

¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

²Киевский городской клинический онкологический центр

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МУТАЦИЙ P53 ПРИ РАКЕ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (обзор литературы)



И.Б. Шепотин¹, А.С. Зотов¹,
Р.В. Любота¹, Н.Ф. Аникусько²,
И.И. Любота²

Адрес:

Любота Роман Викторович
03053, Киев, ул. Верховинная, 69
Национальный медицинский университет
им. А.А. Богомольца
Тел.: (044) 450-82-32
E-mail: lyubota@ukr.net

58

Мутации гена-супрессора опухоли *TP53*, кодирующего синтез белка p53, наблюдаются в 20–30% случаев рака грудной железы. В ряде клинических исследований доказана связь мутаций *TP53* с неблагоприятным прогнозом течения рака грудной железы, что обусловлено нарушением p53-зависимого апоптоза. Однако значение гиперэкспрессии p53 в качестве маркера эффективности лекарственной и лучевой терапии остается предметом дискуссий, так как существующие клинические данные противоречивы и неубедительны. В данном обзоре литературы рассмотрена связь между гиперэкспрессией p53 и реакцией опухоли на лечение, а также представлены возможные пути преодоления первичной лекарственной резистентности опухоли, вызванной мутациями *TP53*.

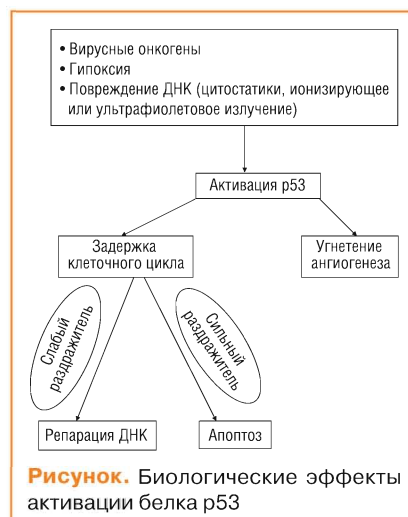
ВВЕДЕНИЕ

Рак грудной железы (РГЖ) является наиболее распространенным онкологическим заболеванием у женщин. В 2008 г. во всем мире зарегистрировано 458 503 случая летального исхода от этой патологии [37]. Прогноз течения у больных с локализованными формами РГЖ зависит от клинических, морфологических и биологических характеристик опухоли, таких как: возраст на момент установления диагноза, размер опухоли, наличие метастазов в регионарных лимфоузлах, степень дифференцировки опухоли, экспрессия опухоли рецепторов к эстрогенам (EP) и прогестерону (PP), гиперэкспрессия Her2/neu, а также митотический индекс (Ki-67) [16]. Совокупность перечисленных выше прогностических факторов определяет тактику консервативного лечения больных РГЖ.

Увеличение выживаемости пациенток с локализованным (неметастатическим) РГЖ, получавших адъювантную лекарственную терапию, доказано еще в 1980-х годах, особенно у больных младше 50 лет [10]. В адъювантном режиме чаще всего используются антрациклин-содержащие программы с добавлением трастузумаба у больных с гиперэкспрессией Her2/neu. У пациенток с гормоночувствительными опухолями назначение в адъювантном режиме антиэстрогенов или ингибиторов ароматазы снижает риск возникновения рецидива опухоли [8]. Эти же подходы используются для определения тактики лекарственной терапии пациенток с метастатическим РГЖ, что позволяет увеличить общую выживаемость. Однако, по различным данным, у 20–40% больных РГЖ встречаются опухоли первично-резистентные к стандартной лекарственной терапии [2, 27, 31]. Этот факт побуждает к поиску факторов, отвечающих за первичную рези-

стентность, и разработке терапевтических подходов, направленных на ее преодоление.

Белок p53 обнаружен тремя группами исследователей (под руководством А. Levine, Р. Мау и L. Old) в 1979 г. как ключевой регулятор клеточного цикла. Основными биологическими эффектами активированного p53 являются: задержка клеточного цикла в конце фазы G1, что в зависимости от силы раздражителя приводит к репарации ДНК или запуску апоптоза, ингибирование ангиогенеза (**рисунки**) [23, 35]. В 1989 г. группа ученых под руководством В. Vogelstein обнаружила, что ген, кодирующий синтез белка p53 (*TP53*), в клетках различных злокачественных опухолей человека инактивируется [34]. Мутации *TP53*, приводящие к инактивации p53, по разным данным, наблюдаются в 20–30% карцином грудной железы и являются причиной первичной резистентности к стандартной системной терапии [14, 29].



Ключевые слова: рак грудной железы, мутации p53, прогноз течения, эффективность лечения.

В данной статье рассмотрена связь между гиперэкспрессией p53 и реакцией опухоли на лечение, а также представлены возможные пути преодоления первичной лекарственной резистентности опухоли, вызванной мутациями *TP53*.

Прогностическое значение p53 при РГЖ

Описано около 1400 мутаций *TP53* при РГЖ [29]. Большинство этих мутаций полностью или частично инактивируют p53 [11, 32, 36]. При нормальных условиях так называемый дикий тип белка p53 нельзя обнаружить из-за короткого периода полураспада. Мутантные белки накапливаются в ядре клетки, что вызвано изменением их пространственного строения и увеличением периода полураспада [21, 33]. Накапливаемый в ядре мутантный белок p53 (mp53) определяется иммуногистохимическим (ИГХ) методом. Однако достоверность ИГХ метода снижается ввиду того, что, с одной стороны, не все мутации приводят к синтезу стабильных белков, которые накапливаются в ядре клетки (ложноотрицательный результат), а с другой стороны, дикий тип белка p53 может накапливаться в ядре клетки, что связано с повреждением ДНК или является результатом связывания с другими клеточными белками (ложноположительный результат). По данным литературы, количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов при определении мутаций p53 в клетках РГЖ ИГХ методом в сумме не превышает 25% [28].

Изучение связи между мутацией *TP53* и другими факторами прогноза течения РГЖ стало предметом многих исследований. Существуют также исследования, в которых изучали значение мутаций p53 как независимого фактора прогноза. Тем не менее интерпретация полученных в исследованиях результатов осложняется из-за описанных выше недостатков ИГХ метода при определении мутации гена *TP53* [20]. Но все же выявленная методом ИГХ гиперэкспрессия белка p53 чаще всего ассоциируется с неблагоприятными факторами прогноза течения РГЖ, а именно: ER- и PR-отрицательным статусом опухоли, гиперэкспрессией Her2/neu, высоким митотическим индексом, низкой степенью дифференцировки, что клинически выражается низкой общей и безрецидивной выживаемостью [3, 7, 17, 25].

Мутации p53 неравномерно распределены между различными молекулярными подтипами РГЖ: в 10–20% случаев — при люминальном А, в 13–31% — при люминальном Б, в 22–71% — при Her2 и в 36–82% — при трижды негативном молекулярном подтипе, но при базальноподобном варианте трижды негативного РГЖ мутации p53 выявляются в 90–95% [13, 22, 26].

В целом на сегодня результаты более 25 исследований с участием свыше 6000 пациентов указывают на неблагоприятный прогноз течения РГЖ у больных с мутациями *TP53* [6].

p53 и системная противоопухолевая терапия

Эффективность различных цитостатиков при гиперэкспрессии p53 у больных РГЖ изучалась во многих исследованиях, но общего мнения по этому поводу на данный момент нет. Результаты одних исследований свидетельствуют о низкой эффективности доксорубина у пациенток с мутациями p53 [1, 9, 15], а результаты других указывают на большее количество полных морфологических ответов (ПМО) при применении высоких доз эпирубицина и циклофосфана (ЕС) до операции у больных с местно-распространенным РГЖ [4, 5, 22]. В 2 проспективных исследованиях изучалась эффективность применения 6 циклов химиотерапии (ХТ) с интенсификацией дозы по программе ЕС (идЕС) (эпирубицин 75 мг/м², циклофосфамид 1200 мг/м²) с 2-недельным интервалом между циклами. Доказано, что эта программа ХТ эффективна исключительно у больных РГЖ с мутациями p53, так как количество ПМО у них превышало 50%, а среди пациенток с диким типом p53 не зафиксировано ни одного случая ПМО [4, 5]. Это свидетельствует о том, что p53 может служить ключевым фактором, определяющим применение ХТ с идЕС. Подтверждением этому служит другое многоцентровое исследование, в котором сравнивали эффективность различных схем предоперационной ХТ у больных РГЖ в зависимости от p53-статуса опухоли. Больных в соответствии с проводимой ХТ разделили на 3 группы: 1-я группа (n=128) получала 6 циклов идЕС по описанной выше схеме, больным 2-й группы (n=51) назначено 4 цикла ХТ по стандартной схеме FAC (5-фторурацил 500 мг/м² + доксорубин 50 мг/м² + циклофосфамид 500 мг/м² с интервалом в 21 день), пациенткам 3-й группы (n=65) — 4 или 6 циклов монотерапии эпирубицином (100 мг/м² каждые 21 или 15 дней). Частота ПМО в исследуемых группах в зависимости от статуса p53 была следующей: в 1-й группе — 36% среди больных с мутантным белком p53 против 0% у пациенток с диким типом p53, во 2-й группе — 4% против 15% и в 3-й группе — 12% против 37% соответственно [22].

Образцы опухолей, полученных в ходе исследования по изучению эффективности доксорубина (А) и доцетаксела (Т) у больных метастатическим РГЖ (ТАХ 303), изучены на предмет мутации p53. В результате установлено, что у пациенток с мутацией p53 клинический ответ на доксорубин и доцетаксел наблюдался в 17 и 50% случаев соответственно. У больных с диким типом p53 ответ отмечен в 27% случаев в группе А и в 36% — в группе Т [9].

Статус p53 опухоли не влияет на эффективность трастузумаба, так как последний вызывает апоптоз через p53-независимые пути. В ретроспективном исследовании с участием 104 больных, получавших трастузумаб, показано, что p53-статус опухоли не является предиктором клинической эффективности [19].

Результаты некоторых исследований показали, что мутации p53 могут повли-

ять на прогноз течения РГЖ у больных с ER-положительными опухолями, которые получали антигормональную терапию. В исследованиях *in vitro* обнаружена устойчивость p53-мутированных клеток МСF-7 клеточных линий РГЖ к цитотоксическому действию 4-гидрокситамоксифена по сравнению с клетками, экспрессирующими дикий тип белка p53 [12]. Эти данные нашли подтверждение в клинических исследованиях. В метаанализе 4683 больных РГЖ гиперэкспрессия p53 коррелирует с неблагоприятным исходом у женщин, получавших тамоксифен после адьювантной ХТ [18].

p53 и лучевая терапия

Механизм противоопухолевого действия ионизирующего излучения опосредован нарушением целостности нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) клетки, что в свою очередь приводит к активации p53-зависимого апоптоза. В доклинических исследованиях показано, что при отсутствии функционально активного белка p53 в опухоли (фибросаркома) она перестает реагировать на гамма-излучение, что проявлялось дальнейшим ростом опухоли на фоне проводимой лучевой терапии [24]. Однако клинических исследований, подтверждающих этот факт, на данный момент нет.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время однозначного мнения о клиническом значении мутаций белка p53 нет. Имеющиеся сведения достаточно противоречивы, что вызвано различиями в методах детекции мутаций *TP53* в клетках РГЖ. Стандартом диагностики этого вида нарушений генома являются дорогостоящие и трудоемкие методики, которые невозможно применять в повседневной клинической практике. Для рутинного использования наиболее удобным и практичным считается ИГХ обнаружение гиперэкспрессии белка p53, который по сравнению с диким типом имеет больший период полураспада. Считается, что немутированный p53 в клетках не выявляется, а о гиперэкспрессии говорят при наличии >10% положительных клеток. В пользу ИГХ метода свидетельствует то, что избыточная экспрессия белка встречается у пациентов с наследственными мутациями p53 (наследственный РГЖ и рак яичника, синдром Ли — Фраумени) [21].

В ряде исследований доказано отрицательное влияние мутаций *TP53* на течение РГЖ не только в совокупности с другими прогностическими факторами (отсутствие гормональных рецепторов, гиперэкспрессия Her2/neu и Ki-67, низкая степень дифференцировки опухоли), но и независимо от них. Чаще мутации белка p53 ассоциированы с прогностически неблагоприятными трижды негативным (более 36%) и Her2 (более 22%) молекулярными типами РГЖ. Учитывая тот факт, что гиперэкспрессия p53 встречается в 90–95% случаев базальноподобного варианта трижды негативного РГЖ, этот показатель возможно использовать как

косвенный маркер последнего. В 1999 г. опубликован метаанализ, включающий 2319 пациенток с РГЖ, в котором указано, что относительный независимый риск уменьшения общей и безрецидивной выживаемости больных при наличии избыточной экспрессии p53 составляет 1,7 (95% доверительный интервал 1,2–2,4) [30].

Учитывая первичную лекарственную резистентность p53-экспрессирующих опухолей, особый интерес вызывают подходы к системной терапии. Минимум в 3 клинических исследованиях доказана эффективность применения в неoadъювантном режиме ХТ с идЕС, что позволило достичь ПМО у 36% пациенток с мутациями белка p53 в клетках РГЖ. Также доказана клиническая эффективность монотерапии с применением доцетаксела у больных метастатическим РГЖ с мутациями *TP53*. Из-за малого количества клинических исследований неясна эффективность антиэстрогенов (кроме тамоксифена) и ингибиторов ароматазы при лечении ER-положительного РГЖ с гиперэкспрессией p53. Также не подтверждена клинически теоретически обоснованная резистентность данных опухолей к лучевой терапии.

Выводы

Несмотря на большое количество исследований клинического значения мутаций белка p53 при РГЖ, однозначно роль этих мутаций окончательно не определена. Дальнейшие исследования должны быть направлены на разработку новых или усовершенствование существующих методов обнаружения мр53, что позволит применять их в рутинной клинической практике. Открытым остается вопрос лучевой и лекарственной терапии мр53-экспрессирующих опухолей.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aas T., Børresen A.L., Geisler S. et al. (1996) Specific P53 mutations are associated with *de novo* resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat. Med.*, 2: 811–14.

2. Andersson M., Lidbrink E., Bjerre K. et al. (2011) Phase III randomized study comparing docetaxel plus trastuzumab with vinorelbine plus trastuzumab as first-line therapy of metastatic or locally advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: the HERNATA study. *J. Clin. Oncol.*, 29(3): 264–71.

3. Bonnefoi H., Diebold-Berger S., Therasse P. et al. (2003) Locally advanced/inflammatory breast cancers treated with intensive epirubicin-based neoadjuvant chemotherapy: are there molecular markers in the primary tumour that predict for 5-year clinical outcome? *Ann. Oncol.*, 14: 406–13.

4. Bertheau P., Plassa F., Espié M. et al. (2002) Effect of mutated *TP53* on response of advanced breast cancers to high-dose chemotherapy. *Lancet*, 360: 852–4.

5. Bertheau P., Turpin E., Rickman D.S. et al. (2007) Exquisite sensitivity of *TP53* mutant and basal breast cancers to a dose-dense epirubicin-cyclophosphamide regimen. *PLoS Med.*, 4: e90.

6. Borresen-Dale A.L. (2003) *TP53* and breast cancer. *Hum. Mutat.*, 21: 292–300.

7. Bull S.B., Ozcelik H., Pinnaduwage D. et al. (2004) The combination of p53 mutation and *neu/erbB-2* amplification is associated with poor survival in node-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 22: 86–96.

8. Cuzick J., Sestak I., Pinder S.E. et al. (2011) Effect of tamoxifen and radiotherapy in women with locally excised ductal carcinoma *in situ*: long-term results from the UK/ANZ DCIS trial. *The Lancet Oncol.*, 12(1): 21–29.

9. Di Leo A., Tanner M., Desmond C. et al. (2007) p-53 gene mutations as a predictive marker in a population of advanced breast cancer patients randomly treated with doxorubicin or docetaxel in the context of a phase III clinical trial. *Ann. Oncol.*, 18: 997–1003.

10. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) (2005) Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *The Lancet*, 365(9472): 1687–1717.

11. Friedlander P., Haupt Y., Prives C., Oren M. (1996) A mutant p53 that discriminates between p53-responsive genes cannot induce apoptosis. *Mol. Cell. Biol.*, 16: 4961–71.

12. Fernandez-Cuesta L., Anaganti S., Hainaut P. et al. (2010) p53 status influences response to tamoxifen but not to fulvestrant in breast cancer cell lines. *Int. J. Cancer*, 128(8): 1813–21.

13. Fernández-Cuesta L., Oakman C., Falagan-Lotsch P. et al. (2012) Prognostic and predictive value of *TP53* mutations in node-positive breast cancer patients treated with anthracycline- or anthracycline/taxane-based adjuvant therapy: results from the BIG 02-98 phase III trial. *Breast Cancer Res.*, 14(3).

14. Gasco M., Shami S., Crook T. (2002) The p53 pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 4: 70–76.

15. Geisler S., Lonning P.E., Aas T. et al. (2001) Influence of *TP53* gene alterations and c-erbB-2 expression on the response to treatment with doxorubicin in locally advanced breast cancer. *Cancer Res.*, 61: 2505–12.

16. Goldhirsch A., Wood W.C., Coates A.S. et al. (2011) Strategies for subtypes-dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2011. *Ann. Oncol.*, 22: 1736–47.

17. Hensel M., Schneeweiss A., Sinn H.P. et al. (2002) p53 is the strongest predictor of survival in high risk primary breast cancer patients undergoing high-dose chemotherapy with autologous blood stem cell support. *Int. J. Cancer*, 100: 290–6.

18. Kim H.S., Yom C.K., Kim H.J. et al. (2010) Overexpression of p53 is correlated with poor outcome in premenopausal women with breast cancer treated with tamoxifen after chemotherapy. *Breast Cancer Res. Treat.*, 121(3): 777–88.

19. Kostler W.J., Brodowicz T., Hudelist G. et al. (2005) The efficacy of trastuzumab in Her-2/neu-overexpressing metastatic breast cancer is independent of p53 status. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 131(7): 420–28.

20. Lacroix M., Toillon R.A., Leclercq G. (2006) p53 and breast cancer, an update. *Endocr. Relat. Cancer.*, 13: 293–325.

21. Lee D.S., Kim H.S., Suh Y.J. et al. (2011) Clinical implication of p53 overexpression in breast cancer patients younger than 50 years with a triple-negative subtype who undergo a modified radical mastectomy. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 41: 854–66.

22. Lehmann-Che J., André F., Desmedt C. et al. (2010) Cyclophosphamide dose intensification may circumvent anthracycline resistance of p53 mutant breast cancers. *The Oncologist*, 15(3): 246–252.

23. Levine A.J. (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88: 323–331.

24. Lowe S.W., Bodis S., McClatchey A. et al. (1994) p53 status and the efficacy of cancer therapy *in vivo*. *Science*, 266(5186): 807–810.

25. Malamou-Mitsi V., Gogas H., Dafni U. et al. (2006) Evaluation of the prognostic and predictive value of p53 and Bcl-2 in breast cancer patients participating in a randomized study with dose-dense sequential adjuvant chemotherapy. *Ann. Oncol.*, 17: 1504–1511.

26. Manié E., Vincent-Salomon A., Lehmann-Che J. et al. (2009) High frequency of *TP53* mutation in *BRCA1* and sporadic basal-like carcinomas but not in *BRCA1* luminal breast tumors. *Cancer Res.*, 69: 663–671.

27. Miles D.W., Chan A., Dirix L.Y. et al. (2010) Phase III study of bevacizumab plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel for the first-line treatment of human epidermal growth factor receptor 2-negative metastatic breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 28(20): 3239–3247.

28. Norberg T., Lennnerstrand J., Inganäs M., Bergh J. (1998) Comparison between p53 protein measurements using the luminometric immunoassay and immunohistochemistry with detection of p53 gene mutations using cDNA sequencing in human breast tumors. *Int. J. Cancer*, 79: 376–383.

29. Olivier M., Langerod A., Carrieri P. et al. (2006) The clinical value of somatic *TP53* gene mutations in 1,794 patients with breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 12(4): 1157–1167.

30. Pharoah P.D., Day N.E., Caldas C. (1999) Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Br. J. Cancer*, 80: 1968–73.

31. Robertson J.F., Lombart-Cussac A., Rolski J. et al. (2009) Activity of fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg as first-line treatment for advanced breast cancer: results from the FIRST study. *J. Clin. Oncol.*, 27(27): 4530–35.

32. Rowan S., Ludwig R.L., Haupt Y. et al. (1996) Specific loss of apoptotic but not cell-cycle arrest function in a human tumor derived p53 mutant. *EMBO J.*, 15: 827–38.

33. Soussi T. (2007) p53 alterations in human cancer: more questions than answers. *Oncogene*, 26: 2145–56.

34. Vogelstein B. (1990) Cancer. A deadly inheritance. *Nature*, 348(6303): 681–682.

35. Vousden K.H., Prives C. (2009) Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell*, 137: 413–431.

36. Willis A., Jung E.J., Wakefield T., Chen X. (2004) Mutant p53 exerts a dominant negative effect by preventing wild-type p53 from binding to the promoter of its target genes. *Oncogene*, 23: 2330–38.

37. World Cancer Report (2008) International Agency for Research on Cancer. Retrieved 2011-02-26.

Клінічне значення мутацій p53 при раку грудної залози (огляд літератури)

I.Б. Шенотин¹, О.С. Зотов¹, Р.В. Любота¹, М.Ф. Анікусько²,
I.I. Любота²

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ
²Київський міський клінічний онкологічний центр

Резюме. Мутації гена-супресора пухлини *TP53*, що кодує синтез білка p53, спостерігаються в 20–30% випадків раку грудної залози. У ряді клінічних досліджень доведено зв'язок мутацій *TP53* з несприятливим прогнозом перебігу раку грудної залози, що зумовлено порушенням p53-залежного апоптозу. Однак значення гіперекспресії p53 як маркера ефективності лікарської та променевої терапії залишається предметом дискусій, оскільки існуючі клінічні дані суперечливі й непереконливі. У даному огляді літератури розглянуто зв'язок між гіперекспресією p53 і реакцією пухлини на лікування, а також представлено можливі шляхи подолання первинної лікарської резистентності пухлини, викликаної мутаціями *TP53*.

Ключові слова: рак грудної залози, мутації p53, прогноз перебігу, ефективність лікування.

Clinical significance of p53 mutations in breast cancer tumors (review)

I.B. Shenotin¹, A.S. Zotov¹, R.V. Liubota¹, N.F. Anikusko²,
I.I. Liubota²

¹National medical university named after A.A. Bogomolets, Kyiv
²Kyiv municipal clinical oncological centre

Summary. Mutations of tumor suppressor gene *TP53*, which encodes the synthesis of p53 is observed in 20–30% of breast cancer. Several clinical trials have established that *TP53* mutations with poor prognosis of breast cancer that is caused by a violation of the p53-dependent apoptosis. However, the value of p53 overexpression as a marker of efficacy of drug and radiation therapy remains controversial, as the existing clinical data are conflicting and inconclusive. This review presents the relationship between p53 overexpression and tumor response to treatment, and possible ways to overcome the primary tumor drug resistance caused by mutations in *TP53*.

Key words: breast cancer, p53 mutation, prognosis, effectiveness of treatment.