

С. П. Шевченко^{1,2}, С. В. Сидоров^{1,2}, Н. Н. Колесников^{2,3}, Л. Ф. Гуляева^{2,4}

¹ Городская клиническая больница № 1
ул. Залесского, 6, Новосибирск, 630047, Россия

² Новосибирский государственный университет
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
пр. Акад. Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия

⁴ Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН
ул. Акад. Тимакова, 2, Новосибирск, 630117, Россия

E-mail: gulyaeva@soramn.ru

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ ТИРЕОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ

Рак щитовидной железы (РЩЖ) занимает лидирующие позиции (до 95 %) в структуре злокачественных заболеваний эндокринных органов. Мировые статистические данные свидетельствуют о неуклонном росте заболеваемости РЩЖ: ежегодный прирост составляет 2–3 %. Доброкачественные опухоли ЩЖ в основном представлены аденомами, тогда как злокачественные в большинстве случаев – карциномами. Тиреоидные карциномы являются одними из наиболее злокачественных опухолей эндокринной системы. Отмечено 37 000 новых случаев заболеваний в США в 2008 г., а в 2010 г., по данным Национального института здоровья, в США уже зарегистрировано 44 670 случаев данной патологии и 1 690 летальных исходов вследствие РЩЖ [1]. Увеличивается число предлагаемых иммуногистохимических маркеров для дискриминации доброкачественных и злокачественных новообразований ЩЖ, но ни один из них или их комбинация не позволяют оценить степень агрессивности опухоли [2], поэтому надежды возлагаются на молекулярные маркеры.

Морфологические типы РЩЖ. Согласно классификации ВОЗ, злокачественные но-

вообразования ЩЖ представлены следующими основными морфологическими формами: папиллярный, фолликулярный, медуллярный, низкодифференцированный и анапластический / недифференцированный раки [3]. Папиллярная тиреоидная карцинома (ПТК) превалирует в структуре злокачественных новообразований ЩЖ и составляет около 80 % от всех случаев рака органа, тогда как другие нозологические формы встречаются реже. ПТК и фолликулярная тиреоидная карцинома (ФТК) происходят от тиреоидных эпителиальных клеток, производных эндодермы, тогда как медуллярная тиреоидная карцинома (МТК) трансформируется из нейральных кальцитонин-экскретирующих С-клеток щитовидной железы. ПТК и ФТК вместе представляют дифференцированный рак железы.

Молекулярные маркеры РЩЖ. Исследования механизмов канцерогенеза выявили, что большинство опухолей содержат генетические повреждения, приводящие к активации митоген-активирующих сигнальных путей [4]. В настоящее время опухоли ЩЖ классифицируются не только в зависимости от различных гистологических и клинических факторов, но и по наличию в них сома-

тических мутаций в ключевых генах-маркерах канцерогенеза [5]. Эти данные приведены в табл. 1.

Многочисленные работы по исследованию механизмов канцерогенеза выявили основные сигнальные пути, регулирующие клеточное деление, дифференцировку, апоптоз, нарушения в которых ведут к клеточной трансформации. Последнее десятилетие ознаменовалось значительными успехами в понимании канцерогенеза ЩЖ на молекулярном уровне. Но несмотря на то, что некоторые генетические мутации уже описаны, в особенности для папиллярного гистотипа РЩЖ, механизмы, лежащие в основе развития этих новообразований, пока еще далеки от полного понимания. Между тем для клинической практики большое значение имеет их использование в диагностике, прогнозе и при лечении.

В большинстве папиллярных и фолликулярных карцином чаще встречаются четыре типа генетических повреждений, которые

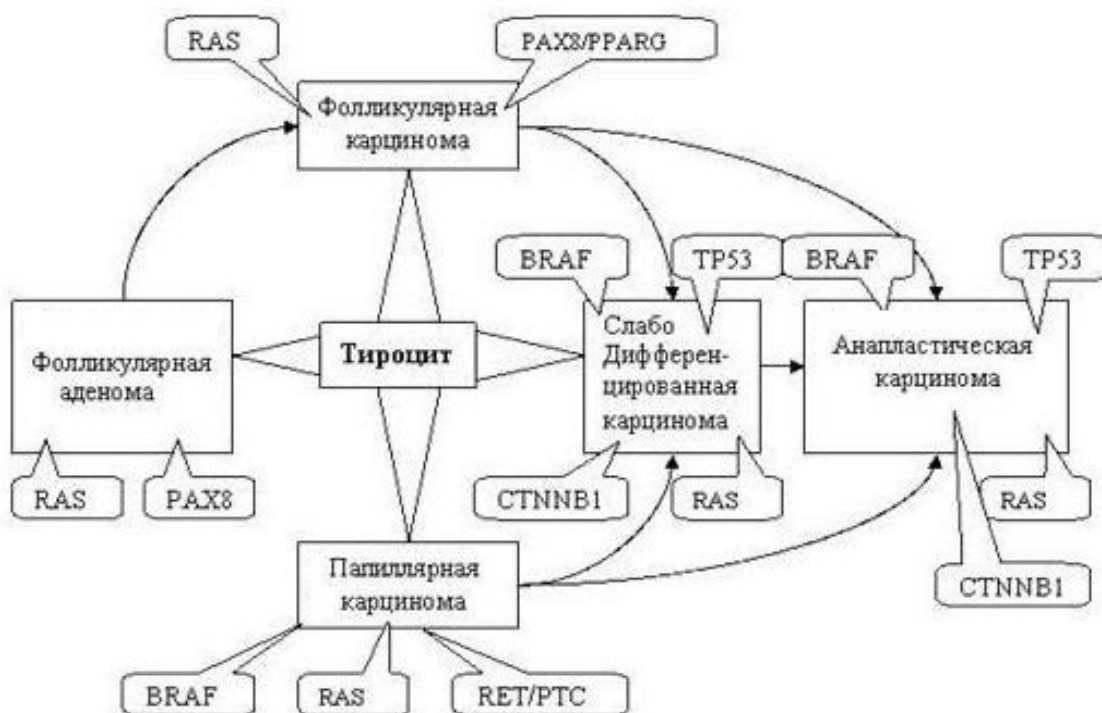
вносят наиболее существенный вклад в диагностическую и прогностическую характеристику разных типов опухолей ЩЖ. К ним относятся точечные мутации в генах BRAF и RAS и хромосомные перестройки по генам RET/PTC и PAX8/PPARG. Приводим более детальное описание данных маркеров с акцентом на их диагностическую значимость при РЩЖ.

BRAF. Ген BRAF локализован в хромосоме 7q34 человека, он кодирует белок, относящийся к семейству серин / треониновых протеин киназ. Этот белок участвует в MAP/ERK-киназном сигнальном метаболическом пути, который затрагивает клеточное деление, дифференцировку и секрецию. Мутации в этом гене ассоциированы с рядом заболеваний человека и также с различными опухолями, включая неходжкинскую лимфому, рак прямой кишки, злокачественную меланому, аденокарциному легкого и карциному щитовидной железы.

Таблица 1

Классификация опухолей щитовидной железы и частота встречаемости генетических мутаций в опухолях человека [4; 5]

Тип опухоли	Мутации генов	Частота, %
Папиллярная карцинома (выделяют 12 гистопатологических вариантов, включая фолликулярный вариант)	BRAF (V600E)	40–45
	RET/PTC	20–30
	RAS	10–20
	NTRK1	10
Фолликулярная карцинома (различают две категории по степени инвазивности и два варианта по цитологическим критериям)	RAS	40–50
	PAX8/PPAR	35
	PIK3CA	< 10
	PTEN	< 10
Семейная медулярная карцинома	RET	> 95
Спорадическая медулярная карцинома	RET	50
Низкодифференцированная карцинома	RAS	35–55
	TP53	20–38
	BRAF	12–20
	CTNNB1	20–25
	AKT1	15
	RET	13
Недифференцированная (анапластическая) карцинома	T53	70–88
	CTNNB1	60–66
	RAS	50–52
	BRAF	20–29
	PIK3CA	16–20
	PTEN	> 14
Фолликулярная аденома	RAS	20–40
	PAX8/PPAR	2–10



Многоступенчатая модель происхождения и прогрессии опухолей щитовидной железы из фолликулярных клеток [2]. Стрелками указаны возможные пути трансформаций разных типов опухолей. Даны обозначения генов, мутации по которым преобладают в данном типе опухоли

Мутация по гену BRAF в позиции V600E в большинстве случаев обнаружена и преобладает в папиллярных карциномах с классической гистологией, она также выявляется в анапластических и слабо дифференцированных карциномах, возникающих из папиллярной карциномы см. рисунок. Мутация BRAF V600E не выявлена в фолликулярной карциноме и доброкачественных узелках ЩЖ и, таким образом, может служить специфическим маркером папиллярной карциномы [6].

RET/PTC. Другой тип генетических повреждений, выявляемых в папиллярной карциноме, представлен химерным геном RET/PTC, возникающим в результате хромосомных aberrаций, возможно связанных с повреждением ДНК в результате ионизирующей радиации. Все химерные онкогены содержат интактный тирозинкиназный домен RET рецептора. Образующийся химерный белок RET/PTC конститутивно активирует RAS-RAF-MAPK каскад, регулирующий клеточную пролиферацию, результатом чего может быть клеточная трансформация.

Ген RET является членом кадхеринового суперсемейства, он локализован в хромосоме 10 человека, кодирует один из рецепторов тирозинкиназы, передающий сигналы клеточного роста и дифференцировки. Этот белок играет критическую роль в развитии нервного валика, он может подвергаться онкогенной активации в результате хромосомных перестроек. Мутации в этом гене связаны с множественными эндокринными неоплазиями и медуллярной тиреоидной карциномой. Онкогенные перестройки с участием гена RET установлены более чем в 30 % случаев при папиллярной карциноме (см. рисунок и табл. 1).

RAS. Мутации RAS генов встречаются во всех типах карцином ЩЖ, происходящих из фолликулярных клеток (см. табл. 1). Семейство RAS генов в геноме человека представлено тремя связанными между собой протоонкогенами – HRAS, KRAS и NRAS [7]. Члены этого семейства кодируют G-белки, которые передают сигналы от рецепторов мембраны клетки, участвуют в передаче митогенных сигналов. Мутации в кодонах 12, 13, 61 вызывают образование постоянно

активированной GTP-связанной формы белка и хронически стимулируют последующие цепочки передачи клеточного сигнала. Генетические дефекты по этим генам также выявляются в большинстве случаев рака поджелудочной железы, при различных солидных опухолях и лейкозе. В разной степени они превалируют в карциномах ЩЖ (см. табл. 1). Полагают, что RAS мутации являются одним из ранних событий в образовании опухолей щитовидной железы и выявлены в фолликулярной аденоме (см. рисунок).

PAX8/PPARG. Ген PAX8 локализован на хромосоме 2q13 в геноме человека, кодирует транскрипционный фактор, контролирующей экспрессию тканеспецифичных генов в ЩЖ и процессы дифференцировки фолликулярных клеток. Мутации по этому гену ассоциированы с тиреоидным дисгенезом, фолликулярной карциномой и атипичной фолликулярной аденомой ЩЖ. Хромосомная перестройка (транслокация между 2 и 3-й хромосомами) ведет к образованию химерного гена PAX8/PPARG с повышенной экспрессией. Подобная перестройка специфична для фолликулярной карциномы (см. табл. 1) и с меньшими значениями выявляется в фолликулярной аденоме. Высказано предположение, что химерный ген относится к одним из ранних специфических для фолликулярной карциномы онкогенов, а его онкогенная активность связана с изменениями в клеточном цикле, ингибированием апоптоза, увеличением пролиферативной активности фолликулярных клеток. Более того, изменение уровня экспрессии PAX8 в стволовых клетках ЩЖ может приводить к их злокачественной трансформации [8].

Итак, можно заключить, что в папиллярных карциномах превалируют мутации по генам RET, TRK, RAS и BRAF. Соматические перестройки RET и TRK почти исключительно выявляются в папиллярных карциномах и могут быть обнаружены на ранних стадиях. Наиболее характерными отличительными чертами фолликулярной карциномы являются анеуплоидия и высокое преобладание RAS мутаций и перестроек генов PAX8/PPAR (γ). Известные мутации в генах TP53 и CTNNB1 встречаются в слабо дифференцированных и анапластических карциномах (см. табл. 1). Опухолевый супрессор TP53, по-видимому, играет критическую роль в процессе де-

дифференцировки карцином щитовидной железы (см. рисунок).

Наследственные формы РЩЖ. Тиреоидная карцинома, как и многие другие злокачественные новообразования человека, может быть спорадической или семейной. В настоящее время семейные формы разделяют на два типа: семейная медулярная тиреоидная карцинома (СМТК), имеющая происхождение от кальцитонин-продуцирующих Т-клеток, и семейная немедулярная тиреоидная карцинома, происходящая из фолликулярных клеток. Гистопатологические свойства опухоли у пациентов с семейной формой рака не отличаются от спорадической формы, однако в первом случае чаще наблюдаются билатеральные и множественные опухоли.

В настоящее время развитие медулярной тиреоидной карциномы рассматривается в контексте аутосомной доминантной множественной эндокринной неоплазии, тогда как папиллярная карцинома возникает спорадически [9].

МТК возникает либо спорадически (75 % случаев), либо является наследственной (25 % случаев), как множественная эндокринная неоплазия (МЭН) МЭН2А, МЭН2В или семейная МЭН. Клинически наследственные формы характеризуются полной пенетрантностью, хотя отмечается некоторая вариабельность в клиническом проявлении. Так, примерно у 50 % пациентов с МЭН2А или МЭН2В развиваются феохромоцитомы, а у 30 % лиц с МЭН2А формируется паратиреоидная гиперплазия [10]. У больных с семейной МЭН образуется МТК [11].

В последнее время появились сообщения о роли протоонкогена RET в развитии МЭН2А и МЭН2В. Протоонкоген RET (rearranged during transfection) кодирует трансмембранный рецептор, который запускает несколько сигнальных путей. Установлено, что активирующие герминальные мутации в гене RET играют центральную роль в развитии МЭН [12]. Кроме того, примерно 50 % больных со спорадической медулярной тиреоидной карциномой имеют соматические мутации в гене RET, а в существенной доле опухолей папиллярной тиреоидной карциномы регистрируются хромосомные инверсии или транслокации, активирующие этот онкоген (RET/PTC онкогены). Кроме того, именно такие повреждения находят в папиллярных опухолях ЩЖ у пациентов,

выживших после взрыва атомной бомбы с высокими дозами радиации [13]. Стало очевидным, что RET протоонкоген может играть существенную роль в лечении и профилактике РЩЖ. Исследователи полагают, что со временем тиреоидэктомия у детей, имеющих мутантный RET аллель от родителей с любой формой МЭН, может предотвратить развитие МТК и существенно понизить смертность от этого опасного заболевания [10]. Более того, сегодня активно развивается таргетная терапия в направлении ингибирования RET-зависимых сигнальных путей у больных МТК, для которых в настоящее время нет эффективной терапии [14].

Долгое время было принято считать, что наследственные формы характерны в основном для МТК. Однако в последние 20 лет появились сообщения о семейных формах ПТК, которые регистрируются в 5–10 % от всех случаев [15; 16].

Семейная папиллярная тиреоидная карцинома часто ассоциирована с папиллярной ренальной карциномой или мультимодулярным зобом [17]. Однако полная генетическая картина данных синдромов пока остается неисследованной.

Н. Не и соавт. [18] провели полногеномный анализ генетических ассоциаций в большом количестве семей с ПТК и меланомой с целью выявления предрасположенности к этим заболеваниям. Авторы показали, что локус 8q24 может быть ассоциирован с развитием ПТК. Предполагаемый некодирующий РНК район АК023948 может быть кандидатом предрасположенности к развитию папиллярной карциномы. Однако функциональность этого локуса остается неисследованной.

Таргетная терапия РЩЖ. Традиционные подходы к лечению больных с про-

грессирующим или рецидивирующим РЩЖ включают дополнительную операцию, терапию радиоактивным йодом и подавление тиреоид-стимулирующего гормона (ТСГ). Радио- и химиотерапия в этом случае обычно малоэффективны. Для большинства дифференцированных тиреоидных карцином характерен благоприятный прогноз; лишь в 15 % случаев болезнь плохо поддается лечению. Медуллярный РЩЖ имеет худший прогноз, особенно для пациентов с диффузной формой во время первой операции [19]. Следует заметить, что эффективность применения химиотерапии при лечении лиц с РЩЖ, особенно его метастатических форм, остается весьма низкой. Так, пациенты с дифференцированной или медуллярной карциномами ЩЖ обычно не отвечают на традиционную химиотерапию. Поэтому важен поиск новых подходов для лечения таких пациентов с РЩЖ.

Современные исследования по выявлению молекулярных маркеров, вовлеченных в канцерогенез, сделали возможным разработку адресной или таргетной терапии рака, в том числе при РЩЖ. Как уже отмечалось ранее, этот тип рака ассоциирован с активацией сигнальных путей, прежде всего MAP-киназного и фосфоинозитол-3-киназного (PI3-K) каскадных путей. Так как около 70 % опухолей ПТК имеют соматические мутации в онкогенах RET/PTC, RAS или B-RAF, которые являются компонентами сигнальных путей, регулирующих рост клеток, именно эти молекулы могут быть перспективными мишенями для таргетной терапии. В связи с этим, как и для многих других опухолей, в лечении дифференцированного РЩЖ применяются мультикиназные ингибиторы (табл. 2).

Одним из перспективных направлений лечения больных с дифференцированным

Таблица 2

Мишени ингибиторов киназ для рака щитовидной железы [19]

Лекарственное средство	VEGFR	BRAF	PDGFR	KIT	RET	EGFR	Другие
Sorafenib (Nexavar)	+	+	+	+	+		FLT-3
Sunitinib (Sutent)	+		+	+	+		
Vandetinib (Zactima)	+				+	+	
Axitinib (AG-013736)	+		+				
Motesanib (AMG-706)	+		+	+	+		

РЦЖ является применение ингибиторов рецептора эндотелиального фактора роста VEGFR [20]. В процессе роста сосудов, регулируемого сигналами с рецептора VEGFR, вовлечен Р13К-киназный путь. Активирующие мутации в Р13К киназе выявлены в клеточных линиях тиреоидной карциномы [21]. Следует заметить, что тирозин-киназный ингибитор EGFR гефитиниб малоэффективен при лечении лиц с опухолями ЩЖ [22]. Перспективность применения сорафениба и санитиниба для лечения при метастатической МТК подтверждена другими авторами [23]. Идентификация активирующих мутаций BRAF, которые встречаются почти в 70 % недифференцированной карциномы, сделала возможным использовать этот тип рака в качестве модели для проверки эффективности ингибиторов протеин-киназ. Клинические испытания нескольких таких ингибиторов, нацеленных против RET, в меньшей степени против BRAF, а также другие ингибиторы показали обнадеживающие результаты: треть больных ответили 50 % уменьшением размеров опухоли на постоянное лечение в течение 3–4 лет [24]. Однако многие исследователи отмечают, что для повышения эффективности лечения клетки каждой индивидуальной опухоли должны проверяться на чувствительность к ингибиторам тирозин-киназ.

Таким образом, таргетная терапия находит свое применение и при лечении пациентов с РЦЖ. Однако эффективность ее использования зависит от молекулярной характеристики опухоли, в частности от выявления соматических мутаций в ключевых сигнальных молекулах. Четкого клинического алгоритма применения такой терапии пока не создано, но это период ближайшего будущего, когда будет накоплен достаточный опыт использования ингибиторов сигнальных молекул канцерогенеза.

Заключение

Последнее десятилетие ознаменовалось значительными успехами в понимании канцерогенеза ЩЖ на молекулярном уровне. Однако несмотря на то, что некоторые генетические мутации уже описаны для РЦЖ человека, в особенности для папиллярного гистотипа, механизмы, лежащие в основе развития этих новообразований, пока еще далеки от полного понимания. Стремитель-

ное развитие технологий полногеномного секвенирования, выявляющие герминальные и соматические мутации в опухолевой ДНК, новые молекулярно-биологические и имиджевые клеточные технологии, выявляющие маркеры опухолей, позволяют проводить молекулярную характеристику опухолей эндокринной системы и таргетную терапию. Благодаря тому, что в последние годы активно исследуются механизмы, приводящие к клеточной трансформации, появилась возможность использовать эти знания не только для нашего понимания механизмов канцерогенеза, но для диагностики и лечения опухолей, причем таких сложных, которые до этого не поддавались лечению. Особенно это относится к применению ингибиторов тирозин-киназ, список которых постоянно пополняется. Однако во многих случаях таргетная терапия, в том числе и для лечения РЦЖ, эффективна лишь для опухолей, охарактеризованных по молекулярным маркерам с учетом соматических мутаций. Многие препараты в настоящее время проходят клинические испытания и можно ожидать их эффективность в лечении различных видов рака, включая метастатические тиреоидные карциномы. Для клинической практики большое значение имеет использование молекулярно-генетических знаний для диагностики, прогноза и лечения тиреоидной карциномы.

Список литературы

1. Thyroid Cancer URL: <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/thyroid> (дата обращения 30.06.11).
2. *Eszlinger M., Paschke R.* Molecular Fine-needle Aspiration Biopsy Diagnosis of Thyroid Nodules by Tumor Specific Mutations and Gene Expression Patterns // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2010. Vol. 322. P. 29–37.
3. *Hedinger C., Williams E. D., Sobin L. H.* The WHO Histological Classification of Thyroid Tumors: a Commentary on the Second Edition // *Cancer.* 1989. Vol. 63, № 5. P. 908–911.
4. *Ringel M. D.* Molecular Markers of Aggressiveness of Thyroid Cancer // *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 2009. Vol. 16, № 5. P. 361–366.
5. *DeLellis R. A., Williams E. D., LiVolsi V. et al.* Tumors of the Thyroid and Parathyroid: Follicular Adenoma // *WHO Classification of Tumors: Pathology and Genetics of Tumors*

of Endocrine Organs / Eds. R. A. DeLellis, R. V. Lloid, P. U. Heitz, C. Eng. Lyon, 2004. P. 98–103.

6. *Nikiforova M. N., Nikiforov Y. E.* Molecular Diagnostics and Predictors in Thyroid Cancer // *Thyroid*. 2009. Vol. 19. P. 1351–1361.

7. *Omerovic J., Laude A. J., Prior I. A.* Ras Proteins: Paradigms for Compartmentalised and Isoform-specific Signaling // *Cell. Mol. Life Sci*. 2007. Vol. 64. P. 2575–2589.

8. *Kimura S.* Thyroid-specific Transcriptional Factors and Their Roles in Thyroid Cancer // *J. Thyroid. Res*. 2011. ID 710213.

9. *Melillo R. M., Cirafici A. M., De Falco V., Bellantoni M., Chiappetta G., Fusco A., Carlomagno F., Picascia A., Tramontano D., Tallini G., Santoro M.* Follicular Thyroid Cells May Account for the Occurrence of Papillary Thyroid Carcinoma in Patients Affected by Familial Medullary Thyroid Carcinoma // *Am. J. Pathol*. 2004. Vol. 165, № 2. P. 511–520.

10. *Wells S. A. Jr., Santoro M.* Targeting the RET Pathway in Thyroid Cancer // *Clin. Cancer Res*. 2009. Vol. 15. P. 7119–7123.

11. *Jimenez C., Hu M. I., Gagel R. F.* Management of Medullary Thyroid Carcinoma // *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am*. 2008. Vol. 37. P. 481–496.

12. *Lodish M. B., Stratakis C. A.* RET Oncogene in MEN2, MEN2B, MTC, and Other Forms of Thyroid Cancer: Molecular Genetics and Therapeutic Advances // *Expert. Rev. Anticancer Ther*. 2008. Vol. 8, № 4. P. 625–632.

13. *Gandhi M., Evdokimova V., Nikiforov Y. E.* Mechanisms of Chromosomal Rearrangements in Solid Tumors: the Model of Papillary Thyroid Carcinoma // *Mol. Cell. Endocrinol*. 2010. Vol. 321, № 1. P. 36–43.

14. *Salgia R., Sherman S., Hong D. S. et al.* A Phase I Study of XL184, a RET, VEGFR2, and MET Kinase Inhibitor, in Patients (pts) with Advanced Malignancies, Including Pts with Medullary Thyroidcarcinoma (MTC) // *J. Clin. Oncol*. 2008. Vol. 26. P. 3522–3527.

15. *Loh K. C.* Familial Nonmedullary Thyroid Carcinoma: a Meta-review of Case Series // *Thyroid*. 1997. Vol. 7. P. 107–113.

16. *Fagin J. A.* Familial Nonmedullary Thyroid Carcinoma – the Case for Genetic Susceptibility // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1997. Vol. 82. P. 342–344.

17. *Nose V.* Familial Thyroid Cancer: A Review // *Mod. Pathol*. 2011. Suppl. 2. P. 19–33.

18. *He H., Nagy R., Liyanarachchi S., Jiao H., Li W., Suster S., Kere J., Chapelle A. de la.* A Susceptibility Locus for Papillary Thyroid Carcinoma on Chromosome 8q24 // *Cancer Res*. 2009. Vol. 69, № 2. P. 625–631.

19. *Romagnoli S., Moretti S., Voce P., Puxeddu E.* Targeted Molecular Therapies in Thyroid Carcinoma // *Arq. Bras. Endocrinol. Metab*. 2009. Vol. 53, № 9. P. 1061–1073.

20. *Keefe S. M., Cohen M. A., Brose M. S.* Targeting Vascular Endothelial Growth Factor Receptor in Thyroid Cancer: the Intracellular and Extracellular Implications // *Clin. Cancer Res*. 2010. Vol. 16, № 3. P. 778–783.

21. *Garcia-Rostan G., Costa A. M., Pereira-Castro I.* Mutation of the PIK3CA Gene in Anaplastic Thyroid Cancer // *Cancer Res*. 2005. Vol. 65. P. 10199–10207.

22. *Pennell N. A., Daniels G. H., Haddad R. I., Ross D. S., Evans T., Wirth L. J., Fidiias P. H., Temel J. S., Gurubhagavatula S., Heist R. S., Clark J. R., Lynch T. J.* A Phase II Study of Gefitinib in Patients with Advanced Thyroid Cancer // *Thyroid*. 2008. Vol. 18. P. 317–323.

23. *Sherman S. I.* Targeted Therapy of Thyroid Cancer // *Biochem. Pharmacol*. 2010. Vol. 80, № 5. P. 592–601.

24. *Antonelli A., Ferri C., Ferrari S. M., Sebastiani M.* New Targeted Molecular Therapies for Dedifferentiated Thyroid Cancer // *Micr. J. Oncol*. 2010. ID 921682.

Материал поступил в редколлегию 03.07.2011