

DOI: 10.21294/1814-4861-2025-24-2-46-55
УДК: 618.19-006.6-037:577.112:575.224



Для цитирования: Вторушин С.В., Тараканова В.О., Бабышкина Н.Н., Гервас П.А., Крахмаль Н.В. Влияние экспрессии белков ROR1, BMI-1 и мутации PIK3CA на прогноз люминального рака молочной железы. Сибирский онкологический журнал. 2025; 24(2): 46–55. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-2-46-55

For citation: Vtorushin S. V., Tarakanova V. O., Babyskhina N. N., Gervas P. A., Krakhmal N. V. The impact of ROR1, BMI-1 expression and PIK3CA mutation on the prognosis of luminal breast cancer. Siberian Journal of Oncology. 2025; 24(2): 46–55. – doi: 10.21294/1814-4861-2025-24-2-46-55

ВЛИЯНИЕ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКОВ ROR1, BMI-1 И МУТАЦИИ PIK3CA НА ПРОГНОЗ ЛЮМИНАЛЬНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

С.В. Вторушин^{1,2}, В.О. Тараканова^{1,2}, Н.Н. Бабышкина^{1,2}, П.А. Гервас¹,
Н.В. Крахмаль^{1,2}

¹Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

²ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

Аннотация

Рак молочной железы (РМЖ) остается одной из ведущих причин онкологической смертности среди женщин. Люминальные подтипы РМЖ, характеризующиеся экспрессией гормональных рецепторов, составляют около 70 % всех случаев. Однако, несмотря на чувствительность к эндокринной терапии, часть пациенток демонстрирует прогрессирование заболевания, что связано с молекулярными особенностями опухоли. Изучение прогностических маркеров, таких как ROR1, BMI-1 и мутация PIK3CA, является важным направлением в понимании механизмов устойчивости к терапии и метастазирования. **Цель исследования** – оценка прогностической значимости экспрессии белков ROR1, BMI-1 и мутации гена PIK3CA у пациенток с люминальным РМЖ, получавших гормонотерапию ингибиторами ароматазы, а также их влияние на клинические исходы, включая 5-летнюю безрецидивную выживаемость. **Материал и методы.** В исследование были включены 80 пациенток с первично-операбельным люминальным Her2-негативным РМЖ (T1–2N0–1M0). Все пациентки получали адъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы. В опухолевой ткани оценивали экспрессию ROR1, BMI-1, циклина D1 (метод иммуногистохимии) и наличие мутации PIK3CA (метод полимеразной цепной реакции в реальном времени). **Результаты.** Положительная экспрессия ROR1 выявлена в 57,5 %, BMI-1 – в 82,5 %, гиперэкспрессия циклина D1 – в 37,5 % случаев. Мутация PIK3CA установлена у 30 % пациенток. Экспрессия ROR1 выявлялась в 100 % случаев при люминальном В подтипе (14 из 14) и в 48 % при подтипе А (32 из 66) ($p=0,001$). При наличии экспрессии ROR1 гиперэкспрессия циклина D1 отмечалась в 58,7 % против 8,8 % при ее отсутствии, $p<0,0001$. Высокий уровень экспрессии ROR1 ($>50\%$) ассоциировался с гиперэкспрессией циклина D1 в 100 % случаев ($p=0,044$). Аналогично при высоком уровне экспрессии BMI-1 ($>50\%$) гиперэкспрессия циклина D1 регистрировалась у 64,7 % пациенток против 31,6 % при низком уровне ($p=0,03$). У пациенток с мутацией PIK3CA 5-летняя безрецидивная выживаемость была значимо ниже ($p=0,03$), прогрессирование наблюдалось у 29 % против 13 % без мутации ($p=0,07$). **Заключение.** Исследование подтверждает значимость ROR1, BMI-1 и мутации PIK3CA как потенциальных прогностических маркеров у пациенток с люминальным РМЖ. Выявленные взаимосвязи с циклином D1 и молекулярными подтипами подчеркивают их роль в опухолевом прогрессировании. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшей персонализации лечения, включая комбинированные подходы с ингибиторами PI3K и гормонотерапией.

Ключевые слова: люминальный рак молочной железы, ROR1, BMI-1, циклин D1, мутация PIK3CA, безрецидивная выживаемость, ингибиторы ароматазы.

THE IMPACT OF ROR1, BMI-1 EXPRESSION AND *PIK3CA* MUTATION ON THE PROGNOSIS OF LUMINAL BREAST CANCER

S.V. Vtorushin^{1,2}, V.O. Tarakanova^{1,2}, N.N. Babyshkina^{1,2}, P.A. Gervas¹,
N.V. Krakhmal^{1,2}

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences
5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia

²Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia
2, Moskovsky trakt, Tomsk, 634050, Russia

Abstract

Breast cancer (BC) remains one of the leading causes of cancer mortality among women. Luminal BC subtypes, which are characterized by the expression of hormone receptors, account for about 70 % of all breast cancer cases. However, despite sensitivity to endocrine therapy, some patients demonstrate disease progression, which is associated with the molecular features of the tumor. The study of prognostic markers such as ROR1, BMI-1, and *PIK3CA* mutation is essential for understanding the mechanisms of resistance to therapy and metastasis. **The aim of the study** was to evaluate the prognostic significance of ROR1, BMI-1 protein expression and *PIK3CA* gene mutation in patients with luminal BC, who received hormone therapy with aromatase inhibitors, as well as their impact on clinical outcomes, including 5-year relapse-free survival. **Material and Methods.** The study included 80 patients with primary resectable luminal Her2-negative breast cancer (T1–2N0–1M0). All patients received adjuvant hormonal therapy with aromatase inhibitors. The expression of ROR1, BMI-1, cyclin D1 (immunohistochemistry), and *PIK3CA* mutation (real-time polymerase chain reaction) were assessed in tumor tissue. **Results.** Positive ROR1 expression was detected in 57.5 % of cases, BMI-1 in 82.5 %, and cyclin D1 overexpression in 37.5 %. The *PIK3CA* mutation was identified in 30 % of patients. ROR1 expression was observed in 100 % of cases with the luminal B subtype (14 out of 14) and in 48 % of cases with the luminal A subtype (32 out of 66), $p=0.001$. Cyclin D1 overexpression was observed in 58.7 % of patients with ROR1 expression and in 8.8 % of patients without ROR1 expression, $p<0.0001$. A high level of ROR1 expression (>50 %) was associated with cyclin D1 overexpression in 100 % of cases, $p=0.044$. Similarly, a high level of BMI-1 expression (>50 %) was associated with cyclin D1 overexpression in 64.7 % of patients compared to 31.6 % in those with low expression, $p=0.03$. Patients with *PIK3CA* mutations demonstrated significantly lower 5-year disease-free survival ($p=0.03$); disease progression was observed in 29 % of cases with the mutation versus 13 % in those without it ($p=0.07$). **Conclusion.** The study confirms the significance of ROR1, BMI-1 and *PIK3CA* mutation as potential prognostic markers in patients with luminal breast cancer. The identified relationships with cyclin D1 and molecular subtypes emphasize their role in tumor progression. The data obtained can be used for further personalization of treatment, including combination approaches with PI3K inhibitors and hormonal therapy.

Key words: luminal breast cancer, ROR1, BMI-1, cyclin D1, *PIK3CA* mutation, relapse-free survival, aromatase inhibitors.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) продолжает стабильно занимать лидирующие позиции по показателям онкологической заболеваемости и смертности среди женского населения [1]. К люминальным опухолям молочной железы относятся те новообразования, которые демонстрируют положительную экспрессию эстрогеновых и/или прогестероновых рецепторов, данный вид опухолей составляет около 70 % от всех случаев РМЖ [2]. Существует ряд молекулярно-биологических факторов, оказывающих влияние на рост и пролиферацию злокачественных опухолей молочной железы, кроме того, обозначенные факторы способствуют формированию неэффективности проводимой лекарственной терапии.

Ключевую роль в синтезе эстрадиола играет фермент ароматаза. Экспрессия данного фермен-

та встречается как в здоровых тканях (яичники, молочные железы, жировая ткань, костная ткань), так и в тканях опухолей, в частности при РМЖ [3–5]. В норме при синтезе ароматазы используется преимущественно промотор 1.4, в жировой ткани здоровой молочной железы он активируется минимально для поддержания базового уровня экспрессии этого фермента. Существует ряд других промоторов, которые могут участвовать в процессе экспрессии ароматазы. Переключение промотора ароматазы с 1.4 на 1.3/II является основным механизмом, который опосредует повышенную экспрессию ароматазы и локальное образование эстрогена в жировой ткани, прилегающей к ткани карциномы молочной железы, а также в самой опухоли. Смена использования промотора ароматазы в злокачественно измененных тканях является основным механизмом, вызывающим аномальную

сверхэкспрессию ароматазы и избыток эстрогена, что, в свою очередь, ухудшает прогноз гормончувствительного РМЖ [6–8].

Одной из отличительных особенностей злокачественных опухолей является способность поддержания передачи сигналов к пролиферации. Ген *CCND1* кодирует белок циклин D1, который потенцирует пролиферацию опухолевых клеток. Данный ген является вторым по частоте амплификации онкогеном среди порядка 26 гистологических типов опухолей различных локализаций. При взаимодействии циклина D1 с циклин-зависимой киназой 4/6 (CDK 4/6) происходят фосфорилирование и инактивация белка ретинобластомы (Rb), что является важным регуляторным шагом для перехода G1-S и прохождения клеточного цикла. Частота амплификации гена *CCND1* при РМЖ, по разным данным, составляет от 9–15 до 35 %, при этом гиперэкспрессия белка циклина D1 встречается примерно в 50 % случаев (до 70 %, по данным метаанализа S.A. Jeffreys et al. [10]), отмечена связь с люминальным подтипом РМЖ [9–11]. Данные литературных источников, касающиеся роли и значения амплификации *CCND1* в развитии резистентности к эндокринной терапии (ингибиторы ароматазы и тамоксифен) у пациенток с ER+ РМЖ, неоднозначны [12].

В литературе представлены сведения о том, что возможна альтернативная активация пролиферативного сигнала посредством активации фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) и рецептора фактора роста фибробластов FGFR [13–15]. PI3K/AKT/mTOR-сигнальный путь занимает одну из ведущих позиций в формировании важнейших процессов жизнедеятельности клетки: метаболизма, роста, пролиферации, апоптоза, ангиогенеза [16]. Активация каскадных реакций данного пути запускается посредством взаимосвязи лиганда (например, инсулин или инсулиноподобный фактор роста) с рецептором клеточной мембраны (например, рецептор тирозинкиназ или рецептор, связанный с G-белком, – GPCR). В злокачественных новообразованиях молочной железы PI3K/AKT/mTOR-сигнальный путь претерпевает множество изменений, вызванных мутациями или амплификацией генов, кодирующих каталитические субъединицы p110α (*PIK3CA*) и p110β (*PIK3CB*), а также регуляторную субъединицу PI3K, p85α (*PIK3RI*) [17]. В неоплазиях человека чаще всего встречается мутация гена *PIK3CA*, его амплификация обнаружена не только при РМЖ, но и при опухолях головы и шеи, раке шейки матки, желудка, легкого. Однако наиболее часто данная мутация встречается при раке предстательной железы, эндометрия, толстой кишки и молочной железы [18]. Наиболее часто встречающимися мутациями *PIK3CA*, суммарно составляющими 73 %, являются: H1047R (35 %), E545K (17 %), E542K (11 %), N345K (6 %) и H1047L (4 %). Наиболее часто мутация гена *PIK3CA* вы-

является при люминальных опухолях молочной железы (42 %), Her2-позитивных подтипах (31 %), реже встречается при тройном негативном варианте РМЖ (16 %). Мутация гена *PIK3CA* была наиболее часто наблюдаемой мутацией, связанной с повышением киназной активности пути PI3K, что может способствовать росту, пролиферации и инвазии опухолевых клеток [19].

Особый интерес представляет роль белков BMI-1 и ROR1 в патогенезе РМЖ и его люминального подтипа в частности. Белок ROR1 – орфановый рецептор, играющий важнейшую роль в период эмбрионального развития в процессах дифференцировки и роста тканевых элементов, у взрослого человека в норме его экспрессия в тканях практически не встречается [20]. Гиперэкспрессия ROR1 выявляется при ряде злокачественных опухолей, таких как рак легкого, хронический лимфолейкоз и РМЖ [21]. Важно отметить, что при опухолях молочной железы наиболее часто гиперэкспрессия данного белка встречается при люминальных подтипах и коррелирует с более высокой степенью злокачественности и худшим прогнозом [22, 23]. Существуют данные о том, что экспрессия белка ROR1 в моделях клеточных линий люминального РМЖ ассоциирована с процессом эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток и, как следствие, развитием метастазирования [24].

BMI-1 является белком семейства поликомб, одна из его основных функций – регуляция генов, способствующих дифференцировке и самообновлению стволовых клеток [25]. Повышенная экспрессия белка встречается во многих опухолях, включая карциномы молочной железы, и связана с более агрессивным течением опухолевого процесса, а также с неэффективностью проводимой гормонотерапии и неблагоприятным прогнозом для пациентов [26, 27].

Исследования показали, что ко-экспрессия белков ROR1 и BMI-1 может усиливать процессы роста и пролиферации клеток люминального РМЖ, тем самым ухудшая прогноз течения данного заболевания. Одновременный нокдаун обоих белков приводит к синергическому ингибирующему действию на рост злокачественно трансформированных опухолевых клеток [28].

Учитывая уже имеющиеся фундаментальные знания о роли белков ROR1 и BMI-1 при карциномах молочной железы, несомненный интерес вызывает комплексное изучение данных факторов и их связь с прогнозом течения РМЖ и формированием неэффективности гормонотерапии.

Цель исследования – оценить прогностическую значимость экспрессии белков ROR1, BMI-1 и мутации гена *PIK3CA* в опухоли у пациенток с люминальным раком молочной железы, получавших гормонотерапию ингибиторами ароматазы.

Материал и методы

Группу исследования составили 80 пациенток (средний возраст – $62,1 \pm 8,1$ года) с первично-операбельным РМЖ стадии T1–2N0–1M0, находившихся на лечении в отделении общей онкологии НИИ онкологии ФГБНУ Томский НИМЦ РАН, во всех случаях больным выполнен оперативный этап лечения в объеме мастэктомии или секторальной резекции молочной железы, проводились лучевая терапия и гормонотерапия ингибиторами ароматазы в адъювантном режиме. Критерии включения в исследование: гистологически и иммуногистохимически подтвержденный люминальный Her2-негативный подтип РМЖ, постменопауза и адъювантная гормонотерапия ингибиторами ароматазы. Критерии исключения: наличие неоадъювантной терапии, адъювантная химиотерапия и первично-множественные злокачественные опухоли. Период наблюдения составил 5 лет.

В данном исследовании проводилось морфологическое изучение ткани опухоли и всех удаленных лимфатических узлов аксиллярной клетчатки, полученных в результате хирургического лечения (операционный материал). Во всех случаях диагноз люминального Her2-негативного подтипа РМЖ был установлен на основании ряда гистологических и иммуногистохимических критериев, представленных в классификации опухолей молочной железы 5-го пересмотра (классификация ВОЗ, 2019). В исследование включены только опухоли, имеющие люминальный А и люминальный В Her2-негативный молекулярный подтип. При морфологическом исследовании на светооптическом уровне в препаратах ткани первичной опухоли определяли гистологический тип и степень злокачественности, в лимфатических узлах оценивали наличие метастазов. Для оценки указанных параметров применяли световой микроскоп Nikon ECLIPSE Ci.

Во всех случаях проводили иммуногистохимическое исследование с применением антител к ROR1 (ROR1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher), BMI-1 (BMI-1 antibody, polyclonal, 1:100, ThermoFisher) и циклину D1 (Cyclin D1 antibody, monoclonal, 1:100, Abcam). Иммуногистохимическое окрашивание выполняли с использованием автоматического иммуногистостейнера Bond-MAX (Leica Biosystem) в соответствии со стандартным протоколом. В срезах первичной опухоли в каждом случае оценивали наличие иммунного окрашивания белков ROR1 и BMI-1, свидетельствующего о позитивной экспрессии данных маркеров, а также степень ее выраженности. В соответствии с установленными критериями слабая степень экспрессии определялась при наличии иммунного окрашивания от 1 до 25 % опухолевых клеток, умеренная – при окрашивании от 25 до 50 % клеток, а высокая степень – при окрашивании более 50 % опухолевых клеток. Гиперэкспрессию циклина D1 оценивали по наличию ядерного

иммунного окрашивания в опухолевых клетках, используя пороговое значение более 25 %. Оценка окрашивания проводилась в наиболее представительных полях зрения двумя независимыми патологами, в случаях расхождений применялся консенсусный метод.

Для определения наличия мутации гена *PIK3CA* выделяли ДНК из фиксированных в формалине и залитых в парафин образцов ткани с использованием набора ДНК cobas® DNA Sample Preparation Kit. Тест на мутации гена *PIK3CA* проводили с применением набора cobas® PIK3CA Mutation Test. Набор cobas® PIK3CA Mutation Test основан на полимеразной цепной реакции в реальном времени, для качественного обнаружения и идентификации 17 мутаций (E542K, E545A, E545D, E545G, E545K, E545Q, Q546E, Q546R, Q546K, N345K, C420R, H1047L, H1047R, H1047Y, M1043I, G1049R и E726K) в экзонах 2, 5, 8, 10 и 21 гена каталитической субъединицы альфа фосфо-инозитид-3-киназы (PIK3CA) в ДНК образцов ткани с использованием амплификатора cobas® 4800.

Прогрессирование заболевания определяли на основании анализа медицинской документации. В ходе динамического наблюдения на различных этапах обследования фиксировали появление и проводили верификацию отдаленных гематогенных метастазов. В случаях их выявления пациентку относили к группе с зарегистрированным фактом прогрессирования заболевания.

Статистический анализ проведен с использованием пакета Statistica 10.0. Проверка нормальности распределения переменных осуществлялась с применением критерия Колмогорова–Смирнова. Для оценки различий между группами использовались непараметрический критерий χ^2 для категориальных переменных. Оценка 5-летней безрецидивной выживаемости проводилась методом Каплана–Майера, статистическая значимость различий между группами определялась с использованием log-rank теста. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В результате проведенного исследования в изучаемой когорте пациенток ($n=80$) у 14 (17,5 %) больных зарегистрировано прогрессирование заболевания (группа 1), тогда как в 66 случаях ретроспективный анализ выявил стабилизацию опухолевого процесса (группа 2). Сформированные группы были сопоставимы по ключевым клинико-морфологическим характеристикам новообразования, включая стадию заболевания, гистологический тип, за исключением степени злокачественности РМЖ ($p=0,047$). Распределение случаев в обеих группах представлено в табл. 1, где отчетливо видна выявленная корреляция между молекулярным подтипом РМЖ и прогрессированием заболевания.

Таблица 1/Table 1

Клинико-морфологические параметры опухолей молочной железы в зависимости от наличия или отсутствия признаков прогрессирования заболевания
Clinical and morphological parameters of breast tumors depending on the presence or absence of signs of disease progression

Параметры/Parameters		Наличие признаков прогрессирования/ Presence of signs of disease progression	Отсутствие признаков прогрессирования/ Absence of signs of disease progression	P
Стадия заболевания/ Stage of the disease	I	7/14 (50,0 %)	32/66 (49,0 %)	0,96
	IIA	5/14 (36,0 %)	26/66 (39,0 %)	
	IIB	2/14 (14,0 %)	8/66 (12,0 %)	
Гистологический тип/ Histology type	Инвазивный дольковый рак/ Invasive lobular carcinoma	2/14 (14,0 %)	6/66 (9,0 %)	0,56
	Инвазивный протоковый рак/ Invasive ductal carcinoma	12/14 (86,0 %)	60/66 (91,0 %)	
Степень злокачественности/ Grade	I	6/14 (43,0 %)	42/66 (64,0 %)	p=0,047
	II	7/14 (50,0 %)	24/66 (36,0 %)	
	III	1/14 (7,0 %)	0/66 (0,0 %)	
Молекулярный подтип/ Molecular type	Люминальный A/ Luminal A	7/14 (50,0 %)	59/66 (89,0 %)	0,0004
	Люминальный B/ Luminal B	7/14 (50,0 %)	7/66 (11,0 %)	

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

При анализе экспрессии маркеров ROR1 и BMI-1 в ткани первичной опухоли РМЖ иммуногистохимическим методом позитивная экспрессия белка ROR1 была обнаружена в 57,5 % случаев (n=46/80), белка BMI-1 – в 82,5 % случаев (n=66/80). Детальное исследование выраженности степени экспрессии BMI-1 в выборке пациенток (n=66) выявило следующую картину распределения: слабая экспрессия наблюдалась у 43 пациенток (65,2 %), умеренная – у 6 пациенток (9,1 %), высокая – у 17 пациенток (25,7 %). Таким образом, доминирующим паттерном экспрессии BMI-1 являлся низкий уровень, идентифицированный у двух третей обследованных, в то время как высокий уровень экспрессии был выявлен примерно у четверти исследуемой когорты. Также был проведен анализ степени экспрессии маркера ROR1 в группе пациенток с наличием позитивного иммунного окрашивания (n=46). Распределение уровней экспрессии имело следующие показатели: слабая экспрессия – 34 (73,9 %), умеренная – 8 (17,4 %), высокая экспрессия – 4 (8,7 %) случая. Подобно BMI-1, для ROR1 было характерно преобладание низкого уровня экспрессии, зафиксированного почти у трех четвертей исследуемых пациенток. Необходимо подчеркнуть, что частота встречаемости высокого уровня экспрессии ROR1 была существенно ниже в сравнении с BMI-1, составляя менее одной десятой части выборки.

Мутация гена *PIK3CA* была идентифицирована в 30 % опухолей (n=24/80), с наибольшей частотой локализации в экзонах H1047X (37,5 %) и E545X

(33 %), реже – в экзонах Q546X и N345K (по 12,5 % и E542K (4,5 %). Гиперэкспрессия циклина D1 в клетках первичной опухоли была верифицирована у 30 пациенток (37,5 %).

Полученные данные о частоте позитивной экспрессии маркеров ROR1 и BMI-1, уровнях их экспрессии в опухолевой ткани, а также сведения о наличии мутации гена *PIK3CA* и гиперэкспрессии циклина D1 были ретроспективно сопоставлены с клинико-морфологическими параметрами первичной опухоли (стадия заболевания, гистологический тип, степень злокачественности, молекулярный подтип), а также с фактом наличия либо отсутствия признаков прогрессирования заболевания на протяжении периода наблюдения.

Проведенное исследование установило отсутствие значимых различий между частотой позитивной экспрессии белка ROR1 в опухолевой ткани, стадией заболевания, гистотипом и степенью злокачественности новообразования. Однако выявлена отчетливая связь экспрессии данного маркера с молекулярным подтипом РМЖ. У всех пациенток с люминальным B (14 из 14, 100 %) выявлена экспрессия ROR1, в то время как среди пациенток с подтипом A – в 32 из 66 (48 %) случаев (p=0,001). При наличии позитивной экспрессии ROR1 гиперэкспрессия циклина D1 наблюдалась у 27 из 46 (58,7 %) пациенток, тогда как при отсутствии экспрессии ROR1 – только у 3 из 34 (8,8 %) (p<0,0001). Кроме того, при высоком уровне экспрессии ROR1 (>50 %) гиперэкспрессия циклина D1 регистрировалась у 4 из 4 (100 %) пациенток,

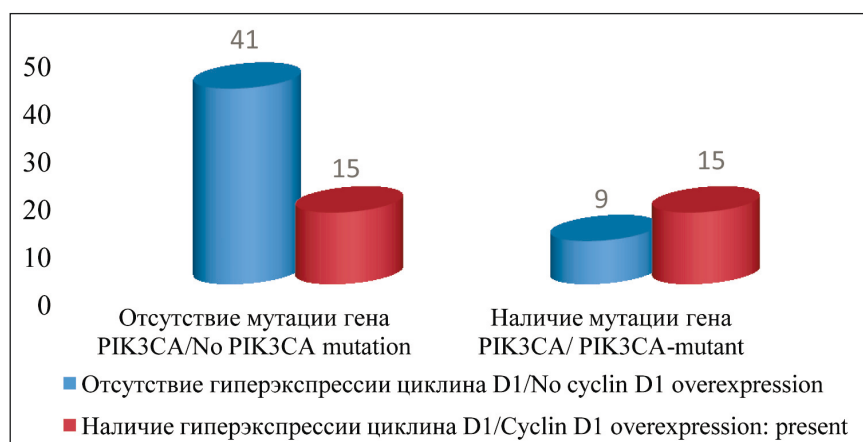


Рис. 1. Распределение больных люминальным РМЖ в зависимости от наличия либо отсутствия мутаций гена PIK3CA и гиперэкспрессии циклина D1 в ткани первичной опухоли.
Примечание: рисунок выполнен авторами
Fig. 1. Distribution of patients with luminal breast cancer depending on the presence or absence of PIK3CA gene mutations and cyclin D1 hyperexpression in the primary tumor tissue.
Note: created by the authors

при уровне 25–50 % – у 17 из 26 (65 %) и при уровне <25 % – у 6 из 16 (37,5 %) ($p=0,044$). В исследовании не была идентифицирована связь между экспрессией ROR1 и наличием признаков прогрессирования заболевания.

Анализ особенностей экспрессии белка BMI-1 аналогичным образом продемонстрировал отсутствие статистически значимых различий между частотой его позитивной экспрессии в опухолевой ткани, стадией заболевания, гистотипом и степенью злокачественности новообразования. Для маркера BMI-1 также отмечалась тенденция к связи с молекулярным подтипом, не достигшая статистической значимости: у всех пациенток с люминальным В подтипом (14 из 14, 100 %) выявлена позитивная экспрессия, тогда как среди пациенток с люминальным А подтипом экспрессия отмечалась в 52 из 66 (78,8 %) случаев ($p=0,13$).

При наличии экспрессии BMI-1 в опухоли позитивная экспрессия ROR1 была зарегистрирована у 44 из 66 (66,7 %) пациенток, а при отсутствии – у 2 из 14 (14,3 %) ($p=0,001$). Хотя в целом между частотой экспрессии BMI-1 и гиперэкспрессией циклина D1 значимой связи не отмечено, при высоком

уровне экспрессии BMI-1 (>50 %) гиперэкспрессия циклина D1 выявлялась у 11 из 17 (64,7 %) пациенток, в то время как при уровне <25 % – у 18 из 57 (31,6 %) ($p=0,03$). Кроме того, в группе пациенток с прогрессированием заболевания ($n=14$) в 100 % случаев (14 из 14) зарегистрирована позитивная экспрессия BMI-1, по сравнению с 52 из 66 (78,8 %) в группе без признаков прогрессирования; однако данная разница не достигла статистической значимости ($p=0,13$).

В ходе выполненной работы не обнаружено значимой связи между наличием/отсутствием мутаций гена *PIK3CA* и всеми исследуемыми клинико-морфологическими параметрами первичной опухоли, частотой позитивной экспрессии и уровнем экспрессии белков ROR1 и BMI-1. Продemonстрировано, что при отсутствии в опухоли гиперэкспрессии циклина D1 мутация гена *PIK3CA* идентифицировалась значимо реже ($p=0,003$) (рис. 1). Выявлена отчетливая тенденция к взаимосвязи между наличием мутации гена *PIK3CA* и фактом прогрессирования заболевания, а также молекулярным подтипом опухоли ($p=0,07$ в обоих случаях) (табл. 2).

Таблица 2/Table 2

Распределение случаев мутации гена *PIK3CA* среди пациенток с люминальным РМЖ в зависимости от факта прогрессирования заболевания и молекулярного подтипа опухоли

Distribution of *PIK3CA* gene mutation among patients with luminal breast cancer depending on the evidence of disease progression and molecular tumor subtype

Параметры/Parameters	Мутация гена <i>PIK3CA</i> / <i>PIK3CA</i> gene mutation	
	Наличие мутации/ Presence of mutation (n=24)	Отсутствие мутации/ Absence of mutation (n=56)
Наличие признаков прогрессирования/ Presence of signs of disease progression (n=14)	7 (50 %)	7 (50 %)
Отсутствие признаков прогрессирования/ Absence of signs of disease progression (n=66)	17 (26 %)	49 (74 %) $\chi^2=3,23$; $p=0,07$
Люминальный А молекулярный подтип/ Luminal A molecular subtype (n=66)	17 (26 %)	49 (74 %)
Люминальный В молекулярный подтип/ Luminal B molecular subtype (n=14)	7 (50 %)	7 (50 %)

Примечание: таблица составлена авторами.

Note: created by the authors.

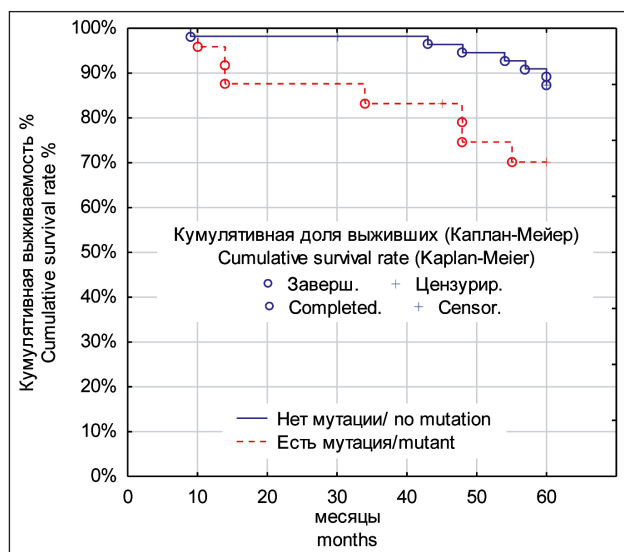


Рис. 2. 5-летняя безрецидивная выживаемость пациенток с люминальным РМЖ в зависимости от наличия в первичной опухоли мутации гена *PIK3CA*.

Примечание: рисунок выполнен авторами

Fig. 2. The 5-year relapse-free survival of patients with luminal breast cancer depending on the presence of a *PIK3CA* gene mutation in the primary tumor. Note: created by the authors

Кроме того, нами проведена оценка 5-летней безрецидивной выживаемости пациенток в зависимости от наличия мутации *PIK3CA*. Статистический анализ выявил достоверные различия между группами: log-rank test: $\chi^2=2,72$, $p=0,03$ (рис. 2). Полученные результаты свидетельствуют о влиянии мутации *PIK3CA* на прогноз заболевания, что может указывать на ее роль в формировании устойчивости к терапии и повышении риска рецидива.

Наши данные не выявили значимой зависимости 5-летней безрецидивной выживаемости от гиперэкспрессии циклина D1 ($p>0,05$), что позволяет предположить, что этот маркер не является прогностически значимым у пациенток, получающих ингибиторы ароматазы.

Обсуждение

Выявленная нами корреляция между экспрессией исследованных маркеров ROR1 и BMI-1 и частотой отдаленных метастазов при люминальном РМЖ, наиболее вероятно, может быть обусловлена функциями этих белков, определяющими их ключевую роль как в лимфогенном, так и в гематогенном распространении опухоли. Нам удалось показать, что белки ROR1 и BMI-1 ассоциированы с люминальным В молекулярным подтипом РМЖ. Интерес также представляет выявленная значимая связь между наличием гиперэкспрессии циклина D1 и наличием мутации гена *PIK3CA*, а также позитивной экспрессии

ROR1. В отличие от данных, полученных в исследованиях с использованием тамоксифена, в нашем исследовании гиперэкспрессия циклина D1 не была ассоциирована с достоверным снижением безрецидивной выживаемости у пациенток, получавших ингибиторы ароматазы. Это может свидетельствовать о различии в молекулярных механизмах эндокринной резистентности при различных режимах гормонотерапии. Дополнительно, наши данные подтверждают опубликованные результаты о том, что ко-экспрессия ROR1 и BMI-1 может усиливать процессы инвазии и миграции опухолевых клеток, тем самым способствуя прогрессированию заболевания. Проведенный анализ 5-летней безрецидивной выживаемости показал значимое снижение выживаемости пациенток с мутацией гена *PIK3CA*, что согласуется с данными о роли мутаций данного гена в развитии резистентности к эндокринной терапии. Это подчеркивает необходимость дальнейших исследований по уточнению прогностической значимости *PIK3CA*-ассоциированной активации сигнального пути PI3K/AKT/mTOR в люминальном РМЖ. Кроме того, выявленная нами связь между экспрессией BMI-1 и наличием прогрессирования заболевания может указывать на важную роль этого белка в поддержании стволовоподобных свойств опухолевых клеток и их устойчивости к терапии. В этом контексте перспективным направлением может быть изучение комбинированных стратегий, направленных на ингибирование BMI-1, в сочетании с традиционными методами лечения.

Заключение

Проведенное исследование подтверждает значимую роль белков ROR1 и BMI-1 в патогенезе люминального РМЖ. Установлена их ассоциация с люминальным В подтипом опухоли, что может объяснять более агрессивное течение заболевания у данной группы пациенток. Обнаруженная связь между гиперэкспрессией циклина D1 и мутацией гена *PIK3CA* дополнительно свидетельствует о комплексном взаимодействии различных сигнальных путей, влияющих на пролиферацию и резистентность опухолевых клеток. Выявленная связь между мутацией гена *PIK3CA* и сниженной 5-летней безрецидивной выживаемостью подчеркивает необходимость дальнейшего изучения возможности таргетной терапии, направленной на ингибирование PI3K/AKT/mTOR-сигнального пути. В этом аспекте особый интерес представляет комбинированное использование ингибиторов PI3K и гормональной терапии для улучшения клинических исходов у пациенток с люминальным РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sancho-Garnier H., Colonna M. Epidemiologie des cancers du sein. Presse Med. 2019; 48(10): 1076–84. doi: 10.1016/j.lpm.2019.09.022.
2. Prat A., Perou C.M. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. Mol Oncol. 2011; 5(1): 5–23. doi: 10.1016/j.molonc.2010.11.003.
3. Onizuka Y., Nagai K., Ideno Y., Kitahara Y., Iwase A., Yasui T., Nakajima-Shimada J., Hayashi K. Association between FSH, E1, and E2 levels in urine and serum in premenopausal and postmenopausal women. Clin Biochem. 2019; 73:105–8. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2019.08.009.
4. Zhao H., Zhou L., Shanguan A.J., Bulun S.E. Aromatase expression and regulation in breast and endometrial cancer. J Mol Endocrinol. 2016; 57(1): 19–33. doi: 10.1530/JME-15-0310.
5. Manna P.R., Ahmed A.U., Molehin D., Narasimhan M., Pruitt K., Reddy P.H. Hormonal and Genetic Regulatory Events in Breast Cancer and Its Therapeutics: Importance of the Steroidogenic Acute Regulatory Protein. Biomedicines. 2022; 10(6): 1313. doi: 10.3390/biomedicines10061313.
6. Agarwal V.R., Bulun S.E., Leitch M., Rohrich R., Simpson E.R. Use of alternative promoters to express the aromatase cytochrome P450 (CYP19) gene in breast adipose tissues of cancer-free and breast cancer patients. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81(11): 3843–49. doi: 10.1210/jcem.81.11.8923826.
7. Utsumi T., Harada N., Maruta M., Takagi Y. Presence of alternatively spliced transcripts of aromatase gene in human breast cancer. J Clin Endocrinol Metab. 1996; 81(6): 2344–49. doi: 10.1210/jcem.81.6.8964875.
8. Zhou C., Zhou D., Esteban J., Murai J., Siiteri P.K., Wilczynski S., Chen S. Aromatase gene expression and its exon I usage in human breast tumors. Detection of aromatase messenger RNA by reverse transcription-polymerase chain reaction. J Steroid Biochem Mol Biol. 1996; 59(2): 163–71. doi: 10.1016/s0960-0760(96)00100-8.
9. Valla M., Klæstad E., Ytterhus B., Bofin A.M. CCND1 Amplification in Breast Cancer—associations With Proliferation, Histopathological Grade, Molecular Subtype and Prognosis. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 2022; 27(1): 67–77. doi: 10.1007/s10911-022-09516-8.
10. Jeffreys S.A., Becker T.M., Khan S., Soon P., Neubauer H., de Souza P., Powter B. Prognostic and Predictive Value of CCND1/Cyclin D1 Amplification in Breast Cancer With a Focus on Postmenopausal Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Endocrinol (Lausanne). 2022; 13: 895729. doi: 10.3389/fendo.2022.895729.
11. Montalto F.I., de Amicis F. Cyclin D1 in Cancer: A Molecular Connection for Cell Cycle Control, Adhesion and Invasion in Tumor and Stroma. Cells. 2020; 9(12): 2648. doi: 10.3390/cells9122648.
12. Aleksakhina S.N., Kramchaninov M.M., Mikushina A.D., Kubrina S.E., Petkau V.V., Ivantsov A.O., Moiseyenko V.M., Imyaninov E.N., Iyevleva A.G. CCND1 and FGFR1 gene amplifications are associated with reduced benefit from aromatase inhibitors in metastatic breast cancer. Clin Transl Oncol. 2021; 23(4): 874–81. doi: 10.1007/s12094-020-02481-w.
13. Azarnezhad A., Tabrizi M., Javan F., Mehdipour P. Detection of CCND1, C-MYC, and FGFR1 amplification using modified SYBR Green qPCR and FISH in breast cancer. Turk J Med Sci. 2018; 48(4): 759–67. doi: 10.3906/sag-1710-93.
14. Marin A., Morales F., Walbaum B. Fibroblast growth factor receptor signaling in estrogen receptor-positive breast cancer: mechanisms and role in endocrine resistance. Front Oncol. 2024; 14: 1406951. doi: 10.3389/fonc.2024.1406951.
15. Gilman J.M., Hutchinson K.E., Stricker T.P., Formisano L., Young C.D., Estrada M.V., Nixon M.J., Du L., Sanchez V., Ericsson P.G., Kuba M.G., Sanders M.E., Mu X.J., Van Allen E.M., Wagle N., Mayer I.A., Abramson V., Gómez H., Rizzo M., Toy W., Chandralapaty S., Mayer E.L., Christiansen J., Murphy D., Fitzgerald K., Wang K., Ross J.S., Miller V.A., Stephens P.J., Yelensky R., Garraway L., Shyr Y., Meszoely I., Balko J.M., Arteaga C.L. Genomic profiling of ER⁺ breast cancers after short-term estrogen suppression reveals alterations associated with endocrine resistance. Sci Transl Med. 2017; 9(402). doi: 10.1126/scitranslmed.aai7993. Erratum in: Sci Transl Med. 2019; 11(479). doi: 10.1126/scitranslmed.aaw7620.
16. Lim W., Mayer B., Pawson T. Cell Signaling: Principles and Mechanisms. 1st Edition. New York, USA. c2014. 412p. ISBN: 9780429258893.
17. Miller T.W., Rexer B.N., Garrett J.T., Arteaga C.L. Mutations in the phosphatidylinositol 3-kinase pathway: role in tumor progression and therapeutic implications in breast cancer. Breast Cancer Res. 2011; 13(6): 224. doi: 10.1186/bcr3039.
18. Chalhoub N., Baker S.J. PTEN and the PI3-kinase pathway in cancer. Annu Rev Pathol. 2009; 4: 127–50. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092311.
19. Martínez-Sáez O., Chic N., Pascual T., Adamo B., Vidal M., González-Farré B., Sanfeliu E., Schettini F., Conte B., Brasó-Maristany F., Rodríguez A., Martínez D., Galván P., Rodríguez A.B., Martínez A., Muñoz M., Prat A. Frequency and spectrum of PIK3CA somatic mutations in breast cancer. Breast Cancer Res. 2020; 22(1): 45. doi: 10.1186/s13058-020-01284-9.
20. Karvonen H., Barker H., Kaleva L., Niinen W., Ungureanu D. Molecular Mechanisms Associated with ROR1-Mediated Drug Resistance: Crosstalk with Hippo-YAP/TAZ and BMI-1 Pathways. Cells. 2019; 8(8): 812. doi: 10.3390/cells8080812.
21. Zhang S., Chen L., Cui B., Chuang H.Y., Yu J., Wang-Rodriguez J., Tang L., Chen G., Basak G.W., Kipps T.J. ROR1 is expressed in human breast cancer and associated with enhanced tumor-cell growth. PLoS One. 2012; 7(3). doi: 10.1371/journal.pone.0031127.
22. Cui B., Zhang S., Chen L., Yu J., Widhopf G.F. 2nd, Fecteau J.F., Rässenti L.Z., Kipps T.J. Targeting ROR1 inhibits epithelial-mesenchymal transition and metastasis. Cancer Res. 2013; 73(12): 3649–60. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3832.
23. Henry C.E., Llamas E., Djordjevic A., Hacker N.F., Ford C.E. Migration and invasion is inhibited by silencing ROR1 and ROR2 in chemoresistant ovarian cancer. Oncogenesis. 2016; 5(5). doi: 10.1038/oncsis.2016.32.
24. Zhang S., Chen L., Wang-Rodriguez J., Zhang L., Cui B., Frankel W., Wu R., Kipps T.J. The onco-embryonic antigen ROR1 is expressed by a variety of human cancers. Am J Pathol. 2012; 181(6): 1903–10. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.08.024.
25. Sauvageau M., Sauvageau G. Polycomb group proteins: multifaceted regulators of somatic stem cells and cancer. Cell Stem Cell. 2010; 7(3): 299–313. doi: 10.1016/j.stem.2010.08.002.
26. Kim J.H., Yoon S.Y., Jeong S.H., Kim S.Y., Moon S.K., Joo J.H., Lee Y., Choe I.S., Kim J.W. Overexpression of Bmi-1 oncoprotein correlates with axillary lymph node metastases in invasive ductal breast cancer. Breast. 2004; 13(5): 383–88. doi: 10.1016/j.breast.2004.02.010.
27. Chen D., Wu M., Li Y., Chang I., Yuan Q., Ekimyan-Salvo M., Deng P., Yu B., Yu Y., Dong J., Szymanski J.M., Ramadoss S., Li J., Wang C.Y. Targeting BMI1⁺ Cancer Stem Cells Overcomes Chemoresistance and Inhibits Metastases in Squamous Cell Carcinoma. Cell Stem Cell. 2017; 20(5): 621–34. doi: 10.1016/j.stem.2017.02.003.
28. Dong H., Claffey K.P., Brocke S., Epstein P.M. Inhibition of breast cancer cell migration by activation of cAMP signaling. Breast Cancer Res Treat. 2015; 152(1): 17–28. doi: 10.1007/s10549-015-3445-9.

Поступила/Received 07.03.2025

Одобрена после рецензирования/Revised 22.04.2025

Принята к публикации/Accepted 30.04.2025

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе и трансляционной медицине, руководитель отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Тараканова Валерия Олеговна, младший научный сотрудник отделения системной и персонализированной терапии опухолей, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9986-7494. ORCID: 0000-0001-9472-017X.

Бабышкина Наталия Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной

диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2738-9275. Researcher ID (WOS): A-7526-2012. Author ID (Scopus): 26641099700. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Гервас Полина Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной онкологии и иммунологии, руководитель группы молекулярно-генетических методов исследований в референс центре, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2934-7970. Researcher ID (WOS): C-5846-2012. Author ID (Scopus): 13613767400. ORCID: 0000-0003-0051-8814

Крахмаля Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1543-6546. Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

ВКЛАД АВТОРОВ

Вторушин Сергей Владимирович: разработка концепции научной работы, обработка результатов исследования, статистическая обработка данных, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Тараканова Валерия Олеговна: обзор литературы, сбор материала исследования, статистическая обработка данных, написание статьи.

Бабышкина Наталия Николаевна: обработка результатов исследования, научное редактирование.

Гервас Полина Анатольевна: обработка результатов исследования, научное редактирование.

Крахмаля Надежда Валерьевна: сбор и обработка данных, подбор и анализ литературных источников.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой части работы.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

Соответствие принципам этики

Проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации, одобрено независимым этическим комитетом Научно-исследовательского института онкологии (Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5), протокол № 13 от 21.12.20.

Информированное согласие

Все пациенты подписали письменное информированное согласие на публикацию данных в медицинском журнале, включая его электронную версию.

ABOUT THE AUTHORS

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Deputy Director for Research and Translational Medicine, Head of Department, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

Valeriia O. Tarakanova, Junior Researcher, Department of Systemic and Personalized Tumor Therapy, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant, Oncology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0001-9472-017X.

Natalia N. Babyskhina, MD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Associate Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology with a Course in Clinical Laboratory Diagnostics, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): A-7526-2012. Author ID (Scopus): 26641099700. ORCID: 0000-0002-0562-3878.

Polina A. Gervas, MD, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Oncology and Immunology, Head of the Group of Molecular-Genetic Research Methods, Reference Center, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-5846-2012. Author ID (Scopus): 13613767400. ORCID: 0000-0003-0051-8814.

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Sergey V. Vtorushin: development of the concept of scientific work, processing of research results, statistical processing of data, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Valeriia O. Tarakanova: literature review, collection of research material, statistical data processing, writing of the article.

Natalia N. Babyshkina: processing of research results, scientific editing.

Polina A. Gervas: processing of research results, scientific editing.

Nadezhda V. Krakhmal: collection and processing of data, selection and analysis of literary sources.

All authors approved the final version of the manuscript prior to publication and agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work were appropriately investigated and resolved.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Compliance with Ethical Standards

The study was conducted in accordance with ethical principles in the Declaration of Helsinki approved by Ethics Committee of Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (5, Kooperativny St., Tomsk, 634009, Russia); protocol No. 13 dated December 21, 2020.

Voluntary informed consent

Written informed voluntaries consents were obtained from the patients for the publication of data in medical journal.