

Klinický význam HER-3 u karcinomu prsu

Libor Staněk^{1,2,3}, Petra Tesařová¹, Robert Gurlich², Zdeněk Musil⁴, František Mateička³

¹Onkologická klinika, 1. LF UK a VFN v Praze

²Chirurgická klinika, 3. LF UK a FNKV v Praze

³Vysoká škola zdravotnictví a sociální práce sv. Alžbety v Bratislavě

⁴Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Receptory velké rodiny HER hrají v případě karcinomu prsu významnou roli, která prochází postupným rozvojem v souvislosti s biologickým vývojem, a to jak na poli diagnostickém tak terapeutickém. HER2 pozitivita u karcinomu prsu původně sama o sobě představovala nepříznivý prognostický faktor. To se změnilo díky moderní léčbě pomocí monoklonálních protilátek. Další mezník poté představuje konečná analýza dat ze studie CLEOPATRA. Tato studie se zaměřila na přínos přidání monoklonální protilátky pertuzumabu ke standardní terapii trastuzumabem a docetaxelem. Pertuzumab se váže na stejný cíl jako trastuzumab, avšak na jiném vazebném místě, inhibuje tak heterodimerizaci HER2 a HER3 receptorů. Dimerizace HER2 s dalšími členy skupiny HER je přitom největším hnacím mechanismem růstu a přežívání nádorových buněk. Pertuzumab má sám o sobě minimální protinádorovou účinnost, používá se proto výhradně v kombinaci s trastuzumabem. Tento kombinovaný přístup tedy zlepšuje blokádu HER2 signální dráhy porušením dimerizace HER3 a HER2 receptoru. Velice zajímavé se ovšem jeví využití exprese HER3, jako možného prognostického markeru u TNBC převážně ve spojitosti s graviditou a kojením. Dále se předpokládá, že HER-3 receptor se podílí nejen na přežití a proliferaci buněk, ale také na regulaci exprese PD-L1. Mohlo by se tedy jednat o potenciální cíl imunoterapie. Pohled na receptor HER-3 bude však daleko složitější a jak se zdá, nadměrná exprese tohoto receptoru, bude mít jak negativní, tak pozitivní prognostický význam.

Klíčová slova: karcinom prsu, rodina HER, overexprese, HER-3, HER-2, pertuzumab.

Clinical importance of her-3 in breast cancer

In the case of breast cancer, receptors of the large HER family play an important role that undergoes gradual evolution in association with the biological development, both in the diagnostic and therapeutic fields. Originally, HER-2 positivity in breast cancer was an unfavourable prognostic factor in itself. This has changed due to modern treatment with monoclonal antibodies. The final analysis of data from the CLEOPATRA trial has been another landmark. This trial focused on the benefit of adding the monoclonal antibody pertuzumab to standard treatment with trastuzumab and docetaxel. Pertuzumab binds to the same target as trastuzumab, yet at a different binding site, thus inhibiting heterodimerization of the HER-2 and HER-3 receptors. In fact, dimerization of HER-2 and of other members of the HER family is the major driving mechanism of tumour cell growth and survival. Pertuzumab itself has minimal anticancer efficacy; therefore, it is used exclusively in combination with trastuzumab. Hence, this combined approach improves HER-2 signalling pathway inhibition by disrupting the dimerization of HER-3 and HER-2 receptors. What appears to be intriguing, however, is the use of HER-3 expression as a possible prognostic marker in TNBC predominantly in association with pregnancy and breast-feeding. The HER-3 receptor is supposed to be involved not only in cell survival and proliferation, but also in the regulation of PD-L1 expression. It could thus be a potential target for immunotherapy. Indeed, the view of the HER-3 receptor is likely to be much more complex and, as it seems, overexpression of this receptor will have both negative and positive prognostic significance.

Key words: breast cancer, HER family, overexpression, HER-3, HER-2, pertuzumab.

Epidemiologie a etiologie karcinomu prsu

Karcinom prsu je nejčastějším zhoubným nádorovým onemocněním žen v České republice. Česká republika zaujímá v incidenci karcinomu prsu u žen 26. místo ve světě a 17. místo v Evropě. V roce 2015 bylo zjištěno 7 719 případů, což v přepočtu na 100 tisíc žen představovalo 143,94 případů. Incidence karcinomu prsu má stoupající tendenci. Mortalita, tedy počet úmrtí v důsledku zhoubného nádoru prsu na 100 000 obyvatel za rok, v poslední době mírně klesá, v roce 2015 zemřelo 1 839 žen.

Přestože je léčba karcinomu prsu, zvláště v raných stádiích, velmi úspěšná, zůstává karcinom prsu i nadále nejčastější onkologickou příčinou smrti u žen. Zhoubný novotvar prsu často postihuje ženy v produktivním věku, téměř 43 % patientek je mladších než 60 let. Ale nejčastěji se karcinom prsu vyskytuje ve věkové kategorii 60–65 let. Příznivou charakteristikou epidemiologie nádorů prsu v ČR je dlouhodobě rostoucí podíl nově diagnostikovaných málo pokročilých klinických stadií (stadium I – 40 %, stadium II – 35 %). Nicméně podíl diagnostikovaných nemocných s generalizovaným onemocněním ve stadiu IV se trvale zásadně nemění a neovlivnil jej ani screening (stadium IV – 9 %). Karcinom prsu můžeme diagnostikovat jako onemocnění sporadické nebo dědičně podmíněné.

V případech sporadické formy, kterou nalézáme u většiny žen s karcinomem prsu, vzniká v důsledku nahromadění somatických mutací v buňkách prsní žlázy. Nádorová transformace mamárních epitelů je způsobena deregulací kritických signálně-transdukčních cest (buněčného dělení, apoptózy a reparace genomové DNA) na podkladě aktivace protoonkogenů a inaktivace tumor supresorových genů, což je vyvoláno genetickými poruchami, doprovázenými epigenetickými změnami. Výsledkem těchto selhání je vznik maligně transformované buňky in situ, která může na základě genomové nestability způsobené poruchami DNA reparačních pochodů, vytvářet řadu geneticky nestabilních dceřiných buněk tolerujících genomové defekty postihující další regulační mechanismy (1).

Dědičně podmíněné formy karcinomu prsu tvoří 15–20 % mamárních tumorů. Jedná se o nádory familiární, u žen s pozitivní rodinnou anamnézou, ale bez zřejmé genetické mutace, a nádory hereditární, které tvoří 5–10 % všech

nemocných. U těchto pacientů lze nalézt některé z patogenních mutací v různých predispozičních genech, kódujících protein zúčastněný v tkáňově specifickém procesu nádorové supresivity. Do současné doby bylo charakterizováno několik predispozičních genů, jejichž patogenní alterace významně zvyšují riziko vzniku karcinomu prsu (BRCA1 a BRCA2). Další geny ovlivňující riziko vzniku karcinomu prsu se vyskytují v podstatně menší míře (geny s nízkou a střední penetrancí), avšak skupina těchto genů je pestrá a stále se rozrůstá – TP53, PTEN, LKB1/STK11, ATM, CHEK2, NBS1 (NBN), PALB2, TGFβ1, CASP-8 a další. Velmi nápadný je blízký vztah genů podílejících se na vzniku hereditárních forem karcinomu prsu k pochodům přímo zprostředkujícím nebo regulujícím kontrolní body (checkpoints) buněčného cyklu a reparaci genomové DNA. Predispoziční geny modifikují riziko vzniku karcinomu prsu (a dalších nádorů) nestejnoměrně. Zatímco u některých vysoce penetrantních genů (BRCA1/2) je nosičství patogenních alterací spojené s rizikem vysokým, u jiných je zvýšení rizika pouze střední či malé a lze předpokládat, že některé z variant riziko vzniku nádorů snižují, jejich význam je tak projektivní (1).

Histologicky karcinom prsu mohou předcházet prekancerózní změny – duktální hyperplazie, atypická duktální a lobulární hyperplazie. Z hyperplazií se vyvinou nejprve neinvazivní karcinomy, tzv. karcinomy „in situ“, které mohou přerůst invazivní karcinomy. Neinvazivní karcinomy vyrůstají z maligně transformovaných epitelových buněk vývodů (duktální karcinom in situ, DCIS) a mohou vyrůstat i z epitelových buněk lalůčků (lobulární karcinom in situ, LCIS). Zvláštní formou duktálního karcinomu in situ je Pagetův karcinom bradavky, u něhož nádorové buňky invadující do ductů pronikají do epidermis areoly.

Invazivní karcinomy jsou duktální (84 %) a lobulární (15 %). Velmi agresivní formou karcinomu prsu je erysipeloidní (inflatorní) karcinom – je to obvykle málo diferencovaný duktální karcinom infiltrující celý prs a lymfatické cévy kůže. Kromě určení histologického typu nádoru je nezbytné posouzení stupně diferenciace (tzv. grade) – zatímco dobře diferencované nádory (grade 1) rostou nejpomaleji a nejméně agresivně, málo diferencované (dediferencované) karcinomy (grade 3) rostou rychle, mají tendenci k šíření do okolí a metastazování. V době dia-

gnózy lze zjistit uzlinové metastázy u vysokého procenta nemocných s negativním palpačním nálezem v axile. Hematogenní šíření do kostí, plic, pleury, jater, ovaria, kůže a mozku může nastat dokonce již u subklinického nádoru. Pro karcinom prsu je charakteristický tzv. paralelní model metastazování, to znamená, že metastázy jsou již založeny v době subklinické diagnózy primárního tumoru (1).

Molekulárně se pohled na karcinom prsu za poslední desetiletí výrazně změnil. Na základě profilů genové exprese byly charakterizovány základní („intrinsic“) typy karcinomu prsu: luminální A, luminální B, HER2 pozitivní a basal like a normální tkáň prsu podobný typ (normal-like), což představuje taxonomické označení, jež je široce používané ve výzkumu karcinomu prsu. Podle nejnovějších poznatků je zřejmé, že karcinom prsu s pozitivními a negativními ER jsou dvě zcela odlišná onemocnění, která mají různé prekurzory, cesty diseminace, klinické chování a odpověď na léčbu. Znamená to, že genetický profil ER pozitivního invazivního karcinomu s nízkým gradem bude zcela odlišný od ER negativního karcinomu prsu s vysokým gradem. Grading nádoru souvisí se stupněm genetické nestability nádoru. V roce 2012 byl popsán kompletní genový profil zatím nejrepresentativnějšího souboru karcinomu prsu. Zajímavé je, že nejširší spektrum genových mutací bylo nalezeno právě u luminálních karcinomů s pozitivními ER (1).

Biologické a buněčné aspekty rodiny HER

Pokroky v molekulární biologii vedly k identifikaci potenciálních markerů prognostického a terapeutického významu u karcinomu prsu. HER2 testování v případech cílené terapie nyní představuje základní algoritmus v léčbě tohoto onemocnění. Cílem současného bádání je zjistit frekvenci a prognostický význam nadměrné exprese i dalších členů z rodiny HER a to HER3 a HER4 u invazivních karcinomů prsu. Receptory velké rodiny HER hrají v případě karcinomu prsu významnou roli. HER2 pozitivita u karcinomu prsu původně sama o sobě představovala nepříznivý prognostický faktor. To se změnilo díky moderní léčbě pomocí monoklonálních protilátek. Z molekulárního hlediska je terapeutickým cílem heterodimerizace HER2 a HER3 receptorů. Dimerizace HER2 s dalšími členy skupiny HER je totiž největším hnacím mechanismem růstu

a přežívání nádorových buněk. Rodina receptorů lidského epidermálního růstového faktoru (HER) zahrnuje čtyři homologické členy. Aktivace těchto receptorů ovlivňuje esenciální tumorigenní procesy a hraje zásadní roli v patogenezi rakoviny prsu. V poslední době je pozornost zaměřena na HER-3.

Další mezník pak představuje konečná analýza dat ze studie CLEOPATRA. Tato studie se zaměřila na přínos přidání monoklonální protilátky pertuzumabu ke standardní terapii trastuzumabem a docetaxelem. Pertuzumab se váže na stejný cíl jako trastuzumab, avšak na jiném vazebném místě, inhibuje tak heterodimerizaci HER2 a HER3 receptorů. Tento kombinovaný přístup tedy zlepšuje blokádu HER2 signální dráhy porušením dimerizace HER3 a HER2 receptoru.

Receptorová tyrosin-protein kináza erbB-3, známá jako HER3 (receptor pro humánní epidermální růstový faktor 3), je membránově vázaný protein, který je u člověka kódován genem EerB3. ErbB3 je členem receptorové tyrosinkinázy pro epidermální růstový faktor (EGFR/ERBB). ErbB3 tvoří aktivní heterodimery s jinými členy rodiny ErbB, nejvíce s ErbB2. Tento gen je umístěn na dlouhém raménku chromozómu 12 (12q13). Je kódován 23 651 páry bází a překládá se do 1342 aminokyselin. V průběhu vývoje je ERBB3 exprimován v kůži, kosti, svalovině, nervovém systému, srdci, plicích a střevním epitelu. ErbB3, stejně jako ostatní členové rodiny ErbB receptorových tyrosinkináz, sestává z extracelulární domény, transmembránové domény a intracelulární domény. Extracelulární doména obsahuje čtyři subdomény (I-IV). Subdomény I a III jsou bohaté na leucin a primárně se podílejí na vazbě ligandu. Subdomény II a IV jsou bohaté na cystein a s největší pravděpodobností přispívají ke konfirmaci a stabilitě proteinů prostřednictvím tvorby disulfidových vazeb. Subdoména II také obsahuje dimerizační smyčku potřebnou pro tvorbu dimeru. Cytoplazmatická doména obsahuje juxtamembránový segment, kinázovou doménu a C-terminální doménu. Receptor přijímá konformaci, která inhibuje dimerizaci. Vazba neuregulinu na subdomény vázající ligand (I a III) indukuje konformační změnu v ErbB3, která způsobuje výstupek dimerizační smyčky v subdoméně II, aktivaci proteinu pro dimerizaci (2).

Bylo prokázáno, že ErbB3 váže ligandy neuregulin a neuregulin-2 (NRG-2). Vazba ligandu způsobuje změnu konformace, která umožňuje

dimerizaci, fosforylaci a aktivaci signální transdukce. ErbB3 může heterodimerizovat s některým z ostatních tří členů rodiny ErbB. Teoretický ErbB3 homodimer je nefunkční, protože kinázově poškozený protein vyžaduje transfosforylaci jeho vazebným partnerem, aby byl aktivní.

Na rozdíl od ostatních členů rodiny receptorů tyrosinkinázy ErbB, které jsou aktivovány autofosforylací při vazbě ligandu, bylo zjištěno, že ErbB3 je poškozen kinázou, přičemž pouze 1/1000 má autofosforylační aktivitu EGFR a nemá schopnost fosforylovat jiné proteiny. Proto ErbB3 musí působit jako alosterický aktivátor.

ErbB2-ErbB3 dimer se považuje za neaktivnější z možných ErbB dimerů, zčásti proto, že ErbB2 je preferovaným dimerizačním partnerem všech členů rodiny ErbB a ErbB3 je preferovaným partnerem ErbB2. Tato konformace heterodimeru umožňuje signálnímu komplexu aktivovat více cest, včetně MAPK, PI3K/Akt a PLCγ. Existuje také důkaz, že heterodimer ErbB2-ErbB3 se může vázat a být aktivován ligandy podobnými EGF.

Intracelulární doména ErbB3 obsahuje 6 rozpoznávacích míst pro SH2 doménu p85 podjednotky PI3K. Vazba ErbB3 způsobuje alosterickou aktivaci p110, lipid kinasová podjednotka PI3K, funkce, která se nenachází jak v EGFR, tak v ErbB2 (2).

Význam exprese HER-3 a dalších členů této rodiny u invazivního karcinomu prsu

Mezi členy rodiny HER jsou nejvíce prostudovány EGFR a HER2. Avšak chybí údaje o významu změn dalších členů a to HER3 a HER4. Kombinace (dimerizace) receptorů HER2 a HER3 může být rozhodující pro růst a progresi karcinomu prsu. Navíc HER3 může poskytnout cestu rezistence vůči terapeutikám cílených na EGFR nebo HER2 receptor. Přestože řada studií ukázala, že nadměrná exprese HER3 je spojena se špatnou prognózou u pacientek s karcinomem prsu, jiné studie ukázaly, že nadměrná exprese HER3 může být i pozitivním prognostickým faktorem. V případě receptoru HER4 existující studie naznačují, že signalizace HER4 podporuje diferenciaci a inhibici růstu buněk karcinomu prsu (3). Kromě toho je HER4 důsledněji spojen s příznivou prognózou u karcinomu prsu. HER4 má několik biologických aktivit mnoho z těchto funkcí je zprostředkováno intracelulární doménou HER4. Kromě toho ztráta exprese HER4 může představovat marker rezistence k tamoxifenu.

Vzhledem k funkční vzájemné závislosti mezi receptory HER je možné, že účinek na proliferaci buněk a růst nádoru závisí na trans-signalizaci receptoru. Proto objasnění toho, jak a v jakém rozsahu se tyto různé signalizační cesty zapojují při karcinogenezi prsu, může vést k dalším terapeutickým možnostem (4).

Doména ErbB3/HER3 se objevuje jako molekulární cíl pro různé druhy karcinomů. HER3 je nadměrně exprimován a aktivován v řadě typů karcinomů za podmínek získané rezistence vůči jiným léčebným intervencím rodiny HER, jako jsou inhibitory tyrosinkinázy a protilátkové terapie. Regulace exprese a signalizace HER3 zahrnuje mnoho proteinů interagujících s HER3. Tyto proteiny zahrnují PI3K, SHC, E3 ubikvitin ligázy, NEDD4 a Nrdp1. Navíc nedávna identifikace řady onkogenních mutací HER3 u karcinomu tlustého střeva a žaludku objasňuje úlohu HER3 při vývoji onemocnění. Navzdory silným důkazům o úloze HER3 u rakoviny vyžaduje současné chápání regulace exprese a aktivace HER3 další výzkum. Navíc nedostatek biomarkerů pro rakovinu poháněnou HER3 představuje velkou výzvu pro klinický vývoj HER3 cílených protilátek. Proto lepší pochopení regulace HER3 by mělo zlepšit strategie terapeutického cíle HER3 v léčbě rakoviny (5). Toto téma bylo řešeno v řadě studií.

V jedné z nich, byla exprese receptorů rodiny HER sledována na kohortě 4046 pacientek s diagnostikovaným invazivním karcinomem prsu, s mediánem 12,5 let následného sledování (6). Analýza byla provedena ve formu fixovaných a do parafinu zalitých tkání. Expresní hladiny HER1, HER2, HER3 a HER4 byly testovány imunohistochemicky (IHC) a HER2 byl dále potvrzen fluorescenční *in situ* hybridizací pomocí amplifikačních sond. V této studii byla zjištěna nadměrná exprese HER-3 u 10 % nádorů a byla signifikantním markerem kratšího přežití. Navíc v nádorech s normálními expresními hladinami HER-1 a HER-2 měla nadměrná exprese HER-3 významný negativní prognostický účinek na přežití (HR: 1,541, 95 % CI: 1,166–2,036, P = 2,37 × 10⁻³) nezávisle na věku pacienta při diagnóze, statusu estrogenového receptoru, gradu nádoru, velikosti nádoru a přítomnosti lymfatické nebo cévní invaze. Nadměrná exprese HER-4 byla identifikována u 78,2% rakoviny prsu a nebyla významným ukazatelem přežití pacienta (P = 0,214). Tato studie prokázala, že stav HER3 je důležitým prognostickým ukazatelem přežívá-

ní u pacientek s invazivním karcinomem prsu. Podle toho může hodnocení úrovně exprese HER3 identifikovat podskupinu pacientek se špatnou prognózou onemocnění, která by mohla profitovat z přípravků cílených na HER3.

Členové rodiny receptorů lidského epidermálního růstového faktoru (HER) mají význam v procesu tumorigeneze, v případě, že jsou jejich signální funkce deregulovány. Konstitutivní aktivace těchto funkcí je patrná u řady různých subtypů nádoru, a zejména EGFR a HER2 se staly vysoce sledovanými cíli pro vývoj protinádorových léků. Klinické studie u řady typů nádorů, o nichž je známo, že jsou řízeny pomocí EGFR nebo HER2, vykazují smíšené výsledky a pro dosažení plného potenciálu této léčby je zapotřebí další molekulární porozumění citlivosti a odolnosti vůči lékům. Signalizace trans je klíčový znak signalizace HER rodiny a aktivace dráhy PI3K/Akt, tak kriticky důležitá v nádorovém onemocnění, je řízena převážně fosforylací v trans transmembránové inaktivní kináze HER3. Nicméně současné výsledky zdůrazňují roli HER3 v tumorigenezi a při zprostředkování rezistence na inhibitory EGFR a HER2. Vzhledem k tomu, že HER3 je inaktivní kináza, není přímým cílem inhibitorů kinázy a není v současnosti terapeuticky snadno přístupná. Nicméně HER3 hraje významnou úlohu v nádorovém onemocnění a při zprostředkování rezistence na inhibitory EGFR a HER2 (7).

Význam exprese HER-3 v souvislosti s imunoterapií

Velice zajímavé se ovšem jeví využití exprese HER-3, jako možného markeru imunoterapie u TNBC. Předpokládá se, že HER3 receptor se podílí nejen na přežití, proliferaci buněk, ale také na regulaci exprese PD-L1. Předpokladem je, že exprese HER3 receptoru reguluje expresi PD-L1 a jednalo by se tedy o potenciální cíl imunoterapie, a tedy o prediktivní marker u TNBC.

Expresce HER-3 u triple-negativního karcinomu prsu

Předpokládá se využití exprese HER-3, jako možného prognostického markeru u TNBC. Byla provedena velká studie (8) na vzorcích ze 100 případů (40 fibroadenomemů a 60 invazivních ductálních karcinomemů (IDC)), které nebyly jinak specifikovány. Všechny pacientky prošly modifikovanou radikální mastektomií. Všechny

vzorky byly vyšetřeny na expresi HER-2/neu, ER a PR pomocí Imunohistochemie (IHC) a kvantitativním stanovením exprese HER-3 mRNA metodou PCR v reálném čase. V případech karcinomu byla prokázána ve srovnání s fibroadenomem významně vysoká hladina HER3 mRNA. U maligních případů byla hladina HER3 mRNA významně spojena s pokročilým T stadiem, stupněm N, počtem pozitivních lymfatických uzlin, velikostí nádoru a případy s komponentou *in situ*. Navíc hladina HER-3 mRNA měla nejvyšší hodnoty v pozitivní skupině Her-2/neu, následované triple negativními případy s nejnižší hladinou v lumenální skupině ($p < 0,05$). HER-3 je v IDC upregulován, zejména v těch nádorech, které mají špatné prognostické rysy. Jak ukazuje studie, úroveň HER-3 mRNA může identifikovat podskupinu pacientů se špatnou prognózou, a kteří by mohli podstoupit další hodnocení účinnosti protinádorové léčby HER3.

V další studii bylo cílem vyhodnotit prognostický význam exprese HER3 u invazivního karcinomu prsu. Do studie bylo zařazeno 950 případů invazivního karcinomu prsu s dlouhodobými klinickými následnými daty (medián 109,7 měsíců). Byla charakterizována exprese ER, PR, HER2, EGFR a HER3 imunohistochemicky. Každý případ byl klasifikován jako jeden ze čtyř subtypů pomocí IHC, založené na expresi hormonálních receptorů (HR) a HER2. V subtypu TNBC vykazovala skupina HER3 (+) horší přežití (DFS, $P = 0,010$) a celkové přežití (OS, $P = 0,015$) než skupina HER3 (-). V podtypu HER2 skupina HER3 (+) vykazovala také horší DFS ($P = 0,022$) a OS ($P = 0,077$) než skupina HER3 (-). Nebyl však žádný rozdíl u pacientů s HR-pozitivním karcinomem prsu. Expresce HER3 byla spojena se špatným DFS u podtypů TNBC a HER2 a kratšího OS v podtypu TNBC. Bylo potvrzeno, že nadměrná exprese HER3 je důležitým prognostickým markerem karcinomu prsu s negativními hormonálními receptory a je zapotřebí další studie k objasnění úlohy léčby cílené na HER-3 (9).

Expresce HER-3 a těhotenství

Jak ukázala řada studií, riziko rakoviny prsu se zvyšuje přechodně v období těhotenství a následně po porodu. V případě rakoviny prsu související s těhotenstvím (PABC) lze konstatovat agresivnější průběh než u případů diagnostikovaných mimo toto období. Při normálním těhotenství dochází k upregulaci řady genů

souvisejících se zánětem, což podporuje pro-tumorigenní prostředí, stejně jako downregulace ESR1 (ERα) a ERBB2 (HER2) a upregulace ESR2 (ERβ), což stimuluje ochranný účinek (10). Řadou autorů byla také sledována možnost regulace stejného genového souboru modulovaného v normálním prsu a v nádoru po těhotenství (11). Genetická exprese byla stanovena pomocí PCR v reálném čase na nádorových oblastech izolovaných mikrodisekcí z parafinových bloků. Imunohistochemie byla provedena na tkáňových řezech. Bylo zjištěno, že rakovina prsu v průběhu 10 let po těhotenství vykazuje jiný vzorec genové exprese než ty, které byly zjištěny u pacientů s rakovinou prsu mimo toto období. Rozdíl v genové expresi je způsoben hlavně u triple negativních karcinomů (TNBC). Dále bylo prokázáno, že měřené hladiny exprese proteinů (mRNA) korelují s IHC stanovením. Díky této studii bylo identifikováno několik proteinů exprimovaných v těhotenství a asociovaných TNBC.

V další studii byl (12) sledován gen 2 (BTG2), během těhotenství a laktace v epitelálních buňkách prsu. U rakoviny prsu exprese BTG2 koreluje s vysokým stupněm a velikostí nádoru, stavem p53, invazí do krve a lymfatických cév, lokální a metastatickou recidivou a poklesem celkového přežití, což naznačuje, že potlačování BTG2 má rozhodující roli v progresi onemocnění. Expresce BTG2 zvyšuje migraci buněk *in vitro* a růst nádoru a metastázy *in vivo*. Expresce BTG2 je zprostředkována aktivací receptorů HER2 a HER3, což vede ke zvýšené fosforylaci AKT. Potlačení aktivace HER s použitím inhibitoru tyrosinkinázy lapatinibu se ruší účinky BTG2, včetně zvýšené migrace buněk pozorované *in vitro* a zvýšeného nádorového bujení *in vivo*. Tyto výsledky dokazují dopad BTG2 na progresi nádoru aktivací HER a, že cílená inhibice této dráhy může být významná při léčbě rakoviny prsu.

Nové molekulárně terapeutické cíle spojené s HER-3

Mnoho solidních nádorů včetně rakoviny prsu vykazuje zvýšenou aktivaci několika receptorů růstového faktoru, konkrétně receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) a jeho členů této rodiny, dále c-Src, nerekceptorové tyrosinkinázy, která podporuje proliferaci, inhibuje apoptózu a indukuje metastázování. Předpokládá se, že inhibice c-Src a EGFR bude

účinnou terapeutickou strategií u triple-negativního karcinomu prsu. Ve studii použili inhibitor specifický pro c-Src dasatinib (BMS-354825; Bristol-Myers Squibb) a nově vyvinutý ErbB-inhibiční protein (EBIP), potenciální inhibitor pan-ErbB na 4 linie buněk karcinomu prsu (13). EBIP se skládá z 1 až 448 aminokyselinové ektodomény lidského EGFR, na který je na C – konci kondenzován epitop 30 aminokyselin (známý jako "oblast U") proteinu příbuzného s EGFR potkana. Bylo zjištěno, že kombinace dasatinibu a EBIP je vysoce účinná při inhibici růstu čtyř různých buněk karcinomu prsu (MDA-MB-468, SKBr-3, MDA-MB-453 a MDA-

MB-231) EGFR. V buňkách MDA-MB-468, které nadměrně exprimují EGFR, kombinace, nikoliv však monoterapie, výrazně stimulovala apoptózu zprostředkovanou kaspázou-9 a kaspázou-8 a oslabenou aktivací EGFR a Src stejně jako aktivitu tyrosinkinázy. EBIP také inhiboval heregulinem indukovanou aktivaci HER2 a HER3 v buňkách rakoviny prsu MDA-MB-453. Kombinovaná terapie byla vysoce účinná při potlačení růstu nádoru (přibližně 90% inhibice) u xenoinplantátů odvozených od MDA-MB-468 u těžkých kombinovaných imunodeficientních myší. Lze tedy předpokládat, že kombinace dasatinibu a EBIP by mohla být účinnou terapeutickou

strategií pro rakovinu prsu zaměřením na EGFR a Src signalizaci, popřípadě HER3 (14).

Závěr

Pohled na receptor HER-3 však bude daleko složitější a jak se zdá, nadměrná exprese tohoto receptoru, bude mít jak negativní, tak pozitivní prognostický význam. Ačkoli bude zapotřebí dalších studií, dosažené výsledky naznačují, že molekulární charakteristika hraje v karcinogenezi prsu důležitou roli a amplifikace ERBB-3 a exprese HER-3 se jeví jako vhodný biologický marker terapie či prognózy.

Podpořeno: PROGRES Q28/UK

LITERATURA

1. Staněk L, Tesařová P, Gurlich R. Molekulární onkologie v ka-
zuistikách. Praha: Current Media 2018: 45–56.
2. <https://en.wikipedia.org/wiki/ERBB3>.
3. Koutras AK, Fountzilias G, Kalođeris KT, Starakis I, Ionomou
G, Kalofonos HP. The upgraded role of HER3 and HER4 recep-
tors in breast cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2010; 74(2): 73–78.
4. Göthlin Eremo A, Tina E, Wegman P, Stål O, Fransén K, et
al. HER4 tumor expression in breast cancer patients rando-
mized to treatment with or without tamoxifen. Int J Oncol.
2015; 47(4): 1311–1320.
5. Hui Lyu, Amy Han, Erik Polsdofer, Shuang Liu, Bolin Liu.
Understanding the biology of HER3 receptor as a therape-
utic target in human cancer, Acta Pharmaceutica Sinica B,
2018; 8(4): 503–510.
6. Chiu CG, Masoudi H, Leung S, Voduc DK, Gilks B, et al. HER-3
overexpression is prognostic of reduced breast cancer survi-

- val: a study of 4046 patients. Ann Surg. 2010; 251(6): 1107–1116.
7. Hsieh A. C, Moasser M.M. Targeting HER proteins in can-
cer therapy and the role of the non-target HER3. Br J Cancer.
2007; 97(4): 453–457.
8. Hammoda GE, El-Hefnawy SM, Abdou AG, Abdallah RA.
Human Epidermal Growth Factor Receptor-3 mRNA Expre-
ssion as a Prognostic Marker for Invasive Duct Carcinoma not
Otherwise Specified. J Clin Diagn Res. 2017; 11(2).
9. Bae SY, La Choi Y, Kim S, Kim M, Kim J, et al. HER3 status by
immunohistochemistry is correlated with poor prognosis in
hormone receptor-negative breast cancer patients. Breast
Cancer Res Treat. 2013; 139(3): 741–750.
10. Asztalos S, Pham TN, Gann PH, Hayes MK, Deaton R, et al.
High incidence of triple negative breast cancers following
pregnancy and an associated gene expression signature.
Springerplus. 2015; 19(4): 710.

11. Hsieh AC, Moasser MM. Targeting HER proteins in can-
cer therapy and the role of the non-target HER3. Br J Cancer.
2007; 20: 97(4): 453–457.
12. Takahashi F, Chiba N, Tajima K, Hayashida T, Shima-
da T, et al. Breast tumor progression induced by loss of
BTG2 expression is inhibited by targeted therapy with
the ErbB/HER inhibitor lapatinib. Oncogene. 2011; 30:
3084–3095.
13. Jyoti Nautiyal, Yingjie Yu, Amro Aboukameel, Shailender
Kanwar, Jayanta K Das, et al. ErbB Inhibitory Protein [EBIP]:
A Modified Ectodomain of EGFR Synergizes with Dasatinib
to Inhibit Growth of Breast Cancer Cells. Mol Cancer Ther.
2010; 9(6): 1503–1514.
14. John Araujo, Christopher Logothetis. Dasatinib: a potent
SRC inhibitor in clinical development for the treatment of so-
lid tumors. Cancer Treat Rev. 2010; 36(6): 492–500.

www.onkologiecs.cz

