

## MEMBRÁNOVÝ RECEPTOR HER-2/*neu* – STRUKURA A FUNKCE, PROGNOTICKÝ A PREDIKTIVNÍ VÝZNAM PRO PACIENTKY S INVAZIVNÍM KARCINOMEM PRSU

<sup>1</sup>Petr CINEK, <sup>2</sup>Stanislav FILIP

<sup>1</sup>Oddělení klinické onkologie Ústřední vojenské nemocnice Praha, Praha

<sup>2</sup>Klinika onkologie a radioterapie Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Hradec Králové

### Souhrn

Receptor HER-2/*neu*, patřící do rodiny transmembránových HER receptorů, hraje významnou roli při spuštění signální dráhy, která zprostředkovává přenos extracelulárního podnětu do jádra buňky. Fyziologické pochody vedoucí k aktivaci receptoru i jeho celá signální kaskáda jsou dnes dobře prostudovány. Zvýšená HER-2/*neu* signalizace při nadbytku receptoru v buněčné membráně je zapojena ve složitých pochodech kancerogeneze a je zodpovědná za vytvoření malignějšího fenotypu nádorové buňky s agresivnějším biologickým chováním.

Vyšetření stavu exprese HER-2/*neu* v nádorových buňkách invazivního karcinomu prsu se provádí pomocí imunohistochemických metod, počet kopií kódujícího genu (*c-erbB-2*) lze určit fluorescenční in situ hybridizací. Odštěpená extracelulární doména receptoru je detekovatelná v séru pacientek. Zvýšená exprese receptoru HER-2/*neu* je negativním prognostickým faktorem pro pacientky s invazivním karcinodem prsu, protože tyto ženy jsou více ohroženy časným relapsem a generalizací choroby. Kromě toho je overexprese HER-2/*neu* také prediktivním faktorem, protože pomáhá vybrat pacientky, které jsou vhodné pro cílenou biologickou léčbu a pro kombinovanou chemoterapii na bázi antracyklinů.

**Klíčová slova:** Invazivní karcinom prsu; Receptor HER-2/*neu*; Overexprese; Prognostický faktor; Prediktivní faktor.

## The Membrane HER-2/*neu* Receptor – Structure and Function, Prognostic and Predictive Role for Invasive Breast Cancer Patients

### Summary

The HER-2/*neu* receptor, a member of transmembrane HER receptors family, plays a very important role in activation of the signalling downstream path which mediates the transfer of extracellular signal into the cell nucleus. The physiological processes, leading to receptor activation, as well as its whole signalling cascade are understood well today. The increased HER-2/*neu* activation, in the case of its abundance in cellular membrane, participates in complicated processes of cancerogenesis and is liable for the formation of tumor cells with a more malignant phenotype and more aggressive biological behaviour.

The status of HER-2/*neu* expression in invasive breast cancer cells is assessed by immunohistochemical methods, and the number of encoding gene copies (*c-erbB-2*) by fluorescent in situ hybridization. The measurement of individual extracellular receptor domain is possible in patients' blood serum. The increased HER-2/*neu* receptor expression is a negative prognostic factor for invasive breast cancer patients because these women have a higher risk for early recurrence and generalization of the disease. Moreover, HER-2/*neu* overexpression is also a predictive factor which helps to mark patients who benefit from the target biological treatment and anthracyclin based chemotherapy.

**Key words:** Invasive breast cancer; HER-2/*neu* receptor; Overexpression; Prognostic factor; Predictive factor.

### Úvod

Zhoubná nádorová onemocnění provázejí lidstvo odnepaměti a jsou důkazy o jejich výskytu již tisíce let před našim letopočtem. Stejně tak staré jsou ale i pokusy o jejich léčení. V naší moderní době můžeme pozorovat trvale se zvyšující incidenci malignit v české populaci – pro nádorové onemoc-

nění se nyní léčí každý třetí Čech a každý čtvrtý na něj zemře. Nejčastějším zhoubným nádorem žen je karcinom prsu s hrubou incidencí 110,45 v roce 2003 – ÚZIS ČR (barevná příl. s. I, obr. 2).

Karcinom prsu je velmi nehomogenní společenství někdy i mnoha různých klonů nádorových buněk, které se od sebe navzájem liší svým genotypem, fenotypem, svými biologickými vlastnostmi a

odpovědí na onkologickou léčbu. Dalším typickým rysem buněk karcinomu mléčné žlázy je jejich schopnost měnit se v čase, v maligních buňkách probíhají následné genetické změny, které většinou vedou k posílení a stabilizaci více maligního potenciálu. Navíc podanou onkologickou léčbou můžeme vyselektovat rezistentní buněčné klonny. To vše se ve svém důsledku projevuje progresí choroby se všemi negativními dopady pro pacientku. A to jsou také důvody, proč je stále v popředí zájmu kliniků co nejpresnější předpověď biologického chování karcinomů, k čemuž slouží také stanovení exprese receptoru HER-2/*neu*.

### **HER-2/*neu* receptor: struktura a funkce v normální tkáni**

Receptor HER-2/*neu* je transmembránový glykoprotein a je produktem genu *c-erb-B2*. Má svoji vnitřní tyrozinkinázovou aktivitu a jeho molekulární hmotnost je 185 kDa. Tento receptor patří do rodiny dnes již dobře poznáných HER (human epidermal receptor) neboli *erbB* receptorů, která se skládá ze čtyř homologních, vzájemně spolupracujících členů označovaných HER-1, HER-2, HER-3 a HER-4 (barevná příl. s. II, obr. 3). Transmembránové HER receptory přenášejí extracelulární podněty do jádra buňky: po navázání ligandu na extracelulární doménu, dimerizaci receptoru a aktivaci tyrozinkinázy se spustí složitá signální kaskáda.

Receptor HER-2/*neu* má tři části: extracelulární, transmembrální a intracelulární (barevná příl. s. II, obr. 4). Extracelulární doména se skládá ze 632 aminokyselin a jako pro jedinou z celé rodiny HER receptorů pro ni zatím nebyl identifikován žádný známý ligand (barevná příl. s. III, obr. 5). Hydrofobní transmembrální část je složena z 22 aminokyselin a zajišťuje ukotvení receptoru k buněčné membráně. Intracelulární doména, tvořená 580 aminokyselinami, obsahuje místo odpovědné za tyrozinkinázovou aktivitu a další regulační funkce (4).

Za fyziologického stavu jsou receptory HER rodiny důležité pro plynulou obnovu epiteliálních tkání. Každý HER receptor je v zásadě inaktivní monomer, který se stává dimerem v odpovědi na navázání ligandu, nejčastěji růstového faktoru. Tento proces se nazývá homodimerizace, jde-li o receptor toho samého typu (např. dimer HER-1/HER-1), daleko častěji však dochází k heterodimerizaci, naváže-li se jiný receptor HER rodiny (např. dimer

HER-1/HER-2) (barevná příl. s. III, obr. 6). Teprve tento dimerizační proces má za následek aktivaci receptoru a autofosforylaci tyrozinkinázy, která poté spouští kaskádu metabolických pochodů tvořících komplexní signální dráhu přenášející extracelulární podnět do jádra buňky (4). Zde přenesený signál modifikuje genovou kontrolu a proteinovou transkripci, což má ve svém důsledku účinky na klíčové buněčné regulační procesy, jako jsou diferenciace, adheze, růst, migrace a apoptóza. Porušená, dysregulovaná receptorová funkce a změny v několika nebo ve všech signálních kaskádách mohou vyústit v buněčnou transformaci a maligní zvrát. V intracelulárním přenosu signálů, vycházejících z HER receptorů a směřujících do jádra buňky, jsou nejčastěji zapojeny dráha Ras/MAPK a dráha PI3-K/Akt (4).

HER-2/*neu* vykazuje výraznou strukturální podobu s HER-1, ale doposud pro něj nebyl zjištěn žádný známý ligand (2, 7). Proto jeho aktivace bývá spojena prakticky vždy s heterodimerizací s dalšími členy rodiny HER. Navíc receptor HER-2/*neu* hraje klíčovou roli při tvorbě heterodimer, protože jako dimerický partner je preferován a v některých lidských tkáních se dokonce jedná o nejčastěji se vyskytující heterodimery. Dimery obsahující HER-2/*neu* také dokáží produkovat silnější intracelulární signály než ty, které vznikají z jiných komplexů (5).

### **Receptor HER-2/*neu* v nádorech**

Receptor HER-2/*neu* vykazuje abnormální nebo zvýšenou expresi v mnoha typech nádorů, což svědčí pro jeho zapojení v tumorigenezi. Mimoto jeho nadměrná exprese koreluje se stadiem a progresí nemoci, přežitím a odpovědí na léčbu. Informace o heterodimerách a jejich aktivaci jsou v normálních buňkách a tkáních pod neustálou kontrolou, ale v nádorových buňkách byla zjištěna dysregulace této sítě, kdy zvýšená exprese HER-2/*neu* (např. v karcinomu prsu) nebo HER-1 (např. v karcinomu plic) poskytuje buňkám růstovou výhodu. Bylo prokázáno, že overexprese HER-2/*neu*, pozorovaná asi u 20–30 % karcinomů prsu a vaječníku, aktivuje PI3-K/Akt cestu „přežití“, čímž upřednostňuje buněčnou proliferaci inhibicí apoptózy. Signál „přežití“ je za normálního stavu spárován s aktivací další, tzv. proliferací dráhy Ras/MAPK. Zvýšená HER-2/*neu* exprese v nádorech proto zvyšuje a prodlužuje signalizaci prostřednictvím obou těchto drah,

PI3-K/Akt i Ras/MAPK. Ve zvýšené přítomnosti HER-2/*neu* signálu je tedy umožněn posun od apoptózy k proliferaci a přežití (5), což potvrzuje spojení HER-2/*neu* receptoru s maligním fenotypem (4).

Klíčová role členů HER rodiny ve zvyšování metastatického potenciálu spočívá také v jejich schopnosti vyvolat sekreci tkáňových membránových degradačních enzymů metaloproteáz (MMP), které modifikují tkáňovou architekturu prostřednictvím defektu v matrix a následně vedou k poruše interakcí mezibuněčných a interakcí buňka – matrix. Tyto poruchy společně se změnami integrinové a kadherinové funkce jsou často pozorovány u nádorových buněk s aktivovanou HER signalizací. Uspodňují komunikaci mezi nádorovými buňkami a jejich proklouznutí z kontroly v mikroprostředí. Zejména tvorba nových interakcí HER receptorů s integriny, jako např. interakce HER-2/*neu* s integrinem  $\alpha_6\beta_4$  a fokální adheze kináz spouští PI3-K cestu indukující vyplavení sekundárních posílů fosfoinositidů a kalcia. Tyto molekuly postupně aktivují multiproteinové komplexy, které hrají roli v reorganizaci aktinového cytoskeletu a tím v migraci nádorových buněk (1). Zjištěná vysoká exprese HER-2/*neu* v invadopodiích nádorových buněk svědčí také pro její účast v buněčné migraci. Receptor HER-2/*neu* hraje predominantní roli v motogenní a mitogenní signalizaci.

### **Možnosti stanovení receptoru HER-2/*neu* a genu c-erbB-2 v invazivním karcinomu prsu**

Přesné určení stavu tyrozinkinázového receptoru HER-2/*neu* v buňkách invazivního karcinomu prsu je nezbytné pro stanovení prognózy pacientky a dále určuje volbu chemické, hormonální a biologické léčby. Protože je zvýšená exprese receptoru HER-2/*neu* téměř vždy důsledkem amplifikace příslušného protoonkogenu c-erbB-2, můžeme dnes standardními vyšetřovacími metodami identifikovat buď počet kopií genu c-erbB-2 v jádru buňky, nebo množství jeho produktu – receptoru HER-2/*neu* – v buněčné membráně, neboli stanovit membránovou pozitivitu.

Počet kopií genu se vyšetřuje metodami fluorescenční in situ hybridizace (FISH) nebo chromogenní in situ hybridizace (CISH). Jde o metody náročné na přístrojové vybavení, zkušený personál, čas a jsou poměrně drahé. Stanovení exprese receptoru v buněčné membráně se provádí imunohistoche-

micky (IHC). Je to metoda široce dostupná, relativně jednoduchá, spolehlivá a levná. Oba postupy mají své výhody i nevýhody.

Imunohistochemie obecně využívá afinitu antigenu a specifické protilátky a detekuje jejich vzájemnou vazbu. Při imunohistochemickém vyšetření invazivních karcinomů prsu se stanovuje stupeň HER-2/*neu* proteinové exprese v parafinových tkáňových vzorcích použitím protilátek, jež se vážou na HER-2/*neu* exprimovaný na buněčných membránách. Toto vyšetření je semikvantitativní a výsledek se udává jako odstupňované skóre od 0 do 3+. V současné době je v ČR nejčastěji používána pro hodnocení exprese HER-2/*neu* metodika DakoCytomation. Skóre 0 a 1+ znamená negativitu, skóre 3+ pozitivitu a skóre 2+ nejistotu.

Fluorescenční in situ hybridizace zahrnuje hodnocení DNA v metafázických nebo interfázických buňkách za použití značených DNA sond a počítání mikroskopických signálů. Použití různých fotoaktivních barviv umožňuje obarvit různé zkoumané chromozomální sekvence a simultánní analýzu mnohočetných sekvencí. FISH může být použita k detekci mnoha různých typů rozmanitých chromozomálních a genových abnormalit, abnormalit počtu, translokací, delecí a přesmyků.

Vzhledem ke známému faktu, že overexprese receptoru HER-2/*neu* v karcinomech prsu je v naprosté většině případů výsledkem amplifikace příslušného genu, využívají se FISH metody stanovení kopií genu většinou k potvrzení imunohistochemické positivity 3+ nebo k potvrzení či vyvrácení positivity při skóre 2+.

### **Dynamika amplifikace genu c-erbB-2 v synchronních benigních, předmaligních, maligních a metastatických lézích**

Nejčastějším histologickým typem maligního nádoru prsu je duktální invazivní karcinom. A právě jen u tohoto histologického typu byla potvrzena nadměrná membránová exprese receptoru HER-2/*neu* spojená s amplifikací příslušného genu v jádru buňky. Podle našich současných poznatků tedy můžeme hovořit o skutečné overexpresi HER-2/*neu* receptoru jen v případech duktálních karcinomů, což má zásadní důsledky pro indikaci biologické léčby.

Vznik duktálního karcinomu z normálních buněk epitelu ductů můžeme sledovat přes duktální hyperplazii (DH), atypickou duktální hyperplazii (ADH) a

duktální karcinom in situ (DCIS), což jsou morfologické jednotky, které se ale také mohou vyskytovat synchronně již spolu s invazivním karcinomem (DIC). Při další progresi onemocnění dochází k vytvoření metastáz (M). Toto je typická vývojová řada invazivního duktálního karcinomu.

Bylo zjištěno, že amplifikace genu pro receptor HER-2/*neu* se může objevit de novo v každém stadiu vývoje onemocnění od ADH až k metastázám. Nejčastěji se poprvé vyskytuje v ADH nebo DCIS, ale jen méně často v primárním nebo metastatickém karcinomu. Pokud již k amplifikaci dojde, pak se jedná o relativně stabilní genetickou změnu, jež je většinou předávána na vývojově vyšší stupně onemocnění (10). Jsou zdokumentovány ale i opačné případy, kdy primární nádor vykazoval vysokou expresi receptoru HER-2/*neu* s FISH vyšetřením potvrzenou amplifikací c-erbB-2 genu, nicméně buňky korespondující metastázy měly nižší membránovou pozitivitu receptoru a nebyla u nich prokázána amplifikace genu (6). Tyto případy existují, jsou ale výjimečné.

### **Sérový HER-2: biologie, detekce, klinický význam**

Extracelulární doména (ECD) receptoru HER-2/*neu* prochází proteolytickým štěpením metaloproteázami a je odlučována do krve jako cirkulující antigen. HER-2/*neu* ECD je glykoprotein o hmotnosti 97–115 kD a je také někdy označován jako p105, ale všeobecně je znám jako „sérový HER-2/*neu*“. Sérový HER-2/*neu* je tedy cirkulující onkoprotein a může být detekován v séru zdravých lidí, stejně jako u pacientů s různými solidními nádory.

Stanovení hladin sérového HER-2/*neu* poskytuje prognostické a prediktivní informace pro kliniku a může být využito pro monitorování pacientek s metastatickým onemocněním. Vyšetření sérového HER-2/*neu* poskytuje také doplňkové informace tam, kde není možné opakovat biotické vyšetření tkáně v průběhu nádorové choroby (3, 8).

### **Expresce receptoru HER-2/*neu* v prognóze a v predikci odpovědi na léčbu**

Jak prokázaly mnohé studie, pacientky s HER-2/*neu* pozitivními nádory mají horší prognózu než ženy s HER-2/*neu* negativními nádory. Prognostic-

ký dopad HER-2/*neu* pozitivity souvisí zejména s prvními 3 až 4 lety po operaci. Důvodem pro časný relaps u HER-2/*neu* pozitivních nádorů je přítomnost zbytkové choroby již v době operace. Bylo zjištěno, že růstové faktory vyplavené během hojení operační rány stimulovaly přednostně růst HER-2/*neu* pozitivních nádorů (9). Tyto růstové faktory mají tedy pravděpodobně stimulační účinky na diseminované mikrometastázy HER-2/*neu* pozitivních karcinomů, jejichž přítomnost se předpokládá zejména u pacientek s pozitivními spádovými lymfatickými uzlinami.

HER-2/*neu* receptorová overexprese je prediktorem odpovědi na chemickou léčbu antracykliny. Četné velké studie potvrdily, že pacientky s pozitivními spádovými lymfatickými uzlinami měly benefit z podání doxorubicinu, ale pouze v případě HER-2/*neu* pozitivních nádorů. Naopak žádný benefit nebyl pozorován v případě HER-2/*neu* negativity. HER-2/*neu* pozitivita dále souvisí s rezistencí na endokrinní léčbu, a to dokonce i u pacientek s pozitivními hormonálními receptory (5).

Stav exprese membránového receptoru HER-2/*neu* předpovídá odpověď na cílenou biologickou léčbu monoklonální protilátkou trastuzumab, která je směřována proti extracelulární doméně receptoru. V současné době jsou touto protilátkou léčeny pacientky s HER-2/*neu* pozitivními karcinomy adjuvantně a paliativně.

### **Závěr**

Vyšetření stavu receptoru HER-2/*neu* v membráně buněk se stalo standardní součástí diagnostiky invazivního karcinomu prsu. Zvýšená exprese tohoto receptoru má zásadní význam pro pacientky s duktálními nádory: jako negativní prognostický faktor pacientky předurčuje k agresivnější systémové léčbě pro vyšší riziko generalizace, jako prediktivní faktor vybírá pacientky k chemické léčbě antracykliny a k individualizované cílené biologické léčbě.

### **Literatura**

1. FELDNER, JC. – BRANDT, BH. Cancer cell motility – on the road from c-erbB-2 receptor steered signaling to actin reorganization. *Exp. Cell Res.*, 2002, vol. 272, no. 2, p. 93–108.
2. HACKEL, PO., et al. Epidermal growth factor receptors:

- critical mediators of multiple receptor pathways. *Curr. Opin Cell Biol.*, 1999, vol. 11, no. 2, p. 184–189.
3. LÜFTNER, D. – LÜKE, C. – POSSINGER, K. Serum HER-2/*neu* in the management of breast cancer patients. *Clin. Biochem.*, 2003, vol. 36, no. 4, s. 233–240.
  4. MASS, RD. The HER receptor family: a rich target for therapeutic development. *Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.*, 2004, vol. 58, no. 3, p. 932–940.
  5. MÉNARD, S., et al. Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer. *Oncogene*, 2003, vol. 22, no. 42, p. 6570–6578.
  6. ROSSI, E., et al. Different expression of HER-2/*neu* oncogene in breast carcinoma and in liver metastasis. Description of a case. *Tumori*, 2006, vol. 92, no. 6, p. 536–539.
  7. SEMBA, K., et al. A v-erbB-related protooncogene, c-erbB-2, is distinct from the c-erbB-1/epidermal growth factor-receptor gene and is amplified in a human salivary gland adenocarcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1985, vol. 82, no. 19, p. 6497–6501.
  8. ŠIMČÍKOVÁ, M., aj. Prediktivní význam sérového HER-2/*neu* u nemocných s karcinomem prsu léčených Herceptinem. *Klin. Onkol.*, 2005, roč. 18, č. 1, s. 23–26.
  9. TAGLIABUE, E., et al. The early relapse of premenopausal patients after surgery for node-positive breast carcinoma. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2001, vol. 70, no. 2, p. 155–156.
  10. XU, R., et al. Amplification of HER-2/*neu* gene in HER-2/*neu*-overexpressing and –nonexpressing breast carcinomas and their synchronous benign, premalignant, and metastatic lesions detected by FISH in archival material. *Modern Pathology*, 2002, vol. 15, no. 2, p. 116–124.
- Podporováno Výzkumným záměrem MZO 00179906.
- Korespondence: Pplk. MUDr. Petr Cinek  
Ústřední vojenská nemocnice Praha  
Oddělení klinické onkologie  
U Vojenské nemocnice 1200  
169 02 Praha 6-Střešovice  
e-mail: petr.cinek@uvn.cz
- Do redakce došlo 20. 2. 2007
-