

А.А. Мельник, к. биол. н., г. Киев

Использование теста Oncotype DX® для персонализированного лечения женщин с ранним раком молочной железы

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенным злокачественным новообразованием у женщин во всем мире и составляет 25% от всех видов рака. В рамках глобального онкологического проекта (GLOBOCAN 2012) на основании данных национальных докладов о заболеваемости и смертности от РМЖ в 2012 г. в мире было зафиксировано 1 671 149 новых случаев РМЖ и 521 907 смертельных исходов от этого заболевания [1, 2]. В 2018 г. зарегистрировано более 2 млн новых случаев РМЖ.

Этиология РМЖ

Этиология РМЖ до конца не известна. Различные взаимосвязанные факторы, такие как генетические, гормональные, социобиологические, физиологические и факторы окружающей среды, могут влиять на развитие РМЖ.

Факторы риска развития РМЖ

В исследованиях было показано, что ряд условий, известных как факторы риска, способствуют и predisполагают к развитию рака. Некоторые выявленные факторы риска развития РМЖ представлены в таблице 1.

Общие симптомы РМЖ

Некоторые из распространенных симптомов РМЖ включают изменения кожи (припухлость), покраснение или другие видимые изменения в одной или обеих молочных железах: увеличение размера или изменение формы, изменения одного или обоих сосков, выделения из сосков, боль в молочной железе или некоторых ее участках, бугорки или утолщения, а также необъяснимое уменьшение массы тела за короткий промежуток времени (2 мес), чрезвычайная усталость и отсутствие резервов энергии.

Диагностические тесты для выявления РМЖ

Американское общество клинических онкологов (ASCO) в 2007 г. [12] рекомендовало для диагностики РМЖ определение следующих маркеров:

- CA 15-3 и CA 27.29;
- карциноэмбрионального антигена (CEA);
- рецепторов эстрогенов (ER) и прогестерона (PgR);
- маркеров пролиферации на основе проточной цитометрии ДНК;
- иммуногистохимических маркеров пролиферации;

- рецептора человеческого эпидермального фактора роста 2 (HER2);
- p53;
- катепсина D;
- урокиназного активатора плазминогена (uPA) и ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1);
- циклина E;
- циркулирующих опухолевых клеток, а также такие исследования:
 - протеомный анализ;
 - определение микрометастазов в костном мозге;
 - мультипараметральный анализ экспрессии генов.

Мультипараметральный анализ экспрессии генов

В настоящее время существует ряд доступных геномных тестов для диагностики РМЖ. К таким тестам относятся EndoPredict® (EP, Myriad Genetics, США), тест на определение индекса РМЖ (BCI, Biotheranostics, США), Predictor Analysis Microarray 50 (PAM50, NanoString Technologies, США) и MammaPrint® (Agendia, Нидерланды). Хотя данные свидетельствуют о том, что все эти тесты являются прогностическими, тем не менее каждый из них может давать противоречивые результаты для некоторых пациентов [13, 14]. Только тест Oncotype DX® был непосредственно проверен как инструмент для прогнозирования пользы от дополнительной химиотерапии.

Тест Oncotype DX®

Oncotype DX® (Genomic Health Inc., США) впервые был предложен в 2004 г. и вскоре после этого внедрен в клиническую практику. Разработка теста включала отбор 250 перспективных генов и дальнейшую количественную оценку их экспрессии с применением метода полимеразной цепной реакции с обратной транскриптазой

(Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) при использовании мРНК, экстрагированной из фиксированных формалином в парафине опухолей пациентов.

Этапы разработки теста Oncotype DX®

Тест Oncotype DX® был разработан в четыре этапа (табл. 2).

Отобранные 16 генов ассоциированы с раком на основании их статистической связи между экспрессией генов и отдаленным рецидивом РМЖ. Эти 16 генов отражают различные биологические активности, которые могут быть сгруппированы следующим образом: пролиферация, инвазия, амплификация HER2 – эстроген, связанные с опухолью макрофаги (CD68), детоксикация (GTSM1) и шаперон, связывающий белок (BAG-1, кошаперон для HSP70, который действует как фактор нуклеотидного обмена и ассоциирован с увеличением экспрессии BCL-2). 16 генов были объединены с 5 референсными генами, что необходимо для расчета показателя «оценка рецидива», или «Recurrence Score» (табл. 3).

RS может составлять от 0 до 100, большие баллы указывают на более высокую вероятность отдаленного рецидива РМЖ на протяжении 10 лет [16] (рис. 1).

Результат Oncotype DX® (от 0 до 100%) демонстрирует вероятность отдаленного рецидива РМЖ на протяжении 10 лет. Пациентов стратифицируют на группы низкого (<18), промежуточного (18-30) и высокого риска (≥31; табл. 4).

Предназначение теста DX®

Широкое применение адъювантной химиотерапии у пациентов с диагностированным на раннем этапе ER-позитивным (ER+) РМЖ способствовало снижению смертности, которое составило от 5 до 15% [17, 18]. Однако не все пациенты в равной степени получают пользу от адъювантной химиотерапии. Абсолютное снижение риска при ER+ РМЖ является более «скромным» и составляет приблизительно 5% [19, 20]. К тому же риски, которые связаны с химиотерапией, для большинства пациентов с РМЖ выше,

Продолжение на стр. 38.

Таблица 1. Факторы риска развития РМЖ	
Факторы окружающей среды	Воздействие ионизирующей радиации, использование гаджетов, диагностические или терапевтические медицинские процедуры [3]
Социобиологические факторы	Пол и возраст являются важными факторами риска развития РМЖ. У женщин в возрасте 50 лет и старше регистрируется 75% новых случаев заболевания и 84% случаев смерти от РМЖ. Это связано с гормональными изменениями у женщин в этой возрастной группе [4,5]
Факторы питания	Высокое потребление жиров повышает риск развития РМЖ. Диета с высоким содержанием жира, кофеин и красное мясо являются факторами, способствующими повышению риска развития РМЖ. Потребление фруктов и овощей, большого количества кальция, витамина D может быть эффективным для снижения риска
Физиологические факторы	Умеренная физическая активность или физические упражнения снижают риск развития РМЖ
Генетические факторы	Хотя РМЖ определяется как наследственный только в 5-6% случаев, тем не менее генетический фактор играет ограниченную, но важную роль. Мутации BRCA-1 и BRCA-2 обуславливают 80% случаев наследственного РМЖ. У пациенток с положительным статусом по BRCA-1 и BRCA-2 риск развития РМЖ составляет от 50 до 85% [6, 7]
Факторы семейного риска	Риск развития РМЖ возможен в случае наличия у члена семьи данного заболевания [8]
Употребление алкогольных напитков	Все виды алкогольных напитков являются причиной развития некоторых видов рака. Алкоголь может способствовать повышению риска развития рака молочной железы, полости рта, горла, глотки, гортани, пищевода, печени и кишечника. Даже умеренное употребление алкоголя увеличивает риск развития рака [9]
Гормональный баланс женщины	Чем больше менструальных циклов имеет женщина за свою жизнь, тем выше у нее риск развития РМЖ [10]. Это связано с суммарным воздействием эстрогенов и прогестерона на молочную железу. Раннее менархе (начало менструации до 13 лет), отсутствие детей или рождение детей после 30 лет, а также наступление менопаузы после 50 лет (особенно в возрасте 55 лет) – все это означает большое количество менструальных циклов, что приводит к повышенному воздействию гормонов [11]
Заместительная гормональная терапия и пероральные контрацептивы	Заместительная гормональная терапия и пероральные контрацептивы – источники эстрогенов, которые являются фактором риска
Иммунные факторы	Люди с ослабленной иммунной системой более подвержены риску развития некоторых видов рака. В эту категорию входят реципиенты органов (в связи с применением препаратов для подавления их иммунной системы с целью остановить отторжение трансплантата), а также инфицированные вирусом иммунодефицита человека или пациенты с синдромом приобретенного иммунодефицита
Курение	В табачном дыме присутствуют более 80 различных веществ – канцерогенных агентов. При вдыхании дыма эти вещества попадают в легкие и потоком крови переносятся по всему организму. Таким образом, курение является важным фактором риска развития рака легкого и других органов
Канцерогены	Воздействие веществ, вызывающих рак, может вызвать мутацию в нормальных клетках
Инфекции	РМЖ может развиваться в результате вирусных инфекций (например, human Mammary Tumor Virus, hMTV)

Таблица 2. Этапы разработки теста Oncotype DX®	
Этап	Характеристика
Этап 1	
Оптимизация методов количественной экспрессии генов в образцах из фиксированных в парафине срезов опухолевой ткани молочной железы	Способность работать с образцами из фиксированных в парафине срезов опухолевой ткани имеет важное значение, поскольку это стандартный метод хранения образцов опухолей во многих странах. При сохранении ткани в парафине происходит фрагментация РНК, однако относительное отношение РНК между генами не изменяется. Используя метод RT-PCR, можно измерить экспрессию большинства генов относительно набора эталонных генов. Исследователи Genomic Health оптимизировали технологию RT-PCR: 1) для высокопроизводительного количественного определения конкретной РНК в реальном времени; 2) для воспроизведения, несмотря на вариабельность, свойственную опухолевым блокам
Этап 2	
Выбор 250 генов-кандидатов из генома человека	Исследователи Genomic Health полагались на многочисленные источники, чтобы идентифицировать 250 генов, которые, возможно, связаны с РМЖ, из 25 000 генов в геноме человека
Этап 3	
Тестирование генов-кандидатов с целью определения оптимальной группы генов для клинической валидации	Тестирование генов с целью идентификации оптимальной панели генов для клинической валидации. В общей сложности было проанализировано 250 генов у 447 пациентов в 3 независимых клинических исследованиях. Выбор 16 генов рака, используемых в тесте Oncotype DX®, основывался на результатах этих 3 клинических исследований, которые показали последовательную и значимую статистическую связь между этими генами и отдаленным РМЖ. Кроме того, было идентифицировано 5 эталонных генов. Данные этих исследований послужили основой для расчета результата Recurrence Score (RS), который объединяет данные по экспрессии генов из этой панели в один результат
Этап 4	
Клиническая валидация 21-геновой панели и расчет результатов	Панель генов теста Oncotype DX® и расчет результата RS подтверждены в большом независимом мультицентровом клиническом исследовании (NSABP Study B-14) и в крупном популяционном исследовании случай-контроль у пациентов с РМЖ. Результаты исследования клинической валидации NSABP Study B-14 были опубликованы в журнале New England Journal of Medicine 30 декабря 2004 г. [15]

Использование теста Oncotype DX® для персонализированного лечения женщин с ранним раком молочной железы

Продолжение. Начало на стр. 37.

Таблица 3. Гены в тесте Oncotype DX® для расчета RS			
№ п/п	Ген	Функция гена	Фактор
Пролиферация			
1	Ki-67	Маркер пролиферации	+1,04
2	STK15	Стабилизация хромосом при митотической сегрегации	+1,04
3	Survivin	Ингибирование апоптоза	+1,04
4	Cyclin B1	Компонент фактора созревания, стимулирующий M-фазу клеточного цикла	+1,04
5	MYBL2	Прогрессирование клеточного цикла	+1,04
Инвазия			
6	Stromelysin 3	Играет важную роль в ремоделировании тканей	+0,10
7	Cathepsin L2	Стимулирует продуцирование перекиси водорода	+0,10
HER2			
8	Grb7	Сигнальный белок для различных тирозинкиназ, включая HER2/neu	+0,47
9	HER2	Рецептор фактора роста, сверхэкспрессия приводит к превращению в онкоген	+0,47
Эстроген			
10	ER	Мембранные рецепторы, которые могут модифицировать внутриклеточную сигнализацию	-0,34
11	PR		-0,34
12	BCL2	Антиапоптотический онкоген	-0,34
13	SCUBE2	Гликопротеин, играющий роль в передаче сигналов SHN	-0,34
Другие			
14	GSTM1	Глутатион-S-трансфераза	-0,08
15	CD68	Содержание повышается при РМЖ, который обладает высокой способностью метастазировать в кости	+0,05
16	BAG1	BCL-2-ассоциированный атаноген. Усиливает антиапоптотические эффекты BCL-2	-0,07
Контрольные гены			
17	Beta-Actin	Цитоскелетный актин, имеет важное значение для подвижности и структуры клеток	1
18	GAPDH	Углеводный обмен	1
19	RPLPO	Кодирует компонент рибосомной субъединицы 60S	1
20	GUS	Бета-глюкуронидаза	1
21	TFRS	Рецептор трансферрина	1

чем потенциальная польза от ее применения. Токсическое действие химиотерапии ухудшает качество жизни. Одним из инструментов, предназначенных для прогностической оценки применения химиотерапии у определенной категории пациентов, является мультигенный анализ. Этот метод позволяет идентифицировать пациентов, которым химиотерапия принесет наибольшую выгоду.

Тест Oncotype DX® дает возможность прогнозировать вероятность развития рецидива РМЖ, а также

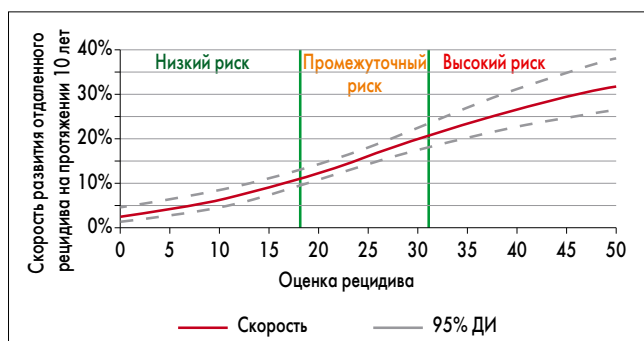


Рис. 1. RS как прогностический параметр

Таблица 4. Стратификация пациентов на группы риска	
Категория	RS (0-100)
Низкий риск	<18
Промежуточный риск	18-30
Высокий риск	≥31

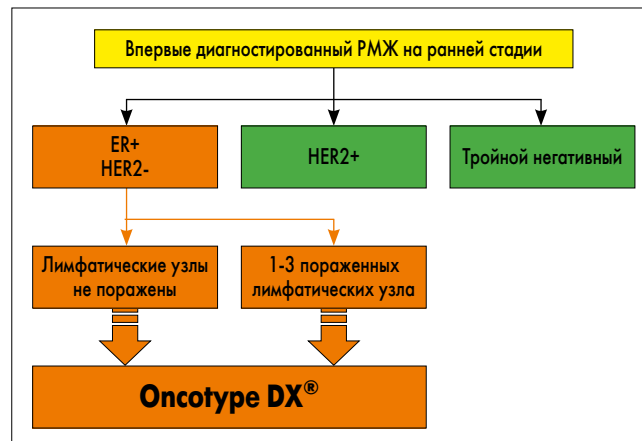


Рис. 2. Рекомендации по проведению теста Oncotype DX®

возможную пользу от химиотерапии. Этот тест выполняется у женщин с РМЖ ранней стадии (I или II) у которых имеется:

- гормоночувствительный ER+ РМЖ;
- HER2/neu-негативный (HER2/neu-) РМЖ;
- от 0 до 3 пораженных лимфатических узлов.

Рекомендации по проведению теста Oncotype DX® представлены на рисунке 2.

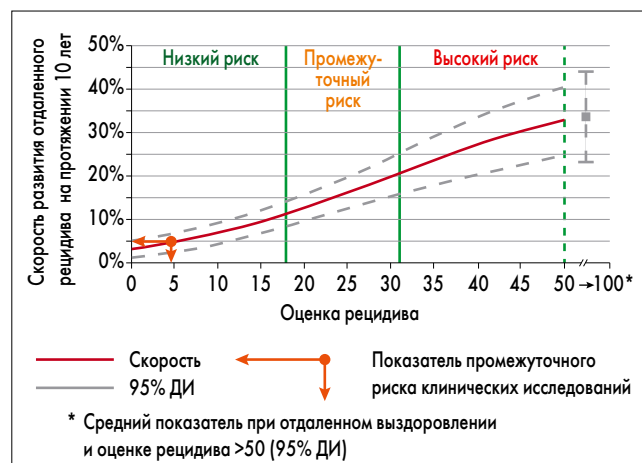
Приведем примеры клинических случаев с использованием Oncotype DX® для определения низкого, промежуточного и высокого риска развития рецидива РМЖ.

Клинический случай 1

Пациент 39 лет, с опухолью 1,5 см. Тип опухоли – рак протоков молочной железы.

ER – 90% (сильно +). PR – 90% (сильно +). HER2/neu-. Стадия II. Количество пораженных лимфатических узлов – 0.

Пациент идентифицирован как имеющий низкий риск с показателем RS=4. Получает гормональную терапию. Химиотерапия не показана.

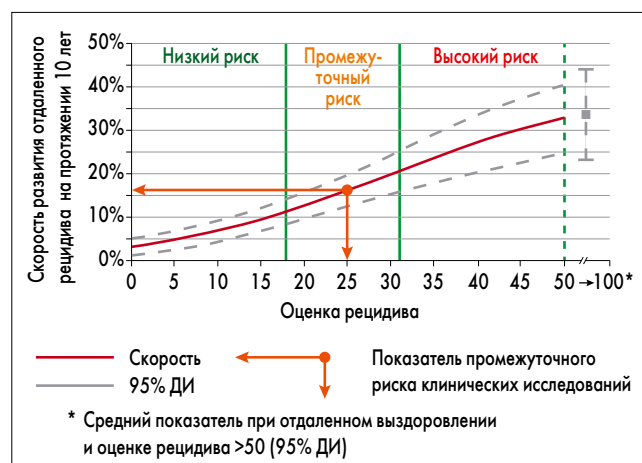


Клинический случай 2

Пациент 68 лет, с опухолью 2,3 см. Тип опухоли – рак протоков молочной железы.

ER – 30%. PR – 50%. HER2/neu-. Стадия II. Количество пораженных лимфатических узлов – 0.

Пациент идентифицирован как имеющий промежуточный риск с показателем RS=25. Необходима ли терапия для этого пациента? Исследование TAILORx оценивает пользу химиотерапии в промежуточной группе риска.

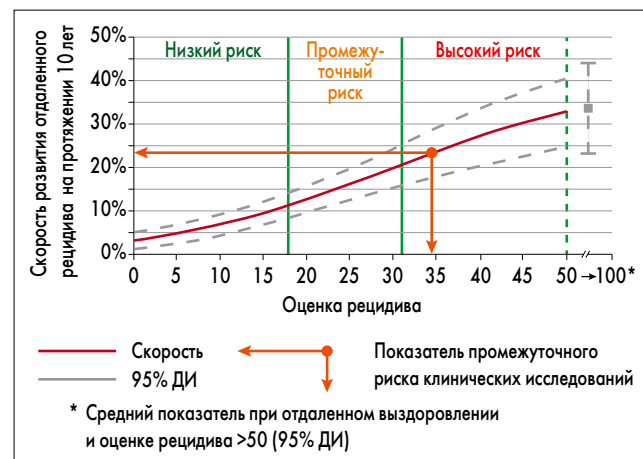


Клинический случай 3

Пациент 58 лет, с опухолью 1,3 см. Тип опухоли – рак протоков молочной железы.

ER – 100%. PR-. HER2/neu-. Стадия III. Количество пораженных лимфатических узлов – 0/3.

Пациент идентифицирован как имеющий высокий риск с показателем RS=34. Получает гормональную терапию и химиотерапию.



Выводы

Исследование Oncotype DX® рекомендовано пациентам с ранней стадией ER+, HER2- инвазивного РМЖ с негативным или позитивным (1-3) статусом лимфатических узлов. Тест Oncotype DX® проводится при наличии сомнений относительно применения адъювантной химиотерапии, а также дает персонализированную информацию относительно потенциального эффекта применения химиотерапии. Результат теста выражается согласно специальной шкале от 0 до 100. Срок, в течение которого можно прогнозировать риск развития рецидива, составляет до 10 лет.

Благодаря исследованию Oncotype DX® врач-клиницист получает возможность лучше понять специфику опухоли и назначать пациентке оптимальный курс лечения с учетом индивидуальных особенностей.

В Украине (г. Киев) одна из частных медицинских лабораторий производит прием биопсийного материала для теста Oncotype DX® с последующей отправкой в лабораторию Genomic Health Inc. (США) и получением результатов через 10-14 дней. Эти результаты помогут пациенту и врачу осуществить правильный выбор дальнейшей тактики лечения после операции. Однако недостатком Oncotype DX® является его высокая стоимость.

Литература

1. GLOBOCAN2012 [webpage on the Internet]. Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012; 2012. Available from: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx.
2. Ghoncheh M., Pourmamdar Z., Salehiniya H. Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. 2016; 17(S3): 43-6.
3. International agency for research on cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Ionizing radiation, Part 1. Vol 75. France: International Agency for Research on Cancer Press; 2000.
4. Robbins S.L., Cotran R.S., Kumar V. Pocket companion: pathologic basis of disease. 2nd ed. Philadelphia, USA. 2001.
5. International agency for research on cancer. IARC handbooks of cancer prevention. Weight control and physical activity. Vol 6. France: IARC Press. 2002.
6. Malone K.E., Daling J.R., Thompson J.D. et al. BRCA 1 mutation and breast cancer in the general population. Analysis in women before age 35 years and in women before age 45 years with first-degree family history. JAMA. 1998; 279(12): 922-929.
7. Haber D. Prophylactic Oophorectomy to reduce the risk of Ovarian and the risk of ovarian and breast cancer in carriers of BRC mutations. N Engl J Med. 2002; 346(40): 1660-1661.
8. Greene M.H. Genetics of breast cancer. Mayo Clin Proc. 2002; 7(2): 54-65.
9. Cancer research. Healthy living; 2013.
10. Byrne C., Brinton L.A., Haile R.W. et al. Heterogeneity of the effect of family history on breast cancer risk. Epidemiology. 1991; 2(4): 276-284.
11. Carey L.A. Through a glass darkly: advances in understanding breast cancer biology. 2000-2010. Clin Breast Cancer. 2010; 10(3): 188-195.
12. Harris L., Fritzsche H., Mennel R., Norton L., Ravdin P., Taube S., Somerfield M., Hayes D., Bast R. American Society of Clinical Oncology 2007 Update of Recommendations for the Use of Tumor Markers in Breast Cancer. J Clin Oncol. 2007; 25(33): 5287-5312.
13. Bartlett J., Bayani J., Marshall A. et al. Comparing breast cancer multiparameter tests in the OPTIMA prelim trial: no test is more equal than the others. J Natl Cancer Inst. 2016; 108(9): djw050.
14. Varga Z., Sinn P., Fritzsche F. et al. Comparison of EndoPredict and Oncotype DX Test results in hormone receptor positive invasive breast cancer. PLoS One. 2013; 8(3): e58483.
15. Paik S., Shak S., Tang G. et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. N Engl J Med. 2004; 351(27): 2817-2826.
16. Dowsett M., Sestak I., Lopez-Knowles E. et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with oncoprint DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. J Clin Oncol. 2013 Aug 1; 31(22): 2783-90.
17. Berry D.A., Cronin K.A., Plevritis S.K. et al. Effect of screening and adjuvant therapy on mortality from breast cancer. N Engl J Med. 2005; 353(17): 1784-1792.
18. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. Lancet. 2005; 365(9472): 1687-1717.
19. Dignam J.J., Dukic V.M., Anderson S.J., Mamounas E.P., Wickerham D.L., Wolmark N. Hazard of recurrence and adjuvant treatment effects over time in lymph node-negative breast cancer. Breast Cancer Res Treat. 2009; 116(3): 595-602.
20. Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F. et al. Prospective validation of a 21-gene expression assay in breast cancer. N Engl J Med. 2015; 373(21): 2005-2014.