

Раздел – обзоры, лекции

Возможности молекулярного тестирования при раке молочной железы. Обзор

Большакова С.А., Бычков Ю.М.

ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва 117997, ул. Профсоюзная, 86

Информация об авторах

Бычков Юрий Маркович – к.м.н., заведующий дневным стационаром ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0309-639X>

Большакова Светлана Алексеевна – к.м.н., с.н.с. лаборатории лучевой терапии и комплексных методов лечения онкологических заболеваний ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2066-1557>

Контактное лицо

Большакова Светлана Алексеевна, e-mail: bolshakovasvetlana@rambler.ru

Резюме

Молекулярное тестирование на генетические мутации стало неотъемлемой частью лечения рака молочной железы (РМЖ). Доступность PARP- ингибиторов (олапариб, талазопариб), которые рекомендованы к применению при *BRCA1/2* ассоциированном РМЖ, создала необходимость тестирования наследственного рака у всех пациентов. Геномное профилирование опухоли является стандартом лечения многих типов злокачественных новообразований и становится более важным в лечении РМЖ. Разработка методов секвенирования внеклеточной ДНК должна обеспечить более широкое и простое внедрение геномного тестирования опухолей. Анализ экспрессии генов используется для выбора варианта лечения ранних стадий гормоночувствительного РМЖ. Эти анализы имеют прогностическое значение при назначении адъювантной гормонотерапии и предсказывают

пользу от адъювантной химиотерапии. В совокупности эти разработки подчеркивают современную реальность, заключающуюся в том, что молекулярное тестирование является частью клинического ведения пациентов с РМЖ.

Ключевые слова: ЭР+ рак молочной железы, *BRCA1*, *BRCA2*, *PIK3CA*, *HER2* мутации, молекулярное тестирование, секвенирование внеклеточной ДНК

Possibilities of molecular testing in breast cancer. Review

Bolshakova S.A., Vychkov Yu.M.

Federal State Budgetary Institution "Russian Scientific Center of Roentgenoradiology" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (RSCRR), Moscow 117997, Profsoyuznaya, 86

Authors

Vychkov Yu.M. – PhD, Head of the Chemotherapy Department of the FSBI “Russian Scientific Center of Roentgenoradiology” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0309-639X>

Bolshakova S.A. – PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Radiation Therapy and Integrated Methods of Treatment of Oncological Diseases of the FSBI “Russian Scientific Center of Roentgenoradiology” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2066-1557>

Contact person

Bolshakova Svetlana Alekseevna, e-mail: bolshakovasvetlana@rambler.ru

Summary

Molecular testing for genetic mutations has become an integral part of breast cancer treatment. The availability of PARP inhibitors (olaparib, talazoparib) that are recommended for *BRCA1/2*-associated breast cancer has created a need for hereditary cancer testing in all patients. Tumor genomic profiling is the standard of care for many types of malignancies and is becoming more

important in the treatment of breast cancer. The development of extracellular DNA sequencing techniques should allow for wider and easier implementation of genomic testing of tumors. Gene expression assays are used to select treatment options for early stages of hormone-sensitive breast cancer. These assays have prognostic value in prescribing adjuvant hormone therapy and predict the benefit of adjuvant chemotherapy. Taken together, these developments underscore the current reality that molecular testing is part of the clinical management of patients with breast cancer.

Key words: ER+ breast cancer; *BRCA1*, *BRCA2*, *PIK3CA*, *HER2* mutations, molecular testing, sequencing cell-free DNA

Введение

Тестирование наследственных мутаций у пациентов с раком молочной железы (PMЖ) значительно эволюционировало с 1990-х годов. Первоначальное тестирование включало секвенирование генов *BRCA1* и *BRCA2*. С помощью секвенирования нового поколения можно одновременно тестировать несколько генов, что экономит время пациентов, которые могут ждать результатов, прежде чем принимать решения о лечении. Одна из самых больших проблем, особенно для крупных генных панелей, заключается в том, что они включают гены, для которых нет практических рекомендаций в случае выявления патогенного варианта.

Традиционные модели консультирования включают предварительную беседу для рассмотрения родословной нескольких поколений, определения генов, которые следует включать в тестирование. После выполнения тестов консультация включает в себя интерпретацию результатов и дальнейшие рекомендации по мониторингу рака, вариантов терапии и выявлению членов семей, которым может быть полезно тестирование. До 2018 года не существовало конкретных терапевтических рекомендаций по системной терапии при выявлении мутаций вне клинических испытаний. В 2018 году два ингибитора PARP (Поли

(АДФ-рибоза)-полимеразы), олапариб и талазопариб, получили одобрение FDA для пациентов с метастатическим РМЖ и наличием мутаций *BRCA*.

Геномные сигнатуры при ранней стадии гормонозависимого рака молочной железы

Геномные мутации при гормонозависимом РМЖ ранних стадий встречаются редко. Почти все пациенты при наличии опухолей с положительным статусом эстрогеновых рецепторов (ЭР+) являются кандидатами для адъювантной эндокринной терапии, однако имеют место существенные различия в лечении, включая необходимость рекомендовать адъювантную химиотерапию, а также продолжительность эндокринной терапии. Исторически сложилось так, что пациентам с опухолями размером >1см и/или с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов рекомендовалось проведение адъювантной химиотерапии на основании результатов рандомизированных клинических исследований. Давно было признано, что это лечение в некоторых случаях является чрезмерным, однако до появления геномных сигнатур не было адекватных инструментов для отбора пациентов на тот или иной вид лечения. Эта проблема была решена при появлении шкалы оценки вероятности рецидива Oncotype DX для 21 гена [1]; при ретроспективном анализе было показано, что можно определить группу пациентов с ЭР+ РМЖ без поражения регионарных л/узлов, которые не выиграют от проведения адъювантной химиотерапии. Это наблюдение изменило тактику лечения ранних стадий РМЖ. Недавние исследования подтвердили и расширили этот основополагающий вывод. В исследовании MINDACT пациенты с ранней стадией РМЖ были стратифицированы на основании факторов клинического риска, определяемого стадией и статусом ЭР, а также на основании геномного риска, определяемого при помощи анализа MammaPrint с 70 генами. Пациенты с дискордантными клиническими и геномными факторами были случайным образом отобраны для получения только эндокринной терапии или эндокринной терапии в сочетании с химиотерапией [2]. Исследование MINDACT показало, что ни одна группа – клинически

низкий риск/ высокий геномный риск или клинически высокий риск/ низкий геномный риск – не получила существенной пользы от адъювантной химиотерапии.

В проспективном рандомизированном исследовании TAILORx были включены пациентки с гормоночувствительным РМЖ без поражения л/узлов, лечение было стратифицировано по шкале оценки рецидива Oncotype DX для 21 гена [3]. Женщины с низким баллом оценки рецидива от 11 до 25 были рандомизированы в две группы, в одной из которых проводилась только гормонотерапия, в другой – химиотерапия + гормонотерапия. Для таких пациенток добавление химиотерапии в схему лечения не принесло пользы. В данном исследовании было отмечено, что имеет смысл дифференцированно подходить к назначению адъювантного лечения в зависимости от возраста (<50 лет и >50 лет). У женщин старше 50 лет не получено преимуществ в проведении химиотерапии ни в одной когорте при низких баллах (≤ 25) оценки рецидива, однако среди женщин моложе 50 лет с баллами от 16 до 25 была очевидная польза от проведения химиотерапии. В этой подгруппе молодых женщин остается критическим вопрос, чем обусловлена польза от проведения химиотерапии? Вызванная химиотерапией аменорея является частым последствием лечения у женщин в пременопаузе, ранее было отмечено, что данный факт существенно улучшает прогноз у пременопаузальных пациенток с гормоночувствительным РМЖ.

На ASCO появились рекомендации о возможности использовать анализ EndoPredict, где исследуются 12 генов, шкалу оценки риска рецидива PAMSO для принятия решений по адъювантной терапии у пациенток с гормоночувствительным РМЖ без поражения л/узлов [4]. В совокупности имеющиеся результаты рекомендуют использовать молекулярные сигнатуры в качестве стандарта для ведения пациенток с I и II стадией РМЖ ЭР+. Исследования показывают, что многие геномные анализы служат надежными прогностическими маркерами при ЭР+ РМЖ, уточняя прогноз рецидива в течение 10 лет.

Геномное секвенирование при распространенном раке молочной железы

Тестирование на соматические мутации в опухолях пациентов с распространённым РМЖ может проводиться посредством секвенирования опухоли и циркулирующей опухолевой ДНК. Тестирование опухолей на наличие мутаций в настоящее время выполняется в основном посредством секвенирования больших панелей на основе гибридного захвата, который анализирует генетические события в 200–600 генах, уделяя особое внимание генам, которые, как известно, мутируют при раке. Недавние исследования продемонстрировали относительно частые изменения в соматической генетике между архивной первичной биопсией и биопсией, выполненной при рецидиве. Обычно приобретенные мутации включают мутации в гене эстрогенового рецептора (*ESR1*), связанные с резистентностью к ингибиторам ароматазы при распространенной форме РМЖ ЭР+, генах киназного пути MAP (*NF1*, *KRAS*, *NRAS*), а также изменения в факторах транскрипции [5]. Эти наблюдения показывают, что, при возможности, необходимо выполнять повторную биопсию для выполнения секвенирования генома. До недавнего времени доказательства клинической пользы тестирования опухолей в рутинной практике были ограничены, тем не менее, растущий каталог геномных мутаций начинает облегчать индивидуальные подходы, основанные на молекулярном анализе, при распространенном РМЖ. Наиболее частыми мутациями при ЭР+ РМЖ являются мутации в гене *PIK3CA* киназного пути патогенеза PI3, возникающие почти в 40% опухолей. Рак с мутациями в *PIK3CA* чувствителен к α -селективному ингибитору киназы PI3 алпелисибу в комбинации с фулвестрантом ($P=0,00065$) [6], что является стимулом для тестирования ЭР+ опухолей на *PIK3CA* мутации. Считается, что *PIK3CA* мутации не исчезают, таким образом исследования первичной опухоли достаточно, если нет технической возможности получить биопсию при рецидиве заболевания [7].

При секвенировании генома опухоли отмечено, что мутации *BRCA1* и *BRCA2* выявляются приблизительно в 5% случаев при РМЖ. В большинстве своем определяются герминальные мутации, иногда – соматические. Выявление герминальной мутации в генах

BRCA1 и *BRCA2* позволяет выявить группу пациентов, которые могут выиграть от проведения химиотерапии препаратами платины и ингибиторами PARP [8–10]. Вопрос о чувствительности РМЖ при наличии соматических мутаций к PARP ингибиторам находится в процессе изучения, на данный момент имеются данные о том, что при раке яичников соматические мутации могут указывать на чувствительность опухоли к PARP ингибиторам [11]. Интерпретировать варианты соматических мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* надо с осторожностью. РМЖ относится к генетически нестабильным опухолям и может накапливать, так называемые, «пассажирские мутации» – мутации, которые не являются патогенными. В частности, однонуклеотидные варианты в генах *BRCA1* и *BRCA2*, которые изменяют код одной аминокислоты, могут не быть патогенными. И, наоборот, большинство мутаций *BRCA1/2*, которые приводят к укорочению белка, вероятно, являются патогенными. Поэтому для оценки результатов геномных исследований требуется опыт, чтобы гарантировать, что «пассажирские» мутации не будут интерпретироваться чрезмерно.

При РМЖ в 2% случаев опухоли имеют признаки микросателлитной нестабильности, которая отражает дефицит репарации ошибочно спаренных оснований ДНК [12]. Опухоль с дефицитом репарации ошибочно спаренных оснований ДНК чувствительна к иммунобиотерапии пембролизумабом [13]. Панели секвенирования опухолей, определяющих наличие микросателлитной нестабильности, являющейся маркером дефицита репарации ошибочно спаренных оснований ДНК, используются все чаще, однако интерпретация результатов при РМЖ продолжает изучаться. Учитывая малое количество случаев выявления микросателлитной нестабильности при РМЖ методологически важно избежать даже небольшого количества ложноположительных результатов.

Соматические опухолевые мутации позволяют выявить пациентов для участия в клинических исследованиях с целью изучения прецизионных подходов в лечении диссеминированного РМЖ. Мутации *HER2* могут указывать на чувствительность опухоли к ингибиторам киназы с двойной специфичностью – нератинибу [14]. Среди пациентов с

трижды негативным РМЖ мутации в генах PI3-киназного пути (*PIK3CA*, *AKT1*, *PTEN*) могут определить чувствительность к ингибиторам АКТ – ипатасертибу и капивасертибу [15]. Имеются данные о том, что мутации в генах *RBI* и *FAT1* могут помочь в идентификации ЭР+ РМЖ, который не отвечает на ингибиторы CDK4/6 [21]. Эти мутации и связанные с ними клинические данные вероятны с биологической точки зрения, но в настоящее время остаются предметом исследований и не используются в стандартной клинической практике. Интерпретация отчетов по мутациям также требует оценки врачом – генетиком, чтобы правильно разобраться в патогенных мутациях и мутациях – «пассажирах».

Когда опухолевые клетки погибают, небольшое количество высвобожденной опухолевой ДНК циркулирует в крови. Эта циркулирующая опухолевая ДНК (внеклеточная форма ДНК) представляет собой альтернативный способ геномного тестирования у пациентов с распространенной формой РМЖ [16]. Такой анализ оптимален при выявлении приобретенных в результате лечения мутаций. Наиболее распространенной приобретенной мутацией при диссеминированном РМЖ является мутация в гене *ESR1* (*ESR1-MUT*). Выявление *ESR1-MUT* предсказывает наличие резистентности к терапии ингибиторами ароматазы, при этом показано увеличение выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости при лечении фулвестрантом [17]. Также идентификация *ESR1* мутации ассоциируется с неблагоприятным прогнозом у пациентов, которые продолжают лечение эземестаном и эверолимусом [18].

Использование циркулирующей опухолевой ДНК в качестве прогностического маркера для лечения РМЖ является быстро развивающейся областью. Накопленный опыт предполагает наличие высокого уровня корреляции между тестами циркулирующей опухолевой ДНК и опухолевой ткани для большинства часто встречающихся мутаций. Уровень циркулирующей опухолевой ДНК в плазме является прогностическим признаком, при более высоком уровне – прогноз заболевания неблагоприятный [19]. Это, вероятно, отражает степень агрессивности опухоли. Более ранняя оценка динамики циркулирующей

опухолевой ДНК позволяет определить пациентов, не реагирующих на лечение намного раньше, чем при помощи любого другого метода диагностики (например, после 2-х недель лечения по схеме фулвестрант + палбоциклиб пациенты с высоким уровнем циркулирующей опухолевой ДНК имели более высокий риск прогрессирования) [20]. Продолжается изучение вопроса, насколько мутации или уровень циркулирующей опухолевой ДНК в крови могут дать прогноз по метастазированию при ранних стадиях РМЖ. Ни одно из этих альтернативных применений оценки уровня циркулирующей опухолевой ДНК не готово для использования в рутинной клинической практике, требуется дальнейшее изучение вопроса, чтобы установить полную обоснованность подходов, а также оценить их потенциал для улучшения лечения пациентов. Несмотря на имеющиеся ограничения, разработка технологий выявления циркулирующей опухолевой ДНК обещает освободить геномное тестирование от трудностей, возникающих при биопсии опухоли в пользу изучения сыворотки крови, в связи с большей безопасностью, доступностью и возможностью динамического наблюдения.

Список литературы

1. *Paik S., Tang G., Shak S., et al.* Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol.* 2006. V. 24. No. 23. P. 3726-3734. DOI: 10.1200/JCO.2005.04.7985.
2. *Cardoso F., van't Veer L.J., Bogaerts J., et al.* MINDACT Investigators. 70-gene signature as an aid to treatment decisions in early-stage breast cancer. *N Engl J Med.* 2016. V. 375. No. 8. P. 717-729. DOI: 10.1056/NEJMoa1602253.
3. *Sparano J.A., Gray R.J., Makower D.F., et al.* Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer. *N Engl J Med.* 2018. V. 379. No. 2. P. 111-121. DOI: 10.1056/NEJMoa1804710.
4. *Harris L.N., Ismaila N., McShane L.M., et al.* American Society of Clinical Oncology. Use of biomarkers to guide decisions on adjuvant systemic therapy for women with early stage

- invasive breast cancer. American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol*. 2016. V. 34. P. 1134-1150. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.2289.
5. *Razavi P., Chang M.T., Xu G., et al.* The genomic landscape of endocrine-resistant advanced breast cancers. *Cancer Cell*. 2018. V. 34. No. 3. P. 427-438.e6. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.08.008.
 6. *André F., Ciruelos E.M., Rubovszky G., et al.* Alpelisib (ALP)+ fulvestrant (FUL) for advanced breast cancer (ABC): results of the phase III SOLAR-1 trial. *Annals of Oncology*. 2018. V. 29. (Suppl. 9). P. viii709. DOI:10.1093/annonc/mdy424
 7. *Baselga J., Im S.A., Iwata H., et al.* Buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant in postmenopausal, hormone receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (BELLE-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017. V. 18. No. 7. P. 904-916. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30376-5.
 8. *Robson M., Im S.A., Senkus E., et al.* Olaparib for metastatic breast cancer in patients with a germline BRCA mutation. *N Engl J Med*. 2017. V. 377. No. 6. P. 523-533. DOI: 10.1056/NEJMoa1706450.
 9. *Litton J.K., Rugo H.S., Ettl J., et al.* Talazoparib in patients with advanced breast cancer and a germline BRCA mutation. *N Engl J Med*. 2018. V. 379. No. 8. P. 753-763. DOI: 10.1056/NEJMoa1802905.
 10. *Tutt A., Tovey H., Cheang M.C.U., et al.* Carboplatin in BRCA1/2-mutated and triple-negative breast cancer BRCAness subgroups: the TNT Trial. *Nat Med*. 2018. V. 24. No. 5. P. 628-637. DOI: 10.1038/s41591-018-0009-7.
 11. *Moore K., Colombo N., Scambia G., et al.* Maintenance olaparib in patients with newly diagnosed advanced ovarian cancer. *N Engl J Med*. 2018. V. 379. No. 26. P. 2495-2505. DOI: 10.1056/NEJMoa1810858.

12. *Davies H., Morganella S., Purdie C.A., et al.* Whole-genome sequencing reveals breast cancers with mismatch repair deficiency. *Cancer Res.* 2017. V. 77. No. 18. P. 4755-4762. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1083.
13. *Le D.T., Uram J.N., Wang H., et al.* PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med.* 2015. V. 372. No. 26. P. 2509-2520. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.
14. *Hyman D.M., Piha-Paul S.A., Won H., et al.* HER kinase inhibition in patients with HER2- and HER3-mutant cancers. *Nature.* 2018. V. 554. No. 7691. P.189-194. DOI: 10.1038/nature25475.
15. *Kim S.B., Dent R., Im S.A., et al.* Ipatasertib plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer (LOTUS): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017. V. 18. No. 10. P. 1360-1372.
16. *Merker J.D., Oxnard G.R., Compton C., et al.* Circulating tumor DNA analysis in patients with cancer: American Society of Clinical Oncology and College of American Pathologists Joint Review. *J Clin Oncol.* 2018. V. 36. No. 16. P. 1631-1641. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30450-3.
17. *Fribbens C., O'Leary B., Kilburn L., et al.* Plasma ESR1 mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol.* 2016. V. 34. No. 25. P. 2961-2968. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.3061.
18. *Chandarlapaty S., Chen D., He W., et al.* Prevalence of ESR1 mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2016. V. 2. No. 10. P. 1310-1315. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1279.
19. *Stover D.G., Parsons H.A., Ha G., et al.* Association of cell-free DNA tumor fraction and somatic copy number alterations with survival in metastatic triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol.* 2018. V. 36. No. P. 543-553. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.0033.

20. *O'Leary B., Hrebien S., Morden J.P., et al.* Early circulating tumor DNA dynamics and clonal selection with palbociclib and fulvestrant for breast cancer. *Nat Commun.* 2018. V. 9. No. 1. P. 896. DOI: 10.1038/s41467-018-03215-x.
21. *Li Z., Rasavi P., Li Q., et al.* Loss of the FAT1 tumor suppressor promotes resistance to CDK4/6 inhibitors via the Hippo pathway. *Cancer Cell.* 2018. V. 34. No. 6. P. 893-905.e8. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.11.006.