

Received: 2012.07.27
Accepted: 2013.07.22
Published: 2013.11.26

Potrójnie negatywny rak piersi: molekularna charakterystyka i potencjalne strategie terapeutyczne

Triple-negative breast cancer: molecular characteristics and potential therapeutic approaches

Maria Nowacka-Zawisza, Wanda Małgorzata Krajewska

Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie

Termin potrójnie negatywny (ujemny) rak piersi (TNBC) odnosi się do guzów, w przypadku których nie stwierdza się ekspresji receptorów estrogenów, receptora progesteronu czy receptora naskórkowego czynnika wzrostu HER2 w analizach immunohistochemicznych. TNBC stanowi 12-17% wszystkich przypadków raka piersi. Profilowanie molekularne wykazało, że potrójnie negatywny rak piersi reprezentuje heterogeny podtyp raka piersi. Pod względem histologicznym i genetycznym potrójnie negatywny rak piersi wykazuje wiele wspólnych cech z podtypem podstawowym raka piersi, jednak nie może być z nim utożsamiany. U nosicieli mutacji w genie *BRCA1* rak piersi ma często charakter TNBC. Terapia hormonalna oraz terapia skierowana przeciwko HER2 nie znajdują zastosowania w leczeniu potrójnie negatywnego raka piersi. Wyniki prowadzonych analiz oraz badań klinicznych sugerują, że skutecznymi w leczeniu potrójnie negatywnego raka piersi są inhibitory polimerazy poly(ADP-rybozy), inhibitory sygnalizacji komórkowej EGFR, Hedgehog, Notch, Wnt/ β -katenina, VEGF, a także inhibitory kinaz mTOR, Src, Bcl/Abr, stosowane samodzielnie lub w skojarzeniu z innymi lekami przeciwnowotworowymi. W pracy przedstawiono molekularną charakterystykę oraz metody terapii celowanej podtypów potrójnie negatywnego raka piersi.

Słowa kluczowe:

potrójnie negatywny (ujemny) rak piersi • receptory estrogenów • receptor progesteronu • receptor naskórkowego czynnika wzrostu HER2 • geny *BRCA1/2* • terapia przeciwnowotworowa

Summary

The term triple-negative breast cancer (TNBC) defines breast tumors that do not express estrogen receptors, progesterone receptor or epidermal growth factor receptor HER2 on immunohistochemical analysis. TNBC accounts for 12-17% of all types of breast cancer. Molecular profiling indicated that triple-negative breast cancer represents a heterogeneous subgroup of breast cancer. Triple-negative breast cancer shares histological and genetic abnormalities with basal-like subtype of breast cancer; however, this overlap is incomplete. Breast cancer found in *BRCA1* mutation carriers is also frequently TNBC. Triple-negative breast cancer does not benefit from hormonal therapies or treatments targeted against HER2. The results of ongoing studies as well as the results of clinical trials suggest that poly(ADP-ribose) polymerase inhibitors, EGFR, Hedgehog, Notch, Wnt/ β -catenin, VEGF signaling inhibitors, and mTOR, Src, and Bcr/Abl kinase inhibitors used alone or in combination with other anticancer drugs might be effective in triple-negative breast cancer treatment. In this review, current knowledge on molecular characteristics of triple-negative breast cancer and its subtypes' treatment options is presented.

Key words:

triple-negative breast cancer • estrogen receptors • progesterone receptor • epidermal growth factor receptor HER2 • *BRCA1/2* • anticancer therapy

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1077713>

Word count: 2382

Tables: 3

Figures: 1

References: 46

Adres autorki: prof. dr hab. Wanda Małgorzata Krajewska, Katedra Cytobiochemii, Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź; e-mail: wmkraj@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **Bcr/Abl** - białko fuzyjne, o aktywności kinazy tyrozynowej (break point cluster region/Abelson murine leukemia viral oncogene homolog); **BRCA** - gen podatności na raka piersi (breast cancer); **CK** - cytokeratyna (cytokeratin); **EGFR** - receptor naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor); **ER** - receptory estrogenów (estrogen receptors); **HER2** - receptor naskórkowego czynnika wzrostu 2 (human epidermal growth factor receptor 2); **mTOR** - kinaza serynowo-treoni-nowa (mammalian target of rapamycin); **PARP** - polimeraza poli(ADP-rybozy) (poly(ADP-ribose) polymerase); **PR** - receptor progesteronu (progesterone receptor); **Src** - niereceptorowa kinaza tyrozynowa (sarcoma); **TNBC** - potrójnie negatywny (ujemny) rak piersi (triple negative breast cancer); **VEGF** - czynnik wzrostu śródbłónka naczyń (vascular endothelial growth factor).

WSTĘP

Rak piersi jest jedną z najczęstszych przyczyn umieralności kobiet w Polsce. W 2010 roku zanotowano około 16 tysięcy nowych zachorowań [44]. Jest to choroba o dużej heterogenności zarówno pod względem molekularnym, jak i przebiegiem klinicznym oraz rokowaniem. U 12-17% chorych na raka piersi rozpoznawany jest tzw. potrójnie negatywny (ujemny) rak piersi (triple negative breast cancer - TNBC). TNBC pod względem histologicznym jest rakiem słabo zróżnicowanym i charakteryzuje się brakiem ekspresji receptorów estrogenów (estrogen receptors - ERs) i progesteronu (progesterone receptor - PR) oraz brakiem ekspresji receptora naskórkowego czynnika wzrostu HER2/ErbB2/Neu (human epidermal growth factor receptor 2).

Potrójnie negatywnego raka piersi stwierdza się u pacjentek w wieku poniżej 50 roku życia. Czynniki sprzyjające występowaniu TNBC są: wczesny wiek pierwszej miesiączki, otyłość w wieku menopauzalnym, występowanie rodzinnego raka piersi. Chorobę cechuje agresywny przebieg, szybki wzrost guza i szybkie pojawienie się przerzutów odległych (szczególnie do mózgu i płuc, a w mniejszym stopniu do kości i wątroby) oraz wczesny nawrót choroby (w ciągu 1-3 lat od diagnozy). Duża liczba chorych na ten typ raka ma złe rokowania z powodu niskiej remisji podczas leczenia uzupeł-

niającego (terapii adiuwantowej), a w przypadku przerzutów krótki czas przeżycia i dużą oporność na chemioterapię [2,5,16,18,33,43,46].

W pracy przedstawiono molekularną charakterystykę potrójnie negatywnego raka piersi oraz mechanizmy działania stosowanych i potencjalnych leków.

PODTYPY RAKA PIERSI

Na podstawie wyników badań uzyskanych techniką mikromacierzy cDNA oraz analiz immunohistochemicznych wyróżnia się następujące podtypy molekularne raka piersi: luminalny (luminal) A i B o wysokiej ekspresji ER, podstawny (basal-like), z nadekspresją genu *HER2* oraz z ekspresją genów typowych dla komórek prawidłowego gruczołu piersiowego (normal breast-like) (tabela 1). Podział ten odzwierciedla różnice w przebiegu choroby i rokowaniu, wskazując na biologiczne podłoże heterogenności klinicznej raka piersi [38,42].

Raki podtypu luminalnego A i B cechują się ekspresją genów charakterystycznych dla komórek gruczolowych, tworzących wewnętrzną warstwę prawidłowych przewodów i zrazików piersi (inner luminal cells). W podty-

Tabela 1. Podtypy raka piersi zidentyfikowane na podstawie profilowania molekularnego [38,42]

Podtyp raka piersi	Ekspresja receptorów dla steroidów, HER2 i cytokeratyn
Luminalny A (luminal A)	ER+ i/lub PR+, HER2-, CK5/6-
Luminalny B (luminal B)	ER+ i/lub PR+, HER2+, CK5/6-
Podstawny (basal-like)	ER-, PR-, HER2-, CK5/6+
HER2+	ER-, PR-, HER2+, CK5/6-
Seminormalny (normal breast-like)	Raki nieklasyfikujące się do ww. podtypów

pach luminalnych obserwuje się ekspresję cytokeratyn typowych dla komórek gruczolowych, tj. 8, 18, 19, a także integryny $\alpha 6$ oraz białek Bcl2 (B-cell CLL/lymphoma 2), Ep-CAM (epithelial cell adhesion molecule) i MUC1 (mucin 1). Podtyp luminalny A wykazuje wysoką ekspresję genów receptorów estrogenów i receptora progesteronu oraz genów związanych z regulacją ich funkcji, tj. *FOXA1* (forkhead box A1), *GATA3* (GATA binding protein 3), *LIV-1* (solute carrier family 39 (zinc transporter) member 6), *XBPI* (X-box binding protein 1). Raki podtypu luminalnego B charakteryzują się nieco mniejszą ekspresją ER i pozostałych wyżej wymienionych genów, a ponadto wykazują ekspresję genów *CCNE1* (cyclin E1), *GGH* (gamma-glutamyl hydrolase), *YBX1* (Y box binding protein 1). Dodatkowo podtyp luminalny B obejmuje raki piersi, w których występuje ekspresja genu *HER2* niestwierdzana w podtypie luminalnym A. Podtyp luminalny A obserwuje się u młodszych pacjentek, u których rokowanie jest dobre (dłuższy jest czas całkowitego przeżycia i małe prawdopodobieństwo nawrotu choroby). Podtyp luminalny B natomiast obejmuje przypadki raka piersi w wyższym stopniu zaawansowania i odporne na leczenie.

Raki piersi podtypu podstawnego wykazują profil ekspresji genów odmienny od raków wywodzących się z komórek gruczolowych warstwy luminalnej. W podtypie podstawnym obserwuje się ekspresję cytokeratyn typowych dla komórek podstawnych lub mioepitelialnych (warstwa podstawna nabłonka przewodów), tj. 5, 6, 14, 17, aktyny mięśni gładkich (smooth muscle actin - SMA), białka p63, maspiny, lamininy, kadheryny P, białka S100, antygenu CD10 (common acute lymphoblastic leukemia antygen - CALLA), integryny $\alpha 6 \beta 4$. Raki typu podstawnego charakteryzują się ponadto ekspresją genów *CXC* (chemokine), *CX3CL1* (chemokine C-X3-C motif ligand 1), *TRIM29* (tripartite motif containing 29) i aneksyny 8. Komórki podtypu podstawnego bardzo często mają fenotyp potrójnie negatywny (brak ekspresji receptorów ER, PR i HER2). Natomiast w 60-70% przypadków komórek podtypu podstawnego stwierdza się obecność receptora EGFR/ErB1/HER1 (epidermal growth factor receptor). Podtyp podstawny raka piersi występuje u młodych pacjentek, u których często stwierdza się rodzinny raka piersi uwarunkowanego mutacjami w genie *BRCA1* (breast cancer 1). Raki podtypu podstawnego cechuje duża agresywność, szybkie przerzuty do pachowych węzłów chłonnych i niski procent odpowiedzi na leczenie.

W podtypie raka piersi z nadekspresją genu *HER2* obserwuje się nadekspresję genów *GRB7* (growth factor receptor-bound protein 7) i *MED24/TRAP100* (mediator complex subunit 24) oraz mutacje w genie *TP53*. Podtyp ten charakteryzuje się brakiem ekspresji cytokeratyn podstawnych i brakiem ekspresji receptorów dla steroidów (ER i PR).

Podtyp seminormalny (normal breast-like) raka piersi cechuje się ekspresją genów charakterystycznych dla komórek prawidłowego gruczołu, głównie komórek tłuszczowych i nienabłonkowych, ale także wysoką ekspresją genów charakterystycznych dla komórek warstwy podstawnej nabłonka przewodów i niską ekspresją genów charakterystycznych

dla komórek gruczolowych warstwy luminalnej [6,12,13,22,28,27,28,29,30,36,37,38,42].

Oprócz wyżej wymienionych podtypów raka piersi wyróżnia się podtyp potrójnie negatywny, tj. charakteryzujący się brakiem ekspresji receptorów ER, PR i HER2, który jednak nie może być utożsamiany z rakiem podstawnym.

RAK PIERSI POTRÓJNIE NEGATYWNY *VERSUS* RAK PODSTAWNY

Na podstawie analizy profili ekspresji genów Lehmann i wsp. zidentyfikowali sześć podtypów potrójnie negatywnego raka piersi, tj. dwa podtypy podstawne BL1 i BL2 (basal-like 1 i 2), immunomodulujący IM (immunomodulatory), mezenchymalny M (mesenchymal), mezenchymalny stem-like, MSL (mesenchymal stem-like) i luminalny z ekspresją receptora androgenowego LAR (luminal androgen receptor) oraz dodatkowo podtyp zmienny UNS (unstable) [24]. Większość podtypów TNBC, w tym BL1, BL2, IM, M, UNS charakteryzuje się wysoką ekspresją cytokeratyn podstawnych 5, 6A, 6B, 14, 16, 17, 23, 81. Natomiast podtyp LAR cechuje ekspresja cytokeratyn luminalnych 7, 8, 18, 19. Profilowanie ekspresji genów wykazało, że w potrójnie negatywnym raku piersi podtypu BL1 ekspresjonowane są geny, których produkty białkowe związane są z regulacją cyklu komórkowego, proliferacją komórek, procesem naprawy i replikacji DNA. Z kolei podtyp BL2 charakteryzuje się ekspresją genów, których produkty białkowe zaangażowane są w przekazywanie sygnału w komórce przez czynniki wzrostu (szlak EGF, NGF, MET, Wnt/ β -katenina, IGF1R), a także białek włączonych w proces glikolizy i glukoneogenezy.

W podtypie IM obserwuje się ekspresję genów, których produkty białkowe uczestniczą w reakcjach odpornościowych, w tym przekazywania sygnału w komórkach układu odpornościowego Th1/Th2 (T helper cells), NK (natural killer), DC (dendritic cells), szlakach sygnalizacyjnych receptorów komórek B i T, NF- κ B, TNF, JAK/STAT, cytokin (IL-7 i IL-12) i prezentowania antygenu.

W podtypie M występuje ekspresja genów, których produkty białkowe biorą udział w szlakach wpływających na ruchliwość i oddziaływanie z macierzą zewnątrzkomórkową (extracellular matrix - ECM) oraz różnicowanie się i wzrost komórek (regulacja aktyny przez białko Rho, Wnt/ β -katenina, ALK i TGF- β). W podtypie mezenchymalnym stem-like (MSL) stwierdza się ponadto ekspresję genów, których produkty białkowe zaangażowane są w proces angiogenezy, w szlaki przekazywania sygnału przez czynniki wzrostu (szlak TGF- β , EGFR, PDGF, białek G, ERK1/2), szlaki sygnalizacyjne transporterów ABC i adipocytokin oraz szlaki metabolizmu fosforanu inozytolu. Na niskim poziomie w podtypie MSL potrójnie negatywnego raka piersi obserwuje się ekspresję kładyny 3, 4, 7 oraz wysoką ekspresję genów zasocjowanych z przejściem epitelialno-mezenchymalnym (epithelial to mesenchymal transition - EMT).

W podtypie luminalnym z ekspresją receptora androgenowego potrójnie negatywnego raka piersi (LAR), stanowiącym około 11% TNBC, stwierdza się ekspresję genów,

Tabela 2. Molekularne podtypy potrójnie negatywnego raka piersi [24]

Podtyp TNBC	Ekspresja markerów podstawnych	Zaburzenia procesów komórkowych	Ekspresja genów
BL1 (basal-like 1)	CK5,6A,6B, 14,16,17,23,81 ↑	Cykl komórkowy Replikacja DNA Sygnalizacja uszkodzeń DNA (szlak ATR/BRCA)	AURKA, AURKB, BIRC5, BRCA, BUB1, CCNA2, CENPA, CENPF, CHEK1, EXO1, FANCA, FANCG, MCM10, MDC1, MKI67, MSH2, MYC, NBN, NRAS, PLK1, PRC1, RAD21, RAD51, RAD54BP, TTK
BL2 (basal-like 2)	CK5,6A,6B, 14,16,17,23,81 ↑	Szlaki sygnalizacyjne EGF, NGF, MET, Wntβ-katenina, IGF1R Glikoliza i glukoneogeneza	EGFR, EPHA2, MET, CD10 (CALLA), TP63
IM (immunomodulatory)	CK5,6A,6B, 14,16,17,23,81 ↑	Szlaki sygnalizacyjne komórek B, T, DC, NK, Th1/Th2 Szlaki sygnalizacyjne NFκB, TNF, JAK/STAT, ATR/BRCA	BTk, CCL3, CCL4, CCL5, CCL8, CCL19, CCR1, CCR2, CCR5, CCR7, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL13, CXCL14, CXCR4, CXCR6, HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DMA, HLA-DMB, HLA-DOB, HLA-DPA1, HLA-DRA, HLA-DRB1, HLA-DRB5, HLA-DRB6, HLA-E, HLA-F, IL7, IL15, IL16, IL18, IL1RN, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL4R, IL6R, IL6ST, IL10RA, IL15RA, IL18RAP, IL18R1, IRF1, IRF7, IRF8, ITK, JAK1, JAK2, LCK, LYN, NfκB1, NfκBIA, NfκBIE, RELB, STAT1, STAT4, STAT5A, ZAP70
M (mesenchymal)	CK5,6A,6B, 14,16,17,23,81 ↑	Ruchliwość komórek Interakcja z ECM Różnicowanie i wzrost komórek (szlak TGF-β, Wnt/β-katenina, IGF/mTOR, Rho, ALK)	ACTA2, CAV1, CAV2, CCND2, CDH1, COL3A1, COL5A2, CTNNB1, DKK2, DKK3, FZD4, GNG11, IGF, MMP2, NOTCH1, PDGF, SFRP4, SMAD6, SMAD7, SNAI2, SPARC, TAGLN, TCF4, TCF7L2, TGFB1, TGFB1L1, TGFB2, TGFB3, TGFBF1, TGFBF2, TGFBF3, TWIST1, ZEB1, ZEB2
MSL (mesenchymal stem-like)	CK7,8,18,19 ↓ Klaudyna 3,4,7 ↓	Ruchliwość komórek Interakcja z ECM Różnicowanie i wzrost komórek (szlak TGF-β, Wnt/β-katenina, IGF/mTOR, Rho, ALK) Angiogeneza Szlaki sygnalizacyjne EGF, PDGF, GPCR, ERK1/2, NF-κB, transporterów ABC, adipocytokiny, metabolizmu fosforanu inozytoli, jonów wapnia	ABCA8, ABCB1, ACTA2, ALDH1, BCL2, BMP2, CAV1, CAV2, CCND2, COL3A1, COL5A2, CTNNB1, DKK2, DKK3, ENG, EPAS1, FBN1, FZD4, FGF1, FGF2, FGFR1, FGFR2, GNG11, HOXA5, HOXA10, IGF1, IGF1R, IGF2, IGFBP4-7, ITGAV, KDR, MEIS1, MEIS2, MEOX1, MEOX2, MSX1, MMP2, NGFR, NOTCH1, NTSE, PDGFA, PDGFRA, PDGFRB, PDGFC, PDGFD, PER1, PROCR, SERPINE1, SFRP4, SNAI2, SPARC, SMAD6, SMAD7, TAGLN, TCF4, TCF7L2, TEK, TERF2IP, TGFB1, TGFB1L1, TGFB2, TGFB3, TGFBF1, TGFBF2, TGFBF3, THY1, TIE1, TWIST, VCAM1, VEGFR2, ZEB1, ZEB2
LAR (luminal androgen receptor)	CK7,8,18,19 ↑ FOXA1, XBP1 ↑	Synteza steroidów Metabolizm androgenów i estrogenów Metabolizm pentoz/kwasu glukuronowego, glutationu, tyrozyny, porfiryn, glikosfingolipidów, fenyloalaniny, argininy, proliny, kwasu asparaginowego, alaniny, tryptofanu, skrobi, fruktozy, mannozy, kwasów tłuszczowych, eikozanoidów Synteza ATP Metabolizm cytochromu P-450	ALCAM, APOD, AR, CLDN8, DHCR24, FASN, FKBP5, PIP, SPDEF

których produkty białkowe regulują szlaki hormonalne, włączając szlaki syntezy steroidów, metabolizm androgenów/estrogenów oraz metabolizm porfiryn. W podtypie tym występuje wysoka ekspresja genu receptora androgenowego (androgen receptor - AR) i jego koaktywatorów.

Większość przypadków raka piersi potrójnie negatywnego charakteryzuje profil molekularny typowy dla raka piersi podtypu podstawnego wykazującego ekspresję cy-

tokeratyn 5, 6, 14, 17, EGFR, p53, aktywny mięśni gładkich, kadheryny P, receptora c-Kit, przy jednoczesnym braku ekspresji ER, PR, HER2. Dotyczy to głównie podtypu BL1 (85%) i w nieco mniejszym stopniu podtypów BL2 (31%), IM (58%) i M (47%). Większość TNBC podtypu LAR (82%) z kolei ma charakter luminalny A lub B raka piersi. Na podstawie badań immunohistochemicznych 50-80% przypadków TNBC ma fenotyp podstawny, a 77-80% podtypu podstawnego ma fenotyp TNBC. Profilowanie molekular-

ne jednoznacznie wskazuje, że TNBC i podtyp podstawny raka piersi nie powinny być utożsamiane.

Analizując okres wolny od nawrotów choroby najgorsze rokowania są w przypadku podtypu LAR i M. Natomiast najkrótszy okres wolny od wystąpienia odległych przerzutów obserwuje się w podtypie M [3,4,7,24,37,40].

Molekularną charakterystykę podtypów potrójnie negatywnego raka piersi przedstawiono w tabeli 2.

POTRÓJNIE NEGATYWNY RAK PIERSI A MUTACJE W GENIE *BRCA1*

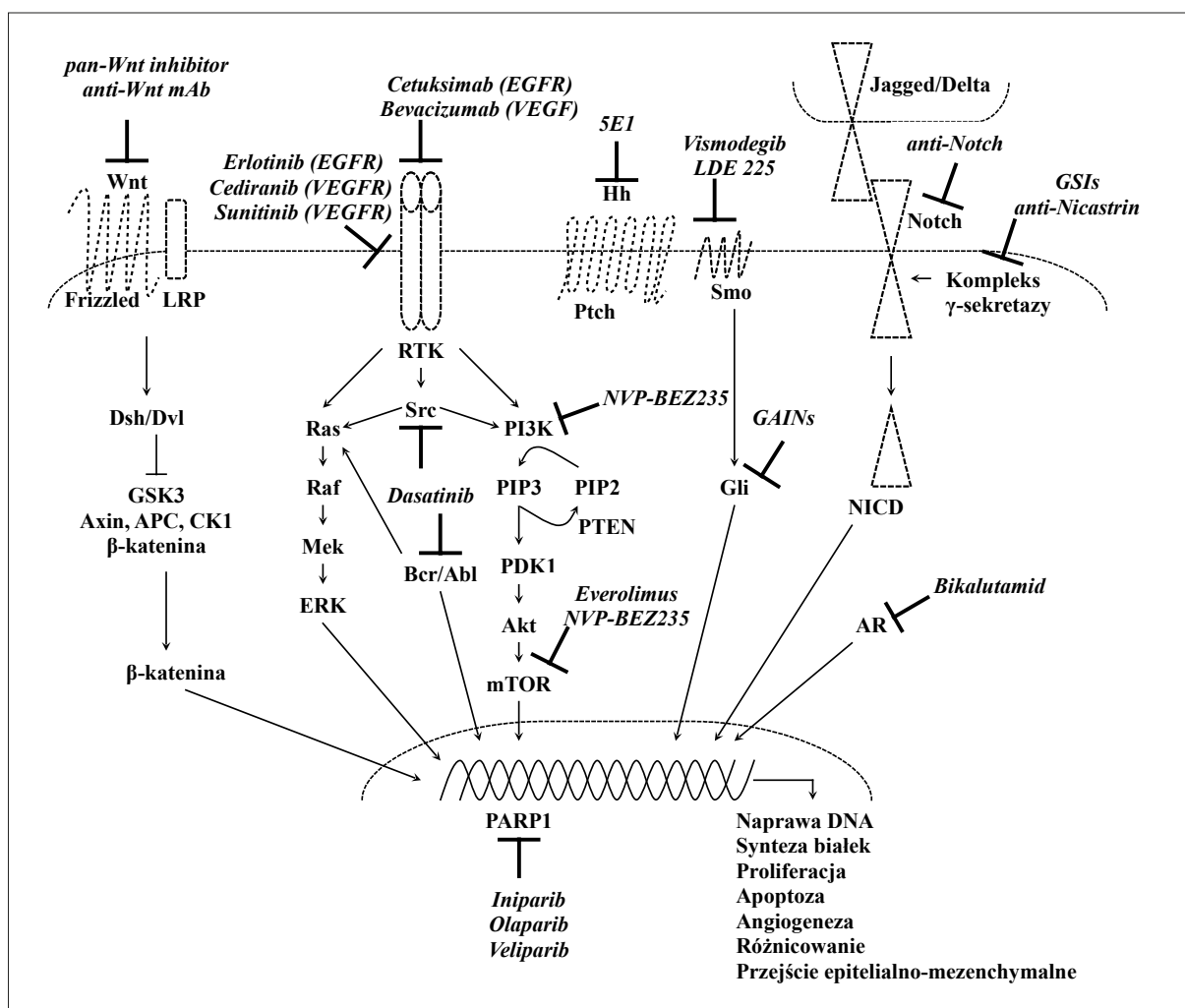
U 80-90% kobiet, u których stwierdza się mutacje germinalne w genie *BRCA1* rozpoznawany jest potrójnie negatywny rak piersi. Natomiast wśród TNBC mutacje w genach *BRCA* stwierdza się w około 10-12,5% przypadków. Niedawne badania wskazują także na związek między obecnością mutacji germinalnych w genie *BRCA2* i występowaniem raka potrójnie negatywnego. W przypadkach TNBC, w których nie obserwuje się mutacji w genie *BRCA1* zauważa się obniżoną ekspresję niezmutowanego białka *BRCA1*, spowodowaną

metylacją regionu promotorowego lub nadekspresją białek regulujących ekspresję genu *BRCA1*.

Raki piersi, w których obserwuje się mutacje w genie *BRCA1* i raki potrójnie negatywnie cechuje agresywny przebieg, wysoki stopień histologicznej złośliwości, wysoka ekspresja białka Ki-67, mutacje w genie *TP53* i podobny jak w przypadku podstawnego raka piersi profil ekspresji genów. Funkcją białka *BRCA1* jest udział w naprawie podwójnych pęknięć DNA (double strand breaks - DSBs) w procesie rekombinacji homologicznej (homologous recombination - HR) i w regulacji transkrypcji. Brak lub niska ekspresja białka *BRCA1* powoduje włączenie innych niż HR mechanizmów naprawy DNA, tj. przez niehomologiczne łączenie końców. Prowadzi to do niestabilności genetycznej, bowiem tylko HR zapewnia całkowite, dokładne odtwarzanie informacji genetycznej zawartej w uszkodzonym fragmencie DNA [1,5,25,26,33,35,38].

TERAPIA CELOWANA W TNBC

W przypadku potrójnie negatywnego raka piersi, ze względu na brak ekspresji receptorów ER, PR i HER2,



Ryc. 1. Potencjalne cele terapii przeciwnowotworowej w TNBC

terapia hormonalna i terapia celowana przeciwko HER2 nie znajdują zastosowania. Profilowanie molekularne jednoznacznie uwidacznia, że TNBC reprezentuje heterogenną podgrupę raka piersi i że wybór terapii celowanej powinien zależeć od zaburzeń określonych szlaków sygnalizacyjnych w komórce. Wyniki badań, jak również prób klinicznych wskazują, że skutecznymi w leczeniu TNBC mogą być inhibitory poli(ADP-rybozy), inhibitory szlaków sygnalizacyjnych EGFR, Hedgehog, Notch, Wnt/ β -katenina, inhibitory angiogenezy, inhibitory kinaz tyrozynowych i serynowo-treoninowych oraz niesteroidowe antyandrogeny [16,27,32,38,39,40]. Na rycinie 1 przedstawiono strategię terapeutyczne w odniesieniu do podtypów molekularnych TNBC.

Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy)

Polimeraza poli(ADP-rybozy) (poly(ADP-ribose) polymerase - PARP) odgrywa istotną rolę w wielu procesach komórkowych, w tym w sygnalizacji komórkowej, naprawie DNA i utrzymaniu stabilności genomu. PARP pełni szczególną funkcję w naprawie pęknięć jednonicowych DNA (single strand breaks - SSBs). Rozpoznaje pęknięcia w DNA i przejściowo wiąże się do jego końców, a następnie przekazuje informację o uszkodzeniu na inne białka. Brak naprawy pęknięć jednonicowych DNA prowadzi do ich kumulacji, a w konsekwencji do powstawania pęknięć dwuniciowych DNA. W prawidłowych komórkach dwuniciowe pęknięcia DNA są aktywnie naprawiane w procesie rekombinacji homologicznej, w której jako matryca wykorzystywana jest nieuszkodzona nić DNA. Ważną rolę w tym procesie odgrywają białka BRCA1 i BRCA2, których brak powoduje zahamowanie rekombinacji homologicznej. Przy braku białek BRCA i zastosowaniu inhibitorów PARP dochodzi do kumulacji uszkodzeń DNA, niestabilności genetycznej i apoptozy komórek nowotworowych. Inhibitory PARP znajdują zastosowanie w leczeniu podtypów BL1, BL2 i IM potrójnie negatywnego raka piersi [8,9,20,21,33].

Do inhibitorów PARP zaliczamy: iniparib, olaparib i veliparib. Iniparib (BSI-201) (4-jodo-3-nitrobenzamid) jest nieodwracalnym inhibitorem PARP, będącym w II fazie badań klinicznych nad rakiem piersi. Jego stosowanie wydłuża całkowity okres przeżycia i czas życia wolny od nawrotów choroby. Stosowany jest z gemcytabiną i/lub karboplatiną w przerzutach przy TNBC. Iniparib nie zwiększa efektu toksycznego chemioterapii. Olaparib (AZD2281) jest doustnym, selektywnym inhibitorem PARP. Daje dobrą odpowiedź u pacjentów z mutacjami w genie *BRCA1* i *BRCA2*. Olaparib jest testowany obecnie w II fazie badań klinicznych. Stosowany jest w chemioterapii samodzielnie (dobrze tolerowany przez pacjentów), albo w skojarzeniu z inhibitorem mitozy paklitakselem (w tym połączeniu wykazuje jednak działanie toksyczne). Veliparib (ABT-888), doustny inhibitor PARP stosowany z temozolomidem, jest w II fazie badań klinicznych u pacjentów z przerzutującym rakiem piersi. Wykazuje pozytywny efekt leczenia u pacjentów z mutacjami w genach *BRCA* [9,10,14,21,31,33].

Inhibitory receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR

W około 60% przypadków potrójnie negatywnego raka piersi stwierdza się ekspresję receptora naskórkowego czynnika wzrostu EGFR. Czynniki wzrostu naskórka EGF jest jednym z głównych mitogenów odpowiedzialnych za proliferację nabłonka i tkanki łącznej gruczołu piersiowego. Przekazywanie sygnału komórkowego poprzez EGFR pobudza namnażanie komórek guza, hamuje apoptozę oraz nasila angiogenezę i zdolność do tworzenia przerzutów. Zahamowanie czynności receptora naskórkowego czynnika wzrostu odbywa się albo z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych, albo inhibitorów kinazy tyrozynowej. Przeciwciała monoklonalne łącząc się z zewnątrzkomórkową domeną receptora hamują jego funkcjonowanie przez blokowanie wiązania ligandów i internalizację receptora. Inhibitory kinazy tyrozynowej EGFR są związkami o małej masie cząsteczkowej, które wiążąc się z wewnątrzkomórkową domeną EGFR o aktywności kinazy tyrozynowej, zapobiegają fosforylacji tyrozyny i aktywacji szlaku przekazywania sygnału. Inhibitory EGFR są wykorzystywane w leczeniu podtypów BL2 i MSL potrójnie negatywnego raka piersi. Badania inhibitorów EGFR obejmują cetuksimab, chimeryczne przeciwciała monoklonalne stosowane samodzielnie lub z karboplatiną oraz gefitinib (Iressa) i erlotinib (Tarceva), drobnocząsteczkowe inhibitory aktywności kinazowej EGFR [8,11,19,27,45].

Inhibitory czynnika wzrostu śródbłónka naczyń VEGF

VEGF (vascular endothelial growth factor) jest głównym mediatorem angiogenezy. Jako lek celowany w terapii potrójnie negatywnego raka piersi stosuje się bevacizumab - rekombinowane, humanizowane przeciwciała monoklonalne klasy IgG1. Blokuje on wiązanie się liganda - głównie izofর্ম VEGF-A₁₆₅ do receptorów VEGFR1 i VEGFR2. Stosowany samodzielnie w ramach terapii adiuwantowej (III faza badań), albo w terapii skojarzonej z paklitakselem i/lub karboplatiną znajduje zastosowanie w terapii głównie podtypu MSL [11,33,34]. W hamowaniu angiogenezy znajdują również zastosowanie cediranib (AZD2171) i sunitinib (SU11248) blokujące aktywność kinazową receptorów VEGFR1-3.

Inhibitory kinazy serynowo-treoninowej mTOR

Funkcją kinazy mTOR (mammalian target of rapamycin) jest regulacja wzrostu, proliferacji i ruchliwości komórek. Kinaza mTOR jest aktywowana przez kinazę białkową B (Akt) w szlaku sygnałowym PI3K/Akt. Inhibitorem kinazy mTOR, hamującym sygnał proliferacji i prowadzącym do zatrzymania komórek w fazie G₁ cyklu komórkowego jest pochodna rapamycyny - everolimus. W podtypach M, MSL i LAR potrójnie negatywnego raka piersi stosuje się ją w zapobieganiu przerzutom albo jako składnik terapii adiuwantowej w połączeniu z paklitakselem i karboplatiną [23,33,45].

Tabela 3. Potencjalne strategie terapeutyczne stosowane w poszczególnych podtypach potrójnie negatywnego raka piersi [24,27]

Podtyp TNBC	Strategie terapeutyczne
BL1 (basal-like 1)	Leki hamujące mitozę (np. paklitaksel, docetaksel, iksabepilon) Inhibitory PARP1 i 2 Cytostatyki (np. cisplatyna)
BL2 (basal-like 2)	Inhibitory PARP1 i 2 Cytostatyki (np. cisplatyna) Inhibitory EGFR
IM (immunomodulatory)	Inhibitory PARP1 i 2 Cytostatyki (np. cisplatyna)
M (mesenchymal)	Inhibitory kinaz Src/Abl (np. dasatinib) Inhibitory szlaku PI3K/mTOR (np. NVP-BEZ235)
MSL (mesenchymal stem-like)	Inhibitory EGFR i VEGF Inhibitory kinaz Src/Abl (np. dasatinib) Inhibitory szlaku PI3K/mTOR (np. NVP-BEZ235)
LAR (luminal androgen receptor)	Niesteroidowe antyandrogeny (np. bicalutamid) Inhibitory szlaku PI3K/mTOR (np. NVP-BEZ235)

Inhibitory niereceptorowych cytoplazmatycznych kinaz tyrozynowych Src i Bcr/Abl

Substratami kinaz tyrozynowych Src (sarcoma) i Bcr/Abl (breakpoint cluster region/Abelson murine leukemia viral oncogene homolog) są liczne białka cytoplazmatyczne w tym białka cytoszkieletu, jak również białkowe produkty onkogenów komórkowych umiejscowione w jądrze komórkowym, w tym c-Myc. Inhibitorem kinazy Src i Bcr/Abl jest dasatinib, łączący się zarówno z aktywną, jak i nieaktywną postacią enzymu. Wyniki badań sugerują, że inhibitory kinaz Src i Bcr/Abl mogą być stosowane w leczeniu podtypu M i MSL potrójnie negatywnego raka piersi [13,38,41].

Niesteroidowe antyandrogeny

W leczeniu podtypu LAR potrójnie negatywnego raka piersi, charakteryzującego się ekspresją receptora an-

drogenowego, pozytywne efekty można oczekiwać stosując związki będące antagonistami AR. Należy do nich bicalutamid, stosowany w leczeniu raka stercza [15,17].

Strategie terapeutyczne stosowane w poszczególnych podtypach potrójnie negatywnego raka piersi przedstawiono w tabeli 3.

UWAGI KOŃCOWE

Istotnym problemem klinicznym w przypadku raka piersi jest grupa chorych, u których nie stwierdza się ekspresji żadnego z receptorów kwalifikujących do hormonoterapii czy terapii celowanej skierowanej przeciwko HER2. Profelowanie molekularne ekspresji genów pozwala na zrozumienie zróżnicowania klinicznego raka piersi i stwarza nowe możliwości w poszukiwaniu jak najskuteczniejszych terapii. Poprawa wyników leczenia jest najważniejszym wyzwaniem współczesnej onkologii.

PIŚMIENICTWO

[1] Atchley D.P., Albarracin C.T., Lopez A., Valero V., Amos C.I., Gonzalez-Angulo A.M., Hortobagyi G.N., Arun B.K.: Clinical and pathologic characteristics of patients with BRCA-positive and BRCA-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2008; 26: 4282-4288

[2] Bauer K.R., Brown M., Cress R.D., Parise C.A., Caggiano V.: Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California Cancer Registry. *Cancer*, 2007; 109: 1721-1728

[3] Bertucci F., Finetti P., Cervera N., Charafe-Jauffret E., Buttarelli M., Jacquemier J., Chaffanet M., Maraninchi D., Viens P., Birnbaum D.: How different are luminal A and basal breast cancers? *Int. J. Cancer*, 2009; 124: 1338-1348

[4] Bertucci F., Finetti P., Cervera N., Esterni B., Hermitte F., Viens P., Birnbaum D.: How basal are triple-negative breast cancers? *Int. J. Cancer*, 2008; 123: 236-240

[5] Chacón R.D., Costanzo M.V.: Triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 2010; 12 (Suppl. 2): S3

[6] Cleator S., Heller W., Coombes R.C.: Triple-negative breast cancer: therapeutic options. *Lancet Oncol.*, 2007; 8: 235-244

[7] Dawson S.J., Provenzano E., Caldas C.: Triple negative breast cancers: clinical and prognostic implications. *Eur. J. Cancer*, 2009; 45 (Suppl. 1): 27-40

[8] de Ruijter T.C., Veeck J., de Hoon J.P., van Engeland M., Tjan-Heijnen V.C.: Characteristics of triple-negative breast cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2011; 137: 183-192

- [9] Dębska S., Kubicka J., Czyżykowski R., Habib M., Potemski P.: Inhibitory PARP – podstawy teoretyczne i zastosowanie kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 311-321
- [10] Domagała P., Huzarski T., Lubiński J., Gugala K., Domagała W.: PARP-1 expression in breast cancer including BRCA1-associated, triple negative and basal-like tumors: possible implications for PARP-1 inhibitor therapy. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2011; 127: 861-869
- [11] Duchnowska R.: Leczenie celowane – nowe nadzieje w leczeniu raka piersi. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2007; 3: 128-134
- [12] Duchnowska R.: „Podpis genowy” jako czynnik rokowniczy w uzupełniającym leczeniu raka piersi. *Onkol. Prak. Klin.*, 2009; 5: 237-243
- [13] Duda-Szymańska J., Sporny S.: Praktyczna wartość molekularnej klasyfikacji raków sutka. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2011; 31: 5-8
- [14] Fang L., Barekati Z., Zhang B., Liu Z., Zhong X.: Targeted therapy in breast cancer: what's new? *Swiss Med. Wkly.*, 2011; 141: w13231
- [15] Finn R.S., Dering J., Ginther C., Wilson C.A., Glaspy P., Tchekmedyan N., Slamon D.J.: Dasatinib, an orally active small molecule inhibitor of both the src and abl kinases, selectively inhibits growth of basal-type/“triple-negative” breast cancer cell lines growing in vitro. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2007; 105: 319-326
- [16] Foulkes W.D., Smith I.E., Reis-Filho J.S.: Triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 363: 1938-1948
- [17] Gao W.: Androgen receptor as a therapeutic target. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2010; 62: 1277-1284
- [18] Hammond M.E., Hayes D.F., Dowsett M., Allred D.C., Hagerty K.L., Badve S., Fitzgibbons P.L., Francis G., Goldstein N.S., Hayes M., Hicks D.G., Lester S., Love R., Mangu P.B., McShane L. i wsp.: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 2784-2795
- [19] Hugh J., Hanson J., Cheang M.C., Nielsen T.O., Perou C.M., Dumontet C., Reed J., Krajewska M., Treilleux I., Rupin M., Magherini E., Mackey J., Martin M., Vogel C.: Breast cancer subtypes and response to docetaxel in node-positive breast cancer: use of immunohistochemical definition in the BCIRG 001 trial. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 1168-1176
- [20] Kiliańska Z.M., Żołnierczyk J., Węsierska-Gądek J.: Biologiczna aktywność polimerazy poli(ADP-rybozy)-1. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 344-363
- [21] Kluzek K., Białkowska A., Koczorowska A., Zdzienicka M.Z.: Inhibitory polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP) w terapii nowotworów z mutacjami BRCA1/2. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 372-384
- [22] Kordek R., Bednarek A.K.: Mikromacierze DNA w badaniach raka piersi. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2005; 1: 10-17
- [23] Krześlak A.: Kinaza Akt: kluczowy regulator metabolizmu i progresji nowotworów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2010; 64: 490-503
- [24] Lehmann B.D., Bauer J.A., Chen X., Sanders M.E., Chakravarthy A.B., Shyr Y., Pietenpol J.A.: Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J. Clin. Invest.*, 2011; 121: 2750-2767
- [25] Linn S.C., Van 't Veer L.J.: Clinical relevance of the triple-negative breast cancer concept: genetic basis and clinical utility of the concept. *Eur. J. Cancer*, 2009; 45 (Suppl. 1): 11-26
- [26] Meyer P., Landgraf K., Högel B., Eiermann W., Ataseven B.: BRCA2 mutations and triple-negative breast cancer. *PLoS One*, 2012; 7: e38361
- [27] Minami C.A., Chung D.U., Chang H.R.: Management options in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer*, 2011; 5: 175-199
- [28] Miyoshi Y., Murase K., Oh K.: Basal-like subtype and BRCA1 dysfunction in breast cancers. *Int. J. Clin. Oncol.*, 2008; 13: 395-400
- [29] Niemiec J., Ryś J.: Podtyp podstawny raka piersi – jednostka o specyficznej charakterystyce immunofenotypowej? *Pol. J. Pathol.*, 2009; 3 (Suppl. 1): s36-s44
- [30] Niemiec J., Ryś J.: Morfologia i immunocharakterystyka raka piersi w świetle nowych poglądów na temat karcinogenezy. *Pol. J. Pathol.* (Suppl. 1) s1-s9
- [31] O'Shaughnessy J., Osborne C., Pippen J.E., Yoffe M., Patt D., Rocha C., Koo I.C., Sherman B.M., Bradley C.: Iniparib plus chemotherapy in metastatic triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 205-214
- [32] O'Toole S.A., Beith J.M., Millar E.K., West R., McLean A., Cazet A., Swarbrick A., Oakes S.R.: Therapeutic targets in triple negative breast cancer. *J. Clin. Pathol.*, 2013; 66: 530-542
- [33] Pal S.K., Childs B.H., Pegram M.: Triple negative breast cancer: unmet medical needs. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2011; 125: 627-636
- [34] Pal S.K., Mortimer J.: Triple-negative breast cancer: novel therapies and new directions. *Maturitas*, 2009; 63: 269-274
- [35] Podo F., Buydens L.M., Degani H., Hilhorst R., Klipp E., Gribbestad I.S., Van Huffel S., van Laarhoven H.W., Luts J., Monleon D., Postma G.J., Schneiderhan-Marra N., Santoro F., Wouters H., Russnes H.G. i wsp.: Triple-negative breast cancer: present challenges and new perspectives. *Mol. Oncol.*, 2010; 4: 209-229
- [36] Rakha E.A., El-Sayed M.E., Green A.R., Lee A.H.S., Robertson J.F., Ellis I.O.: Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*, 2007; 109: 25-32
- [37] Rakha E.A., Elsheikh S.E., Aleskandarany M.A., Habashi H.O., Green A.R., Powe D.G., El-Sayed M.E., Benhasouna A., Brunet J.S., Akslen L.A., Evans A.J., Blamey R., Reis-Filho J.S., Foulkes W.D., Ellis I.O.: Triple-negative breast cancer: distinguishing between basal and nonbasal subtypes. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 2302-2310
- [38] Reddy K.B.: Triple-negative breast cancers: an updated review on treatment options. *Curr. Oncol.*, 2011; 18: e173-e179
- [39] Santana-Davila R., Perez E.A.: Treatment options for patients with triple-negative breast cancer. *J. Hematol. Oncol.*, 2010; 3: 42
- [40] Stockmans G., Deraedt K., Wildiers H., Moerman P., Paridaens R.: Triple-negative breast cancer. *Curr. Opin. Oncol.*, 2008; 20: 614-620
- [41] Tan A.R., Swain S.M.: Therapeutic strategies for triple-negative breast cancer. *Cancer J.*, 2008; 14: 343-351
- [42] Voduc K.D., Cheang M.C., Tyldesley S., Gelmon K., Nielsen T.O., Kennecke H.: Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 1684-1691
- [43] Whitman G.J., Albarracín C.T., Gonzalez-Angulo A.M.: Triple-negative breast cancer: what the radiologist needs to know. *Semin. Roentgenol.*, 2011; 46: 26-39
- [44] Wojciechowska U., Didkowska J., Zatoński W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2010 roku. Centrum Onkologii, Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa 2012
- [45] Wojtukiewicz M.Z., Szambora P., Sierko E.: Patofizjologiczne podstawy kojarzenia leczenia anty-EGFR z chemioterapią. *Onkol. Prakt. Klin.*, 2010; 6: 236-240
- [46] Wolff A.C., Hammond M.E., Schwartz J.N., Hagerty K.L., Allred D.C., Cote R.J., Dowsett M., Fitzgibbons P.L., Hanna W.M., Langer A., McShane L.M., Paik S., Pegram M.D., Perez E.A., Press M.F. i wsp.: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2007; 25: 118-145

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.