

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА – ПРАКТИЧЕСКОМУ ЗДРАВООХРАНЕНИЮ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014

УДК 616.24-006.04-078.33-091.8

Кобяков Д. С.¹, Авдалян А. М.², Лазарев А. Ф.², Лушникова Е. Л.³, Непомнящих Л. М.³

ВЗАИМОСВЯЗЬ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ И ВЫЖИВАЕМОСТИ ПРИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОМ РАКЕ ЛЕГКОГО С ЭКСПРЕССИЕЙ БЕЛКА И АМПЛИФИКАЦИЕЙ ГЕНА *HER2-NEU*

¹Бюджетное учреждение «Когалымская городская больница», 628481, г. Когалым; ²Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», 656049, г. Барнаул; ³ФГБУ «Научно-исследовательский институт региональной патологии и патоморфологии» СО РАМН, 630117, г. Новосибирск

Цель – исследовать содержание белка HER2 и гена HER2, CEP17 во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при немелкоклеточном раке легкого.

Материал и методы. Исследованы 218 операционных материалов немелкоклеточного рака легкого. Определяли белок HER2 методом иммуногистохимии (клон 4B5, Ventana) и ген HER2, CEP17 методом гибридизации *in situ* (SISH, Ventana).

Результаты. Найдена связь клинико-морфологических параметров по системе TNM с содержанием белка HER2 и состоянием CEP17 (для показателя N), содержанием белка HER2 и амплификацией гена HER2 (для гистогенеза опухоли). Выживаемость больных с HER2-отрицательным статусом лучше по сравнению с HER2-положительным статусом. Найдена высокая выживаемость больных при отсутствии амплификации гена HER2 и увеличения CEP17 или при наличии амплификации гена HER2 совместно с увеличением CEP17, низкая – при наличии амплификации гена HER2 или увеличения CEP17. При однофакторном регрессионном анализе HER2-статус опухоли имел влияние на выживаемость больных. Многофакторный регрессионный анализ не выявил взаимосвязи содержания белка HER2 и состояния гена HER2, CEP17 с выживаемостью больных.

Заключение. Содержание белка HER2 и гена HER2, CEP17 имеет связь с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных немелкоклеточным раком легкого.

Ключевые слова: HER2, иммуногистохимия; гибридизация *in situ*; немелкоклеточный рак легкого.

RELATIONSHIP BETWEEN CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS AND SURVIVAL IN NON-SMALL CELL LUNG CANCER WITH PROTEIN EXPRESSION AND GENE *HER2-NEU* AMPLIFICATION

Kobyakov D.S.¹, Avdalyan A.M.², Lazarev A.F.², Lushnikova E.L.³, Nepomnyashchikh L.M.³

¹Kogalymskaya City Hospital, 628481, Kogalym, Russian Federation; ²Altai branch N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center under the Russian Academy of Medical Sciences, 656049, Barnaul, Russian Federation; ³Research Institute of Regional Pathology and Pathomorphology Siberian Department RAMS, 630117, Novosibirsk, Russian Federation

Purpose. Study of the content of protein HER2 and gene HER2, CEP17 in conjunction with clinical and morphological parameters and survival in non-small cell lung cancer.

Material and methods. Investigated 218 surgery samples of non-small cell lung cancer. HER2 protein was determined by immunohistochemistry (clone 4B5, «Ventana») and gene HER2, CEP17 by hybridization *in situ* (SISH, «Ventana»).

Results. Found relationship between the clinical and morphological parameters on the TNM system with protein HER2 status and CEP17 (for value N), protein HER2 status and gene HER2 amplification (for tumor histogenesis). Survival of patients with protein HER2 negative status better than positive status. Found better survival in the absence of gene HER2 amplification and increase CEP17 or gene HER2 amplification in conjunction with increase CEP17, the worse survival – gene HER2 amplification or increase CEP17. In univariate regression analysis protein HER2 status had an impact on survival. Multivariate regression analysis showed no relationship protein HER2 status and gene HER2, CEP17 with patient survival.

Conclusion. The content of protein HER2 and gene HER2, CEP17 correlated with clinical and morphological parameters and survival of non-small cell lung cancer patients.

Key words: HER2; immunohistochemistry; hybridization *in situ*; non-small cell lung cancer.

Не менее 80% рака легкого приходится на немелкоклеточный рак легкого (НМКРЛ), результаты

лечения которого и выживаемость больных далеки от желаемых. В связи с этим на сегодняшний день актуальным является поиск предиктивных и прогностических факторов, связанных с назначением специфической таргетной терапии и выживаемостью больных НМКРЛ.

Семейство онкогенов *HER (erbB)* часто гиперэкспрессируется при раке легкого [1]. Онкоген *HER2 (erbB2)*, находится на длинном плече хромосомы 17 (q12-q21), продуктом этого онкогена является транс-

Для корреспонденции: Кобяков Дмитрий Сергеевич – канд. мед. наук, зав. патологоанатомическим отделением; 628481, Тюменская область, Ханты-Мансийский автономный округ-Югра, г. Когалым, ул. Молодежная, 19, e-mail: dskob@yandex.ru.

Correspondence to: Dmitriy Kobyakov – MD, PhD; e-mail: dskob@yandex.ru.

мембранный белок HER2 (erbB2) – рецептор с тирозинкиназной активностью к эпидермальному фактору роста. В раковых клетках гиперэкспрессия этого онкогена происходит за счет амплификации, и намного реже за счет мутации. Повышение содержания белка HER2 и амплификация гена *HER2* частое событие при инвазивном раке молочной железы, связанное с плохим прогнозом, резистентностью к гормонотерапии и ответом опухоли на терапию HER2 моноклональными антителами – трастузумабом (герцептин). Повышение содержания белка HER2 и амплификация гена *HER2* найдены также и при злокачественных опухолях желудка, толстой кишки, легкого [2, 3], что открывает возможность таргетной терапии опухолей этих локализаций.

В настоящее время для оценки возможности таргетной терапии используется иммуногистохимический (ИГХ) метод определения белка HER2 и гибридизация *in situ* для выявления гибридных ДНК-зондов к гену *HER2*. Разновидностью хромогенной гибридизации *in situ* является полностью автоматизированный метод SISH (Ventana), рекомендованный FDA для такого типа исследований – в этом методе ген *HER2* идентифицируется серебряной меткой, а центромерный участок хромосомы 17 (*CEP17*) – красителем Fast Red. Другим преимуществом данного метода, помимо автоматизации и стандартизации, является возможность исследования результатов на светооптическом уровне. По данным литературы, от 4 до 50% НМКРЛ окрашивались ИГХ методом на белок HER2 [1, 4–13], от 1% до 23% имели амплификацию гена *HER2* [5, 7, 11–13]. Также, в большинстве исследований НМКРЛ состояние гена *HER2* определялось методом FISH, результаты которого имеют незначительные расхождения с результатами хромогенной гибридизации *in situ*.

Анализ существующей литературы показал противоречивый характер связи содержания белка HER2 и амплификации гена *HER2* с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных НМКРЛ [1, 5, 7, 9–14]. Кроме того, отсутствуют работы, уточняющие взаимную связь состояния гена *HER2* и *CEP17* с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при НМКРЛ.

Целью работы стало исследование белка HER2 (методом ИГХ) и гена *HER2*, *CEP17* (методом SISH) во взаимосвязи с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью при НМКРЛ.

Материал и методы

Исследованы 218 операционных материалов НМКРЛ, удаленных за период 2007–2009 гг. в Алтайском краевом онкологическом диспансере (случаи с M1 и множественными опухолями исключены из исследования). Средний возраст пациентов составил 59 лет (от 35 до 75 лет), 185 (85%) мужчин и 33 (15%) женщины. Выполнена лобэктомия 156 (72%) пациентам и пневмонэктомия 6 (28%) 2 пациентам. Предоперационная лучевая и химиотерапия не проводилась. Постоперационная химиотерапия проведена 29 (13%) пациентам, чаще использовались цисплатин и этопозид. Постоперационная лучевая терапия проведена 67 (31%) пациентам, суммарной очаговой дозой 50–60 Гр. Патогистологическая характеристика опухолей определена согласно классификации TNM 7-го пересмотра [15] и представлена в табл. 1.

Таблица 1

ИГХ-HER2-статус, состояние гена *HER2*, *CEP17* и клинико-морфологические параметры НМКРЛ

Характеристика	Количество случаев	Положительный ИГХ-статус	SISH			
			тип N	тип P	тип A	тип AP
Первичная опухоль:						
T 1	59 (27)	24 (41)	49 (83)	5 (9)	2 (3)	3 (5)
T 2 и T 3	159 (73)	82 (52)	131 (82)	14 (9)	10 (6)	4 (3)
Наибольший размер, см:						
< 3	90 (41)	41 (46)	76 (85)	7 (8)	3 (3)	4 (4)
> 3	128 (59)	65 (52)	104 (81)	12 (10)	9 (7)	3 (2)
Лимфатические узлы:						
N 0	142 (65)	62 (44)	120 (85)	6 (4)	10 (7)	6 (4)
N 1–3	76 (35)	44 (58)	60 (79)	13 (17)	2 (3)	1 (1)
Стадия:						
I	113 (52)	50 (44)	95 (85)	5 (4)	7 (6)	6 (5)
II и III	105 (48)	56 (53)	85 (81)	14 (13)	5 (5)	1 (1)
Гистогенез:						
аденокарцинома	99 (45)	61 (62)	73 (74)	10 (10)	10 (10)	6 (6)
плоскоклеточный рак	119 (55)	45 (38)	107 (90)	9 (7)	2 (2)	1 (1)
Дифференцировка:						
высокая	55 (25)	25 (45)	43 (78)	6 (11)	4 (7)	2 (4)
умеренная и низкая	163 (75)	81 (50)	137 (84)	13 (8)	8 (5)	5 (3)

Примечание. В скобках – проценты.

Кусочки ткани фиксировали 18–24 ч в 10% нейтральном забуференном формалине. После стандартной проводки операционного материала готовили гистологические срезы толщиной 4 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, ШИК-реактивом/альциановым синим по Крейбергу. Для уточнения гистогенеза опухоли и с дифференциально-диагностической целью ИГХ методом определяли цитокератины 7 (клон SP52), 20 (клон SP33), High Molecular Weight (клон 34BE12), 5/6 (клон D5/16B4) в автоматическом стейнере Ventana XT (контроль окрашивания – эпидермис кожи и слизистая оболочка желудка). Для карцином железистого генеза характерным было положительное окрашивание на цитокератины 7/20 и отрицательное на цитокератины High Molecular Weight и 5/6, наоборот, для карцином плоскоклеточного генеза – положительное окрашивание на цитокератины High Molecular Weight, 5/6 и отрицательное – на цитокератины 7/20.

Срезы были окрашены ИГХ методом с первичными антителами к HER2 в иммуностейнере Ventana XT (диспенсер Ventana, Pathway Confirm (клон 4B5), согласно протоколу производителя (контроль окрашивания – HER2-положительный рак молочной железы). Оценку окрашивания проводили согласно рекомендациям производителя с модификацией предложенной для рака желудка [2], ввиду того, что НМКРЛ не является гормонозависимой опухолью,

как рак молочной железы. 0 – нет окрашивания или мембранное окрашивание менее 10% клеток; 1⁺ – слабое или фрагментарное мембранное окрашивание более 10% клеток; 2⁺ – слабое или умеренное базолатеральное или полное мембранное окрашивание более 10% клеток; 3⁺ – умеренное или выраженное базолатеральное или полное окрашивание более 10% клеток. ИГХ-статус опухоли определяли как отрицательный (ИГХ-окрашивание – 0 или 1⁺) или положительный (ИГХ окрашивание – 2⁺ или 3⁺).

Срезы были окрашены SISH методом на автоматическом стейнере Ventana XT набором INFORM HER2 Dual ISH DNA Probe Cocktail (Ventana) с двойной меткой – зондами для *HER2* и *CEP17* на одном стекле, соответственно протоколу производителя (независимо от степени экспрессии белка *HER2*). Оценку результатов окрашивания SISH проводили согласно инструкции к набору: подсчитывали метку в 20/40-ядрах опухолевых клеток (увеличение в 1000 раз), вычисляли соотношение *HER2/CEP17*. Оценку амплификации проводили согласно рекомендациям производителя: при соотношении *HER2/CEP17* < 1,8, считали, что амплификация гена *HER2* отсутствует, а при соотношении *HER2/CEP17* > 2,0 – наличие амплификации. При соотношении 1,8–2,0 в просчет включали дополнительный объем клеток до тех пор пока не получали пограничного уровня. Для оценки состояния *CEP17* использовали классификацию, предложенную S. Wang и соавт. [16]: при наличии менее 2,25 красной метки – отсутствие увеличения *CEP17*, при наличии более 2,25 красной метки – увеличение *CEP17*. По состоянию гена *HER2* и *CEP17* выделены четыре типа НМКРЛ: отсутствие амплификации гена *HER2* и отсутствие увеличения *CEP17* – тип N, отсутствие амплификации гена *HER2* и наличие увеличения *CEP17* – тип P, наличие амплификации гена *HER2* и отсутствие увеличения *CEP17* – тип A, наличие амплификации гена *HER2* и наличие увеличения *CEP17* – тип AP.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Statistica 6.0. При проверке статистических гипотез применяли двусторонний точный критерий Фишера для таблиц 2×2, коэффициент корреляции рангов Спирмена (*r*). Определяли общую скорректированную выживаемость больных за 5-летний период после операции, использовали метод Каплана–Мейера, логарифмический ранговый тест, регрессионную модель Кокса. Достоверность полученных критериев оценивали при *p* < 0,05.

Результаты и обсуждение

В НМКРЛ между ИГХ-статусом и амплификацией гена *HER2* выявлена умеренная корреляция (*r* = 0,38, *p* < 0,001). В табл. 1 представлены данные ИГХ-исследования и SISH-метода в зависимости от морфологических параметров НМКРЛ.

В исследованном нами материале НМКРЛ положительный ИГХ-статус опухоли выявлен в 106 (49%) случаях и примерно в половине случаев – отрицательный. Отмечалось статистически значимое увеличение количества случаев с положительным ИГХ-статусом в группе опухолей с наличием метастазов в лимфатические узлы по сравнению с опухолями без метастазов – соответственно 44 (58%) и 62 (44%) случая (*p* = 0,048). Количество случаев с положительным ИГХ-статусом достоверно больше

Таблица 2

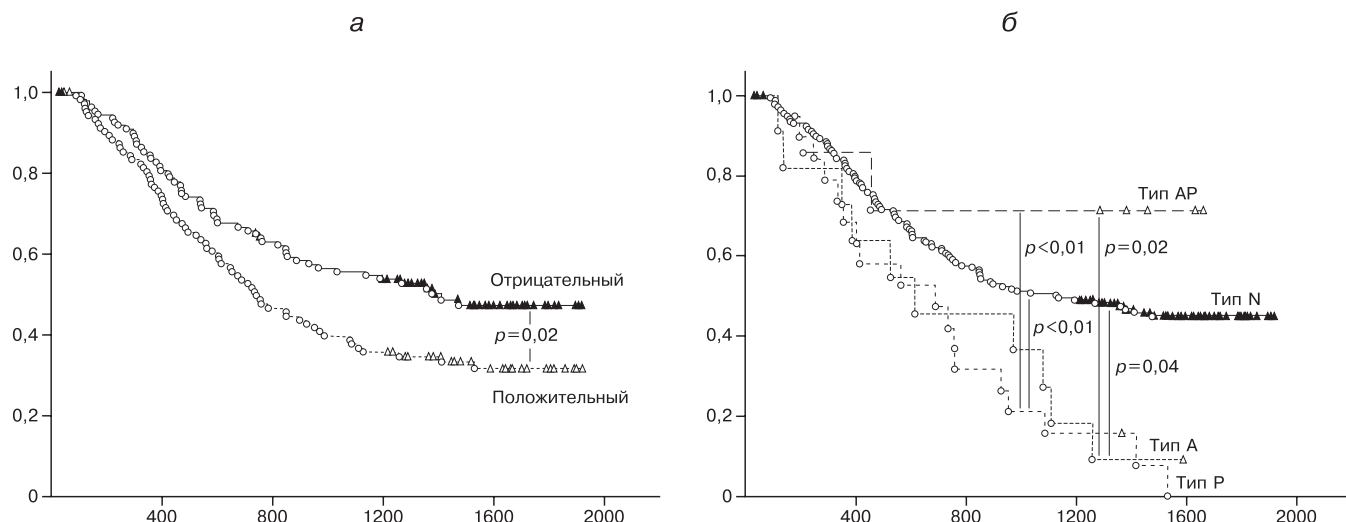
ИГХ-HER2-статус, состояние гена *HER2*, *CEP17* и выживаемость при НМКРЛ

Характеристика	Количество случаев	Пятилетняя общая скорректированная выживаемость, %
ИГХ-HER2-статус:		
отрицательный	112 (51)	46,8 ± 5,2
положительный	106 (49)	30,9 ± 5,0
Ген <i>HER2</i>:		
отсутствие амплификации	199 (91)	39,9 ± 3,8
амплификации	19 (9)	31,0 ± 11,5
<i>CEP17</i>:		
отсутствие увеличения	192 (88)	42,3 ± 3,8
увеличение	26 (12)	25,6 ± 8,9
Ген <i>HER2</i> и <i>CEP17</i>		
тип N	180 (82)	44,6 ± 4,0
тип P	19 (9)	9,5 ± 7,0
тип A	12 (6)	9,2 ± 8,8
тип AP	7 (3)	55,1 ± 19,6

в аденокарциноме легкого, чем в плоскоклеточном раке – соответственно 61 (62%) и 45 (38%) случаев (*p* < 0,001). ИГХ-статус опухоли имел слабую корреляцию с показателем N (*r* = 0,14, *p* = 0,04) и гистогенезом (*r* = 0,24, *p* < 0,001). Таким образом, содержание белка *HER2* в НМКРЛ взаимосвязано с гистогенезом и метастатическим потенциалом опухоли.

Хромогенная гибридизация *in situ* показала, что амплификация гена *HER2* была в 19 (9%) случаях, увеличение *CEP17* в 26 (12%) случаях. В четырех случаях аденокарциномы легкого амплификация гена *HER2* (без увеличения *CEP17*) определялась в виде кластеров (12 копий и более) и соответствовала высокому уровню амплификации. В остальных 15 случаях амплификация гена *HER2* определялась в виде отдельных множественных копий (от 4 до 8) и соответствовала низкому уровню амплификации. Во всех случаях увеличение *CEP17* было незначительной степени (до 4 красных меток). Количество случаев с амплификацией гена *HER2* достоверно больше в аденокарциноме легкого, чем в плоскоклеточном раке, – соответственно 16 (16%) и 3 (3%) случая (*p* < 0,001). Отмечалось статистически значимое увеличение количества случаев с увеличением *CEP17* в группе опухолей с наличием метастазов в лимфатические узлы по сравнению с опухолями без метастазов – соответственно 14 (18%) и 12 (8%) случаев (*p* = 0,047). Состояние *CEP17* имело слабую корреляцию с показателем N (*r* = 0,15; *p* = 0,03), а состояние гена *HER2* – с гистогенезом опухоли (*r* = 0,24; *p* < 0,001). Таким образом, в НМКРЛ состояние *CEP17* взаимосвязано с метастатическим потенциалом опухоли, а гена *HER2* – с гистогенезом.

Общая скорректированная выживаемость больных НМКРЛ за 5-летний период после операции составила 39,1±3,6%. Выживаемость больных НМКРЛ имела статистически значимое различие в зависимости



Графики выживаемости по Каплану-Мейеру больных НМКРЛ.

а – с отрицательным и положительным ИГХ-HER2-статусом; *б* – четырех типов опухоли (по состоянию гена *HER2* и *CEP17*). По оси абсцисс – время жизни (в днях); по оси ординат – доля выживших больных.

сти от ИГХ-статуса опухоли – выживаемость лучше при отрицательном ИГХ-статусе (табл. 2, рис. 1, *а*). Выживаемость больных НМКРЛ не имела статистически значимого различия в зависимости от состояния гена *HER2* (наличие или отсутствие амплификации; $p = 0,5$) и имела тенденцию к различию в зависимости от состояния *CEP17* (отсутствие увеличения или увеличение; $p = 0,07$).

При анализе выживаемости больных с четырьмя типами опухоли выявлено отсутствие отличий между типами N и AP ($p = 0,3$) и между типами A и P ($p = 0,7$). Наблюдалось статистически значимое снижение выживаемости больных с типами A и P, с одной стороны, по сравнению с типами N и AP – с другой стороны (табл. 2, рис. 1, *б*). Таким образом, выживаемость больных НМКРЛ взаимосвязана с содержанием белка HER2 и состоянием гена *HER2*, *CEP17*.

При проведении однофакторного регрессионного анализа только ИГХ-HER2-статус опухоли имел влияние на выживаемость больных НМКРЛ (табл. 3).

При проведении многофакторного регрессионно-

го анализа не имели влияния на выживаемость больных НМКРЛ следующие факторы: тип операции, послеоперационная химиорадиотерапия, показатель T, стадия заболевания, ИГХ-HER2-статус опухоли, состояние гена *HER2* (наличие или отсутствие амплификации) и *CEP17* (отсутствие увеличения или увеличение), данные о выделении четырех типов опухоли (по состоянию гена *HER2* и *CEP17*). Четыре критерия – показатель N (отсутствие или наличие метастазов), размер опухоли (до 3 см или более), гистогенез (аденокарцинома или плоскоклеточный рак), дифференцировка (высокая или умеренная/низкая) – имели независимое влияние на выживаемость больных НМКРЛ (табл. 3). Таким образом, однофакторный анализ показал, что содержание белка HER2 является прогностическим фактором. Однако при НМКРЛ содержание белка HER2 и состояние гена *Her2*, *CEP17* не являются факторами прогноза в совокупности с другими клинико-морфологическими данными по системе TNM.

В нашем исследовании найдена корреляция между ИГХ-HER2- статусом и амплификацией гена *HER2* в НМКРЛ, что согласуется с данными литературы [6, 13]. Однако G. Pelosi, и соавт [12] не нашли такой взаимосвязи.

В нашем исследовании НМКРЛ почти в половине опухолей определялся положительный ИГХ-статус, что согласуется с данными литературы [10]. Однако в других исследованиях [4–9, 11–13] сообщается о более низких значениях (4–30%) положительного ИГХ-окрашивания при НМКРЛ. Положительный ИГХ-статус опухоли чаще определялся в аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным раком. Аналогичные результаты получены в других исследованиях [1, 4, 7, 11, 13]. Однако G. Cox и соавт. [6] не нашли взаимосвязи ИГХ статуса с гистогенезом НМКРЛ. Положительный ИГХ-статус опухоли чаще определялся в группе опухолей с наличием метастазов в лимфатические узлы по сравнению с опухолями без метастазов. Связь ИГХ-HER2-статуса с метастатическим потенциалом НМКРЛ найдена и в других исследованиях [17].

Таблица 3

Регрессионный анализ по Коксу и факторы прогноза при НМКРЛ

Фактор прогноза	β	Стандартная ошибка	p
Однофакторный ($\chi^2 = 5,8$)			
ИГХ-HER2-статус	0,45	0,19	0,02
Многофакторный ($\chi^2 = 107,7$)			
N	1,38	0,31	< 0,001
Размер опухоли	1,12	0,32	< 0,001
Гистогенез	0,22	0,10	0,03
Дифференцировка	0,63	0,27	0,02

Амплификация гена *HER2* найдена в 19 (9%) случаях НМКРЛ: в 7 (3%) случаях – амплификация гена *HER2* совместно с увеличением *CEP17*, в 8 (4%) случаях – низкий уровень амплификации гена *HER2* и в 4 (2%) случаях – высокий уровень амплификации гена *HER2* (все случаи представлены аденокарциномой легкого). По данным литературы [5, 8, 11–13] высокий уровень амплификации гена *HER2* редкое явление при НМКРЛ (1–5% случаев) и чаще выявляется низкий уровень амплификации гена *HER2*, что соответствует нашим данным. По данным Н. Nakamura и соавт. [11] низкий уровень амплификации гена *HER2* при НМКРЛ взаимосвязан с увеличением *CEP17*, что также соответствует нашим данным.

С. Marchio и соавт. [18] показали, что из 18 случаев рака молочной железы с увеличением количества метки *CEP17* по данным FISH-анализа, только в одном случае была полисомия 17-й хромосомы. При НМКРЛ в 26 (12%) случаях нами было найдено увеличение *CEP17*, во всех случаях незначительной степени. Н. Nakamura и соавт. [11] указывают на более высокие значения увеличения *CEP17* при НМКРЛ – 44%. Вероятно, при НМКРЛ, как и при раке молочной железы, увеличение *CEP17* связано с изменениями в центромерном участке 17-й хромосомы, а не с полисомией 17-й хромосомы. Во всех случаях увеличения *CEP17* ИГХ-*HER2*-статус опухоли был положительный, что может указывать на не транскрипционную регуляцию белка *HER2* в клетках.

При НМКРЛ амплификация гена *HER2* определялась чаще в аденокарциноме по сравнению с плоскоклеточным раком, что соответствует одним данным литературы [7] и противоречит другим [9]. Увеличение *CEP17* чаще определялось в опухолях с наличием метастазов в лимфатические узлы по сравнению с опухолями без метастазов. Аналогичную взаимосвязь показали J. Ma и соавт. [19] – наличие корреляции изменения хромосомного локуса 17q12–22 с метастатическим потенциалом плоскоклеточного рака легкого.

ИГХ-*Her2*-статус НМКРЛ имел связь с выживаемостью больных, что подтверждается в одних данных литературы [10] и не найдено в других [11, 12]. Выживаемость больных НМКРЛ с наличием или отсутствием амплификации гена *HER2*, а также с отсутствием увеличения или увеличением *CEP17* не имела достоверных различий. Однако при анализе выживаемости больных НМКРЛ по взаимному состоянию гена *HER2* и *CEP17*, найдено, что пациенты с типом AP имеют наилучшую выживаемость из четырех типов, которая статистически не отличалась от типа N. Также найдено, что выживаемость больных с типом A и типом P достоверно короче, чем больных с типом AP и типом N. Связано это с тем, что в нашем исследовании было 7 пациентов с типом AP: 2 случая законченных (прожили 209 и 453 дня) и 5 случаев незаконченных (прожили не менее 3,5 года, все пациенты живы). Взаимосвязь амплификации гена *HER2* с выживаемостью больных НМКРЛ также прослежена в ряде исследований [5, 7, 13]. В то же время, в других работах такой взаимосвязи не отмечается [11, 12]. Н. Onchi и соавт. [20] и Н. Yoon и соавт. [21] показали взаимосвязь увеличения *CEP17* с выживаемостью больных аденокарциномой желудка и пищевода. При раке молочной железы было показано, что больные с отсутствием амплифи-

кации гена *HER2* и увеличения *CEP17* имеют лучшую выживаемость по сравнению с больными с амплификацией гена *HER2*, больные с увеличением *CEP17* имеют промежуточную выживаемость и тенденцию отличия ($p = 0,056$) от больных с отсутствием амплификации гена *HER2* и увеличением *CEP17* [22].

При проведении многофакторного регрессионного анализа данные ИГХ окрашивания белка *HER2* и данные SISH-метода не имели влияния на выживаемость больных НМКРЛ. Только при однофакторном регрессионном анализе ИГХ-*HER2*-статус опухоли имел влияние на выживаемость больных НМКРЛ. Наши результаты согласуются с данными метаанализа проведенного L. Liu и соавт. [14] – прогностическую ценность имеет содержание белка *HER2*, в то время как амплификация гена *HER2* не связана с прогнозом НМКРЛ.

Таким образом, содержание белка *HER2* и гена *HER2*, *CEP17* имеет связь с клинико-морфологическими параметрами и выживаемостью больных НМКРЛ. Тестирование на *HER2* открывает возможность назначения таргетной терапии пациентам НМКРЛ, в первую очередь пациентам с аденокарциномой легкого.

Выводы

1. В НМКРЛ найдена связь клинико-морфологических параметров по системе TNM с содержанием белка *HER2* и состоянием *CEP17* (для показателя N), содержанием белка *HER2* и амплификацией гена *HER2* (для гистогенеза опухоли).
2. Выживаемость больных НМКРЛ с *HER2*-отрицательным ИГХ-статусом лучше по сравнению с *HER2*-положительным ИГХ-статусом.
3. Выживаемость больных НМКРЛ высокая при отсутствии амплификации гена *HER2* и увеличения *CEP17* или при наличии амплификации гена *HER2* совместно с увеличением *CEP17*, низкая – при наличии амплификации гена *HER2* или увеличения *CEP17*.
4. При однофакторном регрессионном анализе ИГХ-*HER2*-статус опухоли имел влияние на выживаемость больных НМКРЛ. Многофакторный регрессионный анализ не выявил взаимосвязи содержания белка *HER2* и состояния гена *HER2*, *CEP17* с выживаемостью больных.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Reinmuth N., Brandt B., Kunze W.P., Junker K., Thomas M., Achatzy R. et al. Ploidy, expression of erbB1, erbB2, p53 and amplification of erbB1, erbB2 and erbB3 in non-small cell lung cancer. *Eur. Respir. J.* 2000; 16: 991–6.
2. Hofmann M., Stoss O., Shi D., Büttner R., van de Vijver M., Kim W. et al. Assessment of a *HER2* scoring system for gastric cancer: results from a validation study. *Histopathology*. 2008; 52: 797–805.
3. Schraml P., Kononen J., Bubendorf L., Moch H., Bissig H., Nocito A. et al. Tissue microarrays for gene amplification surveys in many different tumor types. *Clin. Cancer. Res.* 1999; 5: 1966–75.
4. Au N.H., Cheang M., Huntsman D.G., Yorlida E., Coldman A., Elliott W.M. et al. Evaluation of immunohistochemical markers in non-small cell lung cancer by unsupervised hierarchical clustering analysis: a tissue microarray study of 284 cases and 18 markers. *J. Pathol.* 2004; 204: 101–9.
5. Cappuzzo F., Varella-Garcia M., Shigematsu H., Domenichini

- I., Bartolini S., Ceresoli G.L. et al. Increased HER2 gene copy number is associated with response to gefitinib therapy in epidermal growth factor receptor-positive non-small-cell lung cancer patients. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23: 5007–18.
6. Cox G., Vyberg M., Melgaard B., Askaa J., Oster A., O'Byrne K.J. Herceptest: HER2 expression and gene amplification in non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer.* 2001; 92: 480–3.
7. Grob T.J., Kannengiesser I., Tsoulakis M.C., Atanackovic D., Koenig A.M., Vashist Y.K. et al. Heterogeneity of ERBB2 amplification in adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and large cell undifferentiated carcinoma of the lung. *Mod. Pathol.* 2012; 25: 1566–73.
8. Hirashima N., Takahashi W., Yoshii S., Yamane T., Ooi A. Protein overexpression and gene amplification of c-erb B-2 in pulmonary carcinomas: a comparative immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Mod. Pathol.* 2001; 14: 556–62.
9. Hirsch F.R., Varella-Garcia M., Franklin W.A., Veve R., Chen L., Helfrich B. et al. Evaluation of HER-2/neu gene amplification and protein expression in non-small cell lung carcinomas. *Br. J. Cancer.* 2002; 86: 1449–56.
10. Hsieh C.C., Chow K.C., Fahn H.J., Tsai C.M., Li W.Y., Huang M.H. et al. Prognostic significance of HER-2/neu overexpression in stage I adenocarcinoma of lung. *Ann. Thorac. Surg.* 1998; 66: 1159–64.
11. Nakamura H., Saji H., Ogata A., Hosaka M., Hagiwara M., Kawasaki N. et al. Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer. *Int. J. Cancer.* 2003; 103: 61–6.
12. Pelosi G., Del Curto B., Dell'Orto P., Pasini F., Veronesi G., Spaggiari L. et al. Lack of prognostic implications of HER-2/neu abnormalities in 345 stage I non-small cell carcinomas (NSCLC) and 207 stage I–III neuroendocrine tumours (NET) of the lung. *Int. J. Cancer.* 2005; 113: 101–8.
13. Tan D., Deeb G., Wang J., Slocum H.K., Winston J., Wiseman S. et al. HER-2/neu protein expression and gene alteration in stage I–III non-small-cell lung cancer: a study of 140 cases using a combination of high throughput tissue microarray, immunohistochemistry, and fluorescent in situ hybridization. *Diagn. Mol. Pathol.* 2003; 12: 201–11.
14. Liu L., Shao X., Gao W., Bai J., Wang R., Huang P. et al. The role of human epidermal growth factor receptor 2 as a prognostic factor in lung cancer: a meta-analysis of published data. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 1922–32.
15. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C. (Eds.): *TNM Classification of Malignant Tumours*. 7th Ed. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009: 138–46.
16. Wang S., Hossein Saboorian M., Frenkel E.P., Haley B.B., Siddiqui M.T., Gokaslan S. et al. Aneuploidy 17 in breast cancer: its role in HER-2/neu protein expression and implication for clinical assessment of HER-2/neu status. *Mod. Pathol.* 2002; 15: 137–45.
17. Panagiotou I., Georgiannos S.N., Tsiambas E., Karameris A., Konstantinou M., Lazaris A.C. et al. Impact of HER2 and PTEN simultaneous deregulation in non-small cell lung carcinoma: correlation with biological behavior. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2012; 13: 6311–8.
18. Marchio C., Lambros M.B., Gugliotta P., Di Cantogno L.V., Botta C., Pasini B. et al. Does chromosome 17 centromere copy number predict polysomy in breast cancer? A fluorescence in situ hybridization and microarray-based CGH analysis. *J. Pathol.* 2009; 219: 16–24.
19. Ma J., Gao M., Lu Y., Feng X., Zhang J., Lin D. et al. Gain of 1q25-32, 12q23-24.3, and 17q12-22 facilitates tumorigenesis and progression of human squamous cell lung cancer. *J. Pathol.* 2006; 210: 205–13.
20. Onchi H., Hirose K., Yamaguchi A., Noriki S., Fukuda M. Prognostic value of numerical aberrations of chromosome 17 in differentiated gastric cancer: evaluation by multivariate regression analysis. *Oncol. Rep.* 2000; 7: 1317–22.
21. Yoon H.H., Shi Q., Sukov W.R., Lewis M.A., Sattler C.A., Wiktor A.E. et al. Adverse prognostic impact of intratumor heterogeneous HER2 gene amplification in patients with esophageal adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 3932–8.
22. Vanden Bempt I., Van Loo P., Drijkoningen M., Neven P., Smeets A., Christiaens M.R. et al. Polysomy 17 in breast cancer: clinicopathologic significance and impact on HER-2 testing. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 4869–74.

Поступила 19.05.14
Received 19.05.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2014
УДК 618.11-006.04-07:577.21.08

Никогосян С.О., Барышников А.Ю., Степанова Е.В., Кузнецов В.В., Карапетян В.Л.

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИНДЕКСА KI-67 В ТКАНИ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ I И II СТАДИИ

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, 115211, г. Москва

Прогноз больных раком яичников (РЯ) зависит от ряда клинических, морфологических, иммунологических и молекулярно-биологических факторов. Благодаря проведенному исследованию полученные данные указывают на то, что Ki-67 характерен для самой агрессивной формы РЯ – серозной цистаденокарциномы яичников, и что с высоким индексом Ki-67 в ткани опухоли сопряжен неблагоприятный прогноз заболевания даже при I и II стадии болезни, т. е. белок Ki-67 может быть рассмотрен в качестве неблагоприятного молекулярного фактора прогноза РЯ начальных стадий.

Ключевые слова: рак яичников; серозная цистаденокарцинома яичников; индекс Ki-67.

CLINICAL VALUE OF KI-67 INDEX IN TUMOR TISSUE IN PATIENTS WITH STAGE I AND II OVARIAN CANCER

Nikogosyan S.O., Baryshnikov A.Yu., Stepanova E.V., Kuznetsov V.V., Karapetyan V.L.

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center under the Russian Academy of Medical Sciences, 115478, Moscow, Russian Federation