

Микрометастазы рака молочной железы: выявление и клиническое значение

 С.В. Чулкова*, **, С.Б. Петерсон*

* Кафедра онкологии Лечебного факультета РГМУ

** Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН

Рак молочной железы (РМЖ) является одной из самых распространенных в мире злокачественных опухолей. В России наблюдается неуклонный рост заболеваемости и смертности от РМЖ [1]. Треть первичных больных РМЖ имеют уже распространенную стадию заболевания, а их 5-летняя выживаемость не превышает 20%.

Наличие у больных РМЖ субклинических микрометастазов (отдельных опухолевых клеток) в костном мозге и периферической крови имеет важное значение, так как они являются индикатором диссеминации опухолевого процесса и предшественниками отдаленных метастазов.

Выявление опухолевых клеток в костном мозге и периферической крови осуществляется различными методами: иммуноцитологическим, иммуногистохимическим, обратной полимеразной цепной реакции (ПЦР) и проточной цитометрии. Чувствительность этих методов позволяет выявить 1 опухолевую клетку на 10^6 клеток крови или костного мозга.

Микрометастазы в костном мозге

По данным разных авторов частота обнаружения микрометастазов в костном мозге при РМЖ колеблется от 10 до 55% в зависимости от используемого метода [2–9]. Так, Schoenfeld A. et al. у больных операбельным РМЖ определяли микрометастазы в костном мозге иммуноцитологическим методом (с помощью антител к цитокератину СК-19) и методом ПЦР. По данным иммуноцитологического метода опухолевые клетки в костном мозге были выявлены у 22% больных, а по данным ПЦР — у 35% [2]. При изучении костного мозга иммуногистохимическим методом с использованием моноклональных антици-

токератиновых антител микрометастазы были диагностированы у 66% больных РМЖ, причем у 21% определялось ≥ 10 опухолевых клеток [10].

Опухолевые клетки в костном мозге и периферической крови у больных солидными опухолями изучаются по нескольким основным направлениям — как фактор прогноза рецидива и продолжительности жизни, а также как потенциальный маркер, позволяющий оценить эффективность проводимого лечения. Наличие опухолевых клеток в костном мозге у больных первичным РМЖ до хирургического лечения служит независимым прогностическим фактором возникновения рецидива [11]. Кроме того, при многофакторном анализе показано, что наличие микрометастазов в костном мозге ассоциировано с повышенным риском развития отдаленных метастазов РМЖ, уменьшением общей выживаемости и является независимым фактором неблагоприятного прогноза (табл. 1).

Среди 552 первичных больных РМЖ I–III стадии микрометастазы в костный мозг были диагностированы у 199 человек (36%) [12]. Наличие опухолевых клеток в костном мозге после 4 лет наблюдения коррелировало с высоким риском развития отдаленных метастазов и увеличением смертности вследствие прогрессирования заболевания ($p < 0,001$). Многофакторный регрессионный анализ показал, что наличие оккультных метастатических клеток в костном мозге является фактором неблагоприятного прогноза независимо от состояния регионарных лимфатических узлов. Поражение костного мозга встречалось одинаково часто при наличии и отсутствии метастазов в регионарные лимфатические узлы.

Таблица 1. Связь между выживаемостью и обнаружением микрометастазов в костном мозге у больных РМЖ

Исследование	Стадия РМЖ	n	Частота обнаружения микрометастазов в костном мозге, %	Показано влияние микрометастазов на безрецидивную и общую выживаемость
Braun S. et al., 2000 [12]	T ₁₋₄ N ₀₋₃ M ₀	552	36	+
Mansi J.L. et al., 1999 [13]	T ₁₋₄ N ₀₋₃ M ₀	350	25	+
Gerber B., Krause A., 2001 [6]	T ₁₋₂ N ₀ M ₀	484	37	+
Braun S., 2000 [8]	T ₁₋₂ N ₀₋₂ M ₀	59	49	+
Gebauer G. et al., 2001 [3]	T ₀₋₂ N ₀₋₂ M ₀	393	42	+

По данным Mansi J.L. et al. у больных операбельным РМЖ, у которых в начале лечения были обнаружены микрометастазы в костном мозге, безрецидивная и общая 10-летняя выживаемость составили 43,9 и 44,9%, а у больных без поражения костного мозга — 62,7 и 65,7% [13].

Gebauer G. et al. также выявили, что обнаружение опухолевых клеток в костном мозге коррелирует с неблагоприятным прогнозом, причем особенно это касается больных с метастазами РМЖ в регионарных лимфатических узлах [3]. Отдаленные метастазы развились у 27% из 393 больных, в том числе у 35% пациентов с микрометастазами в костный мозг и у 20% больных, не имевших поражения костного мозга на момент первичного хирургического лечения ($p < 0,0001$). При этом в группе больных без метастазов в регионарных лимфатических узлах не отмечено различий по общей и безрецидивной выживаемости в зависимости от того, были ли исходно обнаружены микрометастазы в костном мозге. Следует обратить внимание на то, что наличие поражения костного мозга на момент установления диагноза не обязательно приводит к развитию отдаленных метастазов: 5-летняя безрецидивная выживаемость больных с микрометастазами в костном мозге составляет 65%.

Циркулирующие опухолевые клетки

Исследования, посвященные изучению прогностической роли циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в периферической крови у больных РМЖ, также обнаружили корреляцию с выживаемостью. Установлено, что

больные диссеминированным РМЖ с количеством ЦОК менее 5 на 7,5 мл крови имели достоверные преимущества по общей продолжительности жизни (18 и 10,1 мес, $p < 0,001$) и безрецидивному интервалу (7,0 и 2,7 мес, $p < 0,001$) по сравнению с больными, у которых число ЦОК было больше [14]. При многофакторном анализе показано прогностическое значение ЦОК при метастатическом РМЖ в зависимости от локализации метастазов, типа терапии и времени до возникновения рецидива после первичного хирургического лечения.

Apostolaki S. et al. проанализировали клиническое значение ЦОК у 214 больных операбельным РМЖ I/II стадии на фоне адъювантной химиотерапии. Элиминация ЦОК после адъювантной химиотерапии наблюдалась только у 30,2% больных. Обнаружение ЦОК после химиотерапии коррелировало с уменьшением безрецидивной выживаемости ($p = 0,006$) и служило независимым фактором неблагоприятного прогноза (отношение рисков 3,2; $p < 0,0005$) [15].

Наличие опухолевых клеток в костном мозге и в периферической крови определяли после завершения лечения, которое включало высокодозную химиотерапию с пересадкой стволовых клеток [16]. Рецидивы в группе больных с микрометастазами появлялись в среднем на 53 мес раньше (31,2 и 84,2 мес; $p = 0,021$). Обнаружение микрометастазов после химиотерапии, согласно выводам авторов, является прогностически неблагоприятным фактором, коррелируя с возникновением рецидива и неблагоприятным исходом у больных РМЖ из групп высокого риска.

Таблица 2. Связь между обнаружением микрометастазов в костном мозге и результатами лечения больных РМЖ из групп высокого риска [17]

Распространенность РМЖ	n	Частота обнаружения СК+ клеток в костном мозге, %		Медиана срока наблюдения, мес	Общая выживаемость, %
		до химиотерапии	после химиотерапии		
Метастатический	30	60	29	40	43
Локально-распространенный	13	23	33	0	92

Kasimir-Bauer S. et al. также выявляли микрометастазы у больных РМЖ групп высокого риска после высокодозной химиотерапии [17]. Цитокератин-положительные (СК+) клетки в костном мозге были зарегистрированы у 34% больных метастатическим и локально-распространенным РМЖ. Обнаружение микрометастазов после химиотерапии служило предиктором неблагоприятного прогноза (табл. 2).

Интересные данные были получены в исследовании Gafforio J. et al., в котором было показано, что выявление ЦОК в периферической крови перед началом химиотерапии достоверно коррелирует с экспрессией рецепторов к эстрогенам в опухоли и с вовлечением в патологический процесс регионарных лимфатических узлов [18]. Вместе с тем выявление ЦОК в периферической крови у больных РМЖ перед началом химиотерапии коррелирует как с безрецидивной, так и с общей продолжительностью жизни.

Наличие ЦОК (экспрессирующих мРНК СК-19) изучали у 119 больных ранним РМЖ на фоне применения адъювантной химиотерапии и гормонотерапии (тамоксифен) [19]. После завершения адъювантной химиотерапии у 22 человек (18,5%) определялись ЦОК, причем у 15 из них терапия тамоксифеном не привела к элиминации ЦОК. Из этих 15 ЦОК-позитивных больных рецидив РМЖ возник у 7 (46,7%), тогда как среди 68 больных без ЦОК на обоих этапах лечения – только у 6 (8,8%). Персистенция ЦОК коррелировала с более низкой медианой безрецидивной ($p = 0,0001$) и общей выживаемости ($p = 0,0005$). При многофакторном анализе выявлено, что обнаружение ЦОК во время лечения тамоксифеном ассоциировано с повышенным риском рецидива.

В другом исследовании ЦОК в периферической крови определялись более чем у половины больных распространенным РМЖ, а их количество изменялось в зависимости от эффективности проводимой химио- или гормонотерапии (схемы CMF, FEC, таксотер, тамоксифен, анастрозол) [20]. Samara O. et al. проанализировали значение ЦОК для оценки эффективности проводимой неоадъювантной химиотерапии у больных РМЖ [21]. После проведения первых циклов химиотерапии ЦОК определялись у подавляющего большинства больных независимо от схемы лечения, тогда как количество ЦОК уменьшалось при добавлении схемы CMF (циклофосфамид, метотрексат, 5-фторурацил). Плохой ответ опухоли коррелировал с ранним развитием рецидива ($p < 0,0001$).

Заключение

Обнаружение микрометастазов в костном мозге и периферической крови у больных РМЖ достоверно коррелирует с меньшей безрецидивной и общей выживаемостью, а также с ранним рецидивом, причем при увеличении содержания опухолевых клеток риск рецидива возрастает. Приведенные данные свидетельствуют о том, что скрининг микрометастазов у больных РМЖ способствует более точному стадированию опухолевого процесса, а также может оказывать влияние на выбор адъювантной терапии. Кроме того, исследование ЦОК может способствовать обнаружению новых мишеней для таргетной терапии с целью предотвращения рецидивов, а также мониторингу эффективности проводимой химиотерапии или гормонотерапии [22].

Список литературы

1. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2004 г. / Под ред. Давыдова М.И., Аксель Е.М. М., 2006.
2. Schoenfeld A., Kruger K.N., Gomm J. et al. The detection of micrometastasis in the peripheral blood and bone marrow of patients with breast cancer using immunohistochemistry and reverse transcriptase polymerase chain reaction for keratin 19 // *Eur. J. Cancer*. 1999. V. 33. № 6. P. 854–861.
3. Gebauer G., Fehm T., Merkle E. et al. Epithelial cells in bone marrow of breast cancer patients at time of primary surgery: clinical outcome during long-term follow-up // *J. Clin. Oncol.* 2001. V. 16. P. 3669–3674.
4. Ikeda N., Miyoshi Y., Motomura K. et al. Prognostic significance of occult bone marrow micrometastases of breast cancer detected by quantitative polymerase chain reaction for cytokeratin 19 mRNA // *Jpn. J. Cancer Res.* 2000. V. 91. № 9. P. 918–924.
5. Jung Y., Lee K., Kim H. et al. Clinical significance of bone marrow micrometastasis detected by nested RT-PCR for keratin-19 in breast cancer patients // *Jpn. J. Clinical Oncology*. 2003. V. 33. P. 167–172.
6. Gerber B., Krause A. Simultaneous immunohistochemical detection of tumor cells in lymph nodes and bone marrow aspirates in breast cancer and its correlation with other prognostic factors // *J. Clin. Oncol.* 2001. V. 19. P. 960–971.
7. Molino A., Pelosi G., Micciolo R. et al. Bone marrow micrometastases in breast cancer patients // *Breast Cancer Research and Treatment*. 1999. V. 58. P. 123–130.
8. Braun S., Kantenich C., Janni W. et al. Lack of effect of adjuvant chemotherapy on the elimination of single dormant tumor cells in bone marrow of high-risk breast cancer patients // *J. Clin. Oncol.* 2000. V. 18. P. 80–86.
9. Diel I.J., Kaufmann M., Goerner R. et al. Detection of tumor cells in bone marrow of patients with primary breast cancer. A prognostic factor for distant metastasis // *J. Clin. Oncol.* 1992. V. 55. № 10. P. 1534–1539.
10. Крохина О.В. Микрометастазы рака молочной железы в костный мозг. Иммуноморфологическая диагностика: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2002.
11. Slade M.J., Coombes R.C. The clinical significance of disseminated tumor cells in breast cancer // *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2007. V. 1. P. 30–41.
12. Braun S., Pantel K., Muller P. et al. Cytokeratin-positive cells in the bone marrow and survival of patients with stage I, II or III breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2000. V. 34. № 2. P. 525–533.
13. Mansi J.L., Gogas H., Bliss J.M. Outcome of primary-breast-cancer patients with micrometastases: a long-term follow-up // *Lancet*. 1999. V. 354. P. 197–202.
14. Cristofanilli M., Budd G., Ellis M. et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast // *Cancer. Seminars in Onc.* 2006. V. 33. P. 9–14.
15. Apostolaki S., Perraki M., Pallis A. et al. Circulating HER2 mRNA-positive cells in the peripheral blood of patients with stage I and II breast cancer after the administration of adjuvant chemotherapy: evaluation of their clinical relevance // *Ann. Oncol.* 2007. V. 18. № 5. P. 851–858.
16. Quintela-Fandino M., López J.M., Hitt R. et al. Breast cancer-specific mRNA transcripts presence in peripheral blood after adjuvant chemotherapy predicts poor survival among high-risk breast cancer patients treated with high-dose chemotherapy with peripheral blood stem cell support // *J. Clin. Oncol.* 2006. V. 24. № 22. P. 3611–3618.
17. Kasimir-Bauer S., Mayer S., Bojko P. et al. Survival of tumor cells in stem cell preparations and bone marrow of patients with high-risk or metastatic breast cancer after receiving dose-intensive or high-dose chemotherapy // *Clin. Cancer. Res.* 2001. V. 6. P. 1582–1589.
18. Gafforio J.J., Serrano M.J., Sanches-Rovira P. et al. Detection of breast cancer cells in the peripheral blood is positively correlated with estrogen-receptor status and predicts for poor prognosis // *Int. J. Cancer*. 2003. V. 107. № 6. P. 984–990.
19. Xenidis N., Markos V., Apostolaki S. et al. Clinical relevance of circulating CK-19 mRNA-positive cells detected during the adjuvant tamoxifen treatment in patients with early breast cancer // *Ann. Oncol.* 2007. № 10. P. 1623–1631.
20. Smith B.M., Slade M.J., English J. et al. Response of circulating tumor cells to systemic therapy in patients with metastatic breast cancer: comparison of quantitative polymerase chain reaction and immunocytochemical techniques // *J. Clin. Oncol.* 2000. V. 7. P. 1432–1439.
21. Camara O., Rengsberger M., Egbe A. et al. The relevance of circulating epithelial tumor cells (CETC) for therapy monitoring during neoadjuvant (primary systemic) chemotherapy in breast cancer // *Ann. Oncol.* 2007. V. 9. P. 1484–1492.
22. Alix-Panabieres C., Muller V., Pantel K. Current status in human breast cancer micrometastasis // *Curr. Opin. Oncol.* 2007. V. 6. P. 558–563.