

# Экспрессия Estrogen и Progesterone Receptor и Ki-67 на клетках Her2/пепу-позитивной карциномы молочной железы

*Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Демидов С.М.*

ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий, Екатеринбург  
Городской маммологический центр МУ ГКБ №40, Екатеринбург  
ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России,  
Екатеринбург

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенной опухолью у женщин в экономически развитых странах. В структуре онкологической заболеваемости женского населения России РМЖ занимает I место. Ежегодно регистрируется более 46 тыс. новых случаев РМЖ. Рост заболеваемости и частота инвалидизации больных раком молочной железы предопределяет необходимость поиска новых диагностических мероприятий и прогностических маркеров, направленных на раннее установление заболевания, оптимизацию и индивидуализацию лечения пациенток с целью дальнейшего повышения качества жизни больных и их физической и социальной реабилитации.

На сегодняшний день известно, что для решения проблем терапии карцином молочной железы необходимо учитывать ряд прогностических и предсказывающих факторов. Маркерами таких опухолевых факторов могут являться рецепторы стероидных гормонов – эстрогена и прогестерона, а также рецепторов тирозинкиназы — Her-2/пепу.

Например, для назначения необходимой гормонотерапии учитывается прогностическое значение уровня экспрессии Estrogen Receptor (ЭР) и Progesterone Receptor (ПР) на клетках опухоли. По данным литературы у больных РМЖ ЭР(-) получающих неоадьювантную терапию чаще регистрируется полный морфологический регресс, в то время как ЭР(+) терапия не будет иметь такого результата [2, 5, 12]. В ходе исследования постменопаузальных больных с ЭР(+)-, и ПР(+)- опухолями было установлено, что неоадьювантная терапия не уступает первичной химиотерапии по частоте объективных ответов [10]. Кроме того ЭР-ПР рецепторный статус опухоли связан с другими факторами: степень гистологической злокачественности, возраст, пролиферативный индекс, что делает исследование на рецепторы эстрогена и прогестерона неотъемлемой частью комплексной терапии рака молочной железы.

Уровень экспрессии стероидных гормонов следует относить как к предсказывающим, так и к прогностическим маркерам [1]. Что же касается тирозинкиназных рецепторов, то в настоящее время к клиническому исполь-

зованию рекомендован лишь протоонкоген, кодирующий рецептор 2 человеческого эпидермального фактора роста (с-erbB-2)-Her-2/neu. Гиперэкспрессия этого онкогена коррелирует с плохим прогнозом как при наличии метастазов, так и при их отсутствии [3]. Также считается, что Her-2/neu обладает самостоятельным прогностическим значением, не связанным с параметрами TNM и рецепторным статусом карциномы [11].

Определение экспрессии Her-2/neu в настоящее время считается целесообразным для отбора пациентов к терапии моноклональными антителами [6, 8, 9]. Однако вариант коэкспрессии рецепторов на клетках карциномы молочной железы, а также их прогностическое значение до настоящего времени остаются малоизученными.

### **Материалы и методы исследования**

Всего исследовано 406 карцином молочной железы из различных медицинских учреждений г. Екатеринбурга (НПЦ «Областной онкологический диспансер» и Городской маммологический центр (МУ ГКБ№40)). Гистологические исследования проводились на базе патоморфологической лаборатории ЦНИЛ ГОУ ВПО «УГМА Росздрава» на базе ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», лаборатории экспериментальной цитологии и эмбриологии. Иммуногистохимические исследования для определения экспрессии Her-2/neu, рецепторов Estrogen и Progesterone осуществлялись в автостейнере «DAKO» (Дания) с использованием моноклональных мышинных антител (DAKO, Дания). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в барокамере «Paskal DAKO Cytomation» (Дания) при давлении 22Р и температуре 127°С. Оценка реакции осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Ymager M» (Германия). Оценка уровней мембранной экспрессии Her-2/neu в опухолевых клетках производилась по шкале от 0 до 3+ [4]. Уровень экспрессии рецепторов Estrogen и Progesterone определялся по шкале от 0 до 8+ [7]. Референс препаратов проводился патоморфологической лабораторией НИИ онкологии им. Герцена, г. Москва.

По полученным результатам исследования формировались электронные базы данных.

Статистические исследования выполнены с использованием набора программ «Statistica», изучались корреляционные связи между показателями. Достоверность различия сравниваемых показателей считалась при  $p < 0,05$ .

### **Результаты и их обсуждение**

При анализе полученных в ходе проведенного исследования уровней экспрессии фактора роста Her-2/neu, были сформированы четыре группы пациентов. Первую группу обследованных составили 240 человек без экспрессии фактора роста в клетках карциномы. Вторую группу составили 103 человека с уровнем экспрессии фактора роста, оцененным на 1+, третью — 42 человека — с уровнем экспрессии 2+, в четвертой группе (21 человек) уровень экспрессии был оценен, как 3+. Процентное соотношение

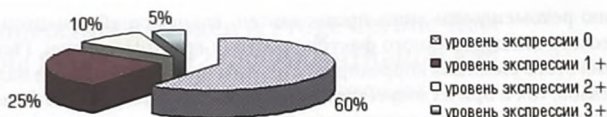


Рисунок 1. Распределение пациентов с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии Her-2/neu (в %).

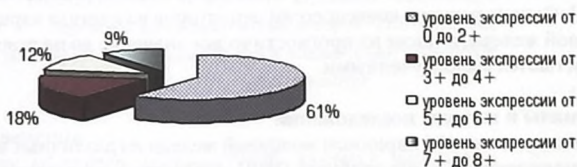


Рисунок 2. Распределение пациентов с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии Estrogen (в %).

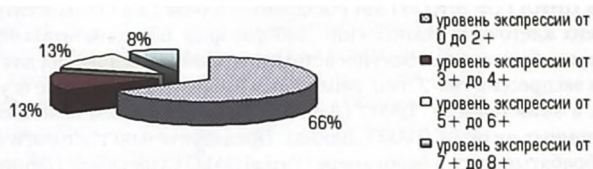


Рисунок 3. Распределение пациентов с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии Progesterone (в %).

между сформированными группами больных представлено на рис. 1.

Как видно из полученных при иммуногистохимическом исследовании данных, большее количество исследованных карцином не экспрессирует HER2 neu. Причем из 40% карцином с наличием экспрессии по изученному показателю только 15% случаев оцениваются как HER2 положительные, а, значит, подлежащие дальнейшему исследованию для решения вопроса о применении им иммунотерапии.

По степени экспрессии на опухолевых клетках рецепторов эстрогена также были сформированы четыре группы пациентов: в первую группу вошли карциномы 243 пациенток с отсутствием экспрессии (уровень экспрессии от 0 до 2), слабая экспрессия рецепторов эстрогена (уровень от 3 до 4) обнаружена в 75 случаях, средний уровень экспрессии (от 5 до 6) в 50 случаях и сильная экспрессия (уровень от 7 до 8) — в 38 исследованных случаях. Процентное соотношение между группами представлено на рис. 2.

Оказалось, что большинство карцином молочной железы не экспрессируют Estrogen Receptor. В то же время 39% карцином оказались положительными по изучаемому признаку, причем количество случаев в группах уменьшается по мере увеличения уровня экспрессии изученного рецептора.

При изучении уровней экспрессии Progesterone Receptor выделены 270

пациентов с уровнем экспрессии от 0 до 2+ (первая группа). Во вторую группу вошли 52 пациентки со слабой экспрессией рецепторов прогестерона (уровень экспрессии от 3 до 4), в третью группу — 53 обследованных со средней степенью экспрессии (уровень от 5 до 6) и четвертую группу — 31 пациентка с уровнем экспрессии от 7 до 8.

Процентное соотношение между группами представлено на рис. 3.

При анализе полученных данных оказалось, что большинство исследованных карцином не экспрессируют рецепторы ПР. Положительная реакция обнаружена в 34% случаев.

Были проведены дополнительные исследования, позволяющие оценить наличие коэкспрессии исследованных рецепторов на клетках карциномы молочной железы, а также провести корреляционный анализ между анализируемыми признаками. Группы формировались по признаку уровня экспрессии клетками карциномы HER2 пеп. Среди случаев карциномы, вошедших в 1 и 2 группы оказался самый высокий средний уровень экспрессии на опухолевых клетках (табл. 1). По мере увеличения уровня экспрессии обрат-

Таблица 1  
Средние значения уровня экспрессии Estrogen Receptor в ткани карциномы молочной железы у пациентов разных групп

Группа экспрессии HER 2 пеп (№ группы — уровень экспрессии/ число наблюдений)	Среднее значение экспрессии Estrogen Receptor		
1 группа — уровень экспрессии 0 n = 240	2,3 ± 0,17	Достоверность различий между группами	
		P(1-2)	>0.05
		P(1-3)	<0.05
		P(1-4)	<0.01
2 группа — экспрессия 1 + n = 103	2,6 ± 0,25	Достоверность различий между группами	
		P(2-1)	>0.05
		P(2-3)	<0.05
		P(2-4)	<0.001
3 группа — экспрессия 2 + n = 42	1,5 ± 0,3	Достоверность различий между группами	
		P(3-1)	<0.05
		P(3-2)	<0.05
		P(3-4)	<0.05
4 группа — экспрессия 3 + n = 21	0,5 ± 0,26	Достоверность различий между группами	
		P(4-1)	<0.05
		P(4-2)	<0.001
		P(4-3)	<0.05

но пропорционально снижается степень экспрессии Estrogen Receptor. Так, в 4 группе при максимальной экспрессии HER2 neu почти не встречаются карциномы с положительной реакцией на ЭР. Уровень экспрессии в этой группе ЭР оказался в 4,5 раза ниже, чем в 1 и 2 исследованных группах. Следует отметить, что при анализе экспрессии Estrogen не обнаружено достоверных различий по изучаемому признаку в 1 и 2 группах.

Подобная же закономерность обнаружена и при исследовании уровня экспрессии Progesterone Receptor в карциномах молочной железы, собранных в группы по уровню экспрессии клетками HER2 neu (табл. 2). Максимальных значений исследованный показатель достигал в группах пациентов с отрицательной экспрессией HER2 neu (1 и 2 группы). При увеличении у степени экспрессии HER2 neu отмечается снижение уровня экспрессии Progesterone Receptor, который в 4 группе оказался достоверно в 10 раз ниже при сравнении с уровнем показателя в 1 группе.

Для определения зависимости между индивидуальными данными каждого пациента дополнительно использовалась корреляционная матрица. Так как выборка исследованных карцином включала в себя 406 случаев,

Таблица 2

Средние значения уровня экспрессии Progesterone в ткани карциномы молочной железы у пациентов разных групп

Группа экспрессии HER 2 neu (№ группы – уровень экспрессии/ число наблюдений)	Среднее значение экспрессии рецепторов Progesterone		
1 группа – уровень экспрессии 0 + N=240	2,0±0,17	Достоверность различий между группами	
		P(1-2)	<0.05
		P(1-3)	<0.05
2 группа – уровень экспрессии 1 + N=103	1,6±0,21	Достоверность различий между группами	
		P(2-1)	<0.05
		P(2-3)	>0.05
3 группа – уровень экспрессии 2 + N=42	1,4±0,35	Достоверность различий между группами	
		P(3-1)	<0.05
		P(3-2)	>0.05
4 группа – уровень экспрессии 3 + n=21	0,2±0,14	Достоверность различий между группами	
		P(4-1)	<0.001
		P(4-2)	<0.05
		P(4-3)	<0.05

можно считать, что переменные нормально распределены внутри групп, а дисперсии внутри групп не слишком различны. Из результатов анализа следует, что между переменными существует стохастическая связь, которая проявляется в том случае, когда имеются общие случайные факторы, влияющие на обе переменные. В качестве меры зависимости использовался коэффициент корреляции. При проведении статистического анализа 4-х сформированных групп, содержащих результаты по экспрессии Estrogen Receptor и Progesterone Receptor, между последними обнаружена средняя положительная корреляционная связь высокой степени значимости ( $r=0,51$  при  $p<0,001$ ).

При проведении статистического анализа между фактором роста Her2 neu и степенью экспрессии Estrogen Receptor, выявлена обратная статистически значимая корреляционная связь ( $r=0,13$  при  $p<0,005$ ).

В результате статистического корреляционного анализа фактора роста HER2 neu и степени экспрессии Progesterone Receptor, также обнаружена обратная корреляционная связь высокой степени значимости ( $r=0,21$  при  $p<0,001$ ).

#### **Выводы**

1. При иммуногистохимическом исследовании обнаружено, что 40% изученных карцином молочной железы экспрессируют на клетках рецептор HER2 neu, причем 25% составили случаи с уровнем экспрессии 1+, 10% случаев — 2+ и 5% случаев — 3+.

2. Среди изученных карцином около 40% случаев экспрессируют Estrogen Receptor и 34% — Progesterone Receptor.

3. Обнаружена высокая степень корреляции экспрессии Estrogen Receptor и Progesterone Receptor на клетках карциномы молочной железы.

4. Установлено, что по мере увеличения степени экспрессии HER2 neu в карциномах молочной железы достоверно снижаются уровни экспрессии Estrogen Receptor и Progesterone Receptor.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Моисеенко В.М., Семиглазов В.Ф., Тюляндин С.А. Современное лекарственное лечение местно-распространенного и метастатического рака молочной железы. СПб.: Грифон, 1997.

2. Семиглазов В.Ф., Арзуманов А.С., Божок А.А. и др. Новый взгляд на неоадьювантную химиотерапию рака молочной железы (роль навельбина). Собр. онкол. 2003; 5 (3). – P.103–7.

3. Allred D.C., Clark G.M., Tandon A.K. et al. Her-2neu in node-negative breast cancer: prognostic significance of overexpression influenced by the presence of in situ carcinoma. J Clin Oncol 1992; 10. – P. 599–605.

4. Bilous M., Dowsett M., Isola J., Lebeau A., Moreno A., et al. Current perspectives on HER2 testing: a review of national testing guidelines. Mol Pathol 2003; 16. – P. 173–82.

5. Bottini A., Berruti A., Brizzi M.P. et al. Single agent epirubicin versus the combination epirubicin plus tamoxifen as primary chemotherapy in breast

---

cancer patients. A single institution phase III trial. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: abstract 80.

6. De Placido S., De Laurentiis M., Carlomagno C. et al. Twenty-year results of the Naples GUN randomized trial: Predictive factors of adjuvant tamoxifen efficacy in early breast cancer. *Clin Cancer Res* 2003; 9. – P. 1039–46.

7. Elledge R.M., Green S., Pugh R., Allred D.C., Clark G.M., Hill J., et al. Estrogen receptor (ER) and Progesterone receptor (PgR), by ligand-binding assay compared with ER, PgR and pS2, by immunohistochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Int J Cancer* 2000;89. – P. 11–7.

8. Elledge R.M., Green S., Ciocca D. et al. Her-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. *Clin Cancer Res* 1998; 4. – P. 7–12.

9. Ravdin P.M., Green S., Albain K.S. et al. Initial report of the SWOG biological correlative study of C-erbB-2 expression as a predictor of outcome in a trial comparing adjuvant CAF T with tamoxifen (T) alone (abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17 (abstract 374).

10. Semiglazov V.F., Zhiltsova E.K., Bozhok A.A. et al. Preoperative hormonal therapy vs chemotherapy in postmenopausal ER-positive breast cancer patients. *Eur J Cancer* 2004; 2. – P. 356–359.

11. Sun J.M., Han W., Kim D.W. et al. Clinical relevance of Her-2 expression in node-negative breast cancer patients. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2004; 23: (abstract 598).

12. Untch M., Kahlert S., Moebus V. et al. Negative steroid receptors are a good predictor for response to preoperative chemotherapy in breast cancer (BC) – results of a randomized trial. *Proc Am Soc Oncol* 2003; 22: (abstract 35).