

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017
УДК 616.24-006.66-078.33-091.8-074

Панасьян А.У.^{1,2}, Кобяков Д.С.³, Авдальян А.М.¹, Иванов А.А.¹, Лушников Е.Л.⁴, Бакарев М.А.⁴, Лазарев А.Ф.¹

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ ALK, HER2 И АМПЛИФИКАЦИИ ГЕНА *HER2* С ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ И ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ ПРИ АДЕНОКАРЦИНОМЕ ЛЁГКОГО I–II СТАДИИ

¹Алтайский филиал ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 656049, г. Барнаул, Россия;

²КГБУЗ «Алтайский онкологический диспансер», 656043, г. Барнаул, Россия;

³МБЛПУ «Когалымская городская больница», 628481, г. Когалым, Россия;

⁴ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии», 630117, г. Новосибирск, Россия

Целью исследования явилось определение содержания белков ALK, Her2 и гена Her2, CEP17 во взаимосвязи с пролиферативной активностью и выживаемостью при аденокарциноме лёгкого I–II стадии.

Материал и методы. Исследовано 82 операционных материала аденокарциномы лёгкого I–II стадии. Методом иммуногистохимии определяли белок ALK (клон D5F3, «Ventana»), белок Her2 (клон 4B5, «Ventana»), топоизомеразу IIa (клон JS5B4, «Ventana»), Ki-67 (клон MIB-1, «Dako»), а также ген Her2 методом SISH («Ventana»). **Результаты.** Положительная экспрессия ALK определена в 4(5%) случаях, Her2 – в 16(20%) и амплификация гена Her2 – в 7(9%) случаях. В аденокарциноме лёгкого с положительной экспрессией белка ALK и амплификацией гена Her2 отмечена низкая пролиферативная активность (по индексу метки Ki-67 и топоизомеразы IIa). Выживаемость больных аденокарциномой лёгкого была меньше при положительной экспрессии белка ALK по сравнению с отрицательной (отличие недостоверно). Статистически значимая низкая выживаемость больных установлена при амплификации гена Her2. При одно- и многофакторном регрессионном анализе амплификация гена Her2 была связана с плохим прогнозом. **Заключение.** Мутация гена ALK и амплификация гена Her2 взаимосвязаны с пролиферативной активностью и выживаемостью больных аденокарциномой лёгкого.

Ключевые слова: белок ALK; белок Her2; пролиферативная активность; выживаемость; аденокарцинома лёгкого.

Для цитирования: Панасьян А.У., Кобяков Д.С., Авдальян А.М., Иванов А.А., Лушников Е.Л., Бакарев М.А., Лазарев А.Ф. Взаимосвязь экспрессии белков ALK, Her2 и амплификации гена Her2 с пролиферативной активностью и выживаемостью при аденокарциноме лёгкого I–II стадии. *Российский онкологический журнал*. 2017; 22(4): 209–213. DOI <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-4-209-213>

Для корреспонденции: Панасьян Артак Урадович, науч. сотр. отделения по разработке новых методов лечения в торакальной онкологии; 656049, г. Барнаул, ул. Никитина, д. 77. E-mail: urartu26@yandex.ru.

Panas'yan A.U.^{1,2}, Kobyakov D.S.³, Avdalyan A.M.¹, Ivanov A.A.¹, Lushnikova E.L.⁴, Bakarev M.A.⁴, Lazarev A.F.¹

INTERRELATION OF THE EXPRESSION OF PROTEINS ALK, HER2 AND AMPLIFICATION OF THE GENE OF *HER2* WITH THE PROLIFERATIVE ACTIVITY AND SURVIVAL IN PATIENTS WITH STAGE I–II LUNG ADENOCARCINOMA

¹Altai branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Barnaul, 656049, Russian Federation;

²Altai Krai Oncology Centre, Barnaul, 656043, Russian Federation;

³Kogalym municipal hospital, Kogalym, 628481, Russian Federation;

⁴Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, 630117, Russian Federation

To investigate protein content of ALK, Her2 and gene of Her2, CEP17 in interrelation with proliferative activity and survival in I–II stages lung adenocarcinoma cases. There were investigated 82 surgery samples taken from I–II stage lung adenocarcinoma patients. With the use of immunohistochemical method ALK protein (clone D5F3, Ventana), Her2 protein (clone 4B5, Ventana), topoisoмерase IIa (clone JS5B4, Ventana), Ki-67 (clone MIB-1, Dako) were determined, Her2 gene was investigated with the use of the SISH method (Ventana) also. The positive expression of ALK is detected in 4(5%) cases, Her2 – in 16(20%) cases and amplification of Her2 gene – in 7(9%) cases. In lung adenocarcinoma with positive expression of ALK protein and amplification of Her2 gene low proliferative activity was noted (on labeling index Ki-67 and topoisoмерase IIa). The survival of lung adenocarcinoma patients was less in cases of a positive expression of ALK protein in comparison with patients with the negative expression (difference is not reliable). Statistically significant low survival rates of patients is found in cases with amplification of Her2 gene. According to data mono- and multifactor regression analysis the amplification of Her2 gene has been interrelated with the poor forecast. Mutation of ALK gene and amplification of Her2 gene are interrelated with the proliferative activity and survival rate of lung adenocarcinoma patients.

Keywords: ALK; Her2; proliferative activity; survival; lung adenocarcinoma.

For citation: Panas'yan A.U., Kobyakov D.S., Avdalyan A.M., Ivanov A.A., Lushnikova E.L., Bakarev M.A., Lazarev A.F. Interrelation of the expression of proteins ALK, Her2 and amplification of the gene of Her2 with the proliferative activity and survival in patients with stage I–II lung adenocarcinoma. *Rossiyskiy onkologicheskiy zhurnal*. (Russian Journal of Oncology). 2017; 22(4): 209–213. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1028-9984-2017-22-4-209-213>

For correspondence: Artak U. Panas'yan, MD, Researcher of the Department for the Development of Modern Methods of Treatment in Thoracic Oncology of the Altai Branch of the N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; Barnaul, 656049, Russian Federation. E-mail: urartu26@yandex.ru.

Information about authors:

Panas'yan A.U., <http://orcid.org/0000-0002-8786-8392>

Kobyakov D.S., <http://orcid.org/0000-0001-5321-7113>

Avdalyan A.M., <http://orcid.org/0000-0002-2229-1713>

Ivanov A.A., <http://orcid.org/0000-0001-5040-8854>

Lushnikova E.L., <http://orcid.org/0000-0003-3283-7932>

Bakarev M.A., <http://orcid.org/0000-0002-9614-592X>

Lazarev A.F., <http://orcid.org/0000-0003-1080-5294>

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The study has no sponsorship.

Received 30 January 2017

Accepted 16 February 2017

На сегодняшний день среди случаев немелкоклеточного рака лёгкого отмечается увеличение частоты аденокарциномы лёгкого (Ак) по отношению к плоскоклеточному раку. Также в Ак найдены специфические генетические изменения, определяющие назначение таргетной терапии. В связи с этим является актуальным анализ молекулярно-биологических факторов, связанных с назначением таргетной терапии и прогнозом жизни больного.

Белок ALK – это трансмембранный тирозинкиназный рецептор. Чаще всего в Ак гиперэкспрессия происходит за счёт внутрихромосомной мутации – инверсии на коротком плече хромосомы 2 части гена *ALK* с геном *EML4*, в результате чего образуется слитный белок *EML4-ALK*, приводящий к активации внутриклеточных каскадов и повышению пролиферации, угнетению апоптоза клетки. Гиперэкспрессия *ALK* при Ак выявляется с частотой от 1,4 до 11,2% [1, 2]. Первым таргетным препаратом, показавшим эффективность в отношении выживаемости больных Ак, был кризотиниб.

Онкоген *Her2 (erbB2)* находится на длинном плече хромосомы 17 (q12–q21), продуктом этого онкогена является трансмембранный белок *Her2 (erbB2)* – рецептор с тирозинкиназной активностью относительно эпидермального фактора роста. В раковых клетках гиперэкспрессия этого онкогена происходит за счёт амплификации и намного реже за счёт мутации. Амплификация гена *Her2* часто наблюдается при инвазивном раке молочной железы, в противоположность этому частота амплификации гена *Her2* при Ак оценивается крайне вариабельно – от 2 до 38% [3, 4]. На сегодняшний день ведётся оценка эффективности терапии Ак препаратом трастузумаб (герцептин).

В схемы химиотерапии Ак включены препараты антрациклинового ряда, ингибирующие фермент топоизомеразу $\Pi\alpha$ (Торо $\Pi\alpha$), степенью активности которого обусловлена чувствительность опухоли к данным препаратам. Торо $\Pi\alpha$ – белок с ферментативной активностью, участвующий в топологической сборке ДНК во время транскрипции, конденсации и сегрегации хромосом. Он выявляется в клетках в S-, G₂-, M-фазе клеточного цикла, поэтому является также маркером пролиферативной активности [5]. Для оценки пролиферативной активности общепризнанным и доступным является иммуногистохимическое определение уровня антигена Ki-67. Антиген Ki-67 выявляется в клетках в поздних G₁-, S-, G₂-, M-фазе, однако функциональное значение этого ядерного белка в процессе пролиферации до конца не выяснено. Метаанализ исследований показал взаимосвязь повышенной экспрессии Ki-67 с прогнозом Ак [6].

Анализ имеющейся литературы показал противоречивый характер связи изменений в генах *ALK* и *Her2* с пролиферативной активностью и выживаемостью больных Ак [1, 3, 4, 7–12]. Исследовали мутации гена *ALK* и состояние гена *Her2* в отношении

пролиферативной активности и выживаемости при Ак.

С учётом вышеизложенного целью работы было определение содержания белков ALK, *Her2* и гена *Her2, CEP17* во взаимосвязи с пролиферативной активностью и выживаемостью при Ак лёгкого I–II стадии.

Материал и методы

Исследовано 82 операционных материала Ак, удалённые за период 2007–2009 гг. в Алтайском краевом онкологическом диспансере (случаи с М1 и множественными опухолями исключены из исследования). Средний возраст пациентов – 59 (72%) мужчин и 23 (28%) женщин составил 61 год (от 45 до 75 лет). Выполнена лобэктомия 73 (89%) пациентам и пневмонэктомия 9 (11%) пациентам. Предоперационная лучевая и химиотерапия не проводились. Постоперационная химиотерапия проведена 11 (13%) пациентам, чаще использовались цисплатин и этопозид. Постоперационную лучевую терапию суммарной очаговой дозой 50–60 Гр получили 22 (27%) пациента. Патогистологическая характеристика опухолей определена согласно классификации TNM 7-го пересмотра [13]: T1 – у 28 (34%) пациентов, T2 – у 54 (66%); до 3 см – у 48 (59%), более 3 см – у 34 (41%); с N0 – у 64 (78%), N1 – у 18 (22%); стадия I – у 60 (73%), стадия II – у 22 (27%) пациентов. Гистологический тип определён согласно классификации IASLC/ATS/ERS [14]: преимущественно лепидический – у 8 (10%), преимущественно ацинарный – у 38 (46%), преимущественно солидный – у 36 (44%) пациентов.

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/алциановым синим. Выполняли иммуногистохимическое окрашивание в автоматическом режиме в автостейнере BenchMark XT («Ventana») с системой визуализации ultraView Universal DAB Detection Kit («Ventana»). Использовались 2 группы первичных антител. Первая группа первичных антител – дифференциально-диагностические маркёры, характеризующие гистогенез опухоли: цитокератин 7 (клон SP52, «Ventana»), цитокератин 20 (клон SP33, «Ventana»), TTF-1 (клон SP141, «Ventana») (контроль окрашивания – слизистая оболочка желудка). Для Ак характерным было положительное окрашивание на цитокератин 7 и TTF-1, в меньшей степени – на цитокератин 20. Вторая группа первичных антител – молекулярно-биологические маркёры, отражающие специфические характеристики опухоли: ALK (клон D5F3, «Ventana»), *Her2* (клон 4B5, «Ventana»), топоизомеразы $\Pi\alpha$ (клон JS5B4, «Ventana»), Ki-67 (клон MIB-1, «Dako»). В каждом случае при исследовании белка ALK (контроль окрашивания – ALK-положительная Ак) отрицательной экспрессией считалось отсут-

ствие цитоплазматического гранулярного окрашивания, положительной экспрессией – наличие окрашивания. Оценку окрашивания на белок Her2 (контроль окрашивания – Her2-положительный рак молочной железы) проводили согласно рекомендациям производителя с модификацией, предложенной для рака желудка [15], поскольку Ак 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 либо полное окрашивание более 10% клеток. Иммуногистохимический статус опухоли определяли как отрицательный (окрашивание 0 или 1+) или положительный (окрашивание 2+ или 3+). При исследовании Ki-67 и ТороПа исследовали 1000 клеток в 5–7 полях зрения микроскопа при ув. 400. Вычисляли индекс метки (ИМ) – количество положительно окрашенных клеток от общего числа исследованных клеток, выраженное в процентах. Так как распределение ИМ Ki-67 или ТороПа было непараметрическим, данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала (и. и.).

Срезы были окрашены SISH-методом в автостейнере BenchMark XT («Ventana») 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). Результаты окрашивания SISH оценивали согласно инструкции к набору: подсчитывали метку в 20/40 ядрах опухолевых клеток (ув. 1000), вычисляли соотношение Her2/CEP17. Оценку амплификации проводили согласно рекомендациям производителя: при соотношении Her2/CEP17 < 1,8 считали, что амплификация гена *Her2* отсутствует, при соотношении Her2/CEP17 > 2,0 регистрировали наличие амплификации. При соотношении 1,8–2,0 в расчёт включали дополнительный объём 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 красных меток – отсутствие увеличения CEP17, при наличии более 2,25 красных меток – увеличение CEP17. По состоянию генов *Her2* и *CEP17* выделены 4 типа Ак: 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 2Ч2, коэффициент корреляции рангов Спирмена (*r*). Определяли общую скорректированную выживаемость больных за 3-, 5- и 9-летний период после операции, использовали метод Каплана–Мейера, логарифмический ранговый тест, регрессионную модель Кокса. Достоверность полученных критериев оценивали при $p < 0,05$.

Результаты

При Ак положительная экспрессия ALK (см. рисунок, а, 3-я полоса вклейки) определена в 4 (5%) слу-

чаях: у 3 женщин и 1 мужчины, в 2 случаях отмечена I стадия и в 2 случаях II стадия заболевания, во всех случаях – преимущественно ацинарное строение. При Ак положительный Her2-статус (см. рисунок, б, 3-я полоса вклейки) определен в 16 (20%) случаях. Хромогенная гибридизация *in situ* показала амплификацию гена *Her2* в 7 (9%) случаях, увеличение CEP17 в (5%) случаях и амплификацию гена *Her2* совместно с увеличением CEP17 в 10 (12%) случаях. В 4 (5%) случаях Ак амплификация гена *Her2* (без увеличения CEP17) определялась в виде кластеров (12 и более копий) и соответствовала высокому уровню (см. рисунок, в, 3-я полоса вклейки). В 3 (4%) случаях Ак амплификация гена *Her2* (без увеличения CEP17) определялась в виде отдельных множественных копий (от 4 до 8) и соответствовала низкому уровню (см. рисунок, г, 3-я полоса вклейки). Во всех 4 случаях отмечено незначительное увеличение CEP17 (до 4 красных меток). Во всех 10 случаях амплификации гена *Her2* совместно с увеличением CEP17 амплификация гена *Her2* соответствовала низкому уровню (от 4 до 8 копий), и увеличение CEP17 было незначительной степени (до 4 красных меток). В нашем исследовании во всех случаях с амплификацией гена *Her2* определены опухоли I стадии с отсутствием метастазов в регионарные лимфатические узлы и преимущественно ацинарным или солидным типом строения. В случаях Ак с положительной экспрессией белка ALK отмечена отрицательная экспрессия белка Her2 и отсутствие амплификации гена *Her2*.

При положительной экспрессии белка ALK зафиксирован достоверно более низкий уровень пролиферативной активности, оцененный по ИМ Ki-67 ($p = 0,02$) и ИМ ТороПа ($p = 0,02$), по сравнению с отрицательной экспрессией белка ALK (табл. 1). Также наблюдалась слабая корреляция между экспрессией белка ALK и ИМ Ki-67 ($r = 0,24$; $p = 0,03$) и ИМ ТороПа ($r = 0,23$; $p = 0,03$). При положительной экспрессии белка Her2 отмечен более низкий уровень пролиферативной активности по сравнению с отрицательной экспрессией этого белка (см. табл. 1), однако различия не были статистически значимыми ($p = 0,3$). При наличии амплификации гена *Her2* выявлен низкий уровень пролиферативной активности, оцененный по ИМ Ki-67 и ИМ ТороПа, по сравнению с типами N и AP (статистически значимое различие), типом P (различия статистически незначимо, вероятно, ввиду крайне малого количества случаев в группе с типом P). Пролиферативная активность не имела статистически значимых различий между типами N, AP и P (см. табл. 1). Также отмечена умеренная корреляция амплификации гена *Her2* с ИМ Ki-67 ($r = 0,32$; $p = 0,003$) и ИМ ТороПа ($r = 0,31$; $p = 0,004$).

Выживаемость больных Ак I–II стадии за 3-, 5- и 9-летний период после операции составила соответственно $52,3 \pm 5,6$, $38,4 \pm 5,6$ и $34,2 \pm 5,6\%$. Выживаемость больных Ак при положительной экспрессии ALK и Her2 была ниже по сравнению с отрицательной (табл. 2), однако различия не были статистически значимыми. Так как в нашем исследовании амплификация гена *Her2* выявлена только при I стадии заболевания, выживаемость больных в сопоставлении со статусом гена *Her2*, CEP17 рассчитана только для группы больных с I стадией заболевания (см. табл. 2). Выживаемость больных Ак при наличии амплификации гена *Her2* была ниже по сравнению с больными с другими типами опухоли: по сравнению с типами N

и AP различие статистически значимо ($p = 0,01$), с типом P – близкое к уровню статистической значимости ($p = 0,07$), вероятно, ввиду крайне малого количества случаев в группе с типом P). Больные Ак при наличии амплификации гена *Her2* не пережили 5-летний период после операции. Выживаемость больных не имела статистически значимых различий между типами N, AP и P.

При проведении однофакторного регрессионного анализа амплификация гена *Her2* была взаимосвязана с выживаемостью больных; взаимосвязь с экспрессией ALK имела тенденцию к статистической значимости (табл. 3). Многофакторный регрессионный анализ показал, что 2 фактора – наибольший размер опухоли и в большей степени амплификация гена *Her2* – имели независимое влияние на выживаемость больных Ак (см. табл. 3). Таким образом, в ходе одно- и многофакторного анализа установлено, что наличие амплификации гена *Her2* в Ак является неблагоприятным прогностическим фактором.

Обсуждение

В нашем исследовании при Ак положительная экспрессия ALK определена в 4 (5%) случаях, положительная экспрессия белка *Her2* – в 16 (20%) случаях и амплификация гена *Her2* – в 7 (9%) случаях, что согласуется с данными литературы [1–4, 8–12].

Мутация гена *ALK* и амплификация гена *Her2* являются факторами, приводящими к активации внутриклеточных сигнальных каскадов и повышению пролиферации, инактивации апоптоза. Повышение пролиферативной активности (по ИМ Ki-67) обнаружено в ALK-положительной Ак [7] и при раке молочной железы [17]. Также выявлена взаимосвязь *Her2*-положительного рака молочной железы с высоким ИМ Ki-67 [18] и ИМ ТороПа [19]. Однако в на-

Таблица 1
Экспрессия белков ALK, *Her2*, статус гена *Her2*, *CEP17* во взаимосвязи с ИМ Ki-67 и ИМ ТороПа при Ак

Показатель	ИМ Ki-67		ИМ ТороПа	
	<i>Me</i> (и. и.)	<i>p</i>	<i>Me</i> (и. и.)	<i>p</i>
Экспрессия ALK:				
отрицательная	17 (9–34)	0,02	13 (4–20)	0,02
положительная	6 (3–7)		3 (2–6)	
Экспрессия Her2:				
отрицательная	20 (5–36)	0,3	14 (4–20)	0,3
положительная	12 (10–19)		8 (5–12)	
Статус гена <i>Her2</i> , <i>CEP17</i> , тип:				
A	10 (5–12)	A–AP, N: < 0,05	6 (3–8)	A–AP, N: < 0,05
P	36 (18–56)	P–A, AP, N: > 0,2	15 (7–25)	P–A, AP, N: > 0,2
AP	22 (11–38)	AP–N: 0,4	17 (7–22)	A–N: 0,5
N	16 (7–30)		11 (4–20)	

Таблица 2
Выживаемость больных Ак во взаимосвязи с экспрессией белков ALK, *Her2* и статусом гена *Her2*, *CEP17*

Показа- тель	Выживаемость, годы			<i>p</i>
	3	5	9	
Экспрессия ALK:				
отрица- тельная	53,7 ± 5,8	40,5 ± 5,8	36,1 ± 5,8	0,1
положи- тельная	21,9 ± 19,4	–	–	
Экспрессия Her2:				
отрица- тельная	54,5 ± 6,3	42,2 ± 6,3	36,9 ± 6,4	0,3
положи- тельная	43,8 ± 12,4	19,6 ± 10,4	11,4 ± 7,9	
Статус гена <i>Her2</i> , <i>CEP17</i> , тип:				
A	23,8 ± 14,8	–	–	A–AP, N: 0,01
P	46,3 ± 25,4	15,4 ± 19,7	–	A–P: 0,07
AP	73,5 ± 14,4	55,9 ± 16,6	31,3 ± 16,4	P–AP, N: < 0,3
N	65,4 ± 7,5	50,0 ± 8,0	45,0 ± 8,2	AP–N: 0,4

Таблица 3
Регрессионный анализ по Коксу и факторы прогноза при Ак

Фактор прогноза	β	Стандартная ошибка	p
Однофакторный анализ:			
экспрессия ALK	0,31	0,18	0,07
экспрессия <i>Her2</i>	0,34	0,33	0,3
амплификация гена <i>Her2</i>	0,56	0,21	0,007
Многофакторный анализ:			
возраст	0,04	0,14	0,76
пол	0,24	0,32	0,45
параметр T	0,21	0,45	0,64
наибольший размер опухоли	0,91	0,41	0,003
параметр N	1,29	0,8	0,11
стадия	0,23	0,77	0,76
гистологический тип	0,23	0,3	0,45
экспрессия ALK	0,23	0,21	0,26
экспрессия <i>Her2</i>	0,19	0,42	0,66
амплификация гена <i>Her2</i>	1,07	0,29	< 0,001

шем исследовании была обнаружена парадоксальная взаимосвязь – при Ак с наличием мутации гена *ALK* или амплификацией гена *Her2* наблюдалась низкая пролиферативная активность (экспрессии Ki-67 и фермента ТороПа). Вероятнее всего, повышение пролиферативной активности опухоли является результатом взаимного влияния многих активирующих и инактивирующих сигнальных путей, суммация которых зависит от сочетания изменений в геноме клетки (совместных мутаций, амплификации генов). Поэтому наши результаты совпадают с данными других ав-

торов, показавших взаимосвязь Her2-положительного рака молочной железы с низким ИМ Ki-67 [20].

Как показало наше исследование, выживаемость больных ALK-положительной Ак была ниже по сравнению с ALK-отрицательной, это различие статистически незначимо, вероятно, ввиду небольшого количества случаев для статистического анализа в группе ALK-положительной Ак. В литературных источниках имеются противоречивые данные о выживаемости больных ALK-положительной Ак, не получавших стандартной химиотерапии и специфической таргетной терапии. Одни исследования указывают на низкую выживаемость больных ALK-положительной Ак по сравнению с ALK-отрицательной [10, 11], результаты других исследований, наоборот, свидетельствуют о лучшей выживаемости больных ALK-положительной Ак [12], в ряде исследований не обнаружено различий в выживаемости больных с ALK-положительной и ALK-отрицательной Ак [1].

В нашем исследовании выживаемость больных Ак с наличием амплификации гена *Her2* была ниже по сравнению с отсутствием амплификации и взаимосвязана с неблагоприятным прогнозом. В настоящее время прогностическая значимость амплификации гена *Her2* при Ак четко не определена. В некоторых исследованиях обнаружено, что амплификация гена *Her2* является неблагоприятным фактором, связанным с низким показателем выживаемости и неблагоприятным прогнозом [4, 9], в других исследованиях не выявлено такой взаимосвязи [3, 8]. Выживаемость больных Ак с положительной экспрессией белка Her2 была ниже по сравнению с отрицательной (различие статистически недостоверно), что также сообщается в работах других авторов [3, 8].

Примечательными представляются данные нашего исследования о сочетании низкой пролиферативной активности с низкой выживаемостью больных при ALK-положительной и Her2-положительной Ак. По нашему мнению, пролиферативная активность в большей степени ассоциируется с ростом и инвазивностью первичной опухоли и в меньшей степени – с метастатическим потенциалом. Вероятно, наличие изменений в генах *ALK* и *Her2* связано с высокой агрессивностью Ак без увеличения пролиферативной активности.

Таким образом, мутация гена *ALK* и амплификация гена *Her2* связаны с пролиферативной активностью и выживаемостью больных Ак.

Выводы

1. При Ак с положительной экспрессией белка ALK и амплификацией гена *Her2* отмечена низкая пролиферативная активность (по индексу метки Ki-67 и топоизомеразы IIα).

2. Выживаемость больных Ак была меньше при положительной экспрессии белка ALK по сравнению с отрицательной (различие недостоверно). Статистически значимая низкая выживаемость больных отмечена при амплификации гена *Her2*.

3. При одно- и многофакторном регрессионном анализе амплификация гена *Her2* была взаимосвязана с плохим прогнозом.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

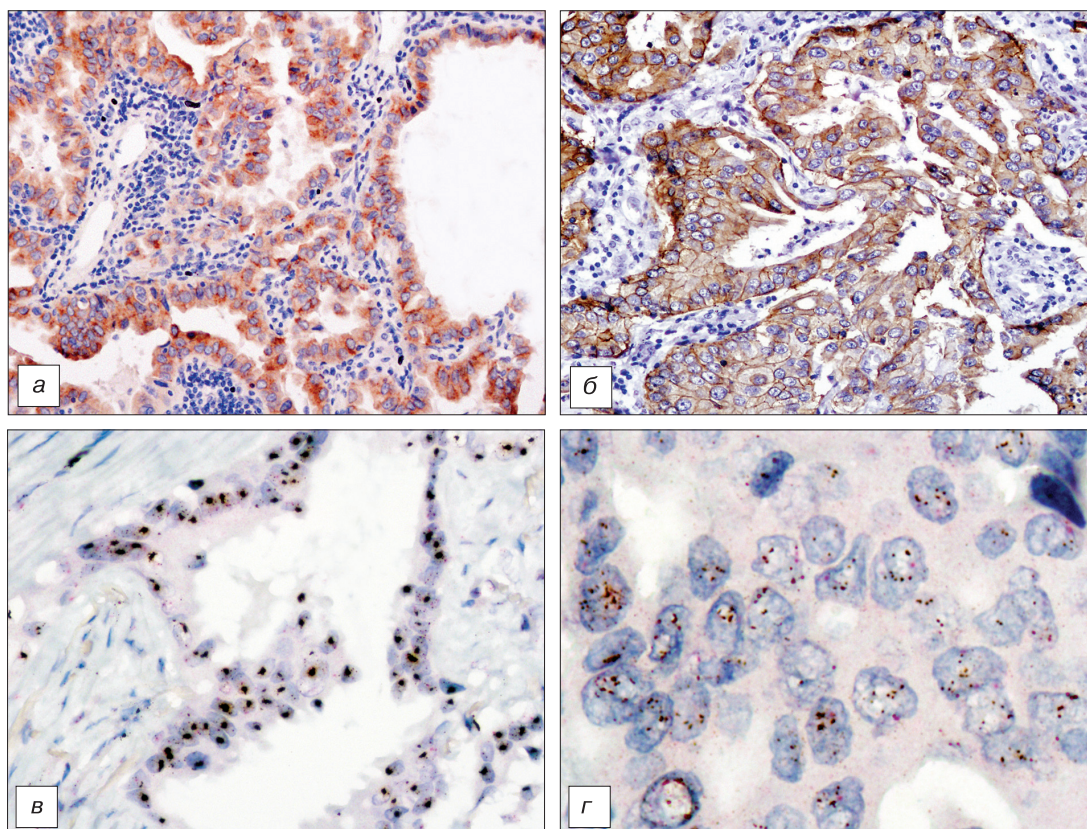
Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Warth A., Penzel R., Lindenmaier H., Brandt R., Stenzinger A., Herpel E. et al. EGFR, KRAS, BRAF and ALK gene alterations in lung adenocarcinomas: patient outcome, interplay with morphology and immunophenotype. *Eur. Respir. J.* 2014; 43: 872–3.
2. Zhao F., Xu M., Lei H., Zhou Z., Wang L., Li P. et al. Clinicopathological characteristics of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK fusion gene: a meta-analysis. *PLoS One.* 2015; 10(2): e0117333.
3. 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.
4. Al-Saad S., Al-Shibli K., Donnem T., Andersen S., Bremnes R.M., Busund L.T. Clinical significance of epidermal growth factor receptors in non-small cell lung cancer and a prognostic role for HER2 gene copy number in female patients. *J. Thorac. Oncol.* 2010; 5: 1536–43.
5. Beresford M.J., Wilson G.D., Makris A. Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications. *Breast Cancer Res.* 2006; 8: 216.
6. Jakobsen J.N., Sorensen J.B. Clinical impact of Ki-67 labeling index in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2013; 79: 1–7.
7. Del Gobbo A., Pellegrinelli A., Gaudioso G., Castellani M., Zito Marino F., Franco R. et al. Analysis of NSCLC tumour heterogeneity, proliferative and 18F-FDG PET indices reveals Ki67 prognostic role in adenocarcinomas. *Histopathology.* 2016; 68: 746–51.
8. 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.
9. 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–IIIA 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.
10. Yang P., Kulig K., Boland J.M., Erickson-Johnson M.R., Oliveira A.M., Wampfler J. et al. Worse disease-free survival in never-smokers with ALK lung adenocarcinoma. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7: 90–7.
11. Lee J.K., Park H.S., Kim D.W., Kulig K., Kim T.M., Lee S.H. et al. Comparative analyses of overall survival in patients with anaplastic lymphoma kinase-positive and matched wild-type advanced nonsmall cell lung cancer. *Cancer.* 2012; 118: 3579–86.
12. Wu S.G., Kuo Y.W., Chang Y.L., Shih J.Y., Chen Y.H., Tsai M.F. et al. EML4-ALK translocation predicts better outcome in lung adenocarcinoma patients with wild-type EGFR. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7: 98–104.
13. Sobin L., Gospodarowicz M., Wittekind C. (Eds.). TNM Classification of Malignant Tumours. 7th Ed.. Oxford: Wiley-Blackwell; 2009: 138–46.
14. Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M., Nicholson A.G., Geisinger K.R., Yatabe Y. et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary classification of lung adenocarcinoma. *J. Thorac. Oncol.* 2011; 6: 244–85.
15. Hofmann M., Stoss O., Shi D., Byttner 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.
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. Siraj A.K., Beg S., Jehan Z., Prabhakaran S., Ahmed M., Hussain A.R. et al. ALK alteration is a frequent event in aggressive breast cancers. *Breast Cancer Res.* 2015; 17: 127.
18. Shokouh T.Z., Ezatollah A., Barand P. Interrelationships between Ki67, HER2/neu, p53, ER, and PR status and their associations with tumor grade and lymph node involvement in breast carcinoma subtypes: retrospective-observational analytical study. *Medicine (Baltimore).* 2015; 94: e1359.
19. Nogi H., Uchida K., Kamio M., Kato K., Toriumi Y., Akiba T. et al. Triple-negative breast cancer exhibits a favorable response to neoadjuvant chemotherapy independent of the expression of topoisomerase IIβ. *Mol. Clin. Oncol.* 2016; 4: 383–9.
20. Payandeh M., Shahriari-Ahmadi A., Sadeghi M., Sadeghi E. Correlations between HER2 expression and other prognostic factors in breast cancer: Inverse relations with the Ki-67 index and P53 status. *Asian. Pac. J. Cancer Prev.* 2016; 17: 1015–8.

Поступила 30.01.17
Принята к печати 16.02.17

К ст. А.У. Панасьяна и соавт.



Экспрессия белков ALK, Her2 и статус гена *Her2*, *CEP17* при Ак.

a – положительная экспрессия белка ALK при преимущественно ацинарном типе;

б – положительная экспрессия белка Her2 при преимущественно ацинарном типе;

в – высокий уровень амплификации гена *Her2* при преимущественно ацинарном типе;

г – низкий уровень амплификации гена *Her2* при преимущественно солидном типе.

a, б – иммуногистохимический метод, $\times 400$; *в, г* – SISH-метод, $\times 1000$.

К ст. А.Ф. Лазарева и соавт.

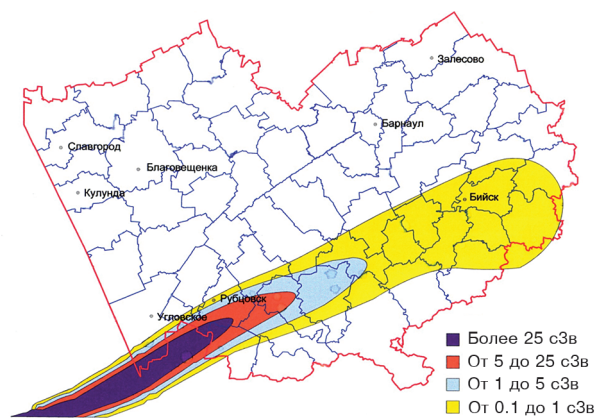


Рис. 3. Распределение эффективных доз внешнего облучения населения Алтайского края от взрыва 29.08.1949 г.

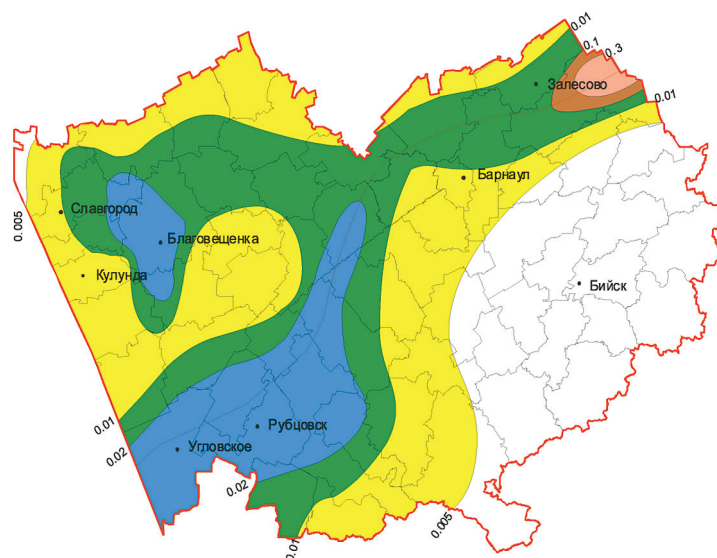


Рис. 4. Распределение эффективных доз внешнего облучения населения Алтайского края от ядерного взрыва 07.08.1962 г.