expressed genes in patients with complete and partial response and 3240 differentially expressed genes in patients with stable or progressive disease. Venn diagram showed that patients with and without objective response to neoadjuvant chemotherapy shared 105 differentially expressed genes.

Conclusion. We performed primary screening of genes in breast tumors before therapy and identified genes whose pre-treatment expression differed significantly between patients with objective response to neoadjuvant chemotherapy and those without it. Further validation of these genes in an independent sample will allow the development of a genetic panel to evaluate the response to neoadjuvant chemotherapy. Assessment of changes in the expression of tumor genes during treatment depending on patient's response to therapy can be useful for further development of a panel of genes, which will enable the evaluation of clinical response to chemotherapy, as well as identification of key cellular processes that change the activity of genes during therapy.

Key words: breast cancer, neoadjuvant chemotherapy, whole-transcriptome analysis, tumor expression profile, differential gene expression

For citation: Ibragimova M.K., Tsyganov M.M., Litviakov N.V. Whole transcriptome analysis of breast tumors during neoadjuvant chemotherapy: association with response to preoperative chemotherapy. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2022;9(1):33–41. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-1-33-41.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день на рак молочной железы (PMЖ) приходится 1 из 4 случаев злокачественных новообразований (ЗНО) у женщин и 1 из 6 случаев смерти от рака. В 2020 г. PMЖ занял 1-е место в заболеваемости ЗНО у женщин, до этого такую позицию занимал рак легких. Согласно данным Global Cancer Statistics в 2020 г. в мире зарегистрировано 2,3 млн (11,7 %) новых случаев PMЖ [1].

Как известно, лечение PMЖ носит комбинированный характер и во многих случаях подразумевает системную неoadъювантную химиотерапию (НХТ) [2]. В идеальном варианте применение предоперационной терапии приводит к достижению полного морфологического ответа (pCR) опухоли. Однако в клинической практике в зависимости от молекулярного подтипа такая ситуация наблюдается только в 1–45 % случаев. Это показано в работе W. Naqee и соавт. Авторы оценили часто-

ту полного pCR PMЖ на НХТ в зависимости от молекулярного подтипа опухоли. В исследование были включены 13939 больных PMЖ: 322 (2 %) пациента с раком люминального А подтипа, 5941 (43 %) – с раком люминального В подтипа, 2274 (16 %) – с HER2-позитивным (human epidermal growth factor receptor 2, рецептор эпидермального фактора роста, тип 2) и 5402 (39 %) – с трижды негативным PMЖ. Было выявлено, что 19 % пациентов достигли pCR. Самый низкий pCR наблюдался при PMЖ люминального А подтипа (0,3 %), самый высокий – при HER2-позитивном PMЖ (38,7 %) [3].

L.M. Spring и соавт. провели метаанализ, посвященный определению pCR после НХТ и его влияния на развитие рецидива и показатели выживаемости при PMЖ. Были проанализированы данные по 27895 пациентам. Авторы выявили, что 5-летней безрецидивной выживаемости достигли 90 % пациентов с pCR и 65 % пациентов без pCR [4].

За исключением молекулярных подтипов отсутствуют общепринятые маркеры прогноза эффективности НХТ. Однако не совсем понятны изменения экспрессионного профиля опухоли во время лечения, неясно, какие клеточные пути задействованы при ее объективном ответе на терапию или при его отсутствии. В связи с этим актуальным является подход к предикции ответа на лечение, основывающийся на оценке более универсальных генетических маркеров. Экспрессионные маркеры являются наиболее перспективными, поскольку в отличие от геномных маркеров они довольно изменчивы, а в отличие от системы RCB (residual cancer burden — ложе остаточной опухоли) — количественные и могут иметь различные градации. Кроме того, необходимо анализировать и изменение экспрессионного профиля опухоли под действием НХТ, поскольку она может индуцировать у больных РМЖ образование новых мутаций, приводящих к формированию резистентности и прогрессированию опухолевого процесса [5]. Групповой анализ изменения экспрессионного профиля опухоли в ходе НХТ в зависимости от клинического эффекта позволит также определить ключевые гены и клеточные пути, влияющие на эффективность лечения.

В представленном исследовании для определения изменений экспрессионного профиля в процессе НХТ был проведен полнотранскриптомный анализ опухоли молочной железы у пациентов с наличием и отсутствием объективного ответа на лечение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 39 пациентов с РМЖ (T1–4N0–2M0, IА–IIВ стадия) люминального В HER2-позитивного подтипа (ER+, PR+/-, Ki67 >30 %) и с морфологически верифицированным диагнозом 25–68 лет (средний возраст — 48,7 ± 0,3 года). Все больные получали 6–8 курсов системной НХТ: АС (доксорубин + циклофосфан), САХ (циклофосфан + доксорубин + кселода), СР (циклофосфан + платина), АСТ (доксорубин + циклофосфамид + доцетаксел) и АТ (доксорубин + доцетаксел), а также таксотер в монорежиме. Визуализация первичного поражения молочной железы была выполнена с помощью маммографии и ультразвукового исследования (УЗИ). Всем пациентам проведено хирургическое вмешательство (радикальная/подкожная мастэктомия, радикальная резекция, секторальная резекция с аксиллярной лимфаденэктомией, другой вид органосохраняющей операции) с последующей гормональной и лучевой терапией (при наличии метастазов в лимфатические узлы).

Клинические ответы были разделены, согласно классификации Всемирной организации здравоохранения, на полную регрессию (ПР, pCR), частичную регрессию (ЧР), стабилизацию (СТ) и прогрессирование (П). В табл. 1 представлена клинко-морфологическая характеристика пациентов с РМЖ.

Таблица 1. Клинко-морфологическая характеристика пациентов с раком молочной железы

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients with breast cancer

Параметр Parameter	Число пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)
Менструальный статус: Menstrual status:	
репродуктивный/пременопауза reproductive/premenopausal	22 (56,4)
постменопауза postmenopause	17 (43,6)
Гистологический тип: Histological type:	
инвазивный протоковый рак invasive ductal cancer	34 (87,2)
инвазивный дольковый рак invasive lobular cancer	2 (5,1)
другие типы other	3 (7,7)
Размеры первичной опухоли, сТ: Primary tumor size, cT:	
T1–2	36 (92,3)
T3–4	3 (7,7)
Поражение лимфатических узлов, сN: Lymph node involvement, cN:	
N0	16 (41,0)
N1–2	23 (58,9)
Схема неoadъювантной химиотерапии: Neoadjuvant chemotherapy regimen:	
САХ	8 (20,5)
АС	18 (46,1)
таксотер в монорежиме monotherapy with taxotere	6 (15,4)
АТ/АСТ	3 (7,7)
СР	4 (10,3)
Ответ на лечение: Response to treatment:	
прогрессирование и стабилизация progressive disease and stable disease	12 (30,8)
частичная регрессия partial response	27 (69,2)

Примечание. САХ — циклофосфан + доксорубин + кселода; АС — доксорубин + циклофосфан; АТ — доксорубин + доцетаксел; АСТ — доксорубин + циклофосфамид + доцетаксел; СР — циклофосфан + платина.

Note. САХ — cyclophosphamide + doxorubicin + xeloda; АС — doxorubicin + cyclophosphamide; АТ — doxorubicin + docetaxel; АСТ — doxorubicin + cyclophosphamide + docetaxel; СР — cyclophosphamide + platinum.

Материалом для исследования служили парные образцы биопсийного материала до лечения и операционного материала каждого пациента. Был проведен полнотранскриптомный анализ опухоли молочной железы до и после НХТ. Учитывая отсутствие операционного материала у пациентов с ПР, были использованы биопсийные и опухолевые образцы от пациентов с 3 типами ответов на НХТ: ЧР (объективный ответ), СТ и П (отсутствие объективного ответа).

Забор материала до начала лечения проводили с помощью пистолетной биопсии под контролем УЗИ. РНК из парных образцов выделялась с использованием набора RNeasy mini kit plus (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Микроматричный анализ. Экспрессионный ландшафт пациентов до и после НХТ оценивали при помощи полнотранскриптомного микроматричного анализа с использованием микрочипов Clariom™ S Assay, human (Affymetrix, США).

Статистический анализ. Для обработки результатов микрочипирования (анализа ДЭГ, в том числе построения тепловых карт и определения сигнальных путей) использовалась программа Transcriptome Analysis Console (TAC) software 4.0.

Идентификация дифференциально экспрессирующихся генов. При микроматричном исследовании были получены необработанные экспрессионные данные. Далее для идентификации дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) использовался пакет программ Transcriptome Analysis Console (TAC) software 4.0. Применена поправка на множественные сравнения FDR (false discovery rate) ($FDR_{Pval} < 0,05$). Порог ДЭГ был установлен на уровне $p < 0,05$ (диапазон изменения (Fold change): > 2 или < -2).

Определение значимых сигнальных путей. С помощью программы TAC software 4.0 определены все сигнальные пути, изменения экспрессии генов которых статистически значимы ($p < 0,05$).

Дизайн исследования схематично представлен на рис. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе экспрессионного профиля пациентов с РМЖ до и после НХТ было выявлено 414 ДЭГ (33 up-regulated, 381 down-regulated). Тепловая карта ДЭГ в опухоли больных РМЖ представлена на рис. 2.

Определены топ-10 up-regulated ДЭГ (*H2AFX*, *HIST1H2AL* (*HIST1H2BN*), *HIST1H2BL*, *SERINC2*, *MKI67*, *CENPF*, *UBE2C*, *HIST1H1B*, *MYB*, *RARA*) и топ-10 down-regulated ДЭГ (*RGS2*, *CD1C*, *ABCB5*, *MIR6843*, *EGR2*, *ADIPOQ*, *FCERIA*, *DCDC2*, *ADH1B*, *DUSP1*).

Также на этапе оценки изменения экспрессионного профиля больных РМЖ при проведении НХТ были выделены топ-10 сигнальных путей, активность которых в общей группе статистически значимо менялась под действием НХТ, включающие malignant pleural mesothelioma (злокачественная плевральная мезотелиома), VEGFA/VEGFR2 (эндотелиальный фактор роста сосудов А/рецептор 2 фактора роста эндотелия сосудов), orexin receptor (рецептор орексина), PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/Akt, focal adhesion (фокальная адгезия): PI3K/Akt/mTOR (мишень рапамицина млекопитающих), nuclear receptors meta-pathway (мета-путь ядерных рецепторов), PodNet: protein-protein interactions in the podocyte (сеть межбелковых взаимодействий подоцитов), spinal cord injury (травма спинного мозга), myometrial relaxation and contraction pathways (пути расслабления и сокращения миометрия) и MAPK (митоген-активируемые протеинкиназы). Полный список таких сигнальных путей представлен в табл. 2 (см. дополнительный материал к статье в приложении).

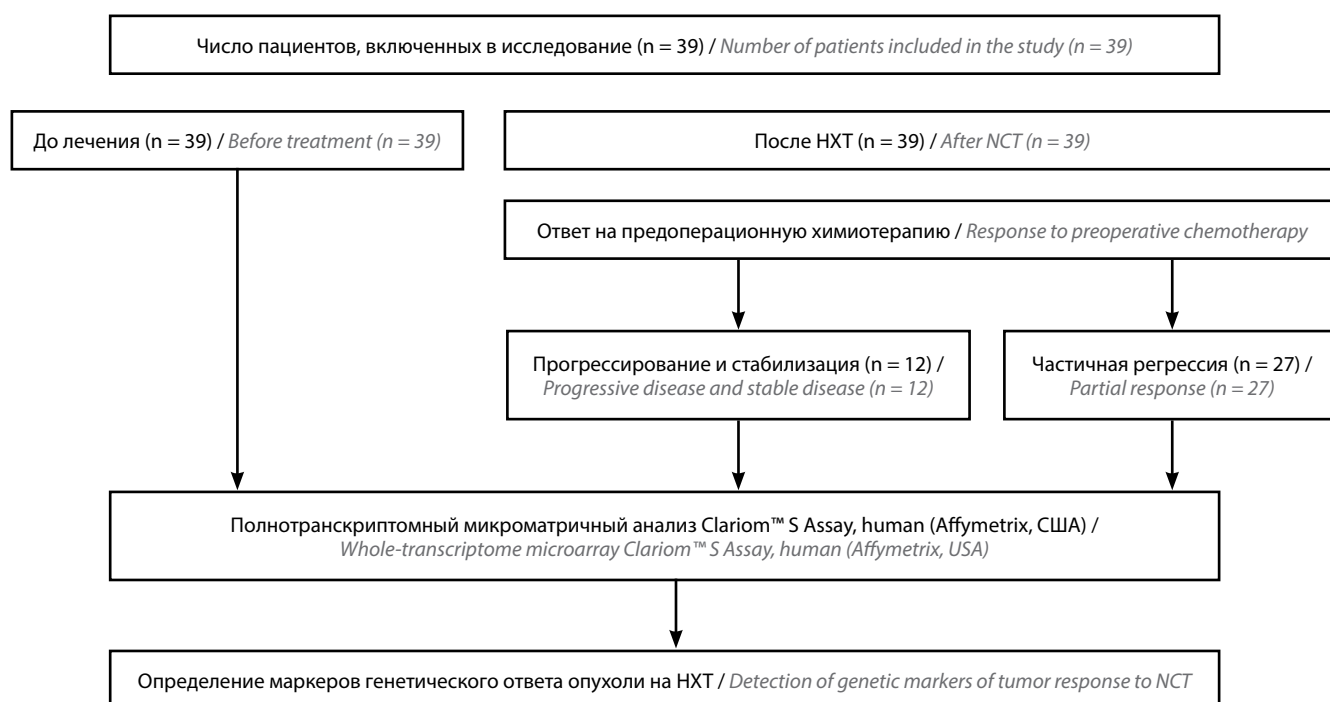


Рис. 1. Дизайн исследования. НХТ — неоадьювантная химиотерапия
Fig. 1. Study design. NCT — neoadjuvant chemotherapy

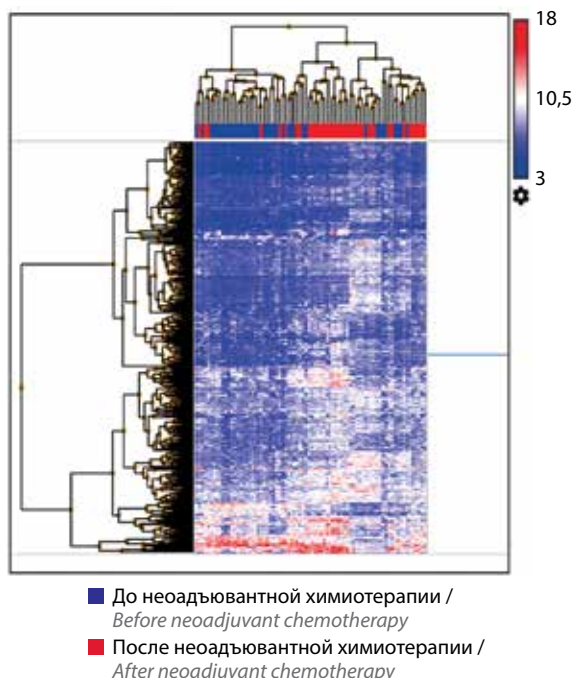


Рис. 2. Тепловая карта дифференциально экспрессирующихся генов в опухоли пациентов с раком молочной железы до и после неoadjuvant химиотерапии. Синим цветом обозначена кластеризация данных до лечения, а красным — после проведения терапии (сверху — по пациентам, слева — по генам)

Fig. 2. Heatmap demonstrating differential gene expression in breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy. Blue denotes clustering of pretreatment data; red denotes clustering of posttreatment data (top — by patients, left — by genes)

к журналу «Успехи молекулярной онкологии»: <https://umo.abvpress.ru/jour/issue/archive>).

На следующем этапе проведено сравнение экспрессионного профиля пациентов с различным ответом на лечение до НХТ. В опухоли больных с объективным ответом (ЧР) или его отсутствием (СТ + П) до терапии было выявлено 166 генов ДЭГ (153 down-regulated и 13 up-regulated). Тепловая карта ДЭГ в опухоли больных РМЖ до лечения в зависимости от ответа НХТ представлена на рис. 3, уровень экспрессии ДЭГ в опухоли молочной железы до лечения в зависимости от ответа на НХТ — в табл. 3 (см. дополнительный материал к статье в приложении к журналу «Успехи молекулярной онкологии»: <https://umo.abvpress.ru/jour/issue/archive>). Согласно данным, представленным на рис. 3, можно четко выделить пациентов с объективным ответом (PR1 — красный цвет) и его отсутствием (SD1 — синий цвет). Это свидетельствует о том, что скрининг достаточно успешен и дальнейшая валидация может выявить гены, которые можно будет использовать для предикции ответа на НХТ.

Также на этапе сравнения экспрессионного профиля пациентов до проведения предоперационной химиотерапии (ХТ) в зависимости от эффекта НХТ были выделены топ-10 клеточных сигнальных путей, активность которых до лечения у пациентов с объективным ответом на терапию и его отсутствием

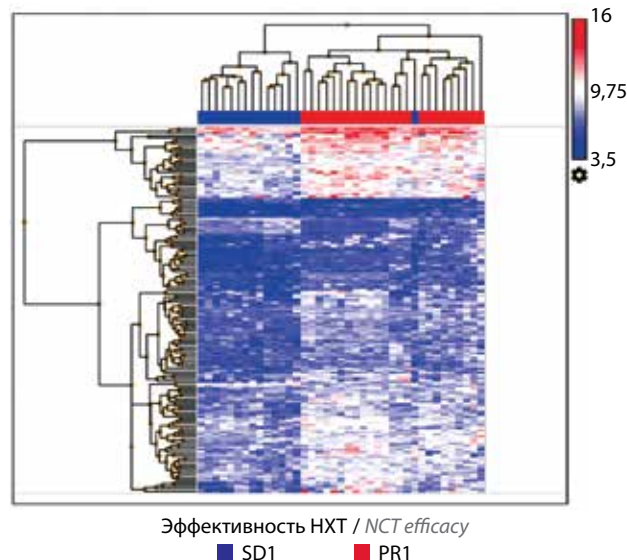


Рис. 3. Тепловая карта дифференциально экспрессирующихся генов в опухоли пациентов с раком молочной железы до лечения в зависимости от ответа на предоперационную химиотерапию. Синим цветом обозначена кластеризация данных при отсутствии объективного ответа на лечение (SD1), красным цветом — при его наличии (PR1) (сверху — по пациентам, слева — по генам). НХТ — неoadjuvant химиотерапия

Fig. 3. Heatmap demonstrating differential gene expression in breast cancer before treatment depending on the response to preoperative chemotherapy. Blue denotes clustering of data in case of no objective response to therapy (SD1); red denotes clustering of data in case of objective response to therapy (PR1) (top — by patients, left — by genes). NCT — neoadjuvant chemotherapy

статистически значимо различается: overview of proinflammatory and profibrotic mediators (провоспалительные и профибротические медиаторы), opioid receptor pathway annotation (опиоидный рецептор), fatty acid transporters (переносчики жирных кислот), extracellular vesicles in the crosstalk of cardiac cells (внеклеточные везикулы в перекрестных помехах сердечных клеток), eicosanoid synthesis (синтез эйкозаноидов), angiogenesis, biosynthesis of electrophilic omega-3 PUFA oxo-derivatives (ангиогенез и биосинтез электрофильных оксопроизводных омега-3-полиненасыщенных жирных кислот), miRNA degrading enzymes (ферменты, разрушающие miRNA), biosynthesis of DPA-derived SPMs (specialized pro-resolving mediators) (биосинтез медиаторов, полученных из докозапентаеновой кислоты), kinase-mediated control of CRTC2 and HDAC4/5/7 subcellular localization and activity 9 (киназо-опосредованный контроль субклеточной локализации и активности CRTC2 и HDAC4/5/7). Полный перечень этих сигнальных путей представлен в табл. 4 (см. дополнительный материал к статье в приложении к журналу «Успехи молекулярной онкологии»: <https://umo.abvpress.ru/jour/issue/archive>).

Далее было проведено сравнение экспрессионного профиля пациентов до и после НХТ в зависимости от ответа на лечение. В опухоли больных с ЧР выявлено 680 ДЭГ, в опухоли больных с отсутствием ответа (СТ + П) — 3240 ДЭГ. При отсутствии объективного

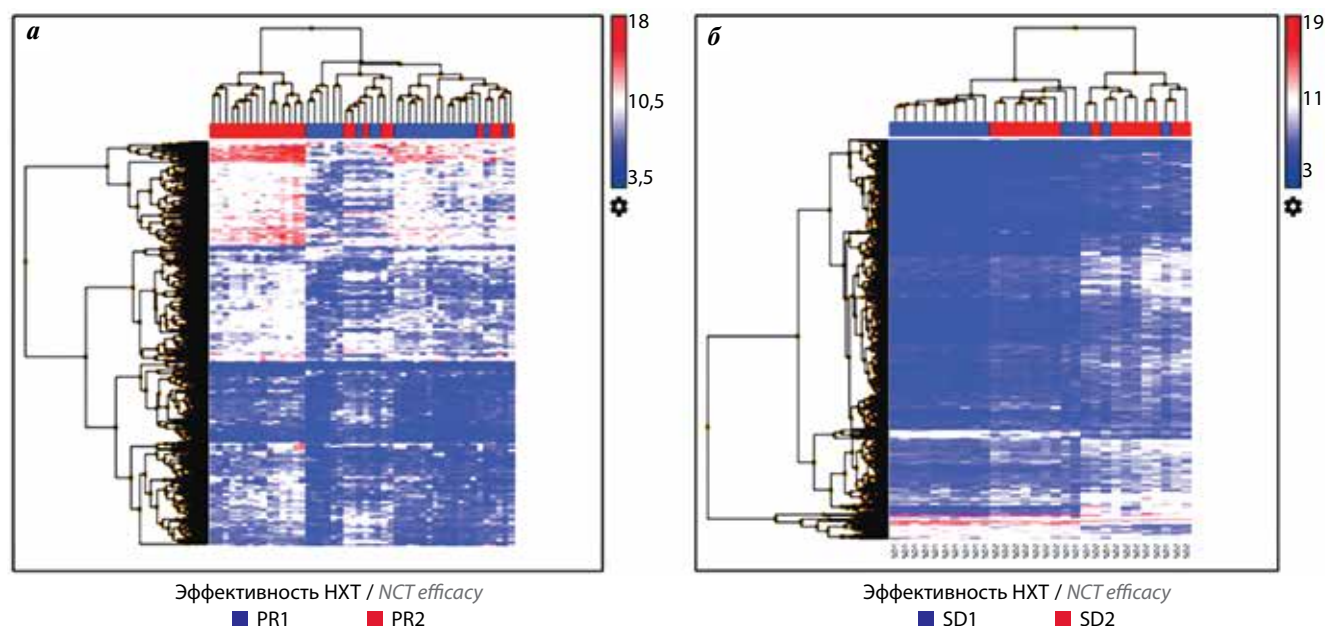


Рис. 4. Тепловая карта дифференциально экспрессирующихся генов в опухоли пациентов с раком молочной железы до и после неoadъювантной химиотерапии: а – с наличием объективного ответа на лечение (PR1 и PR2); б – с его отсутствием (SD1 и SD2). Синим цветом обозначена кластеризация данных до лечения (PR1 и SD1), красным цветом – после него (PR2 и SD2)

Fig. 4. Heatmap demonstrating differential gene expression in breast cancer before and after neoadjuvant chemotherapy: а – with objective response to therapy (PR1 and PR2); б – with no objective response to therapy (SD1 and SD2). Blue denotes clustering of pretreatment data (PR1 and SD1); red denotes clustering of posttreatment data (PR2 and SD2)

ответа на предоперационное лечение количество ДЭГ увеличилось почти в 5 раз. Тепловая карта ДЭГ в опухоли пациентов с РМЖ в зависимости от ответа на НХТ представлена на рис. 4.

Также на данном этапе анализа были выделены топ-10 клеточных сигнальных путей для пациентов с объективным ответом на НХТ (VEGFA/VEGFR2, nuclear receptors meta-pathway, focal adhesion: PI3K/Akt/mTOR, PI3K/Akt, orexin receptor pathway, network map of SARS-CoV-2 signaling pathway (сетевая карта сигнального пути SARS-CoV-2), PodNet: protein-protein interactions in the podocyte, focal adhesion, myometrial relaxation and contraction pathways, NRF2 (ядерный фактор, связанный с эритроидом 2, фактор 2) и с его отсутствием (olfactory receptor activity (активность обонятельных рецепторов), GPCRs (рецепторы, сопряженные с G-белком), class A rhodopsin-like (родопсिनоподобные рецепторы класса A), nuclear receptors meta-pathway, PI3K/Akt, VEGFA/VEGFR2, metapathway biotransformation Phase I and II (пути биотрансформации фаз I и II), focal adhesion: PI3K/Akt/mTOR, orexin receptor pathway, overview of proinflammatory and profibrotic mediators, circadian rhythm genes (гены, связанные с циркадными ритмами)).

Полный перечень сигнальных клеточных путей, активность которых статистически значимо различается при сравнении экспрессионного профиля пациентов с наличием объективного ответа на НХТ до и после лечения приведен в табл. 5, 6 (см. дополнительный материал к статье в приложении к журналу «Успехи молекулярной онкологии»: <https://umo.abvpress.ru/jour/issue/archive>).

Далее с помощью построения диаграммы Венна было показано, что 105 ДЭГ являются общими для пациентов с наличием/отсутствием объективного ответа на НХТ до и после лечения (табл. 7). Описание ДЭГ и характерные сигнальные пути для каждого из 105 генов представленной в работе панели можно найти в табл. 8 (см. дополнительный материал к статье в приложении к журналу «Успехи молекулярной онкологии»: <https://umo.abvpress.ru/jour/issue/archive>).

Эти гены изменяют свою экспрессию в процессе НХТ и у больных с объективным ответом на НХТ, и у больных с его отсутствием, поэтому могут быть рассмотрены в качестве маркеров клинического ответа РМЖ на НХТ.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате сравнения экспрессионного профиля пациентов до проведения предоперационной ХТ в зависимости от эффекта НХТ получена предварительная панель маркеров для предсказания результативности схем лечения. Данная панель представлена 166 генами, однако с учетом ее неспецифичности после валидации полученных данных можно рассматривать группу выявленных ДЭГ в качестве маркеров определения эффективности схем НХТ, применяемых для лечения РМЖ в системной ХТ в неoadъювантном режиме.

В настоящее время в литературе встречаются данные о связи генов, включенных в указанную выше панель, с течением РМЖ. Так, по некоторым генам из 153 down-regulated генов опубликованы следующие данные. В ретроспективном исследовании, в которое

Таблица 7. Дифференциально экспрессирующиеся гены у пациентов с раком молочной железы с наличием/отсутствием объективного ответа на неoadъювантную химиотерапию до и после лечения

Table 7. Differential gene expression in breast cancer patients with/without objective response to neoadjuvant chemotherapy before and after treatment

Хромо- сома Chromo- some	Дифференциально экспрессирующиеся гены Differential gene expression
chr1	<i>ST3GAL3 (MIR6079), ZFYVE9, CYR61, PLPPR4, CDIC, ATP1A2, RGL1, RGS1, CENPF, SELP, GSTM5, AKNAD1, SELE</i>
chr2	<i>VIT, B3GALT1, DHRS9, MYO3B, NRXN1, TACR1, ACVR1C, PDE11A, IL1RL1, C2orf61</i>
chr3	<i>SYN2, CIDEC, PROS1, BCHE, CCDC39</i>
chr4	<i>PROL1, MMRN1, ANK2, MYOZ2, ADH1A, ADH1C, NR3C2, MGARP</i>
chr5	<i>FBXL7, GPX3, KCNIP1, CRHBP, FAM153C, FAM169A</i>
chr6	<i>NCOA7, HIST1H3F, HIST1H2BL, CLIC5, BMP5, PLAGL1 (HYMAI), MLIP</i>
chr7	<i>CREB5, IGFBP1, ELN, RUNDC3B, PTPRZ1, RELN, ESYT2</i>
chr8	<i>BHLHE22, EBF2</i>
chr9	<i>TEK, GALNT12, NR4A3, ZNF483, FREM1, CNTNAP3, PRUNE2</i>
chr10	<i>CACNB2, ZNF365, CDNF, MKI67</i>
chr11	<i>GSTP1, PDGFD, TREH, H2AFX, OR56B1, IGF2 (INS-IGF2), HBG2 (HBG1)</i>
chr12	<i>KCNA1, CAPZA3, KCNMB4, RERGL</i>
chr13	<i>KL</i>
chr14	<i>PELI2, FOS, CMA1</i>
chr17	<i>C17orf51</i>
chr19	<i>ZNF677, LILRB5</i>
chr20	<i>TPX2, BPI, KCNB1</i>
chr21	<i>SIK1, TMPRSS2</i>
chrX	<i>XGY2, EGFL6, CNKSR2, TCEAL7, PLP1, PAK3, ALAS2, ZC4H2, SLC7A3, CHRDL1, CAPN6, GPC3</i>

вошли более 1000 пациентов с ранним РМЖ, было показано, что высокий уровень экспрессии гена *CXCL13* коррелирует с высокими показателями безрецидивной и общей выживаемости [6]. Также выявлено, что ген *MMP9* является важным компонентом формирования метастатической ниши на ранних стадиях туморогенеза РМЖ и способствует колонизации циркулирующих опухолевых клеток в легких [7]. К тому же при инвазивном трижды негативном РМЖ

наблюдается высокая экспрессия гена *LMNB2*, что коррелирует с клиническими особенностями данного подтипа, включая стадию и метастазирование в лимфатические узлы [8]. В недавней работе также было показано, что онколитический аденовирус, несущий ген человеческого интерлейкина-15 (IL-15), проявляет иммуномодулирующий эффект. Онколитический вирус SG400-E2F/IL-15, в свою очередь, характеризуется повышенной противоопухолевой активностью как *in vitro*, так и *in vivo*, и представляет собой экспериментальную основу для «вирус-генного» РМЖ [9]. Относительно up-regulated генов показано, что при РМЖ высокие уровни экспрессии *HOXB13* связаны не только с прогрессированием заболевания у пациентов с эстроген-рецептор-положительными опухолями, но и с возникновением устойчивости к лечению тамоксифеном [10, 11]. Обсуждается и роль *CD1d* в развитии РМЖ. Показано, что этот лиганд экспрессируется во многих опухолевых клетках, включая клетки РМЖ (MDA-MB-231, MDA-MB-361 и SUM-159) [12].

Также в результате сравнения экспрессионного профиля пациентов до и после НХТ в зависимости от ответа на лечение были выявлены изменения экспрессии генов в процессе лечения (в том числе при наличии и отсутствии объективного ответа). Обнаружено, что 105 генов изменяют свою экспрессию в опухоли в ходе НХТ и при наличии объективного ответа, и при его отсутствии. После валидации полученных результатов в перспективе с помощью данной панели генов можно будет оценивать клинический ответ опухоли на предоперационную ХТ.

Согласно данным литературы у 2 из 105 генов есть связь с РМЖ. При изучении ассоциации уровня экспрессии семейства BMP (bone morphogenetic protein) и выживаемости пациентов с РМЖ с использованием «Атласа ракового генома» (The Cancer Genome Atlas, TCGA) было выявлено, что высокие уровни экспрессии *BMP1* ($p < 0,001$), *BMP3* ($p = 0,002$), *BMP5* ($p = 0,002$), *BMP7* ($p < 0,001$) и *BMP1A* ($p < 0,001$) связаны с хорошими показателями общей выживаемости. Высокие уровни экспрессии *BMP6* ($p < 0,001$), *BMP8A* ($p = 0,031$), *BMP8B* ($p < 0,001$) и *BMP1B* ($p = 0,005$), напротив, ассоциированы с худшими показателями общей выживаемости [13]. Также обнаружено, что генетическая и фармакологическая инактивация гена *GSTP1* ухудшает выживаемость клеток трижды негативного РМЖ, что позволило рассматривать ингибиторы данного гена как новую терапевтическую мишень для борьбы с самым агрессивным молекулярным подтипом данного заболевания. Показано, что экспрессия гена *GSTP1* выше в группе химиорезистентного к НХТ РМЖ [14–16].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были получены данные по экспрессионному профилю пациентов до проведения предоперационной ХТ в зависимости от эффекта

НХТ, что позволило провести скрининг и определить группу неспецифических маркеров (генов) прогнозирования эффективности схем НХТ. Оценка изменения экспрессии опухолевых генов в процессе НХТ у боль-

ных в зависимости от ответа на лечение может быть полезна для разработки в дальнейшем панели генов, выявление изменения которых позволит судить о клиническом ответе опухоли на ХТ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209–49. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Стенина М.Б., Жукова Л.Г., Королева И.А. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака молочной железы. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO #3s2 2020;10. [Stenina M.B., Zhukova L.G., Koroleva I.A. et al. Practical recommendations for the drug treatment of breast cancer. *Malignant tumors: Practical Recommendations of RUSSCO #3s2 2020;10.* (In Russ.)]. DOI: 10.18027/2224-5057-2020-10-3s2-09. Доступно по: <https://www.rosoncweb.ru/standarts/RUSSCO/2020/2020-09.pdf>.
3. Haque W., Verma V., Hatch S. et al. Response rates and pathologic complete response by breast cancer molecular subtype following neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res Treat* 2018;170(3):559–67. DOI: 10.1007/s10549-018-4801-3.
4. Spring L.M., Fell G., Arfe A. et al. Pathologic complete response after neoadjuvant chemotherapy and impact on breast cancer recurrence and survival: a comprehensive meta-analysis. *Clin Cancer Res* 2020;26(12):2838–48. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-3492.
5. Ibragimova M., Tsyganov M., Litviakov N. Natural and chemotherapy-induced clonal evolution of tumors. *Biochemistry (Mosc)* 2017;82(4):413–25. DOI: 10.1134/S0006297917040022.
6. Razis E., Kalogeras K.T., Kotsantis I. et al. The role of CXCL13 and CXCL9 in early breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2020(1);20:e36–53. DOI: 10.1016/j.clbc.2019.08.008.
7. Owyong M., Chou J., van den Bijgaart R.J.E. et al. MMP9 modulates the metastatic cascade and immune landscape for breast cancer anti-metastatic therapy. *Life Sci Alliance* 2019;2(6): e201800226. DOI: 10.26508/lsa.201800226.
8. Zhao C.-C., Chen J., Zhang L.-Y. et al. Lamin B2 promotes the progression of triple negative breast cancer via mediating cell proliferation and apoptosis. *Biosci Rep* 2021;41(1):BSR20203874. DOI: 10.1042/BSR20203874.
9. Yan Y., Xu H., Wang J. et al. Inhibition of breast cancer cells by targeting *E2F-1* gene and expressing IL15 oncolytic adenovirus. *Biosci Rep* 2019;39(7):BSR20190384. DOI: 10.1042/BSR20190384.
10. Liu B., Wang T., Wang H. et al. Oncoprotein HBXIP enhances HOXB13 acetylation and co-activates HOXB13 to confer tamoxifen resistance in breast cancer. *J Hematol Oncol* 2018;11(1):26. DOI: 10.1186/s13045-018-0577-5.
11. Liu J., Prager-van der Smitten W.J.C., Collée J.M. et al. Germline HOXB13 mutations p.G84E and p.R217C do not confer an increased breast cancer risk. *Sci Rep* 2020;10(1):9688. DOI: 10.1038/s41598-020-65665-y.
12. Shyanti R.K., Sehrawat A., Singh S.V. et al. Zerumbone modulates CD1d expression and lipid antigen presentation pathway in breast cancer cells. *Toxicol in Vitro* 2017;44:74–84. DOI: 10.1016/j.tiv.2017.06.016.
13. Katsuta E., Maawy A.A., Yan L. et al. High expression of bone morphogenetic protein (BMP) 6 and BMP7 are associated with higher immune cell infiltration and better survival in estrogen receptor-positive breast cancer. *Oncol Rep* 2019;2(4): 1413–21. DOI: 10.3892/or.2019.7275.
14. Yang S.-J., Wang D.-D., Li J. et al. Predictive role of GSTP1-containing exosomes in chemotherapy-resistant breast cancer. *Gene* 2017;623:5–14. DOI: 10.1016/j.gene.2017.04.031.
15. Yang M., Li Y., Shen X. et al. CLDN6 promotes chemoresistance through GSTP1 in human breast cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2017;36:157. DOI: 10.1186/s13046-017-0627-9.
16. Louie S.M., Grossman E.A., Crawford L.A. et al. GSTP1 Is a driver of triple-negative breast cancer cell metabolism and pathogenicity. *Cell Chem Biol* 2016;23(5):567–78. DOI: 10.1016/j.chembiol.2016.03.017.

Вклад авторов

М.К. Ибрагимова: получение и анализ данных, обзор публикаций по теме статьи; написание текста статьи;

М.М. Цыганов: получение данных для анализа;

Н.В. Литвяков: разработка дизайна исследования, анализ данных, редактирование статьи.

Authors' contribution

M.K. Ibragimova: obtaining and analyzing data, review of publications on the topic of the article, article writing;

M.M. Tsyganov: obtaining data for analysis;

N.V. Litviakov: development of the research concept, data analysis, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.К. Ибрагимова / M.K. Ibragimova: <https://orcid.org/0000-0001-8815-2786>

М.М. Цыганов / M.M. Tsyganov: <https://orcid.org/0000-0001-7419-4512>

Н.В. Литвяков / N.V. Litviakov: <https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена в рамках конкурса 2021–2023 гг. на получение стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам.

Financing. The work was carried out within the framework of the 2021–2023 competition for the scholarship of the President of the Russian Federation for young scientists and graduate students.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. (9-го пересмотра, 2013 г.). Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 1 от 14.01.2013). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with the rights of patients and the rules of bioethics. The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration of 1964 (9th revision, 2013). The protocol of the study was approved by the Committee on Biomedical Ethics of the Institute of Oncology of the Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 1 of 14.01.2013). All patients signed an informed consent to participate in the study.