

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПОДХОДЫ К ЛЕКАРСТВЕННОЙ ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ С УЧЕТОМ МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ОПУХОЛИ (по материалам X Российского онкологического конгресса)

Проф. Т. Н. ПОПОВСКАЯ

PROSPECTIVE APPROACHES TO DRUG TREATMENT OF CANCER PATIENTS WITH THE CONSIDERATION OF MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF THE TUMOR (Materials of X Russian Congress of Oncologists)

T. N. POPOVSKAYA

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Описана современная концепция канцерогенеза и показаны достижения в области исследований молекулярно-генетических маркеров злокачественной опухоли, перспективные для целенаправленного лекарственного воздействия при лечении онкологических больных.

Ключевые слова: злокачественные опухоли, молекулярно-генетические характеристики, лекарственная терапия.

A modern concept of carcinogenesis is described. The achievements in the area of investigation of malignant tumor molecular-genetic markers promising for purposeful treatment at treatment of cancer patients are shown.

Key words: malignant tumors, molecular-genetic characteristics, drug therapy.

21–23 ноября 2006 г. в Москве состоялся X Российский онкологический конгресс. В программе конгресса были представлены сообщения о последних достижениях в области видеохирургии, лучевой терапии, полирадиоимодификации в комбинированном и комплексном лечении онкологических больных. Однако большая часть выступлений была посвящена современным методам лекарственной терапии, основанным на последних достижениях молекулярной онкологии.

В докладе Б. П. Копнина (ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва) «Современные представления о механизмах злокачественного роста» было показано, что достигнутый прогресс в идентификации генов, нарушение функции которых ведет к развитию новообразований, и в выяснении роли белковых продуктов этих генов в физиологии клетки позволил выделить ряд важнейших свойств злокачественной опухоли.

1. Способность клеток генерировать внутри себя пролиферативные сигналы, обеспечивающие постоянную инициацию новых митотических циклов. Как известно, процессы деления и дифференцировки стволовых клеток и их потомков регулируются различными внешними сигналами: разнообразными растворимыми факторами (цитокинами, гормонами и т. д.), а также взаимодействием клеток друг с другом и с белками окружающего их внеклеточного матрикса. Вследствие генетических поломок возможны возникновение секреции необходимых факторов роста самими

неопластическими клетками и резкое увеличение количества рецепторов для факторов роста.

В результате образуются так называемые стволовые клетки опухолей, способные к постоянному вступлению в новые циклы клеточного деления даже при отсутствии внешних стимулов, инициирующих пролиферацию.

2. Нечувствительность клеток к рост-супрессирующим сигналам, в норме ограничивающим избыточное их размножение или пролиферацию в неблагоприятных условиях. Установлено, что в основе нечувствительности неопластических клеток к различным рост-ингибирующим сигналам могут лежать разные механизмы. Подавление активности белков семейств Ink4 и Cip/Kip, характерные для многих типов опухолей мутации, отменяют репликативное старение, т. е. ограничение числа возможных клеточных делений. Инактивация другого представителя белков Ink4 – p15Ink4b – вызывает понижение чувствительности к антипролиферативному действию цитокина TGF-β. К сходным последствиям ведет и инактивация белка pRb.

Нечувствительность к сигналам, ограничивающим размножение клеток при неблагоприятных условиях микроокружения (гипоксия и др.) и/или различных внутриклеточных повреждениях, обуславливается дисфункцией белка p53, приводящей к отмене вызываемого стрессами ингибирования циклинзависимых киназ. Приспособление к гипоксии, кроме того, связано с переходом на

анаэробный путь дыхания, индуцируемого как инактивацией p53, так и повышением активности транскрипционного фактора HIF-1.

Отмена репликативного старения связана не только с инактивацией 16Ink4a, но и с повышением активности теломеразы, обладающей способностью достраивать концевые участки хромосом и предотвращать, таким образом, остановку клеточного деления, вызываемого укорочением теломер.

Увеличение активности теломеразы индуцируется также рядом характерных для опухолевых клеток человека изменений: гиперэкспрессией Мус, инактивацией p53, присутствием онкобелка Е6 вирусов папиллом человека и др.

3. Подавление программируемой смерти клеток. Иммуортальность опухолевых клеток связана и с генетическими изменениями, ведущими к ослаблению различных путей индукции апоптоза. Так, в них закономерно обнаруживаются: потеря экспрессии на поверхности клетки рецептора смерти Fas; нарушения проведения апоптогенного сигнала к митохондриям в результате инактивации p53, PTEN и др.; ингибирование проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома С и АIF вследствие изменений экспрессии белков семейства Bcl2; инактивация каспаз ввиду их связывания с белками IAP, экспрессия которых повышается вследствие мутаций Ras, PTEN и др.

В некоторых типах опухолевых клеток наблюдается подавление и другого способа программируемой смерти — аутофагии, программы лизосомальной деградации белков. В частности, это характерно для раковых клеток молочной железы, яичника и простаты, в которых ингибирование аутофагии связано с делецией одного из генных аллелей Beclin1, белковый продукт которого играет ключевую роль в образовании аутофагосом.

4. Реорганизация цитоскелета и контактных структур, детерминирующая повышенную двигательную активность клеток — основу опухолевой инвазии. Агрессивность злокачественных клеток выражается в инвазивном росте, т. е. в прогрессирующем проникновении в окружающие здоровые ткани. Инвазия детерминирована не только неконтролируемым размножением, но и нарушениями морфогенетических реакций, приводящими к изменениям морфологии и подвижности неопластических клеток. В основе таких нарушений лежат связанные между собой изменения актинового цитоскелета, адгезионных взаимодействий клеток друг с другом и с внеклеточным матриксом, приводящие к увеличению активности псевдоподий и, как следствие, — повышению подвижности клеток. Другим важным фактором инвазии опухолевых клеток является их способность продуцировать протеолитические энзимы, которые, во-первых, разрушают окружающий внеклеточный матрикс (базальную мембрану эпителиальных органов и т. д.), создавая тем самым «дороги» для миграции клеток, а во-вторых, обеспечивают конверсию неактивных форм мотогенных цитокинов,

депонированных на матриксе, в активные формы, стимулирующие миграцию клеток.

5. Блокирование специфической дифференцировки клеток. Для многих опухолевых клеток характерны нарушения дифференцировки, причем могут быть нарушены самые разные компоненты сигнальных путей, ответственных за выполнение дифференцировочных программ. Так, развитие острых лейкозов связано с блокированием дальнейшей дифференцировки ранних гемопоэтических клеток-предшественников, происходящим вследствие перестроек генов рецепторов цитокинов (c-Kit, Flt3), сенсоров позиционных сигналов от других клеток (Notch 1) и транскрипционных факторов, ответственных за миелоидную (AML1, RAR α , c-EBP β , GATA1) или другие типы дифференцировки.

6. Индукция изменений микроокружения, обеспечивающих кровоснабжение опухолей и стимуляцию их роста и инвазии. К характерным свойствам неопластических клеток относится также их способность воздействовать на окружающие клетки нормальных тканей и вызывать в них ряд реакций, способствующих прогрессивному росту опухолей. Важнейшей из таких реакций является образование новых кровеносных сосудов.

Ключевая роль в этом процессе принадлежит VEGF и ангиопоэтину-2а, также bFGF, PLGF, PD-EGF и некоторым другим митогенным/мотогенным цитокинам.

Увеличение содержания VEGF в опухолевых клетках может быть обусловлено различными факторами: гипоксией, которая вызывает активацию транскрипционного фактора HIF-1, повышающего транскрипцию гена VEGF; повышением внутриклеточного уровня активных форм кислорода, что также активирует сигнальный путь HIF-1/VEGF; активацией функции белка Ras, который увеличивает активность транскрипционных факторов AP-1 и HIF1, осуществляющих позитивную регуляцию гена VEGF; инактивацией p53, репрессирующего ген VEGF и др.

Еще одной характерной модификацией микроокружения является привлечение в опухоль макрофагов и других клеток воспаления. Это связано с активацией в неопластических клетках ряда сигнальных путей, в частности регулируемых белками Ras и NF κ B, стимулирующих продукцию провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8). Предполагается, что присутствие клеток воспаления ускоряет опухолевую прогрессию вследствие секреции ими цитокинов, стимулирующих размножение неопластических клеток, ангиогенез и образование миофибробластов, продукции металлопротеаз, а также повышения содержания активных форм кислорода и азота, индуцирующих мутагенез.

7. Метастазирование. Важным достижением в понимании механизмов метастазирования стала концепция о предварительном формировании в отдаленных органах «ниш», привлекающих

опухолевые клетки и стимулирующих размножение образующихся метастазов. Предполагается, что образование таких ниш детерминировано секрецией клетками первичной опухоли определенных цитокинов и хемокинов (плацентарный ростовой фактор, VEGF и др.), что вызывает ряд реакций в тканях некоторых отдаленных органов, приводящих, в частности, к оседанию в них VEGFR1-позитивных гемопоэтических клеток, которые, продуцируя специфический набор адгезионных молекул, протеаз и т. д. (интегрин $\alpha 4 \beta 1$, MMP9 и др.), привлекают опухолевые клетки и стимулируют их дальнейшее размножение.

8. Нестабильность генома неопластических клеток. Мутации, ведущие к генетической нестабильности (т. е. увеличению вероятности возникновения и закрепления в ряду клеточных поколений разнообразных изменений генома), являются неотъемлемым этапом онкогенеза, обеспечивающим неуклонную прогрессию опухолей.

В основе генетической нестабильности опухолевых клеток лежат три типа нарушений: 1) увеличение внутриклеточного уровня активных форм кислорода (АФК) и других эндогенных мутагенов; 2) понижение точности репликации ДНК и сегрегации хромосом во время митоза; 3) нарушения реакции клеток на изменения структуры ДНК или повреждения митотического аппарата (аномалии систем репарации ДНК; инактивация чекпойнтов клеточного цикла, предотвращающих остановку пролиферации аномальных клеток и подавление апоптоза, элиминирующего поврежденные клетки из организма).

Таким образом, определение и выяснение механизмов основных молекулярно-генетических характеристик опухолевой клетки создает предпосылки для выявления прогностических факторов и определения оптимальной тактики терапии онкологической патологии. Практическое применение в клинической онкологии достижений молекулярной онкологии было продемонстрировано в докладе С. М. Портного (ГУ РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва) «Факторы прогноза и тактика лечения местно-распространенного рака молочной железы».

Автором представлена молекулярно-генетическая классификация рака молочной железы (РМЖ), разработанная С. М. Perou et al., T. Sotgiu et al., основанная на вариациях набора экспрессируемых генов (ERBB2+, GRB7, 17q22.24, PЭ, HER2neu) и корреляции генетических характеристик опухоли с отдаленными результатами лечения.

Анализ результатов системной терапии в зависимости от принадлежности опухоли к тому или иному подтипу показал предсказательную значимость новой классификации.

Так, по результатам неoadъювантной терапии больных гормональнозависимым местнораспространенным РМЖ эффективность эндокринной терапии ингибиторами ароматазы не уступала

эффективности химиотерапии по схеме АС (доксорубин 60 мг/м², циклофосфамид 600 мг/м²). В то же время не следует утверждать, что химиотерапия не нужна больным с РЭ+ опухолями, так как при метаанализе рандомизированных исследований было показано, что адъювантная полихимиотерапия примерно в равной степени как при РЭ-, так и при РЭ+ опухолях улучшает безрецидивную и общую выживаемость больных.

У больных с поражением подмышечных лимфатических узлов адъювантная химиотерапия, включающая антрациклины (CEF), имела преимуществва перед схемой CMF при амплификации HER2neu, причем вероятность рецидива болезни была ниже почти в 2 раза. У больных с отсутствием амплификации HER2neu результаты лечения по обеим схемам были одинаковы.

Установлено, что гиперэкспрессия HER2neu в опухоли обуславливает низкую чувствительность к тамоксифену, но не к ингибиторам ароматазы. В частности, при проведении неoadъювантной эндокринной терапии у больных РМЖ, имевших РЭ+ опухоли и гиперэкспрессию ErbB-1 и/или ErbB-2, эффективность летрозолола составила 88% против 21% при применении тамоксифена.

В представленной классификации выделен отдельно базальный подтип РМЖ, РЭ-РП-HER2neu-, при котором отсутствуют молекулярные «мишени» в опухоли, что делает невозможным применение таргетной терапии и обосновывает необходимость проведения химиотерапии в полном объеме.

Таким образом, результаты рандомизированных исследований эффективности терапии в зависимости от экспрессии различных факторов роста показали необходимость их учета при определении лечебной тактики. В продолжение данного вопроса был представлен доклад Е. Н. Имянитова (НИИ онкологии им. проф. Н. Н. Петрова, Санкт-Петербург) «Выбор терапии на основе молекулярного портрета опухоли: миф или реальность?», в котором показана целесообразность исследования информативных маркеров эффективности противоопухолевой терапии цитостатиками и таргетными препаратами.

Исследования подобного рода, по мнению автора, ставят две задачи:

1) молекулярно-генетическая характеристика пациента, позволяющая индивидуализировать дозировку препаратов и уменьшить риск появления токсических реакций;

2) мутационный и экспрессионный анализ опухолевой ткани с целью предсказания чувствительности новообразования к лекарственным средствам.

Известно, что к настоящему времени идентифицировано несколько генных полиморфизмов, ассоциированных с повышенной чувствительностью к цитостатикам. В частности, носители мутантных аллелей гена TPMT плохо метаболизируют меркаптопурин и нуждаются в 10–15-кратном

уменьшении дозировки этого препарата. Некоторые варианты гена UGT1A1 ассоциированы с повышенной чувствительностью к иринотекану. Соответствующий лабораторный тест, направленный на выявление подобных индивидов и влекущий за собой необходимость снижения стартовой дозировки препарата на 20–25%, уже рекомендован к применению FDA. Вероятно, применение метотрексата также требует пересмотра ряда количественных аспектов в зависимости от полиморфизма гена MTHFR. Носительство мутантных аллелей гена DPD сопряжено с риском летальных реакций в ответ на введение 5-фторурацила.

Повышенная экспрессия ферментов репарации ДНК позволяет опухоли нейтрализовать воздействие терапевтических средств. Подобный эффект подтвержден для препаратов платины и алкилирующих агентов. Положительный результат при назначении антрациклинов более вероятен, когда в опухоли активирована мишень препаратов этой группы — топоизомераза II-альфа.

Высокая экспрессия одной из молекул тубулинов, а именно бета-тубулина III класса, может снизить лечебный эффект таксанов и винкаалкалоидов.

Ритуксимаб (мабтера) и иматиниб (гливек) также назначаются исключительно на основании результатов молекулярного теста. Огромный интерес научного и онкологического сообщества вызвали сообщения о четкой ассоциации между присутствием мутации в гене EGFR и хорошими результатами лечения немелкоклеточного рака легкого gefитинибом (ирессой) и эрлотинибом (тарцевой). Хорошей воспроизводимостью отличаются работы, демонстрирующие высокую чувствительность к цетуксимабу (эрбитуксу) опухолей толстой кишки, содержащих амплификацию гена EGFR.

Для проведения мутационного и экспрессионного анализа опухолевой ткани можно ис-

пользовать вполне доступные для применения в условиях повседневной клинической работы методики. В частности, экспрессию тех или иных ферментов можно исследовать как при помощи иммуногистохимии, так и посредством ПЦР-детекции соответствующих транскриптов (RT-PCR). В первом случае тест может выполняться в условиях обычной патоморфологической лаборатории. Для применения RT-PCR требуется более сложное оборудование (в частности, прибор для мониторинга ПЦР в режиме реального времени), однако к преимуществам метода следует отнести его универсальность.

В последнее время стали часто упоминаться принципиально новые технологии, предусматривающие комплексную одновременную оценку всех элементов генома. В частности, «микрочиповые» подходы к идентификации «экспрессионных профилей» новообразований позволили выявить несколько десятков потенциальных маркеров прогноза и химиочувствительности опухолей. Хотя приоритет подобных методов в процессе идентификации новых клинически значимых молекул представляется абсолютно неоспоримым, следует подчеркнуть, что «микрочипы» не могут применяться в рутинной диагностике ввиду огромной стоимости, низкой чувствительности и полуколичественного характера измерений.

Таким образом, на основании современных представлений о механизмах злокачественного роста, молекулярно-генетических характеристиках опухоли, о разной прогностической значимости этих факторов в возникновении и прогрессировании злокачественной опухоли, а также об их роли в развитии разной степени чувствительности к лекарственной терапии формируются новые подходы к комплексному лечению онкологической патологии.

Поступила 07.12.2006