

Nemalobuněčný karcinom plic s expresí estrogenových receptorů a pozitivitou *ALK*

Non-Small Cell Lung Cancer with Estrogen Receptors and *ALK* Positivity

Žarnayová L.¹, Kolek V.¹, Bouchal J.², Ehrmann J.³

¹ Klinika plicních nemocí a tuberkulózy LF UP a FN Olomouc

² Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP v Olomouci

³ Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Východiska: Estrogeny jsou steroidní hormony, které za normálních okolností ovlivňují řadu fyziologických funkcí v buňkách, známá je jejich nezastupitelná úloha v reprodukčním systému. Jejich účinek je dán vazbou na estrogenové receptory (ER). U ER jsou rozeznávány dva hlavní subtypy – ER α a ER β . Expres ER jsou exprimovány nejen v buňkách orgánů reprodukčních systémů. Známa je jejich exprese i v buňkách kostí, mozku, ve střevě, v endotelu, v ledvinách, v plicích a dalších tkáních. Přítomnost ER v buňkách karcinomu plic (lung cancer – LC) byla poprvé popsána počátkem 80. let 20. století. V odborné literatuře jsou popsány také koincidence exprese ER β s aktivační mutací epidermálního růstového faktoru, zvažován je i aditivní anti-proliferativní efekt antiestrogenů a inhibitorů tyrozinkináz v léčbě adenokarcinomu plic. Koincidence exprese ER a translokace *ALK* v dostupné literatuře doposud popsána nebyla. Čtyřleté přežití u generalizovaného nemalobuněčného karcinomu plic ukazuje na literárně diskutovanou možnost, že oba molekulární znaky (expres ER a *ALK* pozitivita) mohou být příznivým prognostickým biomarkerem u tohoto nádoru. **Případ:** Je popsán případ 69leté nemocné s generalizovaným adenokarcinomem plic, u něhož byla prokázána pozitivita ER a fúzního genu *ALK-EML4*. Nádor byl zjištěn ve stadiu IV a dodatečným vyšetřením bylo spolehlivě vyloučeno maligní onemocnění gynekologické oblasti. Nemocná byla léčena chemoterapií a tyrozinkinázovým inhibitorem *ALK*. **Závěr:** Úloha jednotlivých podtypů ER v kancerogenezi LC a v možnostech jejího léčebného ovlivnění není jednoznačně stanovena. Jedná se o první popsáný případ koincidence *ALK-EML4* a ER β u LC.

Klíčová slova

nemalobuněčný karcinom plic – estrogenové receptory – *ALK* translokace – prognóza – léčba

Tato práce byla podpořena grantem AZV 16-32318A od Ministerstva zdravotnictví ČR a grantem NPU I LO1304 od Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR.

This work was supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant AZV 16-32318A, and by Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, grant NPU I LO1304.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Lýdia Žarnayová
Klinika plicních nemocí a tuberkulózy
LF UP a FN Olomouc
I. P. Pavlova 185/6
779 00 Olomouc
e-mail: lydia.zarnayova@fnol.cz

Obdrženo/Submitted: 23. 9. 2018

Přijato/Accepted: 25. 10. 2018

doi: 10.14735/amko2018457

Summary

Background: Estrogens are steroid hormones that affect a number of physiological functions in cells; these compounds play an irreplaceable role in the reproductive system. Their effects are mediated by the estrogen receptor (ER), of which there are two subtypes – ER α and ER β . ERs are expressed in regions outside the reproductive system, including bone, brain, intestine, endothelium, kidney, and lung. Expression of ER by lung cancer (LC) cells was first described in the early 1980s. The experimental literature also describes co-expression of ER β and an epidermal growth factor activating mutation, and the additive antiproliferative effects of anti-estrogens plus tyrosine kinase inhibitors during treatment of lung adenocarcinoma. However, coincident expression of ER and ALK translocation were not described. The 4-year survival for generalized non-small cell lung cancer indicates the possibility that both molecular features (ER and ALK positivity) may be a favorable prognostic biomarker for this tumor. **Case:** A 69-year-old patient presented with generalized lung adenocarcinoma that was positive for ER β and the ALK-EML4 fusion gene. The tumor was stage IV. Additional examinations excluded malignancy of the gynecological area. The patient was treated with chemotherapy and a tyrosine kinase ALK inhibitor. **Conclusion:** The role of individual ER subtypes in LC carcinogenesis, and the possible therapeutic effects, is unclear. This is the first documented case of co-occurrence of ALK-EML4 and ER β in LC.

Key words

non-small cell lung cancer – estrogen receptors – ALK translocation – prognosis – treatment

Úvod

Nemalobuněčný karcinom plic (non small cell lung cancer – NSCLC) zůstává nádorem s velmi špatnou prognózou, nicméně se vyčleňují jeho podtypy s biologickými charakteristikami, které mohou směřovat k úspěšné cílené léčbě. Estrogeny jsou steroidní hormony, které za normálních okolností ovlivňují řadu fyziologických funkcí v buňkách reprodukčního sys-

tému, ale mohou ovlivnit i kancerogenezi. Jejich účinek je dán vazbou na estrogenové receptory (ER), u nichž jsou rozeznávány 2 hlavní subtypy – ER α a ER β . Expresie ER byla nalezena i v buňkách kostí, mozku, střeva, ledvin, v endotelu a dalších tkáních. Expresie ER v plicích byla poprvé popsána v roce 1982 [1]. V roce 1985 bylo poukázáno na expresi ER ve zdravé i nádorové tkáni a byla vyslovena hypotéza, že karcinom plic (lung cancer – LC) je hormon-dependentní tumor, což vedlo k úvaze o možnosti jeho terapeutického ovlivnění antiestrogeny [2]. Fúzní gen ALK-EML4 byl poprvé popsán u anaplastického lymfomu a jeho výskyt u NSCLC byl poprvé zjištěn v roce 2007 a vyskytuje se asi u 3–5 % těchto nádorů [3]. Tato mutace má prokazatelně onkogenní potenciál a stala se vhodnou strukturou pro reálnou cílenou léčbu. Popisujeme kazuistiku nemocné s generalizovaným plicním adenokarcinomem a současným výskytem ER exprese a ALK transformace v nádoru.

Kazuistika

Prezentujeme případ 69leté pacientky, která byla vyšetřována pro generalizovaný tumor nejasného origa. V listopadu 2013 byl za pomoci video-asistované torakoskopie (VATS) z biopsie metastatického ložiska pleury diagnostikován generalizovaný plicní adenokarcinom TXN1M1a, stadium IV. Další vyšetření ukázalo nepřítomnost mutací receptoru epidermálního růstového faktoru (epidermal growth factor receptor

– EGFR) a pozitivitu EML4/ALK translokace, imunohistochemicky byla potvrzena také pozitivita ER α . Pro detekci ER byly použity zaječí monoklonální protilátky, klon SP1. Jednalo se o nekuřačku, s plicemi v minulosti neléčenou. Nemocné bylo ve spádovém zařízení podáno v 1. linii léčby šest cyklů chemoterapie ve složení cisplatina a vinorelbin a následně byla dispenzarizována. Kontrolní vyšetření pozitronovou emisní tomografií/výpočetní tomografií (PET/CT) v únoru 2015 ve srovnání se vstupním vyšetřením prokázalo stabilizaci onemocnění. V listopadu 2016 CT plic a břicha prokázala progresi onemocnění. Generalizace byla přítomna v lymfatických uzlinách mediastina a peritonea, levém plicním hilu, plicích a játrech. V levé plíci byla vícečetná ložiska velikosti 15–20 mm, metastatické ložisko v játrech v segmentu S8 mělo velikost 27 mm. Před odesláním na naši kliniku k dalšímu vyšetření a terapii bylo realizováno ještě ve spádu v lednu 2017 PET/CT vyšetření (obr. 1), kde byla popsána také mnohočetná generalizace do žaludku, pankreatu a skeletu. Pro dyspeptické potíže bylo doplněno gastroscopické vyšetření s nálezem přisedlého polypu, histologicky se jednalo o metastatický adenokarcinom (CK7+, TTF-1+ a napsin A+, EML4/ALK+). Mamografie byla negativní, hysteroskopie popsala sliznici normálního vzhledu bez vizuálních známek malignity, histologicky negativní. Na naší klinice bylo doplněno bronchoskopické vyšetření s obrazem vyklenutí zadní



Obr. 1. PET/CT zobrazení mnohočetného postižení žaludku, pankreatu a skeletu.



Obr. 2. Skiagram hrudníku, vlevo únor 2017, vpravo duben 2017.

stěny levého hlavního bronchu s nerovnou infiltrovanou sliznicí a stenóza levého dolního bronchu. Z biopsie histologicky ověřen adenokarcinom středně diferencovaný (CK7+, TTF1+, napsin A+, CD56-, *EML4/ALK+* ve 100 %), opět prokázána pozitivita ER. Pro vertigo a trvající dyspepsie s nauzeou a vomitem provedeno CT mozku s kontrastem, které bylo bez průkazu metastáz.

Vzhledem k pozitivitě ALK translokace bylo rozhodnuto o zahájení 2. linie léčby krizotinibem. Kontrolní skiagram hrudníku v březnu 2017 ukázal parciální regresi zastínění v oblasti levého plicního hilu ve srovnání se vstupním skiagramem. Pro podezření na nežádoucí účinky krizotinibu (zhoršení vertiga, hypacusis) musela být dávka snížena na 250 mg/den (od 31. března 2017). Byla doplněna ještě magnetická rezonance mozku, která neprokázala přítomnost nádoru. Poslední kontrola v naší pneumoonkologické ambulanci proběhla 11. dubna 2017.

Na skiagramu hrudníku byla zjištěna další regrese onemocnění (obr. 2). Na plánovanou ambulantní kontrolu se pacientka nedostavila a 16. května 2017 zemřela během krátké hospitalizace na plicním oddělení spádové nemocnice. Zde byla hospitalizována pro celkové zhoršení stavu s dominující neurologickou symptomatologií, která nebyla blíže vyšetřena. Čtyřleté přežití (overall survi-

val – OS) nemocné s generalizovaným adenokarcinomem plic je přesto možno považovat za terapeutický úspěch. Příčinou dyspeptických potíží mohla být poměrně vzácná generalizace do stěny žaludku, neurologické potíže nebyly vysvětleny.

Diskuze

Vztah mezi expresí ER, koncentrací estradiolu v nádorové tkáni, pohlavím, velikostí tumoru, odpovědí na protinádorovou terapii a délkou OS je předmětem klinického výzkumu [4]. Úloha estrogenů v etiologii LC není zcela jasná a existuje řada studií s nejednoznačnými výsledky. Přesto se zdá, že může být exprese ER, resp. ER β prognostickým ukazatelem. Schwartz et al popsal na souboru 280 pacientů expresi ER β ve zdravé plicní tkáni (u 20 % vyšetřených) a jeho zvýšenou expresi v nádorové tkáni (u 61 % NSCLC, z toho u 70,3 % mužů a 58,3 % žen, u 77,7 % adenokarcinomů) [5]. Přítomnost ER α nebyla prokázána, exprese ER byla kvantitativně řádově nižší než u karcinomu prsu. U mužů s nádorem a pozitivitou ER bylo popsáno statisticky významně delší OS. Rovněž Atmaca et al popsal přítomnost vyšší exprese ER spojenou s delším mediánem OS metastatického NSCLC, a to 10,9 měsíce ve srovnání s pacienty s nízkou expresí ER, kde byl medián OS 5,0 měsíce ($p = 0,03$), dalším příznivým faktorem bylo mužské po-

hlaví a věk < 75 let [6]. Naopak studie Skjevstada z roku 2016, provedená na souboru 335 pacientů, popsala zvýšenou koncentraci ER β jako signifikantně negativní prognostický faktor [7]. Dalším faktorem byla zvýšená produkce aromatázy jako klíčového enzymu biosyntézy steroidních hormonů. Metaanalýza 11 studií však žádný vliv zvýšené exprese ER β na prognózu NSCLC nepotvrdila, což mohlo být důsledkem odlišných metod použitých v jednotlivých studiích [8]. U novějších studií se blíže diferencují typy ER exprese a také různé podtypy NSCLC. U adenokarcinomu byla popsána silná cytoplazmatická i nukleární exprese ER (ve 49,4, resp. 48,5 %). Vyšší nukleární exprese ER byla asociována s výskytem mutací *EGFR* [9]. Tato exprese korelovala s delším časem do progresu (disease-free survival – DFS) u nemocných s *EGFR* mutacemi, zatímco u *EGFR* nemutovaných nádorů žádný prognostický vliv zjištěn nebyl [9,10]. Největší prospektivní studie z roku 2018 analyzovala soubor 981 pacientů s časnými stadii NSCLC po stránce exprese ER a exprese receptoru pro epidermální růstový faktor 2 (HER-2) [4]. U skvamózního LC byla zjištěna vyšší exprese ER α v cytoplazmě buněk ve srovnání s adenokarcinomem, zatímco adenokarcinom měl vyšší expresi receptoru HER-2. Nukleární exprese ER α byla zjištěna vyšší u žen, nekuřáček a adenokarcinomu. Příležitostně

kuřačky, pacientky po menopauze a pacientky s anamnestickým údajem užívání hormonální antikoncepce měly nižší expresi jaderných ER β a celkově nižší expresi jaderných i cytoplazmatických progesteronových receptorů. Expresie cytoplazmatických ER α a jaderných ER β byla u žen nižší než u mužů. Kuřáci měli expresi obou ER vyšší než nekuřáci, ale nižší celkovou expresi progesteronových receptorů než nekuřáci. Vyšší cytoplazmatická a jaderná expresie ER byla spojená s horším OS. Nižší expresie jaderného ER β u žen po menopauze a žen anamnesticky užívajících hormonální antikoncepci podporuje estrogenovou hypotézu u LC [4]. Jiné studie ukazují, že cytoplazmatická a jaderná expresie ER je spojená s horším OS pouze při současné expresi aromatáz [11,12].

Otázkou je, jaké má zvýšená expresie ER u LC terapeutické konsekvence. Tuto možnost podporuje studie o působení inhibitoru aromatáz či antiestrogenů, které navodily *in vitro* redukci růstu buněk LC [13]. Některé práce uvádějí, že estrogen a ER mohou aktivovat kaskádu nереceptorových tyrozinkináz a ovlivnit tak růst, proliferaci a apoptózu nádorové buňky *in vitro* i *in vivo* [14]. Bylo napsáno několik prací o funkčních vazbách mezi ER a EGFR, které vesměs ukazují vzájemnou stimulaci signalizace [14,15]. Kombinace antagonistů ER (tamoxifen) a tyrozinkinázového inhibitoru EGFR (gefitinib) snížila proliferaci buněk a růstu nádoru *in vitro* i *in vivo* a lze spekulovat, že by tato kombinace mohla potencovat účinek biologické léčby u adenokarcinomu plic s prokázanou expresí ER a mutací EGFR [14]. Je zřejmé, že hormonální rovnováhu ovlivňuje řada faktorů, jako je kouření, pohlaví, věk nebo typ nádoru, ale komplexní vztahy ER v plicích jsou určité složitější. Například byly popsány ER spojené s G-proteiny, jejichž význam u LC je zatím zcela neznámý [16,17].

Značné rozdíly v jednotlivých závěrech studií s prokázanou expresí ER vedly k vzniku publikace Anderssona et al, zveřejněné v červenci 2017, která popsala detailní validaci 13 protilátek proti ER β . Na nejednoznačných závěrech dosud publikovaných studií se podepsaly falešně pozitivní výsledky imunohistochemického vyšetření. Za specifickou protilátkou je považován pouze klon PPZ0506 [18].

ALK translokace se nachází v naprosté většině pouze u plicního adenokarcinomu. Nemocní jsou častěji nekuřáci mladšího věku, rasově není výskyt ovlivněn, častěji dochází k metastazování do mozku. Léčebně lze kromě krizotinibu využít řadu tyrozinkinázových inhibitorů ALK [19,20]. O interakcích ER a fúze ALK-EML4 nebo bodových mutací ALK zatím literatura chybí. Koincidence exprese ER a translokace ALK uvedená v naší kazuistice v dostupné literatuře doposud popsána nebyla.

Závěr

Byl popsán případ dlouhého OS nemocné s generalizovaným NSCLC, u kterého byla potvrzena expresie ER a ALK translokace. ER jsou u LC zapojeny do komplexní sítě signálních drah a buněčných interakcí. K jejich specifickému uplatnění v léčbě budou potřebné další informace.

Literatura

1. Chaudhuri PK, Thoms PA, Walker MJ et al. Steroid receptors in human lung cancer cytosols. *Cancer Lett* 1982; 16(3): 327–332.
2. Beattie CW, Hansen NW, Thomas PA. Steroid receptors in human lung cancer. *Cancer Res* 1985; 45(9): 4206–4214.
3. Soda M, Choi YL, Enomoto M et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small cell lung cancer. *Nature* 2007; 448(7153): 561–566. doi: 10.1038/nature05945.
4. Cheng TD, Darke AK, Redman MW et al. Smoking, sex, and non-small cell lung cancer in steroid hormone receptors in tumor tissue (S0424). *J Natl Cancer Inst* 2018; 110(7): 734–742. doi: 10.1093/jnci/djx260.
5. Schwartz AG, Prysak GM, Murphy V et al. Nuclear estrogen receptor beta in lung cancer: expression and sur-

val differences by sex. *Clin Cancer Res* 2005; 11(20): 7280–7287. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0498.

6. Atmaca A, Al-Batran SE, Wirtz RM et al. The validation of estrogen receptor 1 mRNA expression as a predictor of outcome in patients with metastatic non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2014; 134(10): 2314–2321. doi: 10.1002/ijc.28571.
7. Skjevstad K, Grindstad T, Rakaei Khanekhenari M et al. Prognostic relevance of estrogen receptor α , β and aromatase expression in non-small cell lung cancer. *Steroids* 2016; 113: 5–13. doi: 10.1016/j.steroids.2017.11.010.
8. Ma L, Zhan P, Liu Y et al. Prognostic value of the expression of estrogen receptor β in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Transl Lung Cancer Res* 2016; 5(2): 202–207. doi: 10.21037/tlcr.2016.04.04.
9. Nose N, Sugio K, Oyama T et al. Association between estrogen receptor-beta expression and epidermal growth factor receptor mutation in the postoperative prognosis of adenocarcinoma of the lung. *J Clin Oncol* 2009; 27(3): 411–417. doi: 10.1200/JCO.2008.18.3251.
10. Raso MG, Behrens C, Herynk MH et al. Immunohistochemical expression of estrogen and progesterone receptors identifies a subset of NSCLC and correlates with EGFR mutation. *Clin Cancer Res* 2009; 15(17): 5359–5368. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0033.
11. Mah V, Marquez D, Alavi M et al. Expression levels of estrogen receptor beta in conjunction with aromatase predict survival in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2011; 74(2): 318–325. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.03.009.
12. Márquez-Garbán DC, Chen HW, Goodglick L et al. Targeting aromatase and estrogen signaling in human non-small cell lung cancer. *Ann NY Acad Sci* 2009; 1155: 194–205. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04116.x.
13. Márquez-Garbán DC, Mah V, Alavi M et al. Progesterone and estrogen receptor expression and activity in human non-small cell lung cancer. *Steroids* 2011; 76(9): 910–920. doi: 10.1016/j.steroids.2011.04.015.
14. Hsu LH, Liu KJ, Tsai MF et al. Estrogen adversely affects the prognosis of patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Sci* 2015; 106(1): 51–59. doi: 10.1111/cas.12558.
15. Pietras RJ, Márquez-Garbán DC. Membrane-associated estrogen receptor signaling pathways in human cancers. *Clin Cancer Res* 2007; 13(16): 4672–4676. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1373.
16. Kolkova Z, Noskova V, Ehinger A et al. G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER, GPR 30) in normal human endometrium and early pregnancy decidua. *Mol Hum Reprod* 2010; 16(10): 743–751. doi: 10.1093/molehr/gaq043.
17. Jala VR, Radde BN, Harihabu B et al. Enhanced expression of G-protein coupled estrogen receptor (GPER/GPR30) in lung cancer. *BMC Cancer* 2012; 12: 624. doi: 10.1186/1471-2407-12-624.
18. Andersson S, Sundberg M, Pristovsek N et al. Insufficient antibody validation challenges oestrogen receptor beta research. *Nature Commun* 2017; 8: 15840. doi: 10.1038/ncomms15840.
19. Cappuzzo F, Moro-Sibilot D, Gautschi O et al. Management of crizotinib therapy for ALK-rearranged non-small cell lung carcinoma: an expert consensus. *Lung Cancer* 2015; 87(2): 89–95. doi: 10.1016/j.lungcan.2014.12.010.
20. Wu J, Savooji J, Liu D. Second- and third-generation ALK inhibitors for non-small cell lung cancer. *J Hematol Oncol* 2016; 9: 19. doi: 10.1186/s13045-016-0251-8.