

**ВКЛАД ЭСТРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА АЛЬФА В МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К
ЭНДОКРИННОЙ ТЕРАПИИ ТАМОКСИФЕНОМ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Т.А. Дронова^{1,2}, С.В. Паталяк¹

Научные руководители: к.м.н. Н.Н. Бабышкина, профессор, д.б.н. В.Н. Стегний

¹НИИ онкологии Томского НИМЦ,

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

²Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: tanyadronova@mail.ru

**IMPACT OF ESTROGEN RECEPTOR ALPHA ON THE TAMOXIFEN RESISTANCE IN BREAST
CANCER PATIENTS**

T.A. Dronova^{1,2}, S.V. Patalyak¹

Scientific Supervisors: N.N. Babyshkina, Ph.D., V.N. Stegnyy, Ph.D.

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center,

Russia, Tomsk, Kooperativny Street, 5, 634050

²Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina av., 36, 634050

E-mail: tanyadronova@mail.ru

Abstract. Genetic aberrations and changes in the activity of estrogen receptors alpha (ER α) play an important role in the endocrine sensitivity. The aim of this study was to examine the relationship between the *ESR1* expression level, its polymorphic variants, and the distribution pattern of ER α expression with the prognosis and efficacy of tamoxifen treatment in breast cancer patients. Our data suggest that the *ESR1* expression level, SNPs in the *ESR1* gene and the distribution pattern of ER α expression can be a potential molecular marker of tamoxifen resistance in breast cancer patients.

Актуальность. Содержание эстрогеновых рецепторов в опухоли у больных раком молочной железы (РМЖ) является одним из основных критериев определения её чувствительности/резистентности к гормональной терапии [1,2]. В качестве возможных механизмов неэффективности гормонотерапии рассматриваются генетические aberrации и изменение активности эстрогеновых рецепторов альфа (ER α) [3,4]. Имеются убедительные доказательства того, что уровень экспрессии ER α связан с ответом опухоли на терапию тамоксифеном [5,6]. Однако вклад точечных мутаций гена *ESR1* в локусах rs2228480, rs2077647, rs1801132, rs3798577 и характера распределения ER α в механизмы развития резистентности к терапии тамоксифеном остается не изученным.

Цель работы: оценить взаимосвязь уровня экспрессии *ESR1*, его полиморфных вариантов и характера распределения эстрогеновых рецепторов в опухоли с прогнозом и эффективностью терапии тамоксифеном у больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В настоящее исследование включены 122 пациентки с операбельным раком молочной железы, T₁₋₄N₀₋₃M₀. Всем пациенткам выполнено радикальное хирургическое лечение, а также лучевая и химиотерапия по показаниям. Обязательным компонентом адъювантного лечения

больных являлся прием тамоксифена в течение 5 лет (стандартная дозировка – 20 мг/сутки). Неoadьювантное лечение не проводилось. Для определения молекулярного подтипа РМЖ использована классическая панель из иммуногистохимических маркеров: ER, PR, HER2 и Ki-67. Рецептор-положительные опухоли с негативной экспрессией HER2 и пролиферативной активностью Ki-67 менее 20% относили к люминальному А подтипу РМЖ. К люминальному В типу – опухоли с позитивной и негативной экспрессией HER2, положительной экспрессией рецепторов к эстрогенам и прогестерону и высоким уровнем пролиферативной активности ($Ki-67 \geq 20\%$).

На основе отдаленных результатов лечения (наличие гематогенного метастазирования/рецидива или отсутствие прогрессирования заболевания) сформировано две группы больных. Первая – тамоксифен-резистентная (пациентки с прогрессированием), вторая – тамоксифен-чувствительная (больные без признаков прогрессирования). Материалом для исследования служили образцы опухолевой и прилежащей нормальной ткани. Тотальная РНК получена с помощью наборов RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Германия). Уровень экспрессии гена *ESR1* оценен методом количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) по технологии TaqMan. ДНК из опухолевых образцов была выделена путем депарафинизации срезов с помощью наборов QIAamp DNA FFPE tissue kit (Qiagen, Германия). Анализ полиморфных вариантов гена *ESR1* (rs2228480, rs2077647, rs1801132, rs3798577) изучен при помощи ПЦР в режиме реального времени. Характер распределения ER α оценивали иммуногистохимическим методом. Общая выживаемость больных РМЖ анализировалась с помощью кривых Каплана-Майера и теста логарифма рангов. Для анализа наличия или отсутствия связи между исследуемыми маркерами использовали корреляционный анализ Спирмена. Статистическую обработку проводили с помощью программы “STATISTICA 7.0”. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$.

Результаты. Изучена взаимосвязь уровня экспрессии *ESR1*, его полиморфных вариантов и характера распределения эстрогеновых рецепторов в опухоли с прогнозом и эффективностью терапии тамоксифеном в общей группе больных РМЖ и в группах пациенток с люминальным А и В подтипом опухоли. В результате исследования установлено, что уровень экспрессии гена *ESR1* был значимо выше в тамоксифен-чувствительной группе больных ($35,64 \pm 16,39$), по сравнению с тамоксифен-резистентными пациентками вне зависимости от молекулярного подтипа опухоли ($0,87 \pm 0,39$; $p = 0,041$).

Показано, что носительство минорного генотипа *ESR1* 2014AA (rs2228480) значимо ассоциировано с прогрессированием заболевания на фоне приема тамоксифена как в общей группе больных РМЖ, так и у пациенток с люминальным В подтипом ($p = 0,013$ и $p = 0,017$ соответственно). Установлена положительная корреляционная связь между полиморфными локусами гена *ESR1* (rs1801132 и rs2077647) в общей группе больных РМЖ ($r = 0,199$; $p = 0,029$).

Гетерогенный характер распределения ER α наблюдался в 86,5% у тамоксифен-резистентной группы больных по сравнению с 58,3% среди пациенток тамоксифен-чувствительной группы ($p = 0,003$). Выявлено, что полиморфный локус rs2228480 гена *ESR1* корреляционно связан с характером распределения ER α в опухоли ($r = 0,349$; $p = 0,017$).

Анализ выживаемости в общей группе больных РМЖ показал, что пациентки с гетерогенным распределением ER α в опухоли имели худшие показатели выживаемости, чем больные с гомогенным распределением ER α ($p = 0,009$). Показатели выживаемости у больных с минорным генотипом гена *ESR1*

2014AA (rs2228480) были значимо ниже по сравнению с показателями у пациенток с мажорным генотипом ($p = 0,040$). У пациенток с мажорным генотипом гена *ESR1* (rs3798577) наблюдалось существенное преимущество в показателях общей выживаемости по сравнению с гетерозиготами по данному полиморфному локусу ($p = 0,014$).

Заключение. Представленные результаты позволяют рассматривать уровень экспрессии *ESR1*, его полиморфные локусы, а также характер распределения в опухолевой ткани ER α в качестве потенциальных маркеров чувствительности и резистентности к терапии тамоксифеном.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 17-29-06037 офи_м «Геномные механизмы регуляции опухолевой прогрессии рака молочной железы в условиях лекарственной терапии».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Красильников М.А. Современные подходы к изучению механизма эстроген-независимого роста опухолей молочной железы // Вопросы онкологии. – 2004. – Т. 4. - № 50. – С. 399-405.
2. Clarke, R., Liu, M., Bouker, K., Gu, Z., Lee, R.Y., Zhu, Y., Skaar, T.C., Gomez, B., O'Brien, K., Wang, Y., Hilakivi-Clarke, L.A. (2003) Antiestrogen resistance in breastcancer and the role of estrogen receptor signaling. *Oncogene*, no 22, pp. 7316-39.
3. Chang, J., Fan, W. (2013) Endocrine therapy resistance: Current status, possible mechanisms and overcoming strategies. *Anticancer Agents Med Chem*, no 13, pp. 464-475.
4. Tapper, W., Hammond, V., Gerty, S., Ennis, S., Simmonds, P., Collins, A., Eccles, D. (2008) The influence of genetic variation in 30 selected genes on the clinical characteristics of early onset breast cancer. *Breast Cancer*, no. 10, pp. 108-118.
5. Osborne, C.K. (1998) Steroid hormone receptors in breast cancer management. *Breast Cancer Res Treat*, no 51, pp. 227-38.
6. Higgins, M.J., Stearns, V. (2009) Understanding resistance to tamoxifen in hormone receptor-positive breast cancer. *Clin Chem*, no 55, pp. 1453-1455.