

УДК 618.19-006.6-091.8:575.224.22.088
DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-6-2195-2201

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И СОМАТИЧЕСКИЕ МУТАЦИИ ГЕНА *PIK3CA* В ОПУХОЛИ

© М.Л. Филипенко¹⁾, Н.А. Оськина¹⁾, И.А. Оскорбин¹⁾, О.В. Мишуква¹⁾,
Л.К. Овчинникова²⁾, Н.А. Огнерубов³⁾, Е.С. Герштейн⁴⁾, Н.Е. Кушлинский⁴⁾

¹⁾ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, Российская Федерация, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8
E-mail: mlfilipenko@gmail.com

²⁾ Московский областной онкологический диспансер
143900, Российская Федерация, Московская обл., г. Балашиха, ул. Карбышева, 6

³⁾ Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина
392000, Российская Федерация, г. Тамбов, ул. Интернациональная, 33
E-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

⁴⁾ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН Минздрава России
115478, Российская Федерация, г. Москва, Каширское шоссе, 23
E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Методом мультиплексной аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени изучено наличие активирующих соматических мутаций в кодонах 542 и 545 экзона 9 (р.Е542К с.1624G>А и р.Е545К с.1633G>А) и в кодоне 1047 экзона 20 (р.Н1047R с.3140А>G и р.Н1047L с.3140А>Т) гена *PIK3CA* каталитической р110а субъединицы фосфатидилинозит-3 киназы в опухолях 473 больных раком молочной железы. Выявлено 58 различных мутаций, что составило 12,3 %. Продемонстрировано увеличение частоты встречаемости мутаций *PIK3CA* по мере прогрессирования заболевания (с 2,4 % при I–IIa до 28,7 % – при III–IV стадии; $p = 0,0001$) и тенденция к ее увеличению в опухолях с неблагоприятными прогностическими признаками (высокая степень злокачественности, «тройной негативный» фенотип). Установлено, что наличие исследованных мутаций *PIK3CA* в опухолях статистически значимо ухудшает безрецидивную выживаемость как во всей группе, так и при III стадии заболевания.

Ключевые слова: аллель-специфичная ПЦР в режиме реального времени (АС-ПЦР-РВ); ген *PIK3CA*; мутации; рак молочной железы; клиничко-морфологические факторы; прогноз

ВВЕДЕНИЕ

Сигнальный путь PI3K/AKT – один из ключевых внутриклеточных сигнальных каскадов, запускающихся при активации практически всех трансмембранных тирозинкиназных рецепторов факторов роста, включая рецепторы эпидермального фактора роста, рецептор 1 типа инсулиноподобных факторов роста, рецепторы VEGF и др. Первое звено этого каскада – фосфатидилинозит-3 киназа (PI3K) – фермент, фосфорилирующий инозитное кольцо в положении D-3, – считается в настоящее время одним из важнейших регуляторных белков, поскольку, находясь на пересечении различных сигнальных путей, она контролирует ключевые функции клетки, такие как пролиферация, апоптоз, миграция, реорганизация цитоскелета. На самом деле, PI3K – это целая группа ферментов, делящаяся на 3 класса в зависимости от структуры и субстратной специфичности, но только для PI3K класса IA доказано участие в канцерогенезе [1]. IA PI3K – это также группа гетеродимеров, состоящих из двух субъединиц: каталитической р110 (р110а, р110б, и р110δ) и регуляторной р85 (р85а, р85β, р85γ, р50а, и р55а). Изоформы как каталитической, так и регуляторной части фермента кодиру-

ются 3 разными генами, соответственно, *PIK3CA*, *PIK3CB*, *PIK3CD* и *PIK3R1*, *PIK3R2*, *PIK3R3*.

Известно, что активирующие соматические мутации в гене *PIK3CA*, кодирующем каталитическую р110а субъединицу PI3K, играют значительную роль в патогенезе и прогрессии опухолей и часто встречаются при раке молочной железы (РМЖ), колоректальном раке, раке эндометрия, мочевого пузыря, желудка, а также в большинстве других опухолей человека [2–4]. Наиболее частыми соматическими мутациями гена *PIK3CA* являются р.Е542К с.1624G>А, р.Е545К с.1633G>А, р.Н1047R с.3140А>G и р.Н1047L с.3140А>Т, составляющие более 90 % всех мутаций. Мутации Н1047R и Н1047L локализованы в кодоне 1047 экзона 20 киназного домена р110а, а мутации Е542К и Е545К – в кодонах 542 и 545 экзона 9, принадлежащих домену, ответственному за взаимодействие р110а с регуляторной р85 субъединицей фермента. Показано, что они повышают киназную активность PI3K, ведут к активации нижележащей киназы Akt и, таким образом, являются онкогенными [5–6].

В настоящее время считается, что соматические мутации *PIK3CA* более часто ассоциированы с опухолями с менее агрессивным поведением, положитель-

ными по рецепторам эстрогенов (РЭ) и имеющими люминальный А молекулярный тип, однако исследования, оценивающие прогностическое или предиктивное значение этих мутаций, весьма противоречивы [7], в частности, из-за различных методов выявления мутаций, популяционных особенностей пациентов и часто малых размеров выборок. Крайне важно, чтобы влияние мутаций гена *PIK3CA* на патофизиологию опухоли и ее ответ на терапию были более тщательно проанализированы на разных стадиях прогрессии опухоли.

Цель настоящего исследования – оценка взаимосвязи соматических мутаций гена *PIK3CA* в опухолях больших раком молочной железы с основными клинико-морфологическими факторами прогноза и выживаемостью пациенток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинический материал. В исследование вошли 473 больных РМЖ в возрасте от 28 до 82 лет, прошедших обследование и лечение в ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина Минздрава России с 2009 по 2012 г. У 93 пациенток была I (T₁N₀M₀), у 202 – IIa (T₂N₀M₀), у 135 – III (T₁₋₄N₀₋₃M₀) и у 43 – IV (T₁₋₄N₀₋₃M₊) стадия заболевания. Во всех случаях диагноз подтвержден гистологическим исследованием опухоли. По гистологическому строению 316 опухолей были отнесены к протоковому инфильтративному раку, 84 – к дольковому инфильтративному, 16 – к слизистому; у 55 пациенток был смешанный гистологический тип РМЖ и у 2 – рак Педжета. Большинство опухолей (68 %) имели G-2, 23 % – G-3 и всего 9 % – G-1 степень злокачественности.

В опухолях всех обследованных больных иммуногистохимическим методом оценена экспрессия РЭ и

рецепторов прогестерона (ПП), а также HER2/neu и белка Ki-67. На основании этих исследований выделено 6 молекулярных типов РМЖ: люминальный А (РЭ+ПП+HER2⁻ Ki-67<20 %) тип выявлен у 134, люминальный В HER2⁻ (РЭ+ПП+HER2⁻ Ki-67≥20 %) – у 73, люминальный В HER2⁺ (РЭ+ПП+HER2⁺ Ki-67 любой) – у 65, HER2⁺ (РЭ-ПП-HER2⁺ Ki-67 любой) – у 69, «тройной негативный» (РЭ-ПП-HER2⁻ Ki-67 любой) – у 76 больных, и у 56 больных опухоли были РЭ+ПП-HER2⁻ Ki67<20 %.

Анализ соматических мутаций гена *PIK3CA*. ДНК для мутационного анализа выделяли из парафиновых блоков опухолей, удаленных хирургическим методом или полученных в результате трепанобиопсии у ранее нелеченных больных РМЖ, с помощью QIAamp DNA FFPE Tissue Kit согласно инструкции компании производителя. Для детекции соматических мутаций в кодонах 542 и 545 экзона 9 (p.E542K с.1624G>A и p.E545K с.1633G>A, соответственно) и в кодоне 1047 экзона 20 (p.H1047R с.3140A>G и p.H1047L с.3140A>T) гена *PIK3CA* проводили мультиплексную аллель-специфичную полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени с детекцией сигнала с помощью TaqMan зондов, как описано ранее [8]. Структура использованных олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно меченных зондов представлена в табл. 1.

Статистический анализ изменения частот выявления соматических мутаций оценивали с помощью точного двустороннего теста Фишера, безрецидивную выживаемость – методом Каплана–Мейера. Проведен также многофакторный анализ с использованием регрессионной модели Кокса.

Таблица 1

Список олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентно меченных зондов, использованных в работе

№ п/п	Название	Нуклеотидная последовательность
1	IL17RA-U	5'-CTTGATGCTCTCGCTCTTCG-3'
2	IL17RA-R	5'-TGTAGCCCTGGTCAGACTG-3'
3	IL17RA-PCy5	5'-Cy5-CTGCCGCTGCTCCTCCTCG-BHQ2-3'
4	1047mutN2R	5'-TGTTGTCCAGCCACCATGTC-3'
5	545mutN2	5'-CCATAGAAAATCTTTCTCCTGCct-3'
6	542mutN2	5'-CTTTCTCCTGCTCAGTGATTct-3'
7	UU-542	5'-GGAAAATGACAAAGAACAGTCA-3'
8	PIC-1047L	5'-TTGTTGTCCAGCCACCATGGA-3'
9	Prob-PIC1	5'-FAM-CAATTTCTACACGAGATCCTCTCTC-BHQ1-3'
10	Prob-PIC3	5'-HEX-TCATGAAACAATGAATGATGCA-BHQ1

Таблица 2

Распределение типов соматических мутаций в исследуемых опухолях молочной железы в зависимости от стадии заболевания

Стадия	Число больных	E542K	E545K	H1047R	H1047L	Всего
I	93	1 (1,1 %)	–	–	–	1 (1,1 %)
IIa	202	2 (1,0 %)	3 (1,5 %)	1 (0,5 %)	–	6 (3,0 %)
I-IIa	295	3 (1,0 %)	3 (1,0 %)	1 (0,3 %)	–	7 (2,4 %)
III	135	16 (11,9 %)	2 (1,5 %)	14 (10,4 %)	6 (4,4 %)	38 (28,1 %)
IV	43	6 (14,0 %)	1 (2,3 %)	4 (9,3 %)	2 (4,7 %)	13 (30,2 %)
III-IV	178	22 (12,4 %)	3 (1,7 %)	18 (10,1 %)	8 (4,5 %)	51 (28,7 %)
Всего	473	25 (8,0 %)	6 (1,3 %)	19 (4,0 %)	8 (1,7 %)	58 (12,3 %)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всего в 473 исследованных образцах РМЖ выявлено 58 различных мутаций гена *PIK3CA* (25 – р.Е542К; 6 – р.Е545К; 19 – р.Н1047R, 8 – р.Н1047L), что составило 12,3 % (табл. 2). Наиболее часто выявляли мутации р.Е542К – в 25 образцах, и р.Н1047R – в 19. Образцов с несколькими различными мутациями не обнаружено.

Мутация гена *PIK3CA* (р.Е542К) обнаружена только в одной из 93 опухолей молочной железы I стадии. Эта же мутация обнаружена в 2 из 202 образцов опухолей молочной железы IIa стадии, еще в 3 из 202 опухолей IIa стадии обнаружена мутация р.Е545К, и в одной из них – р.Н1047R. В целом, частота выявления соматических мутаций гена *PIK3CA* увеличивалась по мере прогрессирования опухолевого процесса и составила 2,4 % в опухолях I–IIa стадий против 28,7 % в опухолях III–IV стадий ($p = 0,0001$). Увеличение происходило в большей степени за счет мутаций в 1047 кодоне каталитического домена фермента: они составляют 14 % всех мутаций (1/7) при I–IIa стадиях и 46,5 % (26/51) – при III–IV ($p = 0,007$). Частоты выявления мутаций в опухолях при III и IV стадиях статистически значимо не различались.

Далее мы проанализировали взаимосвязь наличия соматических мутаций гена *PIK3CA* с такими ключевыми клинико-морфологическими характеристиками РМЖ, как гистологическое строение, степень злокачественности и молекулярный тип (табл. 3). Статистически значимых ассоциаций как общей частоты выявления всех мутаций, так и частоты выявления отдельных мутаций с каким-либо из вышеуказанных факторов не обнаружено. Однако можно отметить несколько большую частоту мутаций в дольковом инфильтративном раке по сравнению с протоковым инфильтративным (в

слизистом и смешанном РМЖ и раке Педжета мутаций не обнаружено), а также выраженную тенденцию к увеличению частоты соматических мутаций гена *PIK3CA* с увеличением степени злокачественности – от полного отсутствия при G-1 до почти 20 % при G-3.

Что касается молекулярных типов РМЖ, то наиболее часто мутации *PIK3CA* встречались в прогностически неблагоприятном и трудно поддающемся лечению «тройном негативном» раке (14,5 %), а наиболее редко – в $HER2^+$ РМЖ (8,7 %), также достаточно агрессивном. Частота выявления мутаций в РМЖ люминального В типа (как $HER2^+$, так и $HER2^-$) была незначительно выше, чем в опухолях люминального А и близкого к нему РЭ⁺РП $HER2^-$ Ki67<20 % типа. Также отдельно проанализировали взаимосвязь частоты выявления мутаций со статусом РЭ, РП, $HER2/neu$ и белка Ki-67, однако и в этом случае значимых ассоциаций выявлено не было (данные не представлены).

Удалось проследить отдаленные результаты лечения 465 из 473 обследованных больных РМЖ на протяжении от 5 месяцев до 6 лет. В общей группе продемонстрировано статистически значимое ($p < 0,0001$) снижение безрецидивной выживаемости больных при наличии мутаций гена *PIK3CA* в опухоли: 1-летняя выживаемость снижалась на 20 %, 2-летняя – на 30 %, 3-летняя – на 50 % и 5-летняя – на 30 % по сравнению с пациентками без мутаций.

Учитывая тот факт, что мутации *PIK3CA*, в основном, были обнаружены при распространенном РМЖ, а, следовательно, ухудшение прогноза в данной группе могло быть связано именно с этой закономерностью, мы проанализировали отдаленные результаты лечения больных разных стадий. Оказалось, что все больные I–IIa стадии, у 7 из которых обнаружены мутации гена *PIK3CA*, были живы без рецидива на протяжении всего периода наблюдения. Однако в группе больных РМЖ

Таблица 3

Частота выявления соматических мутаций гена *PIK3CA* в зависимости от гистологического строения и молекулярного типа РМЖ

Обследованные группы	Частота выявления мутаций гена <i>PIK3CA</i> в опухолях больных РМЖ				Всего
	Мутации				
	Е542К	Е545К	Н1047R	Н1047L	
Гистологический вариант РМЖ					
Протоковый инфильтративный рак	17 (5,4 %)	5 (1,6 %)	14 (4,4 %)	6 (1,9 %)	43 (13,6 %)
Дольковый инфильтративный рак	7 (8,3 %)	1 (1,2 %)	5 (6,0%)	2 (2,4 %)	15 (17,9 %)
Степень злокачественности РМЖ					
G-1	–	–	–	–	–
G-2	15 (4,7 %)	5 (1,6 %)	12 (3,7 %)	4 (1,2 %)	36 (11,2 %)
G-3	10 (9,1 %)	1 (0,9 %)	7 (6,3 %)	4 (3,6 %)	22 (19,8 %)
Молекулярный тип РМЖ					
Люминальный А	9 (6,7 %)	1 (0,8 %)	4 (3,0 %)	2 (1,5 %)	16 (11,9 %)
РЭ ⁺ РП $HER2^-$ Ki67<20%	6 (10,7 %)	–	–	–	6 (10,7 %)
Люминальный В $HER2^-$	4 (5,5 %)	1 (1,4 %)	4 (5,5 %)	1 (1,4 %)	10 (13,7 %)
Люминальный В $HER2^+$	1 (1,5 %)	1 (1,5 %)	6 (9,2 %)	1 (1,5 %)	9 (13,9 %)
$HER2^+$	2 (2,9 %)	–	2 (2,9 %)	2 (2,9 %)	6 (8,7 %)
Тройной негативный	3 (4,0 %)	3 (4,0 %)	3 (4,0 %)	2 (2,6 %)	11 (14,5 %)

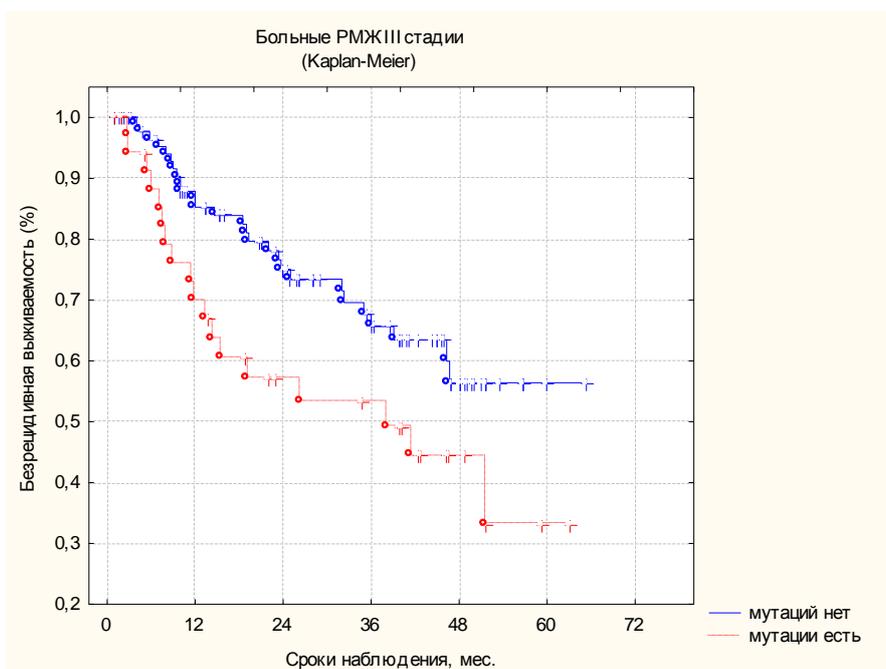


Рис. 1. Безрецидивная выживаемость больных РМЖ III стадии в зависимости от наличия или отсутствия мутаций гена *PIK3CA* в опухоли

III стадии (мутации выявлены у 38 из 135 больных) статистически значимые различия в показателях безрецидивной выживаемости сохранились ($p < 0,05$; рис. 1). Так, медиана срока жизни без рецидива в группе с отсутствием мутаций гена *PIK3CA* не была достигнута при 5-летнем сроке наблюдения, а при их наличии составила 35,8 мес.

Таким образом, по данным представленного исследования, наблюдается статистически значимое накопление соматических мутаций в каталитическом домене *PIK3CA* по мере прогрессирования РМЖ: частота выявления мутаций была статистически значимо выше при распространенном, чем при раннем РМЖ. Кроме того, выявлено увеличение частоты мутаций по мере увеличения степени злокачественности опухоли. В соответствии с этим, удалось продемонстрировать и статистически значимое снижение показателей безрецидивной выживаемости среди больных с мутациями *PIK3CA* не только в общей группе, но и при III стадии РМЖ. Следует, однако, отметить, что при многофакторном анализе мутационный статус гена *PIK3CA* не проявил себя в качестве независимого прогностического фактора.

Выявленные закономерности противоположны описанному рядом авторов улучшению прогноза у больных РМЖ при наличии соматических мутаций гена *PIK3CA* в опухоли. Так, например, К. Kalinsky et al. [9], детально проанализировавшие данные о мутационном статусе гена *PIK3CA* в опухолях 590 больных РМЖ, прослеженных на протяжении более 12 лет, продемонстрировали не только улучшение прогноза у больных с измененным геном, но и ассоциацию наличия мутаций с большинством прогностически благоприятных клинико-морфологических факторов. Аналогичные данные получены М. Cizkova et al. [10], которые также показали, что прогностическое значение мутаций *PIK3CA* наиболее выражено в группе больных

с *HER2/neu*-положительными опухолями. Как уже отмечалось, различия результатов клинико-лабораторных исследований могут быть связаны с популяционными особенностями обследованных групп, спецификой лечения и наблюдения, а также с различиями использованных методов, а в некоторых случаях и спектра оцениваемых мутаций [7].

В то же время полученные нами данные об увеличении частоты встречаемости активирующих мутаций гена *PIK3CA* при прогрессии РМЖ и их отрицательном влиянии на прогноз заболевания согласуются с хорошо известным онкогенным потенциалом *PI3K* и достаточным многочисленными данными о взаимосвязи между активацией *PI3K/Akt* сигнального пути и лекарственной резистентностью РМЖ, включая резистентность к анти-*HER2* препаратам – трастузумабу и/или лапатинибу [11–14]. Кроме того, недавно было показано, что пациенты с мутациями в гене *PIK3CA* лучше отвечают на комбинированную химиотерапию, включающую эпирубицин и доцетаксел [15].

ВЫВОДЫ

1. С помощью разработанного ранее [8] метода мультиплексной аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени продемонстрировано увеличение частоты встречаемости активирующих соматических мутаций гена *PIK3CA* (p.E542K c.1624G>A, p.E545K c.1633G>A, p.H1047R c.3140A>G, p.H1047L c.3140A>T) по мере прогрессирования РМЖ и тенденция к их увеличению в опухолях с неблагоприятными прогностическими признаками (высокая степень злокачественности, «тройной негативный» фенотип).

2. Наличие исследованных мутаций гена *PIK3CA* в опухолях ухудшает безрецидивную выживаемость больных РМЖ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Engelman J.A., Luo J., Cantley L.C.* The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism // *Nat. Rev. Genet.* 2006. V. 7. № 8. P. 606-619.
2. COSMIC database. URL: <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> (accessed: 19.06.2016).
3. *Karakas B., Bachman K.E., Park B.H.* Mutation of the PIK3CA oncogene in human cancers // *Br. J. Cancer.* 2006. V. 94. № 4. P. 455-459.
4. *Samuels Y., Wang Z., Bardelli A., Silliman N., Ptak J., Szabo S., Yan H., Gazdar A., Powell S.M., Riggins G.J., Willson J.K., Markowitz S., Kinzler K.W., Vogelstein B., Velculescu V.E.* High frequency of mutations of the PIK3CA gene in human cancers // *Science.* 2004. V. 304. № 5670. P. 554. doi: 10.1126/science.1096502.
5. *Gustin J.P., Karakas B., Weiss M.B., Abukhdeir A.M., Lauring J., Garay J.P., Cosgrove D., Tamaki A., Konishi H., Konishi Y., Mohseni M., Wang G., Rosen D.M., Denmeade S.R., Higgins M.J., Vitolo M.I., Bachman K.E., Park B.H.* Knockin of mutant PIK3CA activates multiple oncogenic pathways // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 8. P. 2835-2840.
6. *Zhao L., Vogt P.K.* Class I PI3K in oncogenic cellular transformation // *Oncogene.* 2008. V. 27. № 41. P. 5486-5496.
7. *Sana Al-Sukhun., Isam Lataifeh., Rajaat Al-Sukhun.* Defining the Prognostic and Predictive Role of PIK3CA Mutations: Sifting Through the Conflicting Data // *Curr. Breast Cancer Rep.* 2016. № 8. P. 73-79.
8. *Филипенко М.Л., Шамовская Д.В., Оськина Н.А., Оскорбин И.П., Храпов Е.А., Овчинникова Л.К., Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е.* Разработка метода выявления соматических мутаций гена PIK3CA с помощью мультиплексной аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени и его валидация в опухолях больных раком молочной железы // *Альманах клинической медицины.* 2015. № 41. С. 12-18.
9. *Kalinsky K., Jacks L.M., Heguy A., Patil S., Drobnyak M., Bhanot U.K., Hedvat C.V., Traina T.A., Solit D., Gerald W., Moynahan M.E.* PIK3CA mutation associates with improved outcome in breast cancer // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. № 16. P. 5049-5059.
10. *Cizkova M., Susini A., Vacher S., Cizeron-Clairac G., Andrieu C., Driouch K., Fourme E., Lidereau R., Bièche I.* PIK3CA mutation impact on survival in breast cancer patients and in ERα, PR and ERBB2-based subgroups // *Breast Cancer Res.* 2012. V. 14. № 1. P. 28.
11. *Chandarlapaty S., Sakr R.A., Giri D., Patil S., Heguy A., Morrow M., Modi S., Norton L., Rosen N., Hudis C., King T.A.* Frequent mutational activation of the PI3K-AKT pathway in trastuzumab-resistant breast cancer // *Clin. Cancer Res.* 2012. V. 18. № 24. P. 6784-6791.
12. *Loi S., Michiels S., Lambrechts D., Fumagalli D., Claes B., Kellokumpu-Lehtinen P.-L., Bono P., Kataja V., Piccart M.J., Joensuu H., Sotiriou C.* Somatic mutation profiling and associations with prognosis and trastuzumab benefit in early breast cancer // *J. Natl. Cancer Inst.* 2013. V. 105. № 13. P. 960-967.
13. *Loibl S., Majewski I., Guarneri V. et al.* PIK3CA mutations are associated with reduced pathological complete response rates in primary HER2-positive breast cancer: pooled analysis of 967 patients from five prospective trials investigating lapatinib and trastuzumab // *Ann. Oncol.* 2016. V. 27. № 8. P. 1519-1525.
14. *Razis E., Bobos M., Kotoula V., Eleftheraki A.G., Kalofonos H.P., Pavlakis K., Papakostas P., Aravantinos G., Rigakos G., Efstratiou I., Petraki K., Bafaloukos D., Kostopoulos I., Pectasides D., Kalogeras K.T., Skarlos D., Fountzilas G.* Evaluation of the association of PIK3CA mutations and PTEN loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* 2011. V. 128. № 2. P. 447-456.
15. *Zhang Y., Liu M., Yang H., Wang J., Liu H., Li X., Li J., Xu J., Li X.* PIK3CA mutations are a predictor of docetaxel plus epirubicin neoadjuvant chemotherapy clinical efficacy in breast cancer // *Neoplasma.* 2014. V. 61. № 4. P. 461-467.

БЛАГОДАРНОСТИ: Работа поддержана грантом ФЦП № 14.604.21.0101, шифр 2014-14-576-0109.

Поступила в редакцию 21 июля 2016 г.

Филипенко Максим Леонидович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, кандидат биологических наук, зав. лабораторией фармакогеномики, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Оськина Наталья Александровна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, научный сотрудник лаборатории фармакогеномики, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Оскорбин Игорь Петрович, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, научный сотрудник лаборатории фармакогеномики, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Мишукова Ольга Викторовна, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск, Российская Федерация, научный сотрудник лаборатории фармакогеномики, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Овчинникова Лариса Константиновна, Московский областной онкологический диспансер, г. Балашиха, Московская область, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, руководитель хирургического отделения опухолей молочных желез, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Огнерубов Николай Алексеевич, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, доктор медицинских наук, кандидат юридических наук, профессор, зав. кафедрой анатомии, оперативной хирургии и онкологии, заслуженный работник высшей школы РФ, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Герштейн Елена Сергеевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, e-mail: esgershtein@gmail.com

Кушлинский Николай Евгеньевич, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, г. Москва, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, руководитель лаборатории клинической биохимии, e-mail: biochimia@mtu-net.ru

UDC 618.19-006.6-091.8:575.224.22.088
DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-6-2195-2201

BREAST CANCER AND SOMATIC MUTATIONS GENE *PIK3CA* IN TUMORS

© M.L. Filipenko¹⁾, N.A. Oskina¹⁾, I.A. Oscorbin¹⁾, O.V. Mishukova¹⁾,
L.K. Ovchinnikova²⁾, N.A. Ognerubov³⁾, E.S. Gershteyn⁴⁾, N.E. Kushlinskiy⁴⁾

¹⁾ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine Siberian Branch of the RAS

8 Lavrentiev Ave., Novosibirsk, Russian Federation, 630090

E-mail: mlfilipenko@gmail.com

²⁾ Moscow Regional Oncology Dispensary

6 Karbysheva St., Balashikha, Moscow region, Russian Federation, 143900

³⁾ Tambov State University named after G.R. Derzhavin

33 Internatsionalnaya St., Tambov, Russian Federation, 392000

E-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

⁴⁾ Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin RAMS of Ministry of Health of Russia

23 Kashirskoe Highway, Moscow, Russian Federation, 115478

E-mail: biochimia@mtu-net.ru

Occurrence of activating somatic mutations in codons 542 and 545 of exon 9 (p.E542K c.1624G>A and p.E545K c.1633G>A) and in codon 1047 of exon 20 (p.H1047R c.3140A>G и p.H1047L c.3140A>T) of phosphoinositide 3-kinase catalytic subunit p110 α gene *PIK3CA* was investigated in the tumors of 473 breast cancer patients by multiplex allele-specific real-time PCR. 58 different mutations were found that comprised 12.3 %. Increase of the frequency of *PIK3CA* gene mutations with disease progression (from 2.4 % at I–IIa to 28.7 % – at III–IV stage; $p = 0.0001$) and a trend towards its increase in the tumors with unfavorable prognostic characteristics (high histological grade, “triple negative” phenotype) were demonstrated. The presence of the investigated *PIK3CA* mutations in the tumors was shown to significantly worsen the disease-free survival both in the total patients’ group, and in stage III breast cancer patients.

Key words: allele-specific real-time PCR; *PIK3CA* gene; mutations; breast cancer; clinico-pathologic factors; prognosis

REFERENCES

- Engelman J.A., Luo J., Cantley L.C. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat. Rev. Genet.*, 2006, vol. 7, no. 8, pp. 606-619.
- COSMIC database. Available at: <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic> (accessed 19.06.2016).
- Karakas B., Bachman K.E., Park B.H. Mutation of the *PIK3CA* oncogene in human cancers. *Br. J. Cancer*, 2006, vol. 94, no. 4, pp. 455-459.
- Samuels Y., Wang Z., Bardelli A., Silliman N., Ptak J., Szabo S., Yan H., Gazdar A., Powell S.M., Riggins G.J., Willson J.K., Markowitz S., Kinzler K.W., Vogelstein B., Velculescu V.E. High frequency of mutations of the *PIK3CA* gene in human cancers. *Science*, 2004, vol. 304, no. 5670, p. 554. doi: 10.1126/science.1096502.
- Gustin J.P., Karakas B., Weiss M.B., Abukhdeir A.M., Lauring J., Garay J.P., Cosgrove D., Tamaki A., Konishi H., Konishi Y., Mohseni M., Wang G., Rosen D.M., Denmeade S.R., Higgins M.J., Vitolo M.L., Bachman K.E., Park B.H. Knockin of mutant *PIK3CA* activates multiple oncogenic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, no. 8, pp. 2835-2840.
- Zhao L., Vogt P.K. Class I PI3K in oncogenic cellular transformation. *Oncogene*, 2008, vol. 27, no. 41, pp. 5486-5496.
- Sana Al-Sukhun., Isam Lataifeh., Rajaa Al-Sukhun. Defining the Prognostic and Predictive Role of *PIK3CA* Mutations: Sifting Through the Conflicting Data. *Curr. Breast Cancer Rep.*, 2016, no. 8, pp. 73-79.
- Fylypenko M.L., Shamovskaja D.V., Os'kina N.A., Oskorbyn Y.P., Hrapov E.A., Ovchinnikova L.K., Gershteyn E.S., Kushlinskiy N.E. Razrabotka metoda vyjavleniya somaticheskikh mutatsiy gena *PIK3CA* s pomoshh'ju mul'tipleksnoy allel'-specyfychnoy PCR v rezhyme real'nogo vremeni y ego valyidatsiya v opuhol'jah bol'nykh rakom molochnoy zhelezy [Development of a multiplex allele-specific real-time PCR method for detection of *PIK3CA* gene somatic mutations and its validation in the tumors of breast cancer patients]. *Al'manah klinicheskoy meditsiny* [Almanac of Clinical Medicine], 2015, no. 41, pp. 12-18. (In Russian).
- Kalinsky K., Jacks L.M., Heguy A., Patil S., Drobnjak M., Bhanot U.K., Hedvat C.V., Traina T.A., Solit D., Gerald W., Moynahan M.E. *PIK3CA* mutation associates with improved outcome in breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2009, vol. 15, no. 16, pp. 5049-5059.
- Cizkova M., Susini A., Vacher S., Cizeron-Clairac G., Andrieu C., Driouch K., Fourme E., Lidereau R., Bièche I. *PIK3CA* mutation impact on survival in breast cancer patients and in ER α , PR and ERBB2-based subgroups. *Breast Cancer Res.*, 2012, vol. 14, no. 1, p. 28.
- Chandarlapaty S., Sakr R.A., Giri D., Patil S., Heguy A., Morrow M., Modi S., Norton L., Rosen N., Hudis C., King T.A. Frequent mutational activation of the PI3K-AKT pathway in trastuzumab-resistant breast cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2012, vol. 18, no. 24, pp. 6784-6791.

12. Loi S., Michiels S., Lambrechts D., Fumagalli D., Claes B., Kellokumpu-Lehtinen P.-L., Bono P., Kataja V., Piccart M.J., Joensuu H., Sotiriou C. Somatic mutation profiling and associations with prognosis and trastuzumab benefit in early breast cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2013, vol. 105, no. 13, pp. 960-967.
13. Loibl S., Majewski I., Guarneri V. et al. PIK3CA mutations are associated with reduced pathological complete response rates in primary HER2-positive breast cancer: pooled analysis of 967 patients from five prospective trials investigating lapatinib and trastuzumab. *Ann. Oncol.*, 2016, vol. 27, no. 8, pp. 1519-1525.
14. Razis E., Bobos M., Kotoula V., Eleftheraki A.G., Kalofonos H.P., Pavlakis K., Papakostas P., Aravantinos G., Rigakos G., Efstratiou I., Petraki K., Bafaloukos D., Kostopoulos I., Pectasides D., Kalogeras K.T., Skarlos D., Fountzilas G. Evaluation of the association of PIK3CA mutations and PTEN loss with efficacy of trastuzumab therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2011, vol. 128, no. 2, pp. 447-456.
15. Zhang Y., Liu M., Yang H., Wang J., Liu H., Li X., Li J., Xu J., Li X. PIK3CA mutations are a predictor of docetaxel plus epirubicin neoadjuvant chemotherapy clinical efficacy in breast cancer. *Neoplasma*, 2014, vol. 61, no. 4, pp. 461-467.

GRATITUDE: The work is supported by grant of Federal Dedicated Program no. 14.604.21.0101, cipher 2014-14-576-0109.

Received 21 July 2016

Filipenko Maksim Leonidovich, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk, Russian Federation, Candidate of Biology, Head of of Pharmacogenomics Laboratory, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Oskina Natalya Aleksandrovna, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk, Russian Federation, Research Worker of Pharmacogenomics Laboratory, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Oskorbin Igor Petrovich, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk, Russian Federation, Research Worker Laboratory of Pharmacogenomics, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Mishukova Olga Viktorovna, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SD RAS, Novosibirsk, Russian Federation, Research Worker of Pharmacogenomics Laboratory, e-mail: mlfilipenko@gmail.com

Ovchinnikova Larisa Konstantinovna, Moscow Regional Oncologic Dispensary, Balashikha, Moscow oblast, Russian Federation, Candidate of Medicine, Head of Mammary Gland Tumours Department, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Ognerubov Nikolay Alekseevich, Tambov State University named after G.R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Doctor of Medicine, Candidate of Jurisprudence, Professor, Head of Anatomy, Operative Surgery and Oncology Department, Honored Worker of Higher School of Russian Federation, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Gershteyn Elena Sergeevna, Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin of Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation, Doctor of Biology, Professor, Leading Research Worker of Clinical Biochemistry Laboratory, e-mail: esgershtein@gmail.com

Kushlinskiy Nikolay Evgenevich, Russian Cancer Research Center named after N.N. Blokhin, Moscow, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Correspondent-Member of Russian Academy of Medical Sciences, Head of Clinical Biochemistry Laboratory, e-mail: biochimia@mtu-net.ru

Информация для цитирования:

Филипенко М.Л., Оськина Н.А., Оскорбин И.А., Мишукова О.В., Овчинникова Л.К., Огнерубов Н.А., Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Рак молочной железы и соматические мутации гена PIK3CA в опухоли // Вестник Тамбовского университета. Серия Естественные и технические науки. Тамбов, 2016. Т. 21. Вып. 6. С. 2195-2201. DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-6-2195-2201

Filipenko M.L., Oskina N.A., Oskorbin I.A., Mishukova O.V., Ovchinnikova L.K., Ognerubov N.A., Gershteyn E.S., Kushlinskiy N.E. Rak molochnoy zhelezy i somaticheskie mutatsii gena PIK3CA v opukholi [Breast cancer and somatic mutations gene PIK3CA in tumors]. *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya Estestvennyye i tekhnicheskie nauki – Tambov University Review. Series: Natural and Technical Sciences*, 2016, vol. 21, no. 6, pp. 2195-2201. DOI: 10.20310/1810-0198-2016-21-6-2195-2201 (In Russian).