

Оценка прогностической значимости изменения экспрессии генов ABC-транспортеров в процессе неоадьювантной химиотерапии у больных немелкоклеточном раке легкого

Цыганов М.М.^{1,2*}, Дерюшева И.В.³, Родионов Е.О.¹,
Ибрагимова М.К.^{1,2}, Миллер С.В.¹, Литвяков Н.В.^{1,2}

¹ — Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский научно-исследовательский институт онкологии»;
* TsyganovMM@yandex.ru

² — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

³ — Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Применение неоадьювантной химиотерапии при лечении больных немелкоклеточным раком легкого позволяет уменьшить размер опухоли, повысить аблестичность операции, а также спланировать проведение послеоперационной химиотерапии. Одной из важных причин неэффективности химиотерапии является химиорезистентность, обусловленная экспрессией генов ABC-транспортеров (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2* и ген метаболизма *GSTP1*). Целью работы явилось изучение экспрессии генов ABC в процессе химиотерапии. В результате было установлено, что экспрессия генов химиорезистентности слабо коррелирует с основными клинико-морфологическими параметрами. При этом было установлено, что направление изменения экспрессии гена *ABCB1*, повышение или снижение, сопряжено с показателями выживаемости.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, неоадьювантная химиотерапия, экспрессия генов, семейство ABC-транспортеров

Estimation of prognostic value of ABC transporter genes expression changes during neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer

Tsyganov M.M.^{1,2*}, Deryusheva I.V.³, Rodionov E.O.¹,
Ibragimova M.K.^{1,2}, Miller S.V.¹, Litvyakov N.V.^{1,2}

¹ — Federal State Budgetary Scientific Institution «Tomsk Cancer Research Institute»; * TsyganovMM@yandex.ru

² — National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia

³ — Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

The use of neoadjuvant chemotherapy in the treatment of patients with non-small cell lung cancer can reduce the tumor size, increase ablastics operations, as well as to plan carrying out post-operative chemotherapy. But one of the important reasons for the ineffectiveness of chemotherapy is chemoresistance due to the expression of ABC-transporter genes (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2* and gene metabolism *GSTP1*). Thus, the aim was to study the expression of ABC genes during chemotherapy. As a result, it was found that the expression of genes correlated with chemoresistance weakly basic clinical and morphological parameters. But it was found that the direction of change in gene expression *ABCB1*, increase or decrease, associated with survival rates.

Keywords: Non-small-cell lung cancer, neoadjuvant chemotherapy, expression genes, ABC-transporters

Актуальность

По данным ряда авторов, использование химиотерапии в неоадьювантном режиме (НХТ) при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ) представляется перспективным. При этом многие из них указывают на то, что на эффективность НХТ влияют основные клинико-морфологические параметры; генетические особенности и различные физиологические особенности организма, а также молекулярно-генетические особенности опухоли, связанные с изменениями в онкогенах, генах-супрессорах и в паттерне экспрессии многочисленных генов ме-

таболических путей, транспортных генов, генов ферментных систем и т.п. [1, 2]. Одним из важных препятствий конвенциональной химиотерапии рака легкого является химиорезистентность (феномен множественной лекарственной устойчивости (МЛУ)), которая может быть как предсуществующей, так и формироваться в процессе лечения. Данный феномен обусловлен повышением экспрессии энергозависимых ABC-транспортеров (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*, *GSTP1*). Продукты данных генов осуществляют выброс цитостатических препаратов из опухолевых клеток про-

тив градиента концентрации. Они определяют 75–85% случаев низкой эффективности химиотерапии [3, 4]. Стоит отметить, что при опухолях другой локализации, в частности при раке молочной железы, было показано, что эффективность НХТ, а также прогноз заболевания, определяются направлением изменения экспрессии данных генов в процессе лечения [5, 6].

Таким образом, целью данной работы явилось изучение экспрессии генов ABC-транспортеров в опухоли легкого в процессе химиотерапии.

Материалы и методы

Всего в работе были проанализированы результаты лечения 18 пациентов. В исследование включены больные НМРЛ I–IIIА стадии, центральной или периферической локализации с морфологически верифицированным диагнозом. Больные находились на лечении в клинике Томского НИИ онкологии, в неоадьювантном режиме получали 2 курса химиотерапии по схеме винорельбин-карбоплатин. После НХТ пациентам проводилась операция в объеме пневмонэктомии или лобэктомии. Далее адьювантная химиотерапия (АХТ). Основные клинико-морфологические параметры исследуемых больных представлены в таблице.

В качестве исследуемого материала были использованы биопсийные опухолевые образцы нормальной и опухолевой ткани легкого до лечения и операционный материал нормальной и опухолевой ткани после НХТ. РНК выделяли из 18 парных образцов с помощью набора RNeasy Plus mini Kit (Qiagen, Germany). Уровень экспрессии исследуемых генов: *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*,

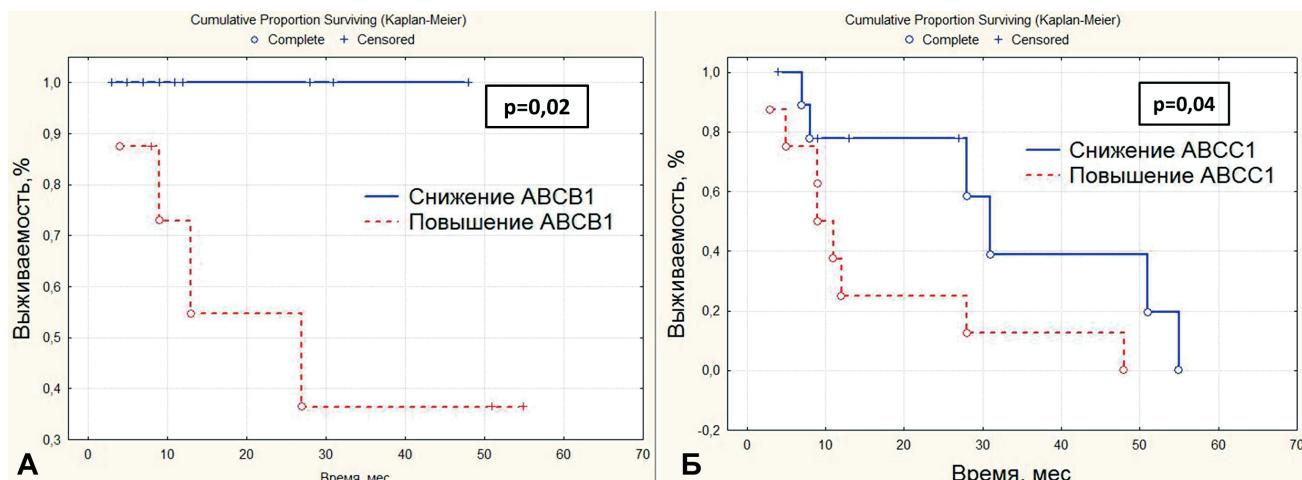
ABCC5, *ABCG1* и *ABCG2* оценивали методом количественной обратно-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени относительно референчного гена *GAPDH* и нормальной ткани легкого [6]. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ «Statistica 8.0». Для проверки гипотезы о значимости различий между исследуемыми группами использовали критерий Вилкоксона—Манна—Уитни. Для анализа безметастатической и общей выживаемости использовались кривые выживаемости, построенные по методу Каплана—Майера [7].

Результаты

В первую очередь мы оценили начальный (до лечения) и послеоперационный уровень исследуемых генов ABC. Средние значения экспрессии составили (Медиан \pm SE) для гена *ABCB1* $0,312 \pm 0,08/0,286 \pm 0,15$; *ABCC1* — $0,972 \pm 0,22/0,878 \pm 0,17$, *ABCC2* — $1,126 \pm 0,57/0,633 \pm 0,29$, *ABCC5* — $2,087 \pm 0,52/1,51 \pm 0,73$, *ABCG1* — $0,977 \pm 0,48/0,306 \pm 0,08$ и *ABCG2* — $1,086 \pm 0,6/0,481 \pm 0,14$. Далее было установлено, что экспрессия слабо коррелирует с клинико-морфологическими параметрами заболевания. С начальным и послеоперационным уровнем экспрессии гена *ABCB1* сопряжен размер опухоли. У пациентов с T_{3-4} как до, так и после лечения экспрессия данного гена статистически значимо ниже по сравнению с группой T_{1-2} ($p < 0,01$). Что может обусловливать более высокую чувствительность и низкую резистентность опухоли больных с T_{3-4} к химиотерапии [8]. Кроме этого, у пациентов с центральной

Основные клинико-морфологические параметры пациентов

Клинико-патологический параметр		Количество больных (n = 18)
Возраст	≤ 50 лет	2 (11,1%)
	>50 лет	16 (88,9%)
Размер опухоли	T_{1-2}	5 (27,8%)
	T_{3-4}	13 (72,2%)
Лимфогенное метастазирование	N_0	5 (27,8%)
	N_{1-3}	13 (72,2%)
Клинико-анатомической формы рака легкого	Периферический	4 (22,2%)
	Центральный	14 (77,8%)
Гистологический тип опухоли	Плоскоклеточный рак	14 (77,8%)
	Аденокарцинома	4 (22,2%)
Эффект НХТ	Полная регрессия	0 (0,0%)
	Частичная регрессия	5 (27,8%)
	Стабилизация	13 (72,2%)
	Прогрессирование	0 (0,0%)
Характер операции	Пневмонэктомия	7 (38,9%)
	Лобэктомия	11 (61,1%)



Безрецидивная выживаемость больных НМРЛ в зависимости изменения экспрессии генов *ABCB1* (А) и *ABCC1* (Б).

клинико-анатомической формой наблюдается повышенный уровень экспрессии гена *ABCC1* в операционном материале ($p = 0,03$). С эффектом НХТ также на уровне выраженной тенденции ассоциирован послеоперационный уровень экспрессии гена *ABCB1*. У пациентов с частичной регрессией уровень экспрессии выше, чем при эффекте стабилизации. Статистически значимых различий не установлено, что связано с небольшим числом больных с частичной регрессией ($n = 5$). Интересным представляется изучение изменения экспрессии генов ABC-транспортеров в процессе лечения и связь с эффектом НХТ у больных немелкоклеточным раком легкого. Как оказалось, в связи с небольшой выборкой больных с частичной регрессией, направление изменения экспрессии не сопряжено с эффектом проводимого лечения.

Но при этом оценка прогностической значимости изменения экспрессии ABC-транспортеров показала, что изменение экспрессии генов *ABCB1* и *ABCC1* сопряжено с безрецидивной выживаемостью (рисунок 1-А и 1-Б для гена *ABCB1* и *ABCC1* соответственно) больных НМРЛ. Снижение экспрессии ассоциировано с более высокими показателями выживаемости по сравнению с группой пациентов с повышением экспрессии (log rank test = 0,02 и 0,04, соответственно для гена *ABCB1* и *ABCC1*).

Полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Некоторыми авторами был представлен вклад генов *ABCB1* и *ABCC1* в показатели выживаемости больных раком легкого [8–10]. Было также показано, что с неблагоприятным прогнозом была ассоциирована высокая экспрессия генов *ABCB1*, *ABCC2* и *ABCG2* [11]. Хотя более поздние исследования показали, что экспрессия генов *ABCB1* и *ABCC3* слабо коррелирует с общей выживаемостью пациентов с НМРЛ [12].

Выводы

В результате исследования была изучена экспрессия генов ABC-транспортеров в процессе НХТ у больных немелкоклеточным раком легкого. Было установлено, что экспрессия данных генов слабо коррелирует с клинико-морфологическими параметрами, статистически значимая связь была показана лишь для размера опухоли и клинико-анатомической формы рака. Оценка прогностической значимости изменения экспрессии генов химиорезистентности показала, что с более высокими показателями безрецидивной выживаемости коррелирует снижение экспрессии генов *ABCB1* и *ABCC1* в процессе лечения.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Список литературы

1. Hansen HH. Lung Cancer Therapy Annual. CRC Press. 2008;6:1-10.
2. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, et al. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. New England Journal of Medicine. 2006;355(10):983-991.
3. O'driscoll L and Clynes M. Biomarkers and multiple drug resistance in breast cancer. Current Cancer Drug Targets. 2006;6(5):365-384.
4. Wind N and Holen I. Multidrug resistance in breast cancer: from *in vitro* models to clinical studies. International journal of breast cancer. 2011;2011:1-12.
5. Литвиаков НВ. Градиентный феномен экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости в опухоли молочной железы при проведении неоадьювантной химиотерапии: связь с прогрессированием заболевания. Сибирский онкологический журнал. 2013;4(58):5-11.
6. Litviakov NV, Cherdynseva NV, Tsyanov MM et al. Changing the expression vector of multidrug resistance genes is related to neoadjuvant chemotherapy response. Cancer chemotherapy and pharmacology. 2013;71(1):153-163.

7. Kaplan EL and Meier P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American statistical association*. 1958;53(282):457-481.
8. Savaraj N, Wu CJ, Xu R et al. Multidrug-resistant gene expression in small-cell lung cancer. *American journal of clinical oncology*. 1997;20(4):398-403.
9. Hsia TC, Lin CC, Wang JJ, et al. Relationship between chemotherapy response of small cell lung cancer and P-glycoprotein or multidrug resistance-related protein expression. *Lung*. 2002;180(3):173-179.
10. Triller N, Korosec P, Kern I et al. Multidrug resistance in small cell lung cancer: expression of P-glycoprotein, multidrug resistance protein 1 and lung resistance protein in chemo-naïve patients and in relapsed disease. *Lung Cancer*. 2006;54(2):235-240.
11. Campa D, Muller P, Edler L et al. A comprehensive study of polymorphisms in ABCB1, ABCC2 and ABCG2 and lung cancer chemotherapy response and prognosis. *International Journal of Cancer*. 2012;131(12):2920-2928.
12. Melguizo C, Prados J, Luque R et al. Modulation of multidrug resistance gene expression in peripheral blood mononuclear cells of lung cancer patients and evaluation of their clinical significance. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2013;71(2):537-541.