

УДК 618.19:616-006:577.175.62

DOI: 10.14427/jipai.2016.1.32

Определение андрогеновых рецепторов в клетках тройного негативного рака молочной железы

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

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

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

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

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

Determination of androgen receptors in cells of triple negative breast cancer

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

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

²Vitebsk regional clinical pathoanatomical bureau, Vitebsk, Belarus

³Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

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

Аннотация

Иммуногистохимическим методом определяли наличие андрогеновых рецепторов (AR) в клетках тройного негативного рака молочной железы. В 11 (22%) из 50 случаев выявлено наличие андрогеновых рецепторов в клетках тройного негативного рака молочной железы. Количество злокачественных клеток с андрогеновыми рецепторами от общего количества клеток рака молочной железы составляло от 1% до 55%, среднее значение – 25±22%.

Метастазы в регионарных лимфатических узлах не определялись ни в одном случае AR⁺ тройного негативного рака молочной железы. AR⁺ клетки тройного негативного рака молочной железы значительно медленнее метастазируют в региональные лимфатические узлы, по сравнению с AR⁻ клетками тройного негативного рака молочной железы. У пациенток с AR⁻ тройного негативного рака молочной железы метастазы в регионарных лимфатических узлах определялись в 5 случаях (12,8%), отдаленные - в 1 случае (2,6%). Определение андрогеновых рецепторов клеток рака молочной железы иммуногистохимическим методом является прогностически ценным.

Ключевые слова

Андрогеновый рецептор, тройной негативный рак молочной железы, моноклональные антитела, иммуногистохимия

Summary

The presence of androgen receptor (AR) in the cells of triple negative breast cancer was detected immunohistochemically. Androgen receptors were found in 11 (22%) from 50 cases of triple-negative breast cancer. The number of malignant cells with androgen receptor from the total breast cancer cells number was from 1% to 55%, the mean value - 25 ± 22%.

There were not metastases in regional lymph nodes in any case of the AR⁺ triple-negative breast cancer. AR⁺ cells of the triple negative breast cancer metastasize to regional lymph nodes significantly slower compared with AR⁻ cells of the triple negative breast cancer. There were metastases to the regional lymph nodes in 5 cases (12.8%), distant metastases - in 1 case (2.6%) in patients with AR⁻ triple negative breast cancer. The androgen receptors determination in breast cancer cells by immunohistochemistry is prognostically valuable.

Keywords

Androgen receptor, triple-negative breast cancer, monoclonal antibody, immunohistochemistry

Андрогеновый рецептор (AR) – член семейства стероидных гормональных рецепторов, который функционирует как классический лиганд-активированный внутриклеточный фактор транскрипции [1]. Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) является эффективным методом выявления клеточных рецепторов.

Иммуногистохимически AR локализуются совместно с рецепторами эстрогена (ER) и прогестерона (PR) в эпителиальных клетках, но отсутствуют в миоэпителии и строме [2].

Считается, что эстрогены стимулируют, а андрогены подавляют развитие молочной железы независимо от пола.

Общеизвестно, что рак молочной железы (РМЖ) является высоко гормонально-зависимым злокачественным новообразованием. Недавними молекулярно-биологическими исследованиями установлено, что AR играют важную роль при РМЖ и экспрессируются при тройном негативном раке молочной железы (ТНРМЖ) ER-PR- Her2/neu-. Это возродило интерес к изучению AR при изучении канцерогенеза РМЖ [3].

По данным различных авторов, AR экспрессируются в 10-90% всех случаев РМЖ и относятся к наиболее часто экспрессируемым ядерным рецепторам [4, 5, 6]. В проведенных ретроспективных исследованиях стероидных рецепторов показано, что в ER+ и PR+ опухолях экспрессия AR варьирует от 9% до 50% случаев [7, 8] и чаще хорошо выражена в ER+ опухолях с апокриновой дифференцировкой [9].

В недавнем тройном проспективном исследовании пациенток, с метастатическим ER+ и PR+ РМЖ, AR были обнаружены у 12% случаев РМЖ, причем AR экспрессировали более 10% злокачественных клеток [10].

В многочисленных исследованиях, изучающих прогностическую значимость AR экспрессии в РМЖ, большинство авторов сообщают, что AR положительные опухоли ассоциируются с благоприятными клинико-патологическими признаками. В ER+ опухолях обнаружение экспрессии AR соответствует низкому Грейду, длительной без рецидивной выживаемостью, отсутствием метастазов в лимфоузлах [8, 11, 12, 13, 14].

В США экспрессия AR в ТНРМЖ, по данным отдельных авторов, встречается приблизительно в 2% случаев [15].

По данным других авторов, AR экспрессируется в 10-43% случаев ТНРМЖ, однако прогностическая ценность AR экспрессии в этом подтипе РМЖ пока неясна, хотя в некоторых исследованиях указывается на уменьшение смертности [8],

некоторые исследователи не находят влияние AR экспрессии на продолжительность жизни, но всё таки большая часть исследователей отмечает лучший прогноз [16, 17, 18].

В последние годы появились публикации, в которых описаны попытки таргетной терапии AR+ РМЖ.

В исследовании 2013 года изучалась эффективность антиандрогена бикалутамида у пациентов с AR+ метастатическим РМЖ (ИГХ) $\geq 10\%$, ER- и PR- [19]. При этом у 19% было отмечено 6-месячное клиническое улучшение состояния.

В исследовании Valerie N и соавторов (2015 г.) сообщается о положительном эффекте при AR+ ТНРМЖ путем изучения его клеток *in vivo* [20].

Таким образом, дальнейшее изучение экспрессии AR в трижды негативном раке молочной железы обосновано с позиции науки и практики.

Цель и задачи исследования

Клинико-морфологический анализ экспрессии AR при тройном негативном раке молочной железы у женщин Витебской области.

Материалы и методы

Материалом исследования явились биопсийные материалы 50 случаев тройного негативного рака молочной железы (ER-PR-Her2/neu-), диагностированного в УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро» в 2014-2015гг. Андрогеновые рецепторы клеток рака молочной железы определяли с помощью мышинных моноклональных антител к андрогеновому рецептору человека (clon AR441) компании «Dako» с использованием стандартных методик иммуногистохимического исследования. Анализ проводился по журналам ИГХ исследований и базе данных отделения онкоморфологических исследований УЗ «ВОКПАБ».

Результаты и обсуждение

Наличие AR в клетках РМЖ, определяемого иммуногистохимическим методом, исследовали в биопсийном материале 50 женщин в возрасте от 35 до 85 лет (59 ± 11 лет) с доказанным тройным негативным раком молочной железы.

Сравнительная клинико-морфологическая характеристика AR+ и AR- ТНРМЖ, представлена в таблице 1.

Экспрессия рецепторов андрогенов установлена в 11 случаях, что составило 22%. Возраст пациенток колебался в пределах от 39 до 76 лет (55 ± 12 лет). При морфологическом анализе большинство опухолей было представлено инвазивной протоковой карциномой Грейд 2 и Грейд 3

(8 случаев), в двух случаях был диагностирован инфильтрирующий дольковый рак G2, в одном случае – муцинозная карцинома.

Относительное количество AR+ клеток, выявленных иммуногистохимическим методом,

варьировала от единичных до 55% опухолевых клеток (рис. 1 и 2).

Во всех 11 AR+ случаях ТНРМЖ из 50 ТНРМЖ метастазы в регионарных лимфатических узлах не определялись. Это наше наблюдение позволяет

Таблица 1. Сравнительная клиничко-морфологическая характеристика AR+ и AR- ТНРМЖ.

Тип ТНРМЖ	Возраст, лет (M±sd)	Степень дифференцировки опухоли (Грейд), количество наблюдений (n) и %	Mts (л/у), n и %	Mts отдалённые, n и %	Процент AR+ клеток (M±sd)
AR+ (n=11) 22%	55±12	Грейд 2 (G2) n=6 (54,5%) Грейд 3 (G3) n=5 (45,5%)	0	0	25±22
AR- (n=39) 78%	59±8	Грейд 2 (G2) n=17 (43,6%) Грейд 3(G3) n=22 (56,4%)	n=5 (12,8%)	n=1 (2,6%)	-

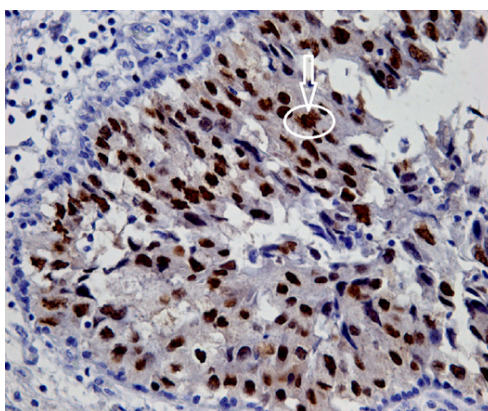


Рис. 1. Внутрипротоковый неинвазивный рак молочной железы: интенсивное окрашивание протокового эпителия и отсутствие окраски миоэпителия. AR+ клетки (коричневые) ТНРМЖ, обведен и указан белой стрелкой патологический митоз (увеличение x 400).

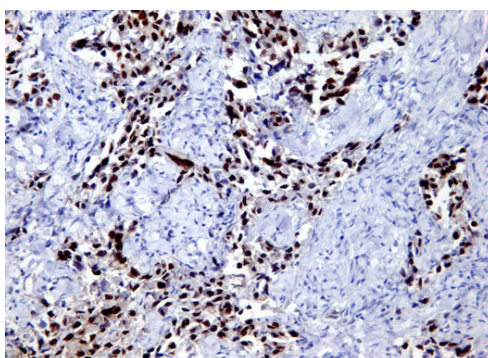


Рис. 2. AR+ клетки (коричневые) ТНРМЖ (увеличение x 200).

предположить, что AR+ клетки ТНРМЖ значительно медленнее метастазируют в региональные лимфатические узлы, по сравнению с AR- клетками ТНРМЖ – 5 случаев из 39, но эти различия не являлись статистически значимыми.

Экспрессия рецепторов андрогенов не определялась в 39 случаях ТНРМЖ (78%). Возраст пациенток колебался в пределах от 35 до 85 лет (59±8 лет). Гистологически данные случаи были распределены следующим образом: 13 случаев инвазивной протоковой карциномой (Грейд 2); 15 случаев инвазивной протоковой карциномой (Грейд 3); 3 случая – инфильтрирующий дольковый рак (Грейд 2); 3 случая – инфильтрирующий дольковый рак (Грейд 3); 1 случай – муцинозной цистаденокарциномы (Грейд 3); 2 случая медулярного рака молочной железы; 1 случай – клетки рака молочной железы среди детрита; 1 случай – синхронная опухоль – медулярный рак (Грейд 3) и инвазивная протоковая карцинома (Грейд 2). Метастазы в регионарных лимфатических узлах определялись в 5 случаях, в 34 отсутствовали. В 1 случае опухоль определялась как метастаз рака молочной железы в кожу.

В последние годы предпринимаются попытки создания классификации РМЖ основанные на данных ИГХ и результатах изучения профиля геной экспрессии (gene expression profiling GEP). Sorlie et al (2001) выделил пять подгрупп РМЖ на основании их GEP и особенностей иммуногистохимии: люминальный А, люминальный Б, с гиперэкспрессией Her2/нео, (BL) базально-подобный и подобный нормальной молочной железе [21]. Для ТНРМЖ на основании GEP, так же выделены субтипы для поиска подходов к разработке методов молекулярной таргетной терапии: BL-1 и BL-2, иммуномодуляторный субтип, мезинхимальный и мезинхимально стволовой, люминальный андроген рецепторный субтип [1].

Андроген рецепторный субтип характеризуется наличием AR позитивностью и ER нега-

тивностью. Экспрессия AR mRNA в нем в 9 раз выше, чем в других субтипах. Клетки этих линий были высокочувствительны к AR антагонистам, в частности к бикалутамиду [11].

Наличие андрогеновых рецепторов в клетках ТНРМЖ, установлено в 11 (22%) из 50 случаев ТНРМЖ. Количество злокачественных клеток с андрогеновыми рецепторами от общего количества клеток РМЖ составляло от 1% до 55%, среднее значение - 25±22%.

Метастазы в регионарных лимфатических узлах не определялись ни в одном случае AR+ тройного негативного рака молочной железы. Это наше наблюдение позволяет предположить, что AR+ клетки ТНРМЖ значительно медленнее метастазируют в региональные лимфатические узлы, по сравнению с AR- клетками ТНРМЖ.

У пациенток с AR- ТНРМЖ метастазы в регионарных лимфатических узлах определялись в 5 случаях (12,8%), отдаленные - в 1 случае (2,6%).

Заключение

Определение андрогеновых рецепторов клеток рака молочной железы иммуногистохимическим методом является прогностически ценным. В ближайшее время на фармацевтическом рынке появится новый класс противоопухолевых лекарственных средств для лечения рака молочной железы – антагонисты андрогеновых рецепторов, для которых определение андрогеновых рецепторов клеток рака молочной железы будет важным критерием назначения таргетной терапии.

Сказанное выше, учитывая относительно небольшую стоимость одного определения рецепторов андрогенов (2,1 евро), диктует необходимость продолжения этих исследований в различных биологических типах рака молочной железы, для установления прогностической значимости рецепторов андрогенов, а также накопления архивных материалов для возможного лечения рецидивов при внедрении в практику новых таргетных лекарственных средств.

Литература

1. Gao W. Androgen receptor as a therapeutic target. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2010 Oct; Vol. 62, N13: 1277-1284.
2. Zhou J. et al. Primate mammary gland insulin-like growth factor system: cellular localization and regulation by sex steroids. *J. Investig. Med.* 2001 Jan; Vol. 49, N1: 47-55
3. Farmer P. et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene.* 2005 Jul; Vol. 24, N29: 4660-4671.
4. Brys M. Androgens and androgen receptor: do they play a role in breast cancer? *Med. Sci. Monit.* 2000 Mar-Apr; Vol. 6, N2: 433-438.
5. Liao D.J., Dickson R.B. Roles of androgens in the development, growth, and carcinogenesis of the mammary gland. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2002 Feb; Vol. 80, N2: 175-189
6. Isola J.J. Immunohistochemical demonstration of androgen receptor in breast cancer and its relationship to other prognostic factors. *J. Pathol.* 1993 May; Vol. 170, N1: 31-35.
7. Moinfar F. et al. Androgen receptors frequently are expressed in breast carcinomas: potential relevance to new therapeutic strategies. *Cancer* 2003 Aug; Vol. 98, N4: 703-711.

8. Hu R. et al. Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women. *Clin. Cancer. Res.* 2011 Apr; Vol. 17, N7: 1867-1874.
9. Niemeier L.A. et al. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Mod. Pathol.* 2010 Feb; Vol. 23, N2: 205-212.
10. Gucalp A. et al. Targeting the androgen receptor (AR) in women with AR+ ER-/PR- metastatic breast cancer (MBC). *J. Clin. Oncol.* 2012; Vol. 20, 18 suppl.
11. Park S. et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers. *Ann. Oncol.* 2011; Vol. 22, N8: 1755-1762.
12. Castellano I. et al. Androgen receptor expression is a significant prognostic factor in estrogen receptor positive breast cancers. *Breast. Cancer. Res. Treat.* 2010 Dec; Vol. 124, N3: 607-617.
13. Schippinger W. et al. Evaluation of the prognostic significance of androgen receptor expression in metastatic breast cancer. *Virchows. Archiv.* 2006 Jul; Vol. 449, N1: 24-30.
14. Søiland H. et al. Prognostic relevance of androgen receptor detection in operable breast cancer. *J. Surg. Oncol.* 2008 Dec; Vol. 98, N76: 551-558.
15. Shah P.D., Gucalp A., Traina T.A. The role of the androgen receptor in triple-negative breast cancer. *Women's Health* 2013; Vol. 9, N4: 351-360.
16. Robinson J.L. et al. Androgen receptor driven transcription in molecular apocrine breast cancer is mediated by FoxA1. *EMBO J.* 2011 Jun; Vol. 30, N15: 3019-3027.
17. Sutton L.M. et al. Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with androgen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2012 Oct; Vol. 138, N4: 511-516.
18. Tang D. et al. The expression and clinical significance of the androgen receptor and E-cadherin in triple-negative breast cancer. *Medical. Oncol.* 2012 Jun; Vol. 29, N2: 526-533.
19. Gucalp A. et al. Phase II trial of bicalutamide in patients with androgen receptor-positive, estrogen receptor-negative metastatic Breast Cancer. *Clin. Cancer. Res.* 2013 Oct; Vol. 19, N19: 5505-5512.
20. Barton V.N. et al. Multiple molecular subtypes of triple-negative breast cancer critically rely on androgen receptor and respond to enzalutamide in vivo. *Mol. Cancer. Ther.* 2015 Mar; Vol. 14, N3: 769-778.
21. Sørli T. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001; Sep 11; 98(19): 10869-74.

Сведения об авторах:

Крылов Андрей Юрьевич – к.м.н., врач-патологоанатом, заведующий кафедрой судебно-медицинских экспертиз с курсом лабораторных исследований вещественных доказательств ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки кадров Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Адрес: г. Минск, ул. Кижеватова, 60 к.7. Телефон +375-29-614-87-41. E-mail: andrej_krilov@mail.ru

Крылов Юрий Васильевич – Начальник бюро, д.м.н., профессор, УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро». Адрес: г. Витебск, ул. В.Интернационалистов, 37-В. 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 8.12.2015 г.