

Экспрессия рецепторов андрогенов и C-Kit (CD117) в тройном негативном раке молочной железы

А.Ю.Крылов¹, Ю.В. Крылов², В.В. Янченко^{3,4}

¹ ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь» г. Минск, Беларусь

² УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро», г. Витебск, Беларусь

³ УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Беларусь

⁴ ОДО «Научно-исследовательское предприятие Ресан», г. Витебск, Беларусь

Expression of androgen receptor and C-Kit (CD117) in triple negative breast cancer

A.Y. Krylov¹, Y.V. Krylov², U.V. Yanchanka^{3,4}

¹ Institute of improvement of professional skill and retraining of personnel of the State committee of judicial examinations of Belarus, Minsk, Belarus

² Vitebsk regional clinical pathoanatomical bureau, Vitebsk, Belarus

³ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

⁴ JSC "Scientific-research enterprise Resan", Vitebsk, Belarus

Аннотация

Иммуногистохимическим методом оценивали экспрессию андрогеновых рецепторов (AR) и C-Kit (CD117) в клетках тройного негативного рака молочной железы. Из 110 исследованных нами случаев тройного негативного рака молочной железы экспрессия AR выявлена в 30%, C-Kit (CD117) в 41,8%. Определение андрогеновых рецепторов и C-Kit (CD117) клеток рака молочной железы иммуногистохимическим методом является ценным элементом диагностики для последующего выбора целевой индивидуальной гено- или иммунотерапии ТНРМЖ.

Ключевые слова

Андрогеновый рецептор, C-Kit (CD117), тройной негативный рак молочной железы, моноклональные антитела, иммуногистохимия

Введение

По результатам ИГХ исследования определяется выбор направления лекарственной терапии

Summary

Expression was assessed by immunohistochemistry for the androgen receptor (AR) and C-Kit (CD117) in the cells of the triple negativnogo breast cancer. Of the 110 cases studied by us triple nega-tive breast cancer AR expression was detected in 30%, C-Kit (CD117) in 41.8%. Determination of androgen receptors and C-Kit (CD117) breast cancer cell immunohistochemical diagnostic method is a valuable element for subsequent selection of the target individual genomes or immunotherapy TNBC.

Keywords

Androgen receptor, C-Kit (CD117), triple-negative breast cancer, monoclonal antibody, immunohistochemistry

прооперированных пациенток с РМЖ. Трастузумаб назначается при гиперэкспрессии HER2/neu, гормональная терапия при наличии экспрессии

ER и PR. При ТНРМЖ терапия трастузумабом и гормональная не эффективны, отмечается плохой прогноз, применяется агрессивная терапия цитостатиками.

ТНРМЖ составляет 11-22% всех вновь выявленных инвазивных опухолей молочной железы. ТНРМЖ обычно представлены инвазивными протоковыми карциномами с высоким грейдом и плохим прогнозом [1, 2].

Отсутствие возможности использования для лечения ТНРМЖ таргетной и гормональной терапии, диктует необходимость поиска дополнительных ИГХ маркеров для определения возможности разработки таргетной терапии ТНРМЖ.

В наших предыдущих исследованиях ИГХ методом определяли наличие андрогеновых рецепторов (AR) в клетках ТНРМЖ. В 11 (22%) из 50 случаев выявлено наличие AR в клетках ТНРМЖ. Метастазы в регионарных лимфатических узлах не определялись ни в одном случае AR ТНРМЖ [3].

Протоонкоген C-Kit (CD117, PBT, SCFR) локализуется в 4 хромосоме, локус 4g12 и включает 21 экзон и является трансмембранным рецептором тирозинкиназы, который играет важную роль в развитии гастроинтестинальных стромальных опухолей (ГИСТ), рака легкого и РМЖ. C-Kit экспрессируется в молочной железе в физиологических условиях [4]. Сообщалось, что экспрессия C-Kit высока в эпителии нормальной молочной железы и снижается в инвазивном раке [5,6]. Tahany M и соавторы в 54 из 72 случаев ТНРМЖ (75%) обнаружили позитивные CD117, причем отчетливо окраска была в 20 наблюдениях (37,1%) [7].

Kanapathy Pillai et al проанализировали 340 женщин в Малазии с 2002-2006 гг., нашли 42 случая ТНРМЖ (12,4%). Сравнили 18 ТНРМЖ с 18 не ТНРМЖ. В 16 случаях (88,9%) C-Kit было позитивным, в 2 (11,1%) негативным, в не ТНРМЖ 5 (27,8%) позитивным, 13 (72,2%) негативным [8].

При изучении экспрессии CD117 в различных гистологических типах ТНРМЖ Simon и соавторы сообщили, что только 2,1% протоковых карцином и 0,5% дольковых экспрессируют C-Kit, в тоже время медуллярные опухоли экспрессируют этот маркер в 19,1%. Разные результаты могут быть обусловлены применением различных антител и методик оценки результатов [9,10].

В исследовании у Yun Zhu и соавторов (2014) 171 пациентки с ТНРМЖ 16,8% от всех РМЖ обнаружена экспрессия C-Kit в 72 (42,1%). При этом гистологически позитивные C-Kit соответствовали протоковым карциномам 62 (41,3%) из

150, метапластические в 5 (83,3%), медуллярные в 3 из 9 (33%), другие типы в 2 (33,3%) из 6. В этой работе C-Kit положительной опухолью считалась при наличии цитоплазматической и/или мембранной окраски более чем в 1% клеток [9]. В работах Kashigawa и соавторов (2014) [11], а так же Sara Jonsons и соавторов (2014) [12] экспрессию C-Kit оценивали подобно HER-2. Так степень 0 при отсутствии окрашивания; степень 1+ 10% клеток или слабое неполное окрашивание мембран; 2+ - как минимум 10% клеток с полным, слабым или умеренным окрашиванием; 3+ как минимум 10% клеток с сильным, полным окрашиванием мембран. Экспрессия C-Kit считалась положительной при 2+ и 3+, отрицательный - при 0 и 1+.

Цель исследования. Оценка ИГХ экспрессии рецепторов андрогенов и C-Kit (CD117) клетками ТНРМЖ.

Материалы и методы

Материалом исследования явились 110 случаев ТНРМЖ отобранных по базам данных и журнала ИГХ исследования Витебского, Гродненского патологоанатомических бюро и отделения онкоморфологии РНПЦ (онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н.Александрова). Средний возраст пациенток составлял 58±12 лет. Материал обрабатывался по стандартным методикам, срезы окрашивали гематоксилин-эозином. ИГХ экспрессию рецепторов андрогенов и C-Kit определяли стандартными наборами фирмы «ДАКО», Androgen Rec Clone AB441 M3562 (моноклональные антитела), CD117/C-Kit A4502 (поликлональные кроличьи антитела). При оценке результатов экспрессии рецепторов андрогенов, положительным считался результат, когда отчетливое ядерное окрашивание наблюдалась более чем в 1% клеток (по аналогии с оценкой рецепторов эстрогена). При этом учтены случаи когда их количество превышало 30%. Для оценки C-Kit (CD117) за положительный результат принимали окрашивание при наличии опухоли более 1% клеток с цитоплазматическим и/или мембранным окрашиванием (Yun Zhu и соавторы 2014) [9]. При этом отдельно учитывались по аналогии с HER2 случаи гиперэкспрессии, когда минимум 10% клеток имели сильное положительное окрашивание мембран. Случаи сомнительного качества, краевая окраска и т.д. исключены из исследования. При клинико-морфологическом анализе использовались данные республиканского канцер-регистра. Статистическая обработка данных возраста пациенток представляется в

виде $M \pm s$ (где M – среднее значение и s – стандартное отклонение).

Результаты и обсуждение

При анализе 110 случаев (таблица 1) ТНРМЖ положительная экспрессия AR+>1% (рисунок 1) отмечена в 33 наблюдениях, что составило 30%, отрицательная AR- в 77 наблюдениях (70%). Средний возраст AR+ пациенток был выше, чем у AR- (60 ± 13 лет и 57 ± 12 лет соответственно). Гистологическая степень злокачественности (Грейд), было выше в AR- опухолях, чем в AR+. Наиболее злокачественные опухоли Грейд 3 составили для AR- 45 случаев (40,9%), для AR+ - 15 (13,6%). В 9 наблюдениях (8,2%) изучаемых случаев или 27,3% от позитивных AR, экспрессия AR клетками ТНРМЖ превышала 30%.

ИГХ изучение экспрессии C-Kit (CD117) в 110 случаях ТНРМЖ зарегистрировало положитель-

ную реакцию в более (1% клеток) в 46 наблюдениях (41,8%) (рисунок 2). Отрицательная реакция была в 64 наблюдениях (58,2%). Средний возраст для C-Kit (CD117) положительных опухолей был значительно ниже, чем для негативных (соответственно 54 ± 12 лет и 61 ± 12 лет). По гистологической степени злокачественности положительные и отрицательные опухоли существенно не отличались. C-Kit (CD117) определялась в Грейд 3 опухолях в 29 случаях (26%), отрицательная реакция была в 36 наблюдениях (32%). В 10 случаях из всех 110 наблюдалась гиперэкспрессия (9,1%) (рисунок 3). Среди 46 C-Kit (CD117) положительных опухолей это составило 41,9%.

Таким образом, проведенный нами ИГХ анализ подтвердил данные других авторов о наличии в ТНРМЖ маркеров предполагающих разработку подходов к его таргетной терапии. Кроме того, установлено, что средний возраст AR+ пациенток

Таблица 1. ИГХ экспрессия AR и C-Kit клетками ТНРМЖ (n=110)

Маркер, показатели	%
AR+ (n=33)	30%
G1-2(n=18)	16,4%
G3(n=15)	13,6%
AR- (n=77)	70%
G2(n=32)	29,1%
G3(n=45)	40,9%
C-Kit+ (n=46)	41,8%
G2(n=17)	15,5%
G3(n=29)	26,4%
C-Kit-(n=64)	58,2%
G1-2(n=28)	24,5%
G3(n=36)	32,7%

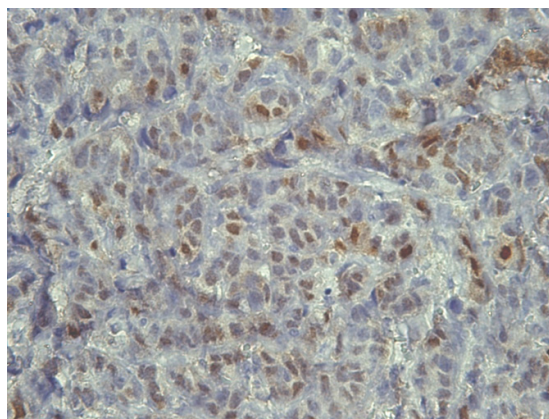


Рис. 1. Ядерное окрашивание в различные оттенки коричневого цвета с антителами к AR x400

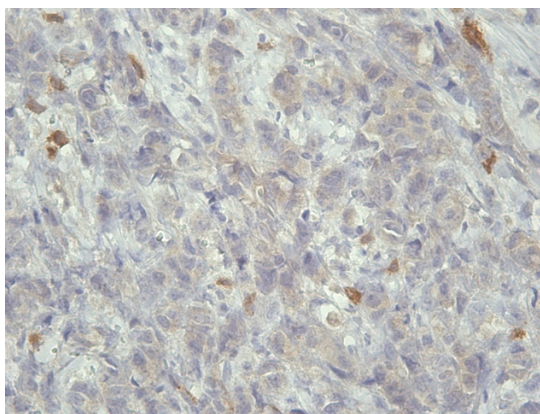


Рис. 2. Цитоплазматическое окрашивание в различные оттенки коричневого цвета с антителами к C-Kit (CD117) x400

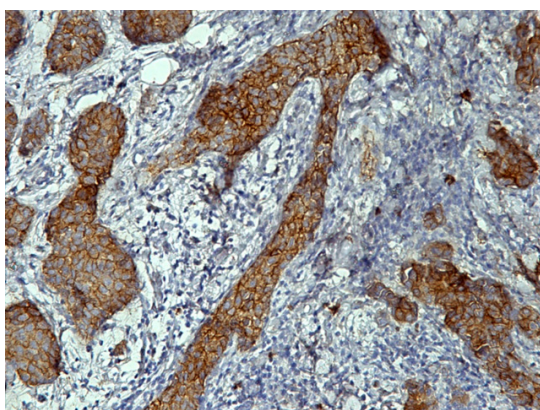


Рис. 3. Интенсивное мембранное и цитоплазматическое окрашивание с антителами к C-Kit (CD117) x100

был выше, чем C-Kit+ (CD117), гистологическая степень злокачественности C-Kit (CD117) позитивных опухолей почти в два раза превалировала над андроген-позитивными опухолями.

Особого внимания заслуживают факты обнаружения опухолей с высоким процентом AR+ клеток, и, особенно, случаев гиперэкспрессии C-Kit (CD117). Во многих публикациях посвященных экспрессии этого маркера указывается на необходимость изучения возможности применения ингибитора C-Kit тиразинокиназ в частности иматиниба при ТНРМЖ по аналогии с его высокой эффективностью на начальных этапах применения при гастроинтестинальных стромальных опухолях [13-16]. Однако все не так однозначно. Ряд исследований показал, что ответ на лечение иматинибом тесно связан с мутационной активизацией C-Kit (CD117), а не с экспрессией C-Kit (CD117) протеина [17,18]. В исследовании Yun Zhu и соавторов (2014) проведено изучение C-Kit генных мутаций в экзонах

9, 11, 13 и 17 у 10 C-Kit негативных женщин и 35 C-Kit позитивных. Обнаружена только одна активированная мутация в экзоне 11 C-Kit. Однако, в этой публикации позитивная оценка C-Kit основана на наличии в опухолях цитоплазматического и/или мембранного окрашивания более, чем в 1% клеток, и не указана, была ли в этом случае гиперэкспрессия. Это предполагает продолжить изучения наличия мутаций в ТНРМЖ с различной степенью экспрессии C-Kit.

Заключение

1. Экспрессия AR выявлена в 30%, а C-Kit (CD117) в 41,8% случаев тройного негативного рака молочной железы .
2. Определение андрогеновых рецепторов и C-Kit (CD117) клеток рака молочной железы иммуногистохимическим методом является основанием для разработки и выбора новых подходов целевой индивидуальной гено- или иммунотерапии ТНРМЖ.

Литература

1. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS (2010) Triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 363: 1938–1948.
2. Podo F, Buydens LMC, Degani H, Hilhorst R, Klipp E, et al. (2010) Triple-negative breast cancer: Present challenges and new perspectives. *Mol Oncol* 4(3): 209–229.
3. Крылов А.Ю., Крылов Ю.В., Янченко В.В. Определение андрогеновых рецепторов в клетках тройного негативного рака молочной железы. *Иммунопатология Аллергология Инфектология* 2016; №1: 32-36.
4. Miettinen M., Lasota J. KIT (CD117): a review on expression in normal and neoplastic tissues, and mutations and their clinicopathologic correlation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2005; 13: 205–220.
5. Chui X, Egami H, Yamashita J et al. Immunohistochemical expression of the c-kit proto-oncogene product in human malignant and non-malignant breast tissues. *Br J Cancer* 1996; 73: 1233–1236.
6. Natali P.G., Nicotra M.R., Sures I. et al. Breast cancer is associated with loss of the c-kit oncogene product. *Int J Cancer* 1992; 52: 713–717.
7. Tahany M., Mahamed E. Over expression of c-KIT (CD117) in triple-negative breast cancer. *Egypt J Pathol* 2011 31: 113-117.
8. Pillai S.K., Tay A., Nair S. et al. Triple-negative breast cancer is associated with EGFR, CK 5/6 and c-Kit expression in Malaysian women. *BMC Clinical Pathology* 2012, 12:18.
9. Zhu Y., Mang Y., Guan B. et al. C-kit and PDGFRA gene mutations in triple negative breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7 (7): 4280-4285.
10. Simon R., Panussis S., Maurer R. et al. KIT (CD117)-positive breast cancers are infrequent and lack KIT gene mutations. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 178–183.
11. Kashiwagi S., Yashiro M., Takashima T. et al. C-Kit expression as a prognostic molecular marker in patients with basal-like breast cancer. *Br J Surg* 2013; 100: 490-496.
12. Jansson S., Bebdahi P.O., Grabau D.A. et al. The three receptor tyrosine kinases c-KIT, VEGFR2 and PDGFR α , closely spaced at 4q 12, show increased protein expression in triple-negative breast cancer. *Plosone*, July 2014: 1-10.
13. Kim M.J., Ro J.Y., Ahn S.H. et al. Clinicopathologic significance of the basal-like subtype of breast cancer: a comparison with hormone receptor and Her2/neu overexpressing phenotypes. *Hum Pathol* 2006; 37: 1217-1226.
14. Lerma E., Peiro G., Ramon T. et al. Immunohistochemical heterogeneity of breast carcinomas negative for estrogen receptors, progesterone receptors and Her2/neu (basal-like breast carcinomas). *Mod Pathol* 2007; 20: 1200-1207.
15. Nalwoga H., Arnes J.B., Wabinga H. et al. Expression of EGFR and c-kit is associated with the basal-like phenotype in breast carcinomas of African women. *APMIS* 2008; 116: 515-525.
16. Lux M.L., Rubin B.P., Biase T.L. et al. KIT extracellular and kinase domain mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Am J Pathol* 2000; 156: 791-795.
17. Dy G.K., Miller A.A., Mandrekar S.J. et al. A phase II trial of imatinib (ST1571) in patients with c-kit expressing re-lapsed small-cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study. *Ann Oncol* 2005; 16: 1811-1816.
18. Lasota J. Not all c-kit mutations can be corrected by imatinib. *Lab Invest* 2007; 87: 317.

Сведения об авторах:

Крылов Андрей Юрьевич – Заведующий кафедрой судебной медицины ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», к.м.н., доцент, врач-патологоанатом. Телефон +375-29-614-87-41. E-mail: andrei.krilov@mail.ru

Крылов Юрий Васильевич – Начальник бюро, д.м.н., профессор, УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро». Телефон + 375 33 349 37 97. E-mail: vokrab@vitebsk.by

Янченко Владимир Вилиянинович – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ». В.н.с. ОДО «НИКП РЕСАН». Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК. Тел.8 0212 57 53 80 – Янченко Владимир Вилиянинович.

Поступила 3.11.2016 г.