

УДК 618.19-006.6-037:577.152.34

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-180-187>

Для цитирования: Шашова Е.Е., Тарабановская Н.А., Бондарь Л.Н. Связь показателей протеасомной системы с прогнозом прогрессирования различных молекулярных подтипов рака молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 180–187.

Связь показателей протеасомной системы с прогнозом прогрессирования различных молекулярных подтипов рака молочной железы

Шашова Е.Е., Тарабановская Н.А., Бондарь Л.Н.

Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (ТНИМЦ) Российской академии наук (РАН)
Россия, 634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Целью работы явилось изучение изменения особенностей функционирования протеасомной системы при различных молекулярных подтипах рака молочной железы (РМЖ) в зависимости от распространенности и прогрессирования опухолевого процесса в отдаленном периоде.

Материалы и методы. В исследование включены 132 пациентки с люминальным А, В и трижды негативным РМЖ. Материалом для исследования явилась опухолевая и гистологически неизменная ткань молочной железы. Оценивались химотрипсиноподобная (ХПА) и каспазаподобная (КПА) активность протеасом флуориметрическим методом. Также определяли коэффициенты химотрипсиноподобной активности (кХПА) и каспазаподобной активности протеасом (кКПА).

Результаты. При всех изученных молекулярных типах РМЖ наблюдалось увеличение активности протеасом в опухоли по сравнению с неизменными тканями. Процесс лимфогенного метастазирования при люминальных раках молочной железы сопряжен с существенным изменением КПА. Снижение КПА протеасом при люминальном В подтипе РМЖ, вероятно, можно рассматривать как неблагоприятный прогностический признак в отношении лимфогенного метастазирования. Для трижды негативных опухолей распространение опухоли на регионарные лимфоузлы сопровождалось снижением кКПА протеасом. Общим для всех молекулярных подтипов показателем неблагоприятной 5-летней безметастатической выживаемости явился кКПА протеасом выше 2,19. Эти знания, несомненно, будут полезны для создания новых, более точных диагностических инструментов и мишеней противоопухолевых препаратов.

Ключевые слова: люминальный рак молочной железы, трижды негативный рак молочной железы, лимфогенное метастазирование, гематогенное метастазирование, активность протеасом.

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) является ведущей онкологической патологией среди женского населения России (21,0%). Опухоли данной локализации имеют наибольший удельный вес у женщин в возрастной группе 30–59 лет (15,9%), а

также в структуре смертности женщин в России от онкологической патологии (16,3%) [1].

При прогнозировании исхода заболевания и для индивидуализации лекарственного лечения РМЖ в настоящее время используются клеточные маркеры, которые определяют молекулярный подтип опухоли. К ним относят: экспрессию рецепторов эстрогенов, прогестерона, HER-2/neu и маркер пролиферативной активности Ki67.

✉ Шашова Елена Евгеньевна, e-mail: SchaschovaEE@oncology.tomsk.ru.

Кроме того, учитываются традиционные факторы, такие как размеры новообразования, характер и степень распространенности процесса. Однако прогностическая ценность перечисленных факторов далеко не всегда является однозначной и достаточной.

Люминальный РМЖ представляет собой гетерогенную группу опухолей: люминальный А подтип является положительным по экспрессии рецепторов к эстрогену и (или) прогестерону, без гиперэкспрессии рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2), с низким индексом пролиферативной активности Ki67. Данный молекулярный подтип характеризуется относительно благоприятным прогнозом. Люминальный тип В может быть представлен подтипами, положительными по экспрессии рецепторов к эстрогену и (или) прогестерону, без гиперэкспрессии HER2, с высоким индексом Ki67, а также опухолями, позитивными по экспрессии рецепторов как к стероидным гормонам, так и к HER2 [2]. Прогноз при люминальном В РМЖ менее благоприятный и сравним с трижды негативными опухолями [3]. Трижды негативные раки характеризуются отсутствием специфических мишеней терапевтического воздействия для проведения гормональной и таргетной терапии, имеют специфический характер метастазирования (чаще в легкие и головной мозг) [4], агрессивное течение и неблагоприятный прогноз в отношении безрецидивной и общей выживаемости [5].

Для рака молочной железы показано, что взаимодействие эстрогеновых рецепторов с сигнальными путями, реализуемыми через рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), играет ключевую роль в развитии резистентности опухоли к эндокринному воздействию [6, 7]. Кроме того, при реализации терапевтического ответа могут принимать участие и альтернативные пути [8]. Для различных молекулярных подтипов РМЖ характерны значительные отличия в патогенезе в ответе на проводимую терапию, неодинаковая потенция к лимфогенному и гематогенному метастазированию [9–11]. В связи с этим необходим поиск иных информативных дополнительных маркеров прогноза, которые будут отражать метаболические процессы в опухоли.

На биологическое поведение опухоли может повлиять постоянное изменение протеома, происходящее под влиянием различных факторов в ходе трансформации нормальных клеток в опухолевые и при распространении онкологического процесса, что отражается в изменении регуляции рецепторов, компонентов сигнальных путей, факторов

транскрипции, участвующих в формировании рака молочной железы [12, 13]. Одним из основных путей регуляции состава и качества протеома является протеолиз, опосредуемый убиквитин-протеасомной системой. Протеасома обладает тремя основными протеолитическими активностями: химотрипсинподобной (ХПА), трипсинподобной и каспазаподобной (КПА). В клетке протеасомы осуществляют протеолиз цитозольных, ядерных белков, превращение неактивных белков-предшественников в активные, участвуют в образовании регуляторных пептидов [14].

Также благодаря динамическим внутриклеточным процессам возможно формирование иммунных протеасом, которые способны выполнять неиммунные функции, в частности, участвовать в инвазии опухолей [15]. Протеасомы могут расщеплять белки цитоскелета, актин-связывающие белки и транскрипционные факторы, регулирующие подвижность клеток, и таким образом участвовать в процессе метастазирования [15–18]. Многие ядерные белки, опосредующие программируемую клеточную гибель, являются субстратами для протеасом: транскрипционные факторы (c-Fos, c-Myc, AP-1), опухолевый супрессор p53, ингибитор NF-κB IκB, белки, контролирующие клеточный цикл, белки семейства Bcl-2, белки, контролирующие активность каспаз (IAPs) и участвующие в проведении проапоптотического сигнала (cFLIP) [19, 20]. Также обсуждается роль аденилилциклаза-ассоциированного протеина как маркера ранней диагностики и маркера метастазирования при плоскоклеточных карциномах головы и шеи [21].

Описано участие протеасом в регуляции доступности эстрогеновых рецепторов, и, кроме того, в разрушении рецепторов прогестерона, в снижении экспрессии рецепторов EGFR и HER2/neu, участие в деградации рецепторов инсулиноподобных факторов роста гормонов [22, 23]. Ранее в наших исследованиях было выявлено, что в опухолевой ткани молочной железы активность и состав протеасом варьируют в зависимости от наличия или отсутствия в них рецепторов эстрогенов и прогестерона [24].

В ряде исследований продемонстрировано участие протеасомной системы в прогрессии опухолей различных локализаций. При развитии лимфогенных и гематогенных метастазов для рака толстой кишки описано повышение ХПА протеасом [25], тогда как подобное распространение при раке мочевого пузыря сопровождалось снижением активности протеасом [26]. Данные об участии протеасомной системы в механизмах

метастазирования при плоскоклеточном раке головы и шеи свидетельствуют об усилении процессов внутриклеточного протеолиза и повышении ХПА активности протеасом [27].

Целью данной работы явилось изучение особенностей функционирования протеасомной системы при различных молекулярных подтипах рака молочной железы в зависимости от распространенности и прогрессирования опухолевого процесса в отдаленном периоде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 132 пациентки с раком молочной железы, из них у 62 больных был выявлен люминальный А подтип опухоли (47%), у 48 человек – люминальный В рак (36%). Группа люминального В рака молочной железы в данном исследовании представлена только HER-2 отрицательными случаями. У 22 пациенток был трижды негативный молекулярный подтип опухоли (17%). Все пациентки получали комбинированное лечение: на I этапе выполнялось радикальное оперативное вмешательство. Проведение в адьювантном режиме химио-, гормоно- или лучевой терапии осуществлялось по показаниям. Неoadьювантная химия или гормонотерапия не проводилась. Группы исследования были сопоставимы по количеству в зависимости от распространенности опухолевого процесса.

При люминальном А раке лимфогенные метастазы отсутствовали (N_0) у 52%, у 40% метастазами было поражено до четырех регионарных лимфоузлов (N_1), у 8% обнаружено 5–10 метастатических лимфоузлов (N_2). При люминальном В раке лимфогенные метастазы (N_0) отсутствовали у 48%, у 33% наблюдалось до четырех пораженных лимфоузлов (N_1), у 19% обнаружено 5–10 метастатических лимфоузлов (N_2). При трижды негативном раке молочной железы распределение на группы в зависимости от регионарной распространенности составило 68, 23 и 9% соответственно. Также изучалась 5-летняя безметастатическая выживаемость. Срок наблюдения за больными составили 2–60 мес (Me 30 мес). В представленной выборке у 13% пациентов в течение 5-летнего периода наблюдалось прогрессирование процесса в виде развития гематогенных метастазов.

Материалом для исследования явилась опухолевая и гистологически неизменная ткань молочной железы, полученная от больных РМЖ после оперативного вмешательства. Работа проведена с соблюдением принципов добровольно-

сти и конфиденциальности в соответствии с «Основными законодательства РФ об охране здоровья граждан» (Указ Президента РФ от 24.12.1993 № 2288).

Оценка состояния протеасомной системы проводилась путем определения активности протеасом. Химотрипсиноподобную и каспазаподобную активность протеасом оценивали флуориметрическим методом в осветленных гомогенатах, полученных из ткани РМЖ. Затем на основании определения соответствующих активности протеасом определяли кХПА и кКПА – коэффициенты химотрипсинподобной активности и каспазаподобной активности протеасом, которые рассчитывались как отношение соответствующей активности в опухолевой ткани к активности в неизменной ткани.

Определение активности протеасом. Химотрипсиноподобную активность (ХПА) и каспазаподобную активность (КПА) протеасом определяли по гидролизу специфичных флуорогенных олигопептидов. Для исключения вклада примесной протеолитической активности в пробы добавляли специфические ингибиторы активности протеасом. Образовавшиеся продукты регистрировали на флуориметре при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. За единицу активности протеасом принимали количество фермента, при котором гидролизуется 1 нмоль соответствующего субстрата в течение 1 мин. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета статистических программ Statistica 8.0. Достоверность различий между группами определяли с помощью непараметрического критерия Манна – Уитни, Краскала – Уоллиса с поправкой Бонферони для независимых выборок. В таблицах все результаты представлены как $Me [Q_1; Q_3]$, где Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль, Q_3 – верхний квартиль. Показатели выживаемости оценивали с помощью построения кривых выживаемости по методу Каплана – Майера. Для сравнения показателей выживаемости в группах были использованы обобщенный критерий Гехана – Вилкоксона, лог-ранговый тест. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценивая особенности функционирования протеасомной системы при различных молеку-

лярных подтипах рака молочной железы, было зарегистрировано значимое увеличение химотрипсиноподобной активности в опухоли в 2,4; 2,1; 2,2 раза при люминальном А, люминальном В и трижды негативном раке молочной железы соответственно ($p < 0,01$). При люминальном В РМЖ также выявлено увеличение в 2,6 раза каспазаподобной активности по сравнению с неизменной тканью ($p = 0,03$) (табл. 1). Кроме того, при различных молекулярных подтипах рака молочной железы не выявлено ярко выраженных

отличий в активности протеасом. Так, для люминального А РМЖ были характерны умеренные ХПА и КПА, коэффициенты ХПА и КПА равны 2,4 и 2,2 соответственно. Люминальный В подтип характеризуется сравнительно высокой каспазаподобной активностью протеасом, высокими значениями кКПА при умеренно высоких значениях ХПА и наименьшими значениями кХПА. Для трижды негативных опухолей были характерны умеренная ХПА и КПА, высокие значения кХПА (см. табл. 1).

Т а б л и ц а 1
T a b l e 1

Химотрипсиноподобная (ХПА), каспазаподобная (КПА) активность протеасом в опухолевой и неизменной ткани и соответствующие коэффициенты активности протеасом (кХПА, кКПА) при различных молекулярных типах рака молочной железы				
Chymotrypsin-like (ChPA), caspase-like (CPA) proteasome activity in tumor and unchanged tissue and corresponding proteasome activity coefficients (kChPA, kCPA) for various molecular types of breast cancer				
Показатель Characteristic		Люминальный А, $n = 62$ Luminal A, $n = 62$	Люминальный В (HER2-), $n = 48$ Luminal B (HER2-), $n = 48$	Трижды негативный, $n = 22$ Triple negative, $n = 22$
ХПА ChPA	Опухолевая ткань Tumor tissue	31,71 [15,73; 81,91]*	45,7 [18,51; 112,0]*	47,9 [33,1; 79,2]*
	Неизменная ткань Unchanged tissue	13,23 [6,41; 34,33]	21,83 [7,91; 51,91]	16,43 [10,64; 34,12]
кХПА kChPA		2,43 [1,11; 5,07]	1,61 [1,11; 3,97]	2,9 [1,6; 5,2]
КПА CPA	Опухолевая ткань Tumor tissue	44,27 [16,71; 163,77]	53,43 [25,18; 236,69]*	47,11 [16,75; 78,09]
	Неизменная ткань Unchanged tissue	18,31 [9,49; 60,33]	20,68 [10,32; 69,18]	16,08 [7,78; 27,0]
кКПА kCPA		2,23 [1,33; 4,91]	2,92 [1,41; 7,14]	2,22 [1,53; 8,21]

Примечание: n – количество пациентов.

* значимость различий с группой «Неизменная ткань», $p < 0,05$.

Note: n – number of patients.

* significance of differences in “Unchanged tissue” group, $p < 0.05$.

Вероятно, увеличение активности протеасом в опухоли по сравнению с неизменными тканями может быть вызвано интенсивными метаболическими процессами. Как известно, опухолевый рост сопровождается нарушением клеточного цикла, усилением пролиферации, ингибированием апоптоза. Несомненно, чтобы клетке продолжать свое существование, необходимо усилить систему, занимающуюся деградацией выполнившего функцию белкового и пептидного материала.

Анализируя изменения показателей протеасомной внутриклеточной протеолитической системы в зависимости от распространенности процесса на регионарные лимфоузлы, методом дисперсионного анализа статистически значимые различия выявлены при люминальном А и

люминальном В раке молочной железы для КПА протеасом ($p = 0,02$ и $0,04$ соответственно). Для трижды негативного РМЖ статистически значимые внутригрупповые различия были характерны для коэффициента каспазаподобной активности ($p = 0,04$). В табл. 2 приведены данные относительно изменения показателей протеасомной системы при различных молекулярных подтипах РМЖ с учетом лимфогенной распространенности.

Так, при люминальном А РМЖ наблюдается достоверное увеличение КПА протеасом при обширном поражении метастазами регионарных лимфоузлов по сравнению с прогностически благоприятной группой по регионарному метастазированию (N_0 и N_1) ($p = 0,03$), тогда как при люминальном В раке КПА уменьшается (см. табл. 2).

Изменения активности протеасом в опухолевой ткани при различных молекулярных типах рака молочной железы в зависимости от распространенности опухолевого процесса на регионарные лимфоузлы Changes in proteasome activity in tumor tissue with different molecular types of breast cancer, depending on the prevalence of the tumor process on regional lymph nodes				
Показатель Characteristic		Люминальный А, $n = 62$ Luminal A, $n = 62$	Люминальный В, (HER2-), $n = 48$ Luminal B, (HER2-), $n = 48$	Трижды негативный, $n = 22$ Triple negative $n = 22$
ХПА ChPA	N_0	28,85 [15,65; 64,34]	52,74 [17,80; 116,67]	44,28 [26,09; 113,40]
	N_1	31,68 [12,22; 81,90]	50,57 [22,61; 148,94]	50,64 [37,10; 70,15]
	N_2	86,75 [74,26; 148,08]	23,74 [8,91; 70,80]	65,57 [48,40; 82,73]
КПА CPA	N_0	45,90 [18,74; 150,87]	126,58 [22,80; 510,71]	46,34 [15,50; 114,80]
	N_1	30,90 [10,11; 70,86]	53,15 [28,20; 150,01]	47,06 [20,0; 54,30]
	N_2	365,19 [184,10; 588,26]*, **	32,80 [17,90; 39,76]*	43,57 [36,87; 50,26]
кХПА kChPA	N_0	1,99 [1,04; 3,54]	1,73 [0,94; 5,05]	3,96 [2,08; 5,32]
	N_1	2,59 [1,33; 5,02]	1,97 [1,0; 3,36]	2,21 [1,23; 2,71]
	N_2	6,51 [0,66; 7,19]	1,25 [1,06; 1,38]	2,62 [1,60; 3,64]
кКПА kCPA	N_0	2,21 [1,40; 4,89]	3,19 [0,83; 7,92]	3,33 [1,97; 8,61]
	N_1	2,16 [0,76; 6,56]	2,89 [1,61; 5,28]	1,43 [1,24; 1,74]*
	N_2	3,59 [1,91; 5,35]	2,02 [1,20; 4,94]	1,52 [1,37; 4,67]

П р и м е ч а н и е. ХПА – химотрипсинподобная активность протеасом; КПА – каспазаподобная активность протеасом; кХПА и кКПА – соответствующие коэффициенты активности протеасом.

* значимость различий с группой N_0 , $p < 0,05$; ** значимость различий с группой N_1 , $p < 0,05$.

Note. ChPA – chymotrypsin-like proteasome activity; CPA – caspase-like proteasome activity; kChPA and kCPA – corresponding coefficients of proteasome activity.

* the significance of differences in the group N_0 , $p < 0.05$; ** significance of differences in group N_1 , $p < 0.05$.

Кроме того, при люминальных раках значения коэффициентов активности протеасом значимо не изменялись и характеризовались значительной вариабельностью. Это может быть связано с наличием внутригрупповой гетерогенности по метаболизму опухолей. Для трижды негативных опухолей коэффициент каспазаподобной активности протеасом в отсутствии лимфогенных метастазов был в 2,4 раз выше по сравнению с распространенными на регионарные лимфоузлы опухолями ($p = 0,03$), что может быть связано с более злокачественным фенотипом опухоли.

На следующем этапе исследовали связь между показателями протеасомной системы с отдаленными результатами лечения у больных РМЖ. Показано, что при люминальном А раке молочной железы в течение 5-летнего периода наблюдения прогрессирование в виде развития гематогенных метастазов развились у 10% пациентов. Значимым показателем неблагоприятной 5-летней безмета-

статической выживаемости при люминальном А РМЖ являлись коэффициент химотрипсиноподобной активности протеасом кХПА более 2,45 (чувствительность 87,5%, специфичность 55%, $p = 0,02$) и коэффициент каспазаподобной активности кКПА выше 2,19 (чувствительность 100%, специфичность 58%, $p = 0,03$). Причем высокие значения коэффициентов химотрипсиноподобной и каспазаподобной активности протеасом наблюдались у 51% пациентов с люминальным А РМЖ.

При люминальном В раке молочной железы и при трижды негативном РМЖ прогрессирование в отдаленном периоде было отмечено у 13 и 20% пациентов соответственно, а значимым показателем неблагоприятного исхода в отношении 5-летней безметастатической выживаемости являлся коэффициент кКПА более 2,19 (чувствительность 100%, специфичность 56%, $p = 0,01$ для люминального В РМЖ; чувствительность 100%, специфичность 69%, $p = 0,04$ для трижды негативного РМЖ). При этом

высокий кКАС наблюдался у 60% пациентов с люминальным В раком и у 45% пациенток с трижды негативным РМЖ. В течение 5-летнего периода наблюдения отдаленные метастазы развились только у пациенток с высоким значением коэффициента каспазаподобной активности, а при значении данного коэффициента менее 2,19 ни у одной пациентки не было выявлено гематогенных метастазов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при всех изученных молекулярных типах РМЖ наблюдалось увеличение активности протеасом в опухоли по сравнению с неизменными тканями. Кроме того, процесс лимфогенного метастазирования при люминальных раках молочной железы сопряжен с существенным изменением каспазаподобной активности протеасом, причем для люминального А подтипа было характерно увеличение КПА при обширном лимфогенном метастазировании (N_2), тогда как при люминальном В раке активность протеасом уменьшалась. Снижение каспазаподобной активности протеасом при люминальном В подтипе РМЖ, вероятно, можно рассматривать как неблагоприятный прогностический признак, характеризующий отсутствие адекватной регуляции протеасомной системы.

Для трижды негативных опухолей распространение опухоли на регионарные лимфоузлы сопровождалось снижением коэффициента каспазаподобной активности протеасом. Вероятно, что при отсутствии рецепторов эстрогенов, рецепторов прогестерона и рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа в опухоли изменяется метаболизм. Кроме того, общим для всех молекулярных подтипов показателем неблагоприятной 5-летней безметастатической выживаемости явился коэффициент каспазаподобной активности (кКПА) протеасом выше 2,19. Эти новые знания, несомненно, будут полезны для создания новых, более точных диагностических инструментов и мишеней противоопухолевых препаратов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии, ТНИМЦ РАН (протокол 15 от 21.11.2017).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2016 году (заболеваемость и смертность); под ред. А.Д. Каприна и др. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена; филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2018: 250 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2016 (morbidity and mortality); A.D. Kaprina i dr. M.: MNI OI im. P.A. Gercena Publ.; filial FGBU «NMIC radiologii» Minzdrava Rossii, 2018: 250 (in Russ.)].
2. Gray J.M., Rasanayagam S., Engel C., Rizzo J. State of the evidence 2017: an update on the connection between breast cancer and the environment. *Environ Health*. 2017; 16 (1): 94. DOI: 10.1186/s12940-017-0287-4.
3. Liu F., Zhou J., Zhou P., Chen W., Guo F. The ubiquitin ligase CHIP inactivates NF- κ B signaling and impairs the ability of migration and invasion in gastric cancer cells. *Int. J. Oncol.* 2015; 46 (5): 2096–2106. DOI: 10.3892/ijo.2015.2893.
4. Kuo W.-H., Chang Y.-Y., Lai L.-C., Tsai M.-H., Hsiao C.K., Chang K.-J., Chuang E.Y. Molecular characteristics and metastasis predictor genes of triple-negative breast cancer: a clinical study of triple-negative breast carcinomas. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e45831. DOI: 10.1371/journal.pone.0045831.
5. Kennecke H., Yerushalmi R., Woods R. et al. Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28 (20): 3271–3277. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.9820.
6. Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Бабышкина Н.Н., Паталяк С.В. Роль морфологических и генетических особенностей строения рецепторов эстрогенов альфа в развитии резистентности к эндокринотерапии тамоксифеном у пациенток люминальным раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2014; 3: 39–44. [Slonimskaya E.M., Vtorushin S.V., Babyshkina N.N., Patalyak S.V. The role of morphological and genetic features of the structure of estrogen alpha receptors in the development of resistance to endocrine therapy by tamoxifen in patients with luminal breast cancer. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal – Perevod*. 2014; 3: 39–44 (in Russ.)].
7. Babysheva N., Vtorushin S., Zavyalova M., Patalyak S., Dronova T., Litviakov N., Slonimskaya E., Kzhyshkowska J., Cherdynseva N., Choynzonov E. The distribution pattern of ER α expression, ESR1 genetic variation and expression of growth factor receptors: association with breast cancer prognosis in Russian patients treated with adjuvant tamoxifen. *Clin. Exp. Med.* 2017; 17 (3): 383–393. DOI: 10.1007/s10238-016-0428-z.
8. Yamamoto M., Hosoda M., Nakano K., Jia S., Hatanaka K.C., Takakuwa E., Hatanaka Y., Matsuno Y., Yamashita H. P53 accumulation is a strong predictor of recurrence in estrogen receptor-positive breast cancer patients treated. *Cancer Sci.* 2014; 105 (1): 81–88. DOI: 10.1111/cas.12302.
9. Molnár I.A., Molnár B.B., Vízkeleti L., Fekete K., Tamás J., Deák P., Szundi C., Székely B., Moldvay J., Vári-Kakas S., Szász M.A., Kulka J., Tökés A.M. Breast carcinoma subtypes show different patterns of metastatic behavior. *Virchows Arch.* 2017; 470 (3): 275–283. DOI: 10.1007/s00428-017-2065-7.

10. Thangarajah F., Enninga I., W. Malter S. et al. Retrospective analysis of Ki-67 index and its prognostic significance in over 800 primary breast cancer cases. *Anticancer Res.* 2017; 37 (4): 1957–1964.
11. Perou C.M. Molecular Stratification of triple-negative breast cancer. *The Oncologist.* 2011; 16 (1): 61–70.
12. Кондакова И.В., Чойнзонов Е.Л. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вопросы онкологии.* 2012; 58 (1): 26–32. [Kondakova I.V., Chojnzonov E.L. Predicting metastasis of squamous cell carcinomas of the head and neck. *Voprosy onkologii – Problems of Oncology.* 2012; 58 (1): 26–32 (in Russ.)].
13. Моисеенко Ф.В., Волков Н.М., Богданов А.А. и др. Современные возможности клинического применения экспрессионного типирования опухолей молочной железы. *Вопросы онкологии.* 2016; 62 (1): 31–34. [Moiseenko F.V., Volkov N.M., Bogdanov A.A. i dr. Modern possibilities of clinical application of expression typing of mammary tumors. *Voprosy onkologii – Problems of Oncology.* 2016; 62 (1): 31–34 (in Russ.)].
14. Lub S., Maes K., Menu E. Novel strategies to target the ubiquitin proteasome system in multiple myeloma. *Oncotarget.* 2016; 7 (6): 6521–6537. DOI: 10.18632/oncotarget.6658.
15. Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. Малые белки теплового шока и убиквитин-протеасомная система при злокачественных опухолях. *Вопросы онкологии.* 2016; 3: 401–405. [Kolegova E.S., Kondakova I.V., Zav'jalov A.A. Small heat shock proteins and ubiquitin-proteasome system for malignant tumors. *Voprosy onkologii – Problems of Oncology.* 2016; 3: 401–405 (in Russ.)].
16. Spirina L.V., Yunusova N.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Koval V.D., Chernyshova A.L., Shpileva O.V. Association of growth factors, HIF-1 and NF-κB expression with proteasomes in endometrial cancer. *Molecular Biology Reports.* 2012; 9: 8655–8662.
17. Kondakova I.V., Yunusova N.V., Spirina L.V. Association between intracellular proteinase activities and the content of locomotor proteins in tissues of primary tumors and metastases of ovarian cancer. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry.* 2014; 40 (6): 681–687.
18. Kondakova I.V., Yunusova N.V., Spirina L.V., Shashova E.E., Kolegova E.S., Kolomiets L.A., Slonimskaya E.M., Villert A.B. Locomotor proteins in tissues of primary tumors and metastases of ovarian and breast cancer. *Physics of Cancer: Interdisciplinary Problems and Clinical Applications.* 2016: 020032. doi.org/10.1063/1.4960251.
19. Liu F., Zhou J., Zhou P. The ubiquitin ligase CHIP inactivates NF-κB signaling and impairs the ability of migration and invasion in gastric cancer cells. *Int. J. Oncol.* 2015; 46 (5): 2096–2106. DOI: 10.3892/ijo.2015.2893.
20. Цимоха А.С. Протеасомы: участие в клеточных процессах. *Цитология.* 2010; 52 (4): 277–300 [Cimoha A.S. Proteasomes: participation in cellular processes. *Citologija – Cytology.* 2010; 52 (4): 277–300 (in Russ.)].
21. Kakurina G.V., Kondakova I.V., Cheremisina O.V., Shishkin D.A., Choinzonov E.L. Adenylyl cyclase-associated protein 1 in the development of head and neck squamous cell carcinomas. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016; 160 (5): 695–697. doi.org/10.1007/s10517-016-3252-2.
22. Powers G.L., Ellison-Zelski S.J., Casa A.J. et al. Proteasome inhibition represses ER gene expression in ER + cells – a new link between proteasome activity and estrogen signaling in breast cancer. *Oncogene.* 2010; 29 (10): 1509–1518.
23. Ogawa S., Shih L.-Y., Suzuki T., Otsu M., Nakauchi H., et al. Deregulated intracellular signaling by mutated c-CBL in myeloid neoplasms. *Clinical Cancer Research.* 2010; 16: 3825–3831. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2341.
24. Shashova E.E., Lyupina Y.V., Glushchenko S.A., Slonimskaya E.M., Savenkova et al. Proteasome unctoning in breast cancer: connection with clinical-pathological factors. *PLoS ONE.* 2014; 9 (10): e109933. doi.org/10.1371/journal.pone.0109933.
25. Ivanova E.V., Kondakova I.V., Spirina L.V. et al. Chymotrypsin-like activity of proteasomes and total calpain activity in gastric and colorectal cancer. *Bulleten of Experimental Biology and Medicine.* 2014; 157 (6): 781–784.
26. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А. Регуляция экспрессии транскрипционных факторов и фактора роста эндотелия протеасомной системой при метастазировании рака почки. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН.* 2012; 23 (1): 27–32. [Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin E.A., Jurmazov Z.A. Regulation of the expression of transcription factors and the growth factor of the endothelium by the proteasome system in metastasizing kidney cancer. *Vestnik RONC im. N.N. Blohina RAMN.* 2012; 23 (1): 27–32 (in Russ.)].
27. Kakurina G.V., Kondakova I.V., Choinzonov E.L. Degradome components in progression of squamous cell carcinoma of the head andn Neck. *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk.* 2015; (6): 684–693.

Поступила в редакцию 09.11.2017

Подписана в печать 05.05.2018

Шашова Елена Евгеньевна, канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, НИИ онкологии, ТНИМЦ РАН, г. Томск.

Тарабановская Наталья Анатольевна, канд. мед. наук, мл. науч. сотрудник, врач-хирург, отделение общей онкологии, НИИ онкологии, ТНИМЦ РАН, г. Томск.

Бондарь Людмила Николаевна, врач-патологоанатом, отделение патологической анатомии и цитологии, НИИ онкологии, ТНИМЦ РАН, г. Томск.

(✉) **Шашова Елена Евгеньевна**, e-mail: SchaschovaEE@oncology.tomsk.ru.

УДК 618.19-006.6-037:577.152.34

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-180-187>

For citation: Shashova E.E., Tarabanovskaya N.A., Bondar L.N. Role of proteasome system in prognosis of breast cancer progression. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 180–187.

Role of proteasome system in prognosis of breast cancer progression

Shashova E.E., Tarabanovskaya N.A., Bondar L.N.

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (TNRMC) of Russian Academy of Science (RAS) 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the activity of proteasomes with different variants of tumor progression in luminal and triple-negative breast cancer (BC).

Materials and methods. 132 patients with primary luminal and triple-negative breast cancer in stage $T_{1-3}N_{0-2}M_0$ who had not received neoadjuvant treatment were included in this study. Proteasome chymotrypsin-like (ChTL) and caspase-like (CL) activities were determined by hydrolysis of fluorogenic peptides Suc-LLVY-AMC and Z-LLGlu-AMC in samples of tumor and adjacent tissues. The coefficients of chymotrypsin-like (kChTL) and caspase-like (kCL) proteasome activity were also calculated as the ratio of the corresponding activity in the tumor tissue to activity in the adjacent tissue. Results:

Results. The increased level of ChTL and CL proteasomal activity in the tumor were observed in comparison with adjacent tissues for all molecular subtypes of BC. The process of lymphogenic metastasis of luminal A and luminal B subtypes of breast cancer is associated with significant changes in the CL activity of the proteasome. Caspase-like activity of proteasomes was increased in luminal A breast cancer with extensive lymphogenic metastasis (N2), and on the other hand it was decreased in the luminal B subtype of cancer. For the hematogenic pathway of breast cancer progression the ratio of proteasomal activity in the tumor and adjacent tissues plays a significant role. The increase in proteasome activity in the tumor over the activity of proteasomes in adjacent tissues more than 2 times was associated with poor metastatic-free prognosis of the disease.

Key words: luminal breast cancer, triple negative breast cancer, lymphogenous metastasis, hematogenous metastasis, activity of proteasomes.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study was approved by the local ethics committee under the named after Cancer Research Institute, TNRMC RAS (Protocol No. 15 of 21.11.2017).

Received 09.11.2017

Accepted 15.05.2018

Shashova Elena E., PhD, Senior Researcher, Cancer Research Institute, TNRMC RAS, Tomsk, Russian Federation.

Tarabanovskaja Natalja A., PhD, Junior Researcher, Oncologist, Department of General Oncology, Cancer Research Institute, TNRMC RAS, Tomsk, Russian Federation.

Bondar Ludmila N., Pathologist, Department of Pathologic Anatomy and Cytology, Cancer Research Institute, TNRMC RAS, Tomsk, Russian Federation.

(✉) **Shashova Elena E.**, e-mail: SchaschovaEE@oncology.tomsk.ru.