

Прогностическая роль экспрессии маркера PBRM1 при светлоклеточном раке почки

Д.Г. Заридзе, Н.Н. Мазуренко, С.Д. Бежанова, Д.М. Максимович, О.В. Шаньгина,
В.А. Драудин-Крыленко, А.Ф. Мукерия, В.Б. Матвеев

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Оксана Валентиновна Шаньгина oshangina@mail.ru

Введение. Светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) является наиболее частым гистологическим типом рака этой локализации. Выделяют 16 генов, нарушения которых играют значительную роль в канцерогенезе скПКР. Вторым по частоте генетических нарушений в скПКР после гена-супрессора VHL является ген PBRM1, который мутирует в 40–50 % случаев скПКР. **Цель исследования** – анализ влияния нарушений экспрессии белка PBRM1 на выживаемость пациентов со скПКР.

Материалы и методы. В исследование были включены 137 пациентов с впервые выявленным и гистологически верифицированным диагнозом скПКР. Для каждого участника исследования были собраны детальная медицинская информация и данные анкетирования. От всех больных до начала лечения были получены образцы крови и удаленной во время хирургической операции опухолевой ткани. Все пациенты ежегодно прослеживаются в целях получения актуальной информации об их жизненном статусе, динамике заболевания, лечении. Минимальное время прослеживания – 22 мес, максимальное – 128 мес, среднее – 61,8 мес, медиана – 48 мес. Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование экспрессии PBRM1 было выполнено по стандартной методике с поликлональными кроличьими антителами PBI[NIN2] N-term (GeneTex 100781) в разведении 1:50, проявление проводилось с использованием DAB. Белковый продукт гена PBRM1 дикого типа в норме функционирует и выявляется в ядре. Отсутствие ядерной экспрессии PBRM1 указывает на генетические или эпигенетические нарушения.

Результаты. Специфическая для рака почки выживаемость статистически достоверно ниже у больных, в опухолевых клетках которых нет экспрессии белка PBRM1. Наилучшая 5- (84 %) и 10-летняя (84 %) выживаемость отмечена у больных с диффузной ядерной экспрессией белка PBRM1. Различия в выживаемости этих больных и тех, у которых нет экспрессии белка PBRM1, статистически высоко достоверны ($p = 0,004$). Нами впервые проведен анализ выживаемости больных скПКР с фокальной ядерной экспрессией PBRM1. У этих пациентов выживаемость ниже, чем у больных с диффузной экспрессией, но выше, чем у больных с отсутствием ядерной экспрессии PBRM1 ($p = 0,02$). Цитоплазматическая экспрессия PBRM1 на выживаемость не влияет.

Заключение. Таким образом, полученные нами результаты указывают на прогностическую значимость активности гена PBRM1, нарушение функции которого встречается почти в половине случаев скПКР. ИГХ-исследование является адекватным, надежным и доступным методом для определения экспрессии белка PBRM1 и, соответственно, может применяться на практике. Особенно следует отметить благоприятное течение и прогноз болезни у пациентов с I–II стадиями скПКР, у которых сохранена ядерная экспрессия белка PBRM1: 5-летняя выживаемость у них составляет 100 %. Это наблюдение крайне важно для принятия решения по тактике лечения таких больных.

Ключевые слова: светлоклеточный почечно-клеточный рак, выживаемость, экспрессия, ген PBRM1

Для цитирования: Заридзе Д.Г., Мазуренко Н.Н., Бежанова С.Д. и др. Прогностическая роль экспрессии маркера PBRM1 при светлоклеточном раке почки. Онкоурология 2019;15(1):23–31.

DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-1-23-31

Prognostic role of PBRM1 marker expression in clear-cell renal-cell carcinoma

D.G. Zaridze, N.N. Mazurenko, S.D. Bezhanova, D.M. Maksimovich, O.V. Shangina,
V.A. Draudin-Krylenko, A.F. Mukeria, V.B. Matveev

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Background. Clear-cell renal-cell carcinoma (CCRCC) is the most common histological type of cancer of this localization. Changes in 16 genes were identified as significant in carcinogenesis of CCRCC. After VHL suppressor gene, PBRM1 gene is the second by frequency of genetic abnormalities in CCRCC and it is mutated in 40–50 % cases of CCRCC.

The study objective is to analyze the effect of abnormalities in PBRM1 protein expression on survival of patients with CCRCC.

Materials and methods. The study included 137 patients with newly diagnosed and histologically confirmed CCRCC. For all study participant, detailed medical history and questionnaire data were acquired. Prior to treatment, blood samples and tumor tissue removed during surgery were obtained from all patients. All patients are annually followed up for current information on their life status, disease dynamics, treatment.

Minimal follow-up time is 22 months, maximal is 128 months, mean is 61.8 months, median is 48 months. Immunohistochemical (IHC) testing of *PBRM1* expression was performed using standard technique with polyclonal rabbit antibodies PB1[NIN2] N-term (GeneTex 100781) with 1:50 dilution, DAB staining. Normally, protein product of the wild type *PBRM1* gene is functioning and can be detected in the nucleus. Absence of nuclear expression of *PBRM1* points to genetic or epigenetic abnormalities.

Results. Renal cancer-specific survival is significantly lower in patients without expression of the *PBRM1* protein in tumor cells. The longest 5- (84 %) and 10-year (84 %) survival was observed in patients with diffuse nuclear expression of the *PBRM1* protein. Difference in survival of these patients compared to patients without *PBRM1* protein expression is statistically significant ($p = 0.004$). We have performed an analysis of the association between survival of patients with CCRCC and focal nuclear *PBRM1* expression. In these patients, survival is lower than in patients with diffuse expression but higher than in patients without nuclear expression of *PBRM1* ($p = 0.02$). Cytoplasmic expression of *PBRM1* doesn't affect survival.

Conclusion. The obtained results point to prognostic value of *PBRM1* gene activity which is abnormal in almost half of all CCRCC cases. IHC testing is an appropriate, reliable and affordable method for determination of *PBRM1* protein expression and therefore can be used in practice. Favorable course and prognosis in patients with stage I–II CCRCC and preserved nuclear expression of the *PBRM1* protein should be noted: 5-year survival for these patients is 100 %. This observation is crucial for making decisions on treatment of these patients.

Key words: clear-cell renal-cell carcinoma, survival, expression, *PBRM1* gene

For citation: Zaridze D.G., Mazurenko N.N., Bezhanova S.D. et al. Prognostic role of *PBRM1* marker expression in clear-cell renal-cell carcinoma. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2019;15(1):23–31.

Введение

Ежегодно в мире регистрируют около 300 тыс. новых случаев рака почки и более 134 тыс. смертей от этого заболевания. В последние годы заболеваемость раком почки в мире ежегодно увеличивается на 3–5 %, а смертность уменьшается [1, 2]. В России в 2017 г. зарегистрированы 13 556 заболевших мужчин и 11 223 женщины, умерли 5180 мужчин и 3206 женщин [3]. Заболеваемость раком почки в России, как и в других странах мира, растет. С 1990 г. заболеваемость данной патологией среди мужчин выросла почти в 4 раза, среди женщин – в 2 раза. В то же время смертность имеет тенденцию к снижению [4, 5]. С учетом значительного роста заболеваемости раком почки исследование прогноза этой патологии в зависимости от различных морфологических, клинических, молекулярных и других параметров весьма актуально.

Наиболее частым (80–85 %) гистологическим типом рака почки является светлоклеточный почечно-клеточный рак (скПКР) [6]. Прогноз при ранних, локализованных формах скПКР (I и II стадии) достаточно благоприятен, и показатели 5-летней выживаемости составляют 70 %, однако при наличии отдаленных метастазов (IV стадия) они не превышают 10 % [2]. Представляется важным определение прогностических молекулярно-генетических маркеров прогрессирования скПКР.

Выделяют 16 генов, нарушения которых играют значительную роль в канцерогенезе почечно-клеточного рака. Нарушения гена-супрессора *VHL*, участвующего в активации *VHL*-*HIF*-пути, – раннее и наиболее частое событие в канцерогенезе почечно-клеточного рака [7]. Вторым по частоте генетических нарушений в скПКР является ген *PBRM1* [8, 9]. Этот ген расположен на хромосоме 3 в локусе 3p21

и кодирует белок BAF180 (BRG1-associated factor 180) или *PBRM1*, который является 2мDa-компонентом нуклеосом-ремоделирующего комплекса *SWI/SNF*. Комплекс *SWI/SNF* использует аденозинтрифосфат для мобилизации нуклеосом, вызывая вставку или удаление гистонов от хроматина. Таким образом, *SWI/SNF* вовлечен в регуляцию генов при многих клеточных процессах, включая клеточный цикл, репарацию ДНК, клеточную смерть, метаболизм, контроль клеточной пролиферации, дифференцировки и канцерогенез. Этот комплекс – ключевой регулятор экспрессии генов через ассоциацию с большим числом факторов. Мутации в генах, входящих в комплекс *SWI/SNF*, выявляют в 20 % опухолей разной локализации [10]. Выяснилось, что нарушения гена *VHL* недостаточны для активации *HIF1/STAT3*-сигнального пути, так как белок *PBRM1* противодействует эффекту потери функции *VHL* в развитии скПКР [11].

Несмотря на то что нарушения *PBRM1* характерны для скПКР, сведения о его прогностической роли недостаточны и противоречивы [12–17]. Наличие мутаций *PBRM1* связано с инвазивностью скПКР. Однако связи между мутационным статусом *PBRM1* и безрецидивной и общей выживаемостью пациентов не выявлено [12, 14]. В то же время показано, что отсутствие или низкая экспрессия *PBRM1* коррелирует с прогрессированием заболевания и низкой общей выживаемостью пациентов скПКР [15–17].

По данным баз COSMIC и MutDB, в гене *PBRM1* насчитывается 715 мутаций [18], которые выявляют секвенированием по Сэнгеру [12] либо полноэкзомным или полногеномным секвенированием нового поколения (NGS) [11, 14, 18]. Однако наиболее часто об инактивации гена *PBRM1* судят по результатам анализа экспрессии белкового продукта *PBRM1*

с использованием иммуногистохимического (ИГХ) метода. При сравнении данных ИГХ- и генетического анализа была выявлена положительная корреляция экспрессии PBRM1 в ядре с наличием гена дикого типа [19], что позволяет использовать ИГХ для определения экспрессии PBRM1 при исследованиях большого количества наблюдений [15–17, 20].

Цель исследования – анализ влияния нарушения экспрессии белка PBRM1 на выживаемость пациентов со скПКР.

Материалы и методы

В исследование были включены 137 пациентов, которые находились на лечении в отделении онкоурологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с впервые выявленным и гистологически верифицированным диагнозом скПКР. Больные были отобраны из базы данных молекулярно-эпидемиологического исследования рака почки, проводимого в отделе эпидемиологии и профилактики злокачественных опухолей с 2007 г. по настоящее время. Для каждого участника исследования были собраны детальная медицинская информация и данные анкетирования (медицинский и семейный анамнез, образ жизни, профессиональная занятость и др.). От всех

больных до начала лечения были получены образцы крови и удаленной во время хирургической операции опухолевой ткани. Для изготовления парафиновых блоков фрагменты опухолевой ткани фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и заливали парафином. Серийные срезы толщиной 3–5 мкм депарафинизировали по стандартной схеме. ИГХ-исследование экспрессии PBRM1 было выполнено по стандартной методике с поликлональными кроличьими антителами PB1[N1N2] N-term (GeneTex 100781) в разведении 1:50, проявление проводилось с использованием DAB. Внутренним положительным контролем служила окраска лимфоцитов, стромальных фибробластов или эндотелиальных клеток на том же срезе. Все пациенты ежегодно прослеживаются в целях получения актуальной информации об их жизненном статусе, динамике заболевания, лечении, причинах смерти.

Статистические методы. Оценивали 5- и 10-летнюю специфическую для рака почки выживаемость (cancer specific survival) методом Каплана–Майера [21]. Метод предполагает разделение пациентов на 2 группы: в 1-ю включены умершие от скПКР, во 2-ю – живые на момент последнего прослеживания и бывшие из прослеживания (умершие от других

Таблица 1. Распределение пациентов со светлоклеточным почечно-клеточным раком по полу, возрасту и стадии заболевания в зависимости от типа экспрессии PBRM1

Table 1. Distribution of patients with clear-cell renal-cell carcinoma by sex, age and disease stage depending on PBRM1 expression type

Характеристика Characteristic	Ядерная экспрессия Nuclear expression	Цитоплазматическая экспрессия Cytoplasmic expression	Экспрессии нет No expression	Всего Total
Число пациентов, n (%) Number of patients, n (%)	48 (35,0)	18 (13,2)	71 (51,8)	137 (100)
Возраст, n (%): Age, n (%):				
<60 лет <60 years	24	14	43	81 (59,1)
≥60 лет ≥60 years	24	4	28	56 (40,9)
<i>p</i> (χ ²)	0,12			
Стадия, n (%): Stage, n (%):				
I–II	20	3	20	43 (31,4)
III–IV	28	15	51	94 (68,6)
<i>p</i> (χ ²)	0,11			
Пол, n (%): Sex, n (%):				
мужской male	33	12	46	91 (66,4)
женский female	15	6	25	46 (33,6)
<i>p</i> (χ ²)	0,90			

Таблица 2. Экспрессия белка PBRM1 в исследуемых группах

Table 2. PBRM1 protein expression in the studied groups

Тип экспрессии белка PBRM1 PBRM1 protein expression type	Пациенты, умершие от светлоклеточного почечно-клеточного рака (n = 50) Patients who died of clear-cell renal-cell carcinoma (n = 50)	Цензурированные пациенты (n = 87) Censored patients (n = 87)	Всего Total
Ядерная Nuclear	11	37	48
Цитоплазматическая Cytoplasmic	8	10	18
Нет экспрессии No expression	31	40	71
Нет ядерной экспрессии No nuclear expression	39	50	89
Ядерная (I и II стадии) Nuclear (stage I and II)	1	19	20
Нет ядерной экспрессии (I и II стадии) No nuclear expression (stage I and II)	7	16	23
Ядерная (III и IV стадии) Nuclear (stage III and IV)	10	18	28
Нет ядерной экспрессии (III и IV стадии) No nuclear expression (stage III and IV)	32	34	66
Диффузная ядерная Diffuse nuclear	4	28	32
Фокальная ядерная Focal nuclear	7	9	16

причин, недоступные для контакта). Вторая группа обозначена как «цензурированные наблюдения» (censored observations).

Для сравнения показателей выживаемости пациентов с различной экспрессией PBRM1 использовали *log-rank*-тест (Savage, Mantel-Cox). Гетерогенность сравниваемых групп оценивали методом χ^2 . Использовали пакет статистических программ STATA [22].

Результаты

Характеристика 137 пациентов с впервые выявленным скПКР представлена в табл. 1. Преобладали мужчины (66,4 %) и пациенты моложе 60 лет (59,1 %), у 68,6 % больных была III–IV стадия скПКР.

Причиной смерти 50 пациентов был скПКР. Во 2-й группе 2 из 87 пациентов умерли от сердечно-сосудистых заболеваний (время прослеживания 26 и 31 мес), 2 – от другой злокачественной опухоли (время прослеживания 30 мес (рак поджелудочной железы) и 111 мес (рак яичников)), 83 пациента были живы на момент последнего прослеживания (2017–2018 гг.). Представленные данные о жизненном статусе больных и причинах смерти основаны на их ежегодном просле-

живании. Минимальное время прослеживания – 22 мес, максимальное – 128 мес, среднее – 61,8 мес, медиана – 48 мес.

Экспрессия белка PBRM1. Белковый продукт гена *PBRM1* дикого типа в норме функционирует и выявляется в ядре. Отсутствие ядерной экспрессии PBRM1 указывает на генетические или эпигенетические нарушения. Ядерная экспрессия белка PBRM1 имела место в 48 наблюдениях, цитоплазматическая – в 18 и не зависела от пола, возраста и стадии скПКР (см. табл. 1). Распределение типа экспрессии белка PBRM1 в зависимости от группы наблюдения представлено в табл. 2.

На рис. 1 представлены микрофотографии срезов образцов скПКР, обработанных антителами PB1 к PBRM1. Выявлено несколько вариантов ИГХ-окрашивания: а) ядерное диффузное окрашивание, когда экспрессия PBRM1 имеет место почти во всех опухолевых клетках (см. рис. 1а); б) ядерное фокальное окрашивание – ядерная экспрессия исследуемого белка PBRM1 наблюдается не во всех, а только в части клеток (см. рис. 1б); в) отсутствует ядерная экспрессия, однако отмечается диффузное цитоплазматическое окрашивание с антителами PB1 (см. рис. 1в);

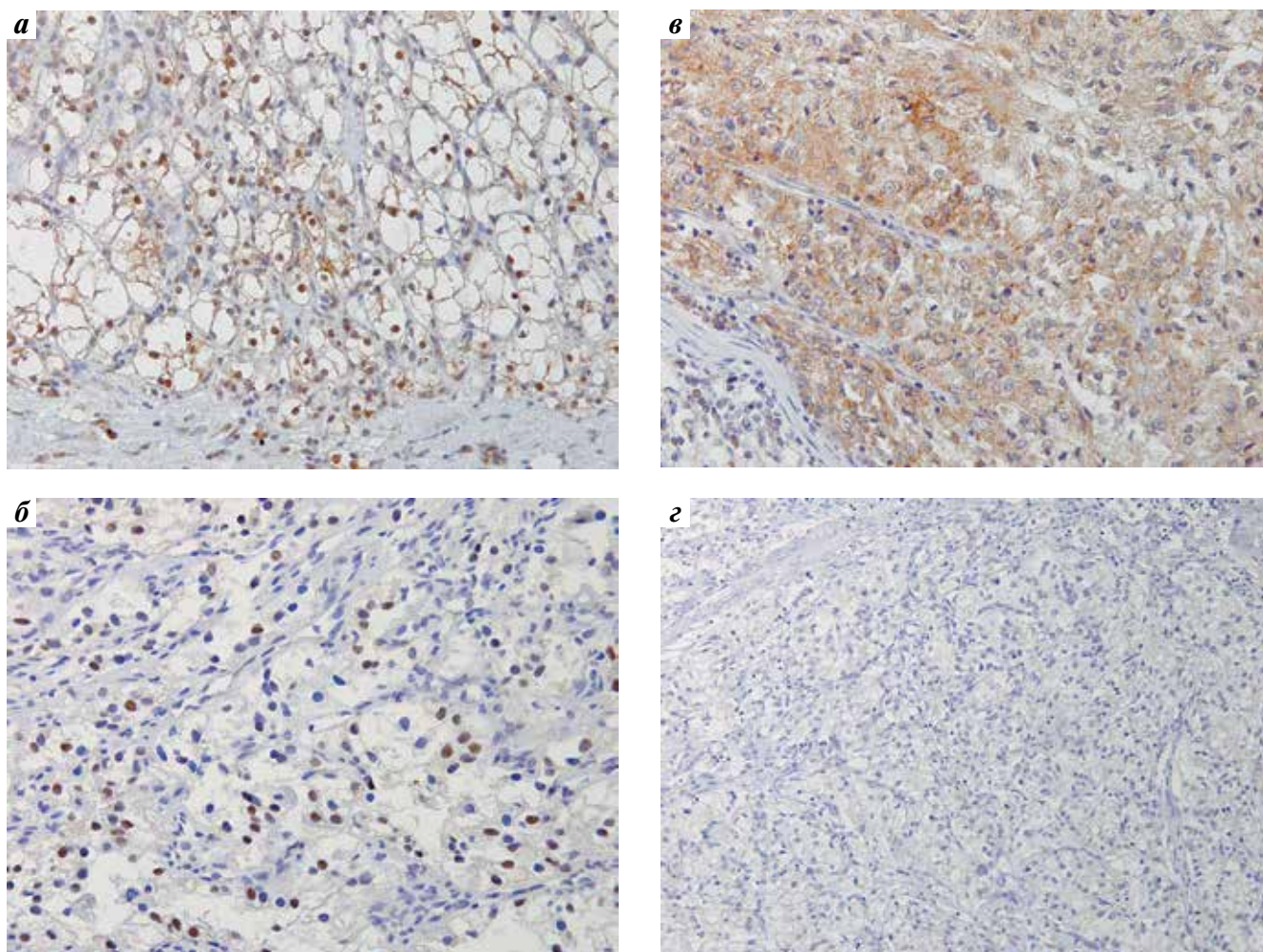


Рис. 1. Клетки светлоклеточного почечно-клеточного рака: а – диффузная ядерная экспрессия *PBRM1* ($\times 400$); б – фокальная ядерная экспрессия *PBRM1* ($\times 400$); в – диффузное цитоплазматическое окрашивание с антителами *PBI* ($\times 400$); г – отсутствие окрашивания с антителами *PBI* ($\times 200$)

Fig. 1. Clear-cell renal-cell carcinoma cells: а – diffuse nuclear expression of *PBRM1* ($\times 400$); б – focal nuclear expression of *PBRM1* ($\times 400$); в – diffuse cytoplasmic staining with *PBI* antibodies ($\times 400$); г – absence of staining with *PBI* antibodies ($\times 200$)

г) отсутствует как ядерное, так и цитоплазматическое окрашивание (см. рис. 1г).

Все пациенты со скПКР были разделены на 4 подгруппы: 1-я – с ядерной диффузной экспрессией *PBRM1*, 2-я – с ядерной фокальной экспрессией, 3-я – с цитоплазматической экспрессией и 4-я – с отсутствием экспрессии.

На рис. 2 представлена специфическая для скПКР выживаемость в зависимости от наличия в опухоли диффузной ядерной экспрессии или полного отсутствия экспрессии *PBRM1*. У больных с диффузной ядерной экспрессией 5- (84 %) и 10-летняя (84 %) выживаемость статистически достоверно ($p = 0,004$) выше, по сравнению с больными, у которых нет экспрессии белка *PBRM1* (5- и 10-летняя выживаемость – 57 и 37 % соответственно).

Выживаемость в 2 группах больных скПКР, в опухолевых клетках которых присутствовала или отсут-

ствовала ядерная экспрессия *PBRM1* (фокальная и диффузная), представлена на рис. 3. Показатели 5- и 10-летней выживаемости в группе больных, у которых отсутствовала ядерная экспрессия, составили соответственно 59 и 43 %, в группе с ядерной экспрессией – 77 и 70 % соответственно. Различия в выживаемости между этими 2 группами статистически достоверно ($p = 0,03$).

У больных с I–II стадиями скПКР наличие ядерной экспрессии (диффузной и фокальной) статистически ($p = 0,02$) достоверно увеличивает показатели 5- и 10-летней выживаемости (рис. 4). В группе из 20 больных с наличием ядерной экспрессии белка *PBRM1* 1 пациент умер от скПКР в самом конце периода наблюдения, что и объясняет резкое «падение» кривой выживаемости. У больных с III–IV стадиями заболевания ядерная экспрессия *PBRM1* на выживаемость не повлияла (графически не представлено).

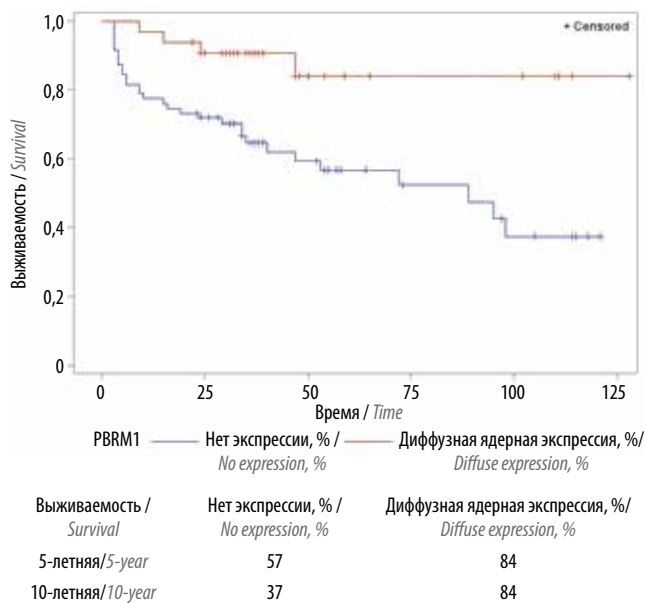


Рис. 2. Выживаемость больных светлоклеточным почечно-клеточным раком с диффузной ядерной экспрессией PBRM1 и полным ее отсутствием (p (log-rank) = 0,004)

Fig. 2. Survival of patients with clear-cell renal-cell carcinoma with diffuse nuclear expression of PBRM1 and its absence (p (log-rank) = 0.004)

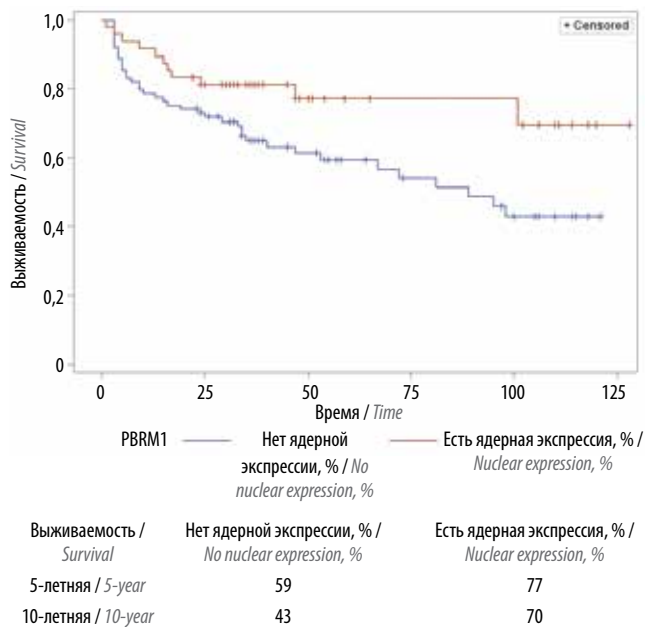


Рис. 3. Выживаемость больных светлоклеточным почечно-клеточным раком в зависимости от наличия ядерной (диффузной и фокальной) экспрессии PBRM1 (p (log-rank) = 0,03)

Fig. 3. Survival of patients with clear-cell renal-cell carcinoma depending on the presence of nuclear (diffuse and focal) expression of PBRM1 (p (log-rank) = 0.03)

Анализ результатов экспрессии белка PBRM1 в цитоплазме опухолевых клеток не выявил ее связи с выживаемостью больных скПКР. Показатели 5- и 10-летней выживаемости больных с цитоплазма-

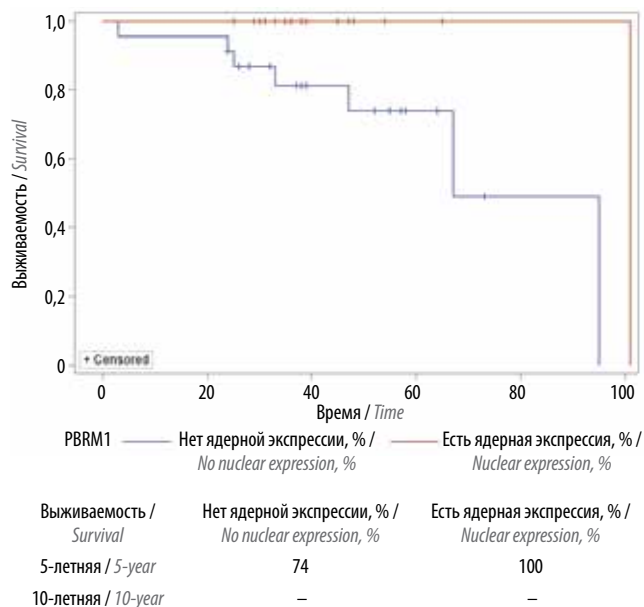


Рис. 4. Выживаемость больных светлоклеточным почечно-клеточным раком I–II стадий в зависимости от наличия ядерной (диффузной и фокальной) экспрессии PBRM1 (p (log-rank) = 0,02)

Fig. 4. Survival of patients with stage I–II clear-cell renal-cell carcinoma depending on the presence of nuclear (diffuse and focal) expression of PBRM1 (p (log-rank) = 0.02)

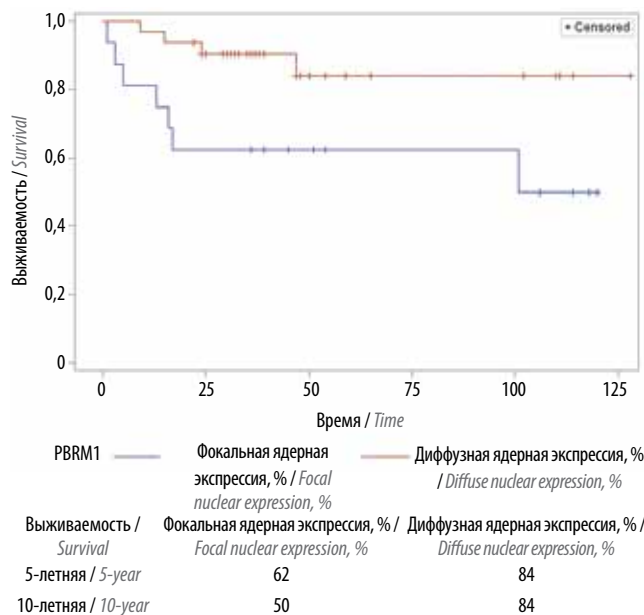


Рис. 5. Выживаемость больных светлоклеточным почечно-клеточным раком в зависимости от вида ядерной экспрессии PBRM1 (p (log-rank) = 0,02)

Fig. 5. Survival of patients with clear-cell renal-cell carcinoma depending on the type of nuclear expression of PBRM1 (p (log-rank) = 0.02)

тической экспрессией составили 66 и 53 % соответственно, что статистически не отличается от таковых (57 и 37 %) у больных с полным отсутствием экспрессии PBRM1 (графически не представлено).

На рис. 5 представлена группа из 48 больных скПКР с ядерной экспрессией *PBRM1*, из которых в 32 случаях наблюдалось диффузное ядерное окрашивание, а в 16 – фокальное. Общая 5- и 10-летняя выживаемость больных с диффузной ядерной экспрессией статистически достоверно выше, чем у пациентов с фокальной ядерной экспрессией ($p = 0,02$). У больных с диффузной ядерной экспрессией 5- и 10-летняя выживаемость составляет 84 %, а у больных с фокальной экспрессией – 62 и 50 % соответственно.

Обсуждение

Белковый продукт *PBRM1* дикого типа функционирует в ядре, и его ИГХ-выявление – надежный метод для определения отсутствия нарушений гена *PBRM1* [15–17, 19]. Простота и доступность метода позволяют использовать его для анализа большого числа пациентов со скПКР [17, 20]. Потеря экспрессии *PBRM1* достоверно чаще встречается при скПКР, чем при папиллярном, хромофобном или онкоцитарном почечно-клеточном раке [23]. Частота мутаций гена *PBRM1* в скПКР варьирует от 29 [12] до 57 % [24], причем данные по разным когортам пациентов различаются. Скорее всего, это объясняется тем, что скПКР представлен несколькими молекулярно-генетическими подтипами, один из которых выступает в качестве «драйверного» гена *PBRM1* [25].

Отсутствие экспрессии белка *PBRM1* встречается примерно в 70 % случаев скПКР и коррелирует с поздними стадиями заболевания ($p < 0,0001$), низкими уровнем дифференцировки опухоли ($p = 0,0002$) и выживаемостью пациентов ($p = 0,025$) [15]. Показано, что экспрессия белка *PBRM1* с высокой степенью достоверности связана с локальной прогрессией опухоли ($p < 0,001$), стадией заболевания ($p < 0,001$) и размером опухоли ($p = 0,002$). Таким образом, отсутствие ядерной экспрессии *PBRM1* является плохим прогностическим признаком. Пятилетняя выживаемость пациентов с экспрессией ядерного белка достоверно выше (87,3 %), чем у пациентов со скПКР, в опухолевых клетках которых белок *PBRM1* отсутствует (66,7 %) ($p = 0,048$) [16]. У пациентов со сниженной экспрессией отмечена меньшая как специфическая для рака почки выживаемость ($p < 0,001$), так и выживаемость без прогрессирования ($p < 0,001$). Многофакторный анализ с включением в модель доказанных прогностических факторов показал, что отсутствие экспрессии *PBRM1* является независимым от других факторов прогностическим маркером низкой выживаемости без прогрессирования ($p = 0,007$). У больных с I и II стадиями, но не с III и IV, отсутствие ядерной экспрессии *PBRM1* связано со значительно меньшей как специфической для рака почки выживаемостью, так и выживаемостью без прогрессирования. В обоих случаях различия в показателях выживаемости больных

в зависимости от ядерной экспрессии белка *PBRM1* статистически достоверны ($p < 0,001$). При многофакторном анализе с включением факторов, влияющих на прогноз, различия в специфической для рака почки выживаемости и выживаемости без прогрессирования в зависимости от экспрессии *PBRM1* у больных с I и II стадиями сохранились ($p = 0,038$ и $0,003$ соответственно) [17].

В то же время в ряде исследований связи активности *PBRM1* с выживаемостью больных скПКР не обнаружено, независимо от того, оценивалась ли экспрессия белка *PBRM1* методом ИГХ или изучался мутационный статус *PBRM1* [12, 13, 20].

В представленной работе ядерная экспрессия *PBRM1* в опухолевых клетках скПКР выявлена в 48 (35 %) случаях. Соответственно в 65 % опухолей ядерная экспрессия *PBRM1* отсутствовала, что согласуется с данными, полученными в других исследованиях. Отсутствие ядерной экспрессии *PBRM1*, по опубликованным данным, наблюдается в 55–70 % случаев скПКР [15, 19, 25, 26]. Отсутствие экспрессии гена может быть обусловлено как его мутациями, так и эпигенетическими нарушениями регуляции экспрессии. Необходимо отметить, что в нашем исследовании не выявлено различия в ядерной экспрессии белка *PBRM1* в зависимости от стадии заболевания. Однако специфическая для рака почки выживаемость пациентов с I–II стадиями достоверно коррелировала с экспрессией *PBRM1* ($p = 0,02$), в отличие от пациентов с III–IV стадиями ($p = 0,27$). Полученные данные подтверждают предположение о том, что на поздних стадиях прогрессии вклад гена *PBRM1* маскируется нарушениями других генов [10, 20].

Нами выявлена неоднородность группы из 48 больных с ядерной экспрессией *PBRM1*. У 32 пациентов с диффузной ядерной экспрессией отмечены наилучшие показатели 5- (84 %) и 10-летней (84 %) выживаемости, которые достоверно отличаются ($p = 0,004$) от таковых у больных с отсутствием экспрессии *PBRM1* (57 и 37 % соответственно). У 16 пациентов наблюдалась фокальная ядерная экспрессия, т. е. экспрессия имела место лишь в части опухолевых клеток, и их 5- и 10-летняя выживаемость статистически достоверно ниже (63 и 50 % соответственно; $p = 0,02$), чем у больных с диффузной ядерной экспрессией *PBRM1* (84 и 84 % соответственно), но выше, чем у пациентов с отсутствием экспрессии *PBRM1* (57 и 37 % соответственно).

Описанные в нашей работе 2 типа ядерной экспрессии *PBRM1*, а именно диффузная и фокальная, указывают на внутриопухольную гетерогенность скПКР и могут рассматриваться как субклональное нарушение. В опубликованных работах клональные нарушения, связанные с мутациями гена *PBRM1*, выявлены в 50–60 % случаев скПКР. Реже встречаются субклональные нарушения [26–28], причем

клональные и субклональные нарушения, как и в нашей работе, могут быть выявлены ИГХ-методом [28]. Нами впервые проведен анализ выживаемости больных скПКР с фокальной ядерной экспрессией PBRM1. У этих пациентов выживаемость ниже, чем у больных с диффузной экспрессией, но выше, чем у больных с отсутствием ядерной экспрессии PBRM1.

В некоторых опубликованных работах встречается описание цитоплазматической экспрессии PBRM1. Однако больные с таким типом экспрессии белка PBRM1 при анализе выживаемости авторами не учитывались [15, 19, 23]. Проведенный нами анализ 18 случаев скПКР показал, что экспрессия продукта PBRM1 в цитоплазме не влияет на выживаемость: показатели выживаемости этих больных не отличались от таковых у больных с отсутствием экспрессии PBRM1.

Заключение

Таким образом, нами описаны и проанализированы данные по влиянию разных типов экспрессии PBRM1 в опухолевых клетках скПКР на специфическую для рака почки выживаемость. Полученные результаты указывают на прогностическую значимость активности гена *PBRM1*, нарушение функции которого встречается почти в половине случаев скПКР. ИГХ-исследование является адекватным, надежным и доступным методом для определения экспрессии и, соответственно, может применяться на практике. Особенно следует отметить благоприятное течение и прогноз болезни у пациентов с I–II стадиями скПКР, у которых сохранена ядерная экспрессия белка PBRM1: 5-летняя выживаемость у них составляет 100 %. Это наблюдение крайне важно для принятия решения по тактике лечения таких больных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics. *CA Cancer J. Clin* 2016;66(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21332. PMID: 26742998.
2. Scelo G., Larose T.L. Epidemiology and Risk Factors for Kidney Cancer. *J Clin Oncol* 2018;29:JCO2018791905. DOI: 10.1200/JCO.2018.79.1905. PMID: 30372394.
3. Злокачественные новообразования в России в 2017 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018. 250 с. [Malignant tumors in Russia in 2017 (morbidity and mortality). Eds.: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow: MNIIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMIRTS” Minzdrava Rossii, 2018. 250 p. (In Russ.)].
4. Заридзе Д.Г., Максимович Д.М. Профилактика злокачественных новообразований. Успехи молекулярной онкологии 2017;4(2):8–25. DOI: 10.17650/2313-805X-2017-4-2-8-25. [Zaridze D.G., Maksimovich D.M. Prevention of malignant neoplasms. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in molecular oncology* 2017;4(2):8–25. (In Russ.)].
5. Заридзе Д.Г., Мукерия А.Ф., Шаньгина О.В., Матвеев В.Б. Молекулярная эпидемиология рака почки. *Онкоурология* 2018;14(3):107–119. DOI: 10.17650/1726-9776-2018-14-3-107-119. [Zaridze D.G., Mukeriya A.F., Shan'gina O.V., Matveev V.B. Molecular epidemiology of renal cancer. *Oncourologiya = Cancer Urology* 2018;14(3):107–119. (In Russ.)].
6. Moch H., Cubilla A.L., Humphrey P.A. et al. The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs-part A: renal, penile, and testicular tumours. *Eur Urol* 2016;70(1):93–105. DOI: 10.1016/j.euro.2016.02.029. PMID: 26935559.
7. Linehan W.M., Walther M.M., Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney. *J Urol* 2003;170(6 Pt 1):2163–72. DOI: 10.1097/01.ju.0000096060.92397.ed. PMID: 14634372.
8. Varela L., Tarpey P., Raine K. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene *PBRM1* in renal carcinoma. *Nature* 2011;469(7331):539–42. DOI: 10.1038/nature09639 PMID: 21248752.
9. Scelo G., Riazalhosseini Y., Greger L. et al. Variation in genomic landscape of clear cell renal cell carcinoma across Europe. *Nat Commun* 2014;29(5):5135. DOI: 10.1038/ncomms6135. PMID: 25351205.
10. Liao L., Testa J.R., Yang H. The roles of chromatin-remodelers and epigenetic modifiers in kidney cancer. *Cancer Genet* 2015;208(5):206–14. DOI: 10.1016/j.cancergen.2015.02.008. PMID: 25873528.
11. Nargund A.M., Pham C.G., Dong Y. et al. The SWI/SNF Protein PBRM1 restrains VHL-loss-driven clear cell renal cell carcinoma. *Cell Rep* 2017;18(12):2893–906. DOI: 10.1016/j.celrep.2017.02.074. PMID: 28329682.
12. Hakimi A.A., Chen Y.B., Wren J. et al. Clinical and pathologic impact of select chromatin-modulating tumor suppressors in clear cell renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2013;63(5):848–54. DOI: 10.1016/j.euro.2012.09.005. PMID: 23036577.
13. Sato Y., Yoshizato T., Shiraishi Y. et al. Integrated molecular analysis of clear-cell renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2013;45(8):860–7. DOI: 10.1038/ng.2699. PMID: 23797736.
14. Kapur P., Peña-Llopis S., Christie A. Effects on survival of BAP1 and PBRM1 mutations in sporadic clear-cell renal-cell carcinoma: a retrospective analysis with independent validation. *Lancet Oncol* 2013;14(2):159–67. DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70584-3. PMID: 23333114.
15. Pawlowski R., Mühl S.M., Sulser T. et al. Loss of PBRM1 expression is associated with renal cell carcinoma progression. *Int J Cancer* 2013;132(2):E11–7. DOI: 10.1002/ijc.27822. PMID: 22949125.
16. da Costa W.H., Rezende M., Carneiro F.C. et al. Polybromo-1 (PBRM1), a SWI/SNF complex subunit is a prognostic marker in clear cell renal cell carcinoma. *BJU Int* 2014;113(5b):E157–63. DOI: 10.1111/bju.12426. PMID: 24053427.
17. Nam S.J., Lee C., Park J.H., Moon K.C. Decreased PBRM1 expression predicts unfavorable prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2015;33(8):340.e9–16. DOI: 10.1016/j.urolonc.2015.01.010. PMID: 26003625.
18. Piva F., Giulietti M., Occhipinti G. et al. Computational analysis of the mutations in BAP1, PBRM1 and SETD2 genes reveals the impaired molecular processes in renal cell carcinoma. *Oncotarget* 2015;6(31):32161–8. DOI: 10.18632/oncotarget.5147. PMID: 26452128.
19. Peña-Llopis S., Vega-Rubín-de-Celis S., Liao A. et al. BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet* 2012;44(7):751–9. DOI: 10.1038/ng.2323. PMID: 22683710.
20. Joseph R.W., Kapur P., Serie D.J. et al. Clear cell renal cell carcinoma subtypes identified by BAP1 and PBRM1 expression.

- J Urol 2016;195(1):180–7. DOI: 10.1016/j.juro.2015.07.113. PMID: 26300218.
21. Kaplan E.L., Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. J Amer Stat Assoc 1958;53:457–81.
 22. Stata Statistical Software. Release 14.0. College Station, TX: Stata Corporation.
 23. Ho T.H., Kapur P., Joseph R.W. et al. Loss of PBRM1 and BAP1 expression is less common in non-clear cell renal cell carcinoma than in clear cell renal cell carcinoma. Urol Oncol 2015;33(1):23.e9–14. DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.10.014. PMID: 25465300.
 24. Eckel-Passow J.E., Serie D.J., Chevillet J.C. et al. BAP1 and PBRM1 in metastatic clear cell renal cell carcinoma: tumor heterogeneity and concordance with paired primary tumor. BMC Urol 2017;17(1):19. DOI: 1186/s12894-017-0209-310. PMID: 28327121.
 25. Casuscelli J., Vano Y., Fridman W.H., Hsieh J.J. Molecular classification of renal cell carcinoma and its implication in future clinical practice. Kidney Cancer 2017;1(1):3–13. DOI: 10.3233/KCA-170008. PMID: 30334000.
 26. Gerlinger M., Horswell S., Larkin J. et al. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. Nat Genet 2014;46(3):225–33. DOI: 10.1038/ng.2891. PMID: 24487277.
 27. Sankin A., Hakimi A.A., Mikkilineni N. et al. The impact of genetic heterogeneity on biomarker development in kidney cancer assessed by multiregional sampling. Cancer Med 2014;3(6):1485–92. DOI: 10.1002/cam4.293. PMID: 25124064.
 28. Jiang W., Dulaimi E., Devarajan K. et al. Intratumoral heterogeneity analysis reveals hidden associations between protein expression losses and patient survival in clear cell renal cell carcinoma. Oncotarget 2017;8(23):37423–34. PMID: 28445125.

Вклад авторов

Д.Г. Заридзе: разработка дизайна исследования, анализ обзора публикаций по теме статьи, получение данных, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

Н.Н. Мазуренко: разработка дизайна экспериментальной части исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

С.Д. Бежанова: проведение иммуногистохимического исследования образцов опухолевой ткани;

Д.М. Максимович: статистический анализ полученных данных;

О.В. Шаньгина, А.Ф. Мукерия: разработка дизайна эпидемиологической части исследования, организация и контроль сбора данных для исследования, прослеживание больных, анализ полученных данных;

В.А. Драудин-Крыленко: сбор эпидемиологической и медицинской информации у больных, получение опухолевой ткани, хранение и обработка базы данных;

В.Б. Матвеев: организация и контроль сбора данных для исследования, написание текста рукописи.

Authors' contributions

D.G. Zaridze: developing the research design, analysis of the review of publications on the topic of the article, obtaining data, analysis of the obtained data, article writing;

N.N. Mazurenko: design of experimental part of the study, reviewing of publications of the article's theme, analysis of the obtained data, article writing;

S.D. Bezhanova: immunohistochemical testing of tumor tissue samples;

D.M. Maksimovich: statistical analysis of the data;

O.V. Shangina, A.F. Mukeria: design of epidemiological part of the study, organization and management of data accumulation, patient follow up, analysis of the obtained data;

V.A. Draudin-Krylenko: gathering of epidemiological and medical information from patients, tumor tissue acquisition, database storage and processing;

V.B. Matveev: organization and management of data accumulation, article writing.

ORCID авторов/ORCID of authors

Д.Г. Заридзе/D.G. Zaridze: <https://orcid.org/0000-0002-2824-3704>

Н.Н. Мазуренко/N.N. Mazurenko: <https://orcid.org/0000-0003-4767-6983>

С.Д. Бежанова/S.D. Bezhanova: <https://orcid.org/0000-0001-7336-9210>

Д.М. Максимович/D.M. Maksimovich: <https://orcid.org/0000-0001-7560-5088>

О.В. Шаньгина/O.V. Shangina: <https://orcid.org/0000-0003-2431-068X>

В.А. Драудин-Крыленко/V.A. Draudin-Krylenko: <https://orcid.org/0000-0003-2205-8345>

А.Ф. Мукерия/A.F. Mukeria: <https://orcid.org/0000-0007-6847-9795>

В.Б. Матвеев/V.B. Matveev: <https://orcid.org/0000-0001-7748-9527>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 29.01.2019. **Принята к публикации:** 28.02.2019.

Article received: 29.01.2019. **Accepted for publication:** 28.02.2019.