

*Г.П. Олійниченко**Л.М. Захарцева**В.М. Дроздов**А.М. Нейман**А.А. Катеринич**В.И. Петрухин**Киевская городская
онкологическая больница, Киев,
Украина***Ключевые слова:** *рак молочной
железы, рецепторы эстрогенов и
прогестерона, HER-2/neu,
химиотерапия.*

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ, ПРОГЕСТЕРОНА И ОНКОБЕЛКА HER-2/NEU В КЛЕТКАХ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. *Представлены имеющие прогностическое значение результаты иммуногистохимического исследования рецепторов эстрогена, прогестерона и гиперэкспрессии онкобелка HER-2/neu (c-erbB-2) в клетках рака молочной железы у 84 больных, находившихся на лечении в Киевской городской онкологической больнице. При выявлении в клетках опухоли рецепторов стероидных гормонов и отсутствии гиперэкспрессии онкобелка HER-2/neu клиническое течение заболевания было неосложненным, эффект гормоно- и полихимиотерапии по схеме CMF — хорошим. При выявлении гиперэкспрессии онкопротеина HER-2/neu даже при наличии рецепторов стероидных гормонов клиническое течение заболевания было более агрессивным. Уданной категории больных часто не было положительной реакции на гормонотерапию, а результат полихимиотерапии был лучше при использовании схем AC, ACF и FAC.*

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) лидирует в структуре онкологической заболеваемости и ежегодно является причиной смерти тысяч женщин в Украине. Во всем мире ведутся поиски наиболее эффективных методов лечения и достигнуты немалые успехи в разработке стандартных схем терапии РМЖ. Прежде всего они базируются на точной диагностике РМЖ с применением иммуногистохимических методов. Иммуногистохимия — одна из наиболее молодых, но быстро развивающихся областей гистопатологии, что в значительной степени обусловлено современными достижениями иммунологии, молекулярной биологии, биотехнологии и генетики [1]. Использование методов термической обработки тканевых срезов на паровой бане или в микроволновой печи дают возможность «разблокировать» антигенные детерминанты (эпитопы) тканей и проводить исследование на парафиновых срезах [2–5].

При исследовании злокачественных опухолей молочной железы важное клиническое значение имеет определение рецепторов эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП), а также онкобелка HER-2/neu (c-erbB-2) [2–8, 11, 13]. Выявление факторов, позволяющих прогнозировать течение РМЖ, стало особенно актуальным при широком внедрении в практику экономных оперативных вмешательств [6, 9–12]. Исследование РЭ и РП в клетках РМЖ важно для эффективного применения гормональной терапии, поскольку, как известно, эстрогены и прогестерон участвуют в возникновении и прогрессии РМЖ. Изменение чувствительности опухолевой ткани к этим гормонам может влиять на скорость роста новообразования, способность опухолевых клеток к диссеминации [2, 10–12].

При применении в иммуногистохимии высокочувствительной декстрановой технологии частота выявления РЭ и РП в опухолевой ткани составляет от 22 до 70% (в среднем — 50%) [9, 11, 12]. При этом в 30% наблюдений авторы не отмечали эффекта гормонотерапии у пациентов с РЭ- и РП-позитивным РМЖ и, напротив, у 10% пациентов с опухолью, в которой не были выявлены рецепторы гормонов, был получен положительный результат гормонотерапии. Выявление РЭ и РП с помощью моноклональных антител (МКАТ) в гистологических срезах позволяет уточнить локализацию рецепторов и дифференцированно учитывать результаты реакции в ядрах опухолевых клеток, не принимая во внимание наличие рецепторов в неопуховом эпителии, который всегда сохраняется в ткани РМЖ [2–6, 11]. До настоящего времени нет единого мнения относительно значения интенсивности окрашивания и количества опухолевых клеток, дающих позитивную реакцию с МКАТ. Большинство исследователей считают позитивной реакцию в том случае, если произошло окрашивание ядер более чем 5% опухолевых клеток [3, 4]. При использовании иммуногистохимического метода результаты исследования многих авторов были довольно сходными по значению: РЭ и РП выявлены в 67–78% наблюдений. Отсутствие рецепторов обоих гормонов отмечено в среднем у 10% пациенток [2–5, 11]. РП более стабильны и поэтому их выявляют чаще (78–86%). Для обнаружения РЭ важно правильно и своевременно фиксировать операционный материал в формалине. Результат реакции, когда отсутствует РЭ, но выявляется РП, по-видимому, следует считать артефактом. Отмечена положительная корреляционная зависимость между выявлением в ткани РМЖ им-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

муногистохимическим методом РЭ и РП и ответом на гормональную терапию, но в единичных случаях ожидаемой положительной реакции на гормональные препараты не было [9, 12].

В последнее десятилетие довольно широко изучаются и другие иммуногистохимические маркеры РМЖ. Наибольший интерес вызвал онкобелок HER-2/neu [7, 8, 13–20] — гликопротеин, по структуре похожий на рецептор эпидермального фактора роста. Ген, кодирующий онкобелок, локализован в 17-й хромосоме; иногда его экспрессию выявляют в неопухоловой ткани молочной железы. Значение этого факта еще неясно. В 20–30% случаев РМЖ обнаруживают повышенную, по сравнению с неопухоловой тканью, экспрессию белка HER-2/neu в злокачественных клетках. Многие исследователи указывают на большое клиническое значение этого факта как независимого прогностического маркера при РМЖ [13–16]. S. Sjogren и соавторы [20] установили, что экспрессия HER-2/neu имеет определяющее значение при назначении схемы химиотерапии (ХТ). Обследовав больных РМЖ без метастазов в лимфатических узлах, авторы пришли к выводу об эффективности применения доксорубина и герцептина при HER-2/neu-позитивных опухолях.

Результаты выявления онкобелка HER-2/neu зависят от многих факторов, в том числе от фиксации в формалине и термической обработки. В ряде исследований с применением специальной обработки срезов опухоли на водяной бане была подтверждена пригодность парафиновых срезов для проведения иммуногистохимической реакции [3, 14, 19]. Результат оценивают, сравнивая окрашивание цитоплазматической мембраны опухолевых и неопухоловых клеток. До сих пор остается спорным вопрос использования данного теста при оценке неинвазивных протоковых опухолей молочной железы, в которых гиперэкспрессию HER-2/neu отмечают в 70–80% наблюдений [14, 18].

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование парафиновых срезов РМЖ 84 пациенток в возрасте от 30 до 70 лет, находившихся на лечении в Киевской городской онкологической больнице в 1998–1999 гг. Период последующего наблюдения составил от 18 до 42 мес (в среднем — 30 мес). В возрасте от 30 до 40 лет было 55 пациенток, старше 40 лет — 45%. Радикальная мастэктомия произведена 67 (79%) пациенткам, квадрантэктомия — 17 (21%). Опухоль диаметром менее 2 см выявлена у 56 (67%) больных (T1N0 — у 37, T1N1 — у 19). Из 28 (33%) больных опухоль T2N0 диагностирована у 8, T2N1 — у 18, T3N0 — у 1 и T3N1 — у 1. У 34 больных опухоль локализовалась в верхненаружном квадранте, у 20 — на границе внутренних квадрантов, у 16 — в верхневнутреннем, у 14 — в области соска либо в других квадрантах.

Гистологические варианты РМЖ были следующими: инфильтрирующий протоковый рак — 70%, ин-

фильтрирующий дольковый рак — 27%, внутрипротоковый рак — 1%; особые гистологические варианты рака (слизистый и папиллярный рак) составили 2%.

Предоперационная дистанционная лучевая терапия по интенсивной методике и адьювантная ХТ проведена 39 пациенткам. У 8 больных при комплексной терапии использовали гормонотерапию (ГТ). Только адьювантную ХТ получили 30 пациенток. В 15 случаях после оперативного вмешательства был назначен только тамоксифен.

При гистологическом исследовании срезы окрашивали гематоксилином и эозином после фиксации в 10% нейтральном формалине и рутинного гистологического исследования материала. Иммуногистохимические исследования проводили с использованием стандартного комплекса стрептовидин-биотин-пероксидаза и МКАТ к РП (клон PgR 636), к РЭ (клон 1D5), а также поликлональных кроличьих антител против онкобелка c-erbB-2 («ДАКО», Дания). Исследования проводили на депарафинированных тканевых срезах, предварительно обработанных на водяной бане в течение 40 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За период наблюдения признаки рецидива заболевания отсутствовали у 73 (87%) больных (1-я группа). У 11 (13%) больных (2-я группа) возникли метастазы РМЖ. Через 1,5–2,5 года после оперативного лечения 6 пациенток умерли от прогрессирования процесса. Метастазы рака в костях обнаружены у 4 больных, в легких — у 4, в лимфатических узлах средостения — у 2, в головном мозге — у 1. Средний возраст пациенток с агрессивным течением заболевания составлял 49 лет.

Мы предприняли попытку проанализировать причины столь агрессивного течения заболевания у пациенток 2-й группы. Прежде всего пациентки обеих групп различались по клиническим стадиям на момент оперативного вмешательства (табл. 1). У 71,4% больных 1-й группы диагностированы опухоли диаметром менее 2 см, кроме того, в 57% случаев не установлено метастатического поражения лимфатических узлов. Во 2-й группе преобладали больные с опухолью диаметром более 2 см и с метастатическим поражением лимфатических узлов — соответственно 63,7 и 63,7%.

Отмечена четкая взаимосвязь между уровнем гистологической дифференцировки РМЖ и клиническим течением заболевания (табл. 2). Опухоли,

Таблица 1
Распределение больных РМЖ по клиническим группам

Клиническая стадия	Группа больных ¹	
	1-я	2-я
T1N0	4 (46,4)	3 (27,3)
T1N1	18 (25,0)	1 (9,1)
T2N0	7 (9,5)	1 (9,1)
T2N1	12 (16,7)	6 (54,5)
T3N0	1 (1,2)	0 (0,0)
T3N1	1 (1,2)	0 (0,0)

¹ В скобках приведено абсолютное, в скобках — относительное (в %) число больных. То же в табл. 2, 3.

имевшие агрессивное клиническое течение, проявившееся ранним развитием метастазов в легких, печени, костях, лимфатических узлах средостения, относили к категории умеренно- и низкодифференцированных. В этой группе пациентов не было выявлено ни одной высокодифференцированной опухоли. У 72% пациенток 1-й группы даже при наличии опухоли, соответствующей T2–T3 (28,6% случаев), диагностировали высоко- или умереннодифференцированный РМЖ.

Таблица 2
Распределение больных РМЖ с учетом степени гистологической дифференцировки опухоли

Степень гистологической дифференцировки опухоли	Группа больных ¹	
	1-я	2-я
Высокая (G ₁)	23 (31,5)	0 (0,0)
Умеренная (G ₂)	30 (41,1)	6 (54,5)
Низкая (G ₃)	20 (27,4)	5 (45,5)

В опухолевой ткани больных 1-й группы в 83,5% случаев обнаружены рецепторы стероидных гормонов, причем в 71,1% выявлены РЭ и РП (табл. 3). В 79,4% наблюдений в опухолевых клетках определяли РЭ. Только у 16,5% больных этой группы в ткани РМЖ отсутствовали и РЭ, и РП. В то же время у пациенток 2-й группы в 67% случаев в опухолевых клетках не выявляли РЭ и РП, а наличие рецепторов обоих стероидных гормонов отмечено лишь в 4 (33%) случаях. Дальнейшие исследования позволили установить гиперэкспрессию HER-2/neu в клетках РМЖ у 6 из 11 больных 2-й группы, что в некоторой степени объясняет агрессивное клиническое течение заболевания. По данным доступной нам литературы, клиническое течение РМЖ с гиперэкспрессией HER-2/neu более агрессивное [7,14].

Таблица 3
Наличие РЭ и РП в ткани РМЖ

Результаты реакции	Группа больных ¹	
	1-я	2-я
РЭ + РП+	52 (71,1)	4 (33,0)
РЭ + РП-	6 (8,3)	0 (0,0)
РЭ - РП+	3 (4,1)	0 (0,0)
РЭ - РП-	12 (16,5)	7 (67,0)

Больные 2-й группы получали неoadъювантную лучевую терапию по интенсивной методике, ХТ — 4–6 курсов по схеме СМФ. До начала лечения у них не были проведены иммуногистохимические исследования экспрессии HER-2/neu. Это было сделано позже при изучении архивного материала. Прожили менее 2,5 года после операции и умерли от прогрессирования опухоли 6 больных. У остальных 5 обнаружены метастазы РМЖ в отдаленных лимфатических узлах и органах. В дальнейшем на основании результатов исследования экспрессии в ткани РМЖ всех маркеров (РЭ, РП, HER-2/neu) установлено, что некоторым больным необходима ХТ по схемам, включающим антрациклины. Отсутствие опухолей с рецепторами к одному из стероидных гормонов у больных 2-й группы, вероятно, можно объяснить небольшой выборкой. Гиперэкспрессию HER-2/neu чаще (у 54,5%) отмечали у больных 2-й группы. У 2 больных с HER-2/neu(+) РМЖ была установлена T1N1 стадия заболевания,

у 3 — T2N1, у 1 — T2N0. У пациенток 1-й группы гиперэкспрессию HER-2/neu в ткани опухоли выявили только в 22% случаев.

Следует отметить, что при наличии в клетках рецепторов стероидных гормонов и отсутствии гиперэкспрессии HER-2/neu, независимо от размера опухоли и состояния лимфатических узлов, клиническое течение РМЖ более благоприятное. ХТ этим пациенткам проводили по схеме СМФ.

При наличии гиперэкспрессии HER-2/neu применяли схемы ХТ с доксорубицином (АС, АСФ, FАС). В 1-й группе таких больных было 16. У 9 из них опухоль классифицирована как T1N1, у 6 — T2N0, у 1 — T2N1. Эти больные получили 4–6 курсов ХТ по указанным схемам и ГТ с учетом экспрессии РЭ и РП в опухолевой ткани. В течение периода наблюдения все пациенты были живы, признаков прогрессирования заболевания не выявляли.

В 1-й группе всем пациенткам с РЭ- и РП-позитивными РМЖ проводили ГТ. У 15 больных РМЖ T1N1-0, T2N0 при отсутствии сверхэкспрессии HER-2/neu и экспрессии рецепторов стероидных гормонов применяли только ГТ. В течение периода наблюдения метастазы не обнаружены. Во 2-й группе ГТ была применена только у 1 пациентки из 11 (9%), хотя у 4 опухоли были РЭ(+) РП(+).

Таким образом, у больных 1-й группы ГТ и ХТ применяли в соответствии с результатами иммуногистохимического исследования РЭ и РП, а также HER-2/neu. При наличии РЭ и РП в опухолевых клетках и отсутствии гиперэкспрессии HER-2/neu больным проводили ГТ и ХТ по схеме СМФ; при выраженной экспрессии онкобелка — ХТ по схемам АС, АСФ, FАС. У больных этой группы в период наблюдения не выявлено прогрессирования заболевания. У больных 2-й группы проводили ХТ по схеме СМФ, и только в одном случае — ХТ по указанной схеме и ГТ. В опухоли пациенток этой группы в 2 раза чаще выявляли гиперэкспрессию HER-2/neu и значительно реже — экспрессию рецепторов стероидных гормонов. У всех больных этой группы отмечено наличие метастазов в отдаленных лимфатических узлах и органах, причем у 3 из них в момент операции был установлен диагноз РМЖ T1N0. За период наблюдения 6 больных умерли от прогрессирования заболевания.

Предоперационная лучевая терапия по интенсивной методике была применена у 38 (45,2%) пациенток обеих групп. Влияния неoadъювантной лучевой терапии по интенсивной методике на клиническое течение заболевания и выживаемость пациенток нами не выявлено. Данный вопрос требует дополнительного исследования на большем количестве больных.

Выводы

1. Наиболее значимыми прогностическими критериями при РМЖ, наряду с размером опухоли, состоянием лимфатических узлов, уровнем гистологической дифференцировки опухоли, является наличие РЭ, РП и гиперэкспрессии HER-2/neu.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммуногистохимические тесты имеют самостоятельное клиническое значение.

2. Одновременное исследование всех трех маркеров (РЭ, РП, HER-2/neu) помогает выявить больных с опухольями, чувствительными к ГТ, и нуждающихся в ХТ.

3. Гиперэкспрессия онкопротеина HER-2/neu свидетельствует об агрессивном течении заболевания. У больных с гиперэкспрессией HER-2/neu отмечен лучший клинический эффект ХТ, проводимой по схемам AC, ACF, FAC; при отсутствии таковой — ХТ по схеме CMF.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пинчук ВГ, Глузман ДФ, Нагорная ВА и др. Иммуноцитохимия и моноклональные антитела в онкогематологии. Киев: Наук думка, 1990. 232 с.

2. Elston C, Ellis I. The Breast: systemic pathology. Edinburgh, 1998. 552 p.

3. Gawn A, Vacchi C. Cost -Effective immunohistochemistry. Boston, 1998. 69 p.

4. Snead DJR, Bell JA, Dixon M, et al. Methodology of immunohistochemical detection of estrogen receptor in human breast carcinoma in formalin fixed paraffin embedded tissue: a comparison with frozen section morphology. Histopathol 1993; 23: 233–8.

5. Khan S, Rogers M, Obando J, Tamsen A. Estrogen receptor expression of benign breast epithelium and its association with breast cancer. Cancer Res 1994; 54: 993–7.

6. Goulding H, Pinder S, Cannon P, et al. A new method for the assessment of estrogen receptor status on routine formalin-fixed tissue samples. Hum Pathol 1995; 26: 291–4.

7. Muss H, Thor A, Berry A, et al. c-erbB-2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. N Engl J Med 1994; 330: 1260–6.

8. Press MF, Bernstein L, Thomas AP, et al. Her-2/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node -negative breast carcinomas. J Clin Oncol 1997; 15: 2894–904.

9. Волченко НН. Морфологические факторы прогноза при раке молочной железы. Рос онкол журн 2000; 3: 49–53.

10. Берштейн ЛМ. Мультикомпонентная модель эстрогенообразования в ткани опухолей молочной железы. Вопр онкол 1998; 44: 7–11.

11. Захарцева ЛМ, Ташієв РК, Олійниченко ГП та ін. Методи дослідження рецепторів естрогену і прогестерону в раках молочної залози. Ліки України 2000; (6): 26–30.

12. Бассалык ЛС, Муравьева НИ, Смирнова ЗВ и др. Прогностическое значение рецепторов стероидных гормонов в опухолях молочной железы. Вопр онкол 1982; 28 (5): 82–8.

13. Toikkanen S, Helin H, Isola J, Joensuu H. Prognostic significance of HER-2 oncoprotein expression in breast cancer: a 30-year follow-up. J Clin Oncol 1992; 10: 1044–8.

14. Paik S, Hazan R, Fisher B, et al. Pathologic findings from the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project: prognostic significance of c-erbB-2 protein overexpression in primary breast cancer. J Clin Oncol 1990; 8: 103–12.

15. O'Reilly SM, Barnes DM, Camplejohn, et al. The relationship between c-erbB-2 expression, s-phase fraction and prognosis in breast cancer. Br J Cancer 1991; 63: 444–6.

16. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, et al. Studies of the HER-2/neu protooncogene in human breast and ovarian cancer. Science 1989; 244: 707–12.

17. Tandon AK, Clark GM, Chamness GC, et al. Her-2/neu oncogene protein and prognosis in breast cancer. J Clin Oncol 1989; 7: 1120–8.

18. Pauletti G, Godolphin W, Press MF, Slamon DJ. Detection and quantitation of HER-2/neu gene amplification in human breast cancer archival material using fluorescence in situ hybridization. Oncogene 1996; 13: 63–72.

19. Keshgegian A, Cnaan A. ErbB-2 oncoprotein expression in breast carcinoma. Poor prognosis associated with high degree of cytoplasmic positivity using CB-11 antibody. Anatom Pathol 1997; 10: 456–61.

20. Sjogren S, Inganas LA, et al. Prognostic and predictive value of c-erbB-2 overexpression in primary breast cancer, alone and in combination with other prognostic markers. J Clin Oncol 1998; 16: 462–9.

CLINICAL IMPORTANCE OF ESTROGEN, PROGESTERONE RECEPTORS AND HER-2/NEU ONCOPROTEIN IN BREAST CANCER CELLS

G.P. Olijnichenko, L.M. Zakhartseva, V.M. Drozdov, A.M. Neiman, A.A. Katerinich, V.I. Petrukhin

Summary. *The paper presents predictive implications of the findings of immunohistochemical research of estrogen, progesterone receptors and HER-2/neu (c-erbB-2) oncoprotein hyperexpression in breast cancer cells of 84 patients of the Kyiv Municipal Oncologic Hospital. In cases where tumor cells expressed receptors of steroid hormones but did not show hyperexpression of HER-2/neu oncoprotein, the course of disease was favorable and the application of the CMF schedule of hormone therapy and polychemotherapy was efficient. In cases of HER-2/neu hyperexpression and steroid hormone expression, the course of disease was more aggressive. In this category of patients, hormone therapy was typically inefficient and polychemotherapy was more efficient when AC, ACF, or FAC schedules were applied.*

Key Words: breast cancer, estrogen and progesterone receptors, HER-2/neu, chemotherapy.

Адрес для переписки:

Захарцева Л.М.

01000, Киев, ул. Верховинная, 69

Киевская городская онкологическая больница