

Остеосаркома – на пути к персонализированной терапии. Часть II: персонализированная терапия будущего

М.Ю. Рыков^{1,2}, Э.Р. Сенжапова¹

¹ФБГУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. академика Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Osteosarcoma – on the way to personalized therapy. Part II: personalized therapy of the future

M. Yu. Rykov^{1,2}, E. R. Sengapova¹

¹Blockhin Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Саркомы костей составляют 7% в структуре злокачественных новообразований у детей, из них 35–50% – остеосаркомы. Значительная часть пациентов выявляется на распространенных стадиях заболеваний, что диктует необходимость поиска новых подходов к лечению. При этом оптимальная терапевтическая стратегия неизвестна, результаты лечения детей остаются неудовлетворительными. В части II описаны достижения в области персонализированной терапии, которые иллюстрируют вектор развития принципов терапии столь сложных заболеваний, которые еще несколько лет назад являлись для большинства пациентов фатальными.

Ключевые слова: детская онкология, остеосаркома, персонализированная терапия, химиотерапия.

Для цитирования: Рыков М.Ю., Сенжапова Э.Р. Остеосаркома – на пути к персонализированной терапии. Часть II: персонализированная терапия будущего. Рос вестн перинатол и педиатр 2019, 64:(3): 28–36. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-3-28-36

Bone sarcomas account for 7% in the structure of malignant tumors in children, osteosarcomas take 35–50% of them. A significant proportion of patients are diagnosed at the spread stages of the disease, dictating the need to search for new approaches to treatment. Herewith the optimal therapeutic strategy is unknown, the results of treatment of children remain unsatisfactory. Part II describes the achievements in the field of personalized therapy, illustrating the vector of development of the principles of treatment of such complex diseases, which were fatal for most patients a few years ago.

Key words: pediatric oncology, osteosarcoma, personalized therapy, chemotherapy.

For citation: Rykov M. Yu., Sengapova E. R. Osteosarcoma – on the way to personalized therapy. Part II: personalized therapy of the future. Ros Vestn Perinatol i Pediatr 2019; 64:(3): 28–36 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-3-28-36

В мире разрабатываются новые программы лечения с учетом молекулярно-биологических особенностей опухолевых клеток, определяющих чувствительность к химиотерапии (ERCC1 к цисплатину, TOP2α к антрациклинам и этопозиду, MGMT к эпигенетической терапии и цисплатину, RFC1 к метотрексату) [1–6], инвазивный и метастатический потенциалы опухоли (маркеров стволовых опухолевых клеток – CD133, OCT4; транскрипционных факторов – p-STAT3, C-MYC; цитокиносо-

цированных сигнальных путей – ErbB2, VEGFR1, VEGFR2, PDGFRα, PDGFRβ) [7–10].

Персонализированная терапия

Q. Cui и соавт. [1, 2] представили результаты исследования определения экспрессии белка MGMT (methylguanine-DNA-methyltransferase) и метилирования гена MGMT у пациентов с остеосаркомой в возрастной группе до 40 лет (средний возраст 17 лет), которым проведено лечение цисплатином в монорежиме, в курсовой дозе 120 мг на 1 м² поверхности тела. Определение экспрессии белка MGMT при иммуногистохимическом исследовании выполнено в биопсийном опухолевом материале у 76 пациентов, метилирование гена MGMT – у 51 пациента. Результат иммуногистохимического исследования считался положительным при высоком уровне экспрессии – более 30% (3+), при среднем уровне экспрессии – 20–30% (2+), при низком уровне экспрессии – 10–20% (1+). Экспрессия белка MGMT выявлена у 52 (68%) пациентов, низкий уровень экспрессии – у 27 (35%), средний уровень – у 18 (24%), высокий уровень – у 7 (9%).

© Рыков М.Ю., Сенжапова Э.Р., 2019

Адрес для корреспонденции: Рыков Максим Юрьевич – к.м.н., зам директора НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. академика Н.Н. Блохина, доцент кафедры онкологии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, гл. внештатный детский специалист-онколог Минздрава России по Центральному федеральному округу.
ORCID: 0000-0002-8398-7001, SPIN-код: 7652-0122
e-mail: wordex2006@rambler.ru

Сенжапова Эльмира Рифатовна – к.м.н., науч. сотр. отделения опухолей опорно-двигательного аппарата НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. академика Н.Н. Блохина,

ORCID: 0000-0003-2310-3259

115478 Москва, Каширское ш., д. 24

Установлена статистически достоверная взаимосвязь между наличием экспрессии белка MGMT и увеличением частоты достижения плохого гистологического ответа ($p=0,004$). Уровень экспрессии выше 20% выявлен у 22 (51%) из 43 больных в группе пациентов с 1–2-й степенью лечебного патоморфоза и только у 3 (9%) из 33 пациентов в группе с 3–4-й степенью лечебного патоморфоза.

Метилирование промоторной части гена *MGMT* отмечено у 12 (23,5%) больных из 51, отсутствие экспрессии белка MGMT – у 14 (27,5%). Установлена статистически достоверная взаимосвязь между отсутствием метилирования и наличием экспрессии белка MGMT ($p<0,001$). В группе пациентов с 1–2-й степенью лечебного патоморфоза отсутствие метилирования гена *MGMT* выявлено у 36 (94,7%) из 38 пациентов, с 3–4-й степенью лечебного патоморфоза – у 3 (23%) из 13 ($p<0,001$). Следовательно, полученные данные свидетельствуют о формировании резистентности опухоли к терапии алкилирующим препаратом – цисплатином у пациентов, в биопсийном материале которых выявлены отсутствие метилирования промоторной части гена *MGMT* и наличие экспрессии белка MGMT [1, 2].

A. Pitano-Garcia и соавт. [5] (Spain sarcoma group) провели исследование по определению экспрессии микро-РНК RFC1 (reduced folate carrier 1, трансмембранный белок, обеспечивающий транспорт фолатов и метотрексата в клетку) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени в опухолевом субстрате у детей с остеосаркомой. Осуществлен анализ 34 образцов биопсийного опухолевого материала у 14 детей, опухолевого материала метастатических очагов у 20 детей. В 13 (92,9%) из 14 биопсийных образцов и в 11 (68,8%) из 20 метастатических образцов выявлен низкий уровень экспрессии RFC1. Плохой гистологический ответ после неадекватной химиотерапии (3 курсов внутривенного введения доксорубина в дозе 75 мг/м², 3 курсов внутриаартериального введения цисплатина в дозе 105 мг/м², 4 курсов внутривенного введения метотрексата в дозе 14 г/м²) установлен в 45% случаев. Биопсийный опухолевый субстрат в данной группе пациентов характеризовался низким уровнем экспрессии микро-РНК RFC1 в 90% случаев в сравнении с 60% у пациентов с хорошим гистологическим ответом ($p=0,053$). Средний уровень экспрессии в биопсийном материале был статистически достоверно ниже, чем в метастатических опухолевых очагах ($p=0,024$) [5, 11]. Следовательно, в данном исследовании была отмечена тенденция к увеличению частоты выявления низкого уровня экспрессии микро-РНК RFC1 у пациентов с плохим гистологическим ответом.

C.M. Hattinger и соавт. [3] (Italian sarcoma group) представили результаты исследования, целью которого было определение прогностической значи-

мости экспрессии белка ERCC1 (excision repair cross-complementation group 1) в биопсийном опухолевом материале у пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы, которым проведено программное лечение ISG/OS-oss и ISG/SSG1. Образец опухоли считался позитивным при наличии score 2–3: score 1 (1–10% позитивных ядер), score 2 (11–50% позитивных ядер), score 3 (более чем 50% позитивных ядер). ERCC1-позитивный вариант опухоли (score 2–3) был выявлен у 30 (30%) больных. При проведении программы ISG/OS-oss в группах пациентов с ERCC1-негативным/score 1 и ERCC1-позитивным (score 2–3) вариантом опухоли 5-летняя общая выживаемость и бессобытийная выживаемость составили 91 и 38%; 57 и 25% ($p=0,001$; $p=0,042$), при проведении программы ISG/SSG1 – 82 и 64%; 69 и 36% ($p=0,022$; $p=0,028$), при проведении обеих программ терапии – 82 и 50%; 62 и 34% ($p<0,001$; $p=0,006$). Следовательно, установлена статистически достоверная взаимосвязь между ERCC1-позитивным вариантом опухоли и более низкими уровнями 5-летней общей выживаемости и бессобытийной выживаемости [3].

A. Nguyen и соавт. [4] представили результаты исследования по определению прогностической значимости экспрессии белка TOP2A (topoisomerase DNA 2 α) и наличия реаранжировки гена *TOP2A* в биопсийном опухолевом материале у 105 детей с остеосаркомой, которым осуществлено лечение по протоколу SFOP OS94. Пациенты с первичным метастатическим вариантом остеосаркомы составили 17%. После проведения неадекватной химиотерапии хороший гистологический ответ был выявлен у 56 (53%) больных, плохой гистологический ответ – у 49 (47%). Методом ПЦР в реальном времени амплификация гена *TOP2A* и делеция гена *TOP2A* были выявлены у 21 (21,2%) и 25 (25,3%) пациентов соответственно. У 53 (53,5%) детей реаранжировки гена *TOP2A* не обнаружено. Установлена статистически достоверная взаимосвязь между наличием реаранжировки гена *TOP2A* (амплификации и делеции) и наличием хорошего гистологического ответа после неадекватной полихимиотерапии ($p=0,004$). Кроме того, отмечена тенденция к достижению более низких уровней 5-летней общей выживаемости и бессобытийной выживаемости у пациентов, в опухолевых клетках которых была выявлена амплификация гена *TOP2A* ($p=0,09$ и $p=0,06$). Определение экспрессии белка TOP2A проведено у 17 пациентов при иммуногистохимическом исследовании. Средний (2+) и высокий (3+) уровни экспрессии выявлены у всех больных, экспрессия выше 30% – у 12 (70,5%) из 17 детей. Не установлено статистически достоверной взаимосвязи между экспрессией белка TOP2A выше 30% и наличием амплификации или делеции гена *TOP2A* ($p>0,05$) в связи с недостаточным числом наблюдений [4].

Х. Хiao и соавт. [6] представили результаты исследования персонализированного подхода к назначению химиотерапии в зависимости от наличия или отсутствия маркеров лекарственной резистентности у 28 больных с локализованным вариантом остеосаркомы. Средний возраст пациентов составил 20,1 года. Для определения чувствительности к химиопрепаратам применялись следующие маркеры: к доксорубину — экспрессия микро-РНК TOP2A, мутация гена *ABCB1*, мутация гена *GSTP1*; к цисплатину — экспрессия микро-РНК ERCC1, BRCA1, мутация генов *XRCC1-exon6* и *XRCC1-exon10*, к ифосфамиду — мутация *CYP2C9*3*. Высокий уровень чувствительности к ифосфамиду выявлен у всех пациентов, к цисплатину — у 11 (39,2%) из 28, к доксорубину — у 6 (21,4%); средний и высокий уровни чувствительности к цисплатину — у 17 (60,7%) из 28, к доксорубину — у 20 (71,4%). Химиотерапия с учетом чувствительности опухоли к препаратам проведена 8 (28,5%) из 28 больных. В данной группе выявлен только 1 рецидив заболевания, в то время как в остальной группе из 20 пациентов выявлено 4 рецидива, в 1 случае — прогрессирование во время неадекватной химиотерапии и в 1 случае — фатальный исход от токсичности терапии. Средняя продолжительность наблюдения за группами не указана и статистически достоверной разницы не получено в связи с недостаточным количеством наблюдений [6].

Маркеры опухолевых клеток

Особого внимания заслуживает изучение маркеров стволовых опухолевых клеток CD133 (Prominin 1) и OCT4 (Octamer-binding transcription factor 4), а также транскрипционных факторов STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) и C-MYC (myelocytomatosis viral oncogene homolog), которыми определяется инвазивный и метастатический потенциал опухоли [12–14]. Так, в работе А. Не и соавт. [8] была отмечена достоверная корреляция между экспрессией CD133 в опухолевых клетках и более высокой частотой метастатического поражения, более низкой медианой общей выживаемости. CD133-позитивный вариант выявлен у 46 (65,7%) из 70 пациентов, у 6 (37,5%) из 16 в группе с локализованным вариантом остеосаркомы и у 40 (74%) из 54 в группе с первичным метастатическим вариантом ($p=0,002$). Медиана общей выживаемости была статистически достоверно ниже в группе с CD133-позитивным вариантом опухоли ($p=0,000$). При проведении исследования «Transwell invasion» установлен достоверно более высокий инвазивный потенциал CD133-позитивного варианта опухоли ($p<0,05$). Методом ПЦР в реальном времени установлен более высокий уровень экспрессии микро-РНК OCT4 в CD133-позитивном варианте опухоли ($p<0,05$) [8].

J.I. Li и соавт. [15] в экспериментальной модели на клеточных линиях показали, что около 80% клеток в CD133-позитивном варианте опухоли находятся в G0/G1 фазах клеточного цикла ($p<0,01$). Кроме того, методом ПЦР в реальном времени был выявлен достоверно более высокий уровень экспрессии гена множественной лекарственной резистентности (*MDR1*) в CD133-позитивном варианте опухоли ($p<0,05$) [15]. В представленных исследованиях [8, 15] установлены механизмы лекарственной резистентности, инвазии и метастазирования при CD133-позитивном варианте опухоли.

В работах В. Ту и соавт. [10, 16] было отмечено значение активации мезенхимальными стволовыми клетками IL6R/STAT3/p-STAT3tyr705 сигнального пути для повышения метастатического потенциала опухолевых клеток на примере клеточных линий (Saos 2 и U2-OS). Установлена взаимосвязь между повышением экспрессии p-STAT3tyr705 и повышением экспрессии маркеров лекарственной резистентности MRP (multidrug resistance protein) и MDR1. Отмечено также повышение чувствительности к доксорубину, но не к цисплатину при ингибировании данного сигнального пути. G. Han и соавт. [17] на примере клеточных линий (MG63 и SAOS2) показали, что повышение экспрессии C-MYC приводит к активации MEK-ERK сигнального пути и увеличению экспрессии MMP2 и MMP9, которые способствуют усилению инвазивного и метастатического потенциала опухоли.

Х. Wu и соавт. [18] исследовали прогностическую значимость экспрессии C-MYC в биопсийном опухолевом материале у 56 детей с остеосаркомой, которым проведено лечение с применением метотрексата, цисплатина, доксорубина. Экспрессия протеина C-MYC выявлена у 48 (85,7%) из 56 пациентов. Установлена статистически достоверная взаимосвязь между наличием экспрессии C-MYC и снижением апоптотического индекса ($p<0,05$). Кроме того, в группе больных с C-MYC-позитивным вариантом опухоли и интенсивностью экспрессии на 2+ и 3+ выявлен достоверно более низкий уровень 3-летней общей выживаемости ($p<0,05$) [18]. Следовательно, в работах [10, 16–18] отмечено значение транскрипционных факторов в развитии лекарственной резистентности, инвазии и метастазировании опухоли.

Инновационные терапевтические подходы

Инновационные терапевтические подходы применяются преимущественно у пациентов с метастатическим вариантом остеосаркомы, рецидивом и рефрактерным течением заболевания. В настоящее время выделяют следующие ключевые направления:

1. Применение препаратов моноклональных антител;
2. Опухольмодифицирующая терапия с применением азотсодержащих бисфосфонатов;

3. Применение химиотерапевтических препаратов, влияющих на различные клеточные сигнальные пути (мультикиназные ингибиторы, mTOR ингибиторы);

4. Использование препаратов, способствующих активации опухоляссоциированных макрофагов.

V. Rossi и соавт. [9] представили результаты исследования, направленного на определение экспрессии VEGF (vascular endothelial growth factor) в биопсийном опухолевом субстрате и в опухолевом материале после неадьювантной химиотерапии (2 курсов MAP) у 16 пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы, которым проведено программное лечение по протоколу SSG XIV. Оценивались 4 уровня экспрессии: отрицательный и низкий – при уровне экспрессии <25%, средний – при 25–50% (1+), высокий – при 50–75% (2+), очень высокий – при >75% (3+). Средний и высокие уровни экспрессии VEGF в биопсийном опухолевом материале выявлены у 11 (у 6 – средний, у 5 – высокий) из 16 пациентов. После неадьювантной химиотерапии и удаления первичного опухолевого очага экспрессия VEGF установлена во всех образцах; кроме того, отмечалось увеличение экспрессии в образцах, которые были позитивны при первичном исследовании.

Высокий и очень высокий уровни экспрессии, увеличение экспрессии после неадьювантной химиотерапии статистически достоверно коррелировали с локализацией первичного опухолевого очага в бедренной кости ($p=0,02$), с появлением локального рецидива ($p=0,04$) и/или ранних метастатических очагов в легких ($p=0,04$), с фатальным исходом от рефрактерного течения заболевания ($p=0,04$). Следовательно, наличие экспрессии VEGF в биопсийном материале, увеличение экспрессии VEGF после неадьювантной химиотерапии являются факторами неблагоприятного прогноза заболевания [9]. Но данное исследование требует продолжения в связи с тем, что в него включено небольшое число пациентов.

Кроме того, T. Ohba и соавт. [19] показали в эксперименте *in vivo* с применением клеточных линий остеосаркомы человека (TE85 и 143B) механизм аутокринной стимуляции опухолевой трансформации и пролиферации на примере VEGF/VEGFR-сигнального пути. В данной работе проводилась оценка экспрессии VEGF-A, VEGFR микро-РНК.

В настоящее время накоплен небольшой опыт применения у детей с остеосаркомой препарата бивалициумаб, который представляет собой частично гуманизированное моноклональное антитело к VEGF-A, IgG1, реализующее свою активность через второй тип иммунопатологических реакций (антителоопосредованную комплементзависимую цитотоксичность, антителоопосредованную клеточнозависимую цитотоксичность) [20]. D.C. Turner и соавт. (St. Jude Children's research hospital) представили предварительные

результаты применения бивалициумаба в комбинации с неадьювантной химиотерапией (2 курсами MAP) у 27 детей с остеосаркомой. Препарат применялся в дозе 15 мг на 1 кг массы тела. Предусмотрено 3 введения за время неадьювантной химиотерапии. Установлен удовлетворительный профиль токсичности. Исследование NCT00667342 продолжается [21].

Еще в 1999 г. сотрудники Memorial Sloan-Kettering Cancer Center представили результаты исследования по оценке влияния экспрессии ErbB2 (erb-b2 receptor tyrosine kinase 2) на характер гистологического ответа после неадьювантной полихимиотерапии и на уровни общей выживаемости и бессобытийной выживаемости. В исследование были включены 53 пациента. Гиперэкспрессия ErbB2 была обнаружена у 42% больных во всей исследуемой группе, у 50% с метастатическим вариантом и у 76% в момент выявления рецидива или рефрактерного течения заболевания; гиперэкспрессия ErbB2 статистически достоверно коррелировала с плохим гистологическим ответом ($p=0,02$) и низкой бессобытийной выживаемостью ($p=0,05$): 5-летняя бессобытийная выживаемость у пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы и ErbB2-позитивным статусом составила 47%, с ErbB2-негативным статусом – 79% [7].

Получены противоречивые данные о прогностической значимости ErbB2-позитивного статуса у пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы. В 2002 г. японской группой, занимающейся изучением остеосаркомы (Japanese Osteosarcoma Group), опубликованы результаты исследования, в которое с 1984 по 1995 г. были включены 155 пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы. При этом 5-летняя бессобытийная выживаемость у пациентов с ErbB2-позитивным статусом составила 45%, с ErbB2-негативным статусом – 72% [22].

В 2014 г. Американской детской онкологической группой (COG) представлены совершенно иные результаты исследования, в которое с 1999 по 2002 г. включены 135 пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы. Только у 13% пациентов отмечен ErbB2-позитивный статус. При этом 5-летняя общая выживаемость у пациентов с ErbB2-позитивным статусом составила 73%, с ErbB2-негативным статусом – 72%, 5-летняя бессобытийная выживаемость – 59 и 69% соответственно. Статистически достоверных различий по выживаемости не отмечено [23]. Таким образом, было подтверждено, что ErbB2 может рассматриваться в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии при метастатическом варианте, рецидиве и рефрактерном течении заболевания.

Американской детской онкологической группой (COG) представлены результаты II фазы клинических испытаний препарата трастузумаб (герцептин) в комбинации с полихимиотерапией MAPIE у 96 пациентов с первичным метастатическим вариантом

остеосаркомы. Данное исследование проводилось с 2001 по 2005 г. Трастузумаб представляет собой частично гуманизированное IgG1κ моноклональное антитело к ErbB2, которое также реализует свою активность через второй тип иммунопатологических реакций (антителоопосредованную комплементзависимую цитотоксичность, антителоопосредованную клеточнозависимую цитотоксичность). Препарат вводился в дозе 4 мг на 1 кг массы тела на 1-й неделе, затем 2 мг на 1 кг массы тела 1 раз в неделю (всего 34 введения) только у пациентов, в опухолевом субстрате которых выявлена экспрессия ErbB2. Оперативное удаление первичного опухолевого очага выполнялось на 11-й неделе. Аджьювантная химиотерапия начиналась с 13-й недели.

В группе с трастузумабом хороший гистологический ответ выявлен у 56% пациентов, без трастузумаба – у 40%, плохой гистологический ответ – у 44 и 60% соответственно. При этом 3-летняя общая выживаемость и бессобытийная выживаемость в группе пациентов, получивших лечение с трастузумабом, составили 59 и 32%, а в группе пациентов, получивших лечение без трастузумаба, – 50 и 32% соответственно. Следовательно, применение трастузумаба с полихимиотерапией MAPIE привело к увеличению частоты достижения хорошего гистологического ответа, но не к увеличению общей и бессобытийной выживаемости [24].

Особый интерес вызывает опухольмодифицирующая терапия с применением азотсодержащих бисфосфонатов. В настоящее время выявлены следующие механизмы действия этих соединений: активация апоптоза опухолевой клетки по каспазному механизму (опосредованно через протеин Rb и P53) и без участия каспазного механизма (увеличение AIF – апоптоз индуцирующего фактора); увеличение экспрессии TRAIL-DR5 (TNF-related apoptosis-inducing ligand – death receptor 5, TRAIL – индуцированного апоптоза); уменьшение экспрессии RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand – лиганда рецептора активации ядерного фактора κB) в клетках остеосаркомы, которое приводит к подавлению пролиферации опухолевых клеток, активности остеокластов, изменению микроокружения опухоли, к снижению резорбции костной ткани и риска метастазирования; активация γδT клеточной цитотоксичности; активация опухольассоциированных макрофагов [25–29]. Кроме того, подтвержден потенцирующий эффект азотсодержащих бисфосфонатов в отношении цисплатина и доксорубина [30].

Накоплен небольшой опыт применения данных препаратов у детей с остеосаркомой. P.A. Meyers и соавт. [31] опубликовали результаты исследования сочетанного применения памидроната с химиотерапией MAP. В исследование включены 40 пациентов: 32 в возрастной группе моложе 18 лет, 29 – с локализованным вариантом остеосаркомы, 11 – с пер-

вичным метастатическим вариантом. В соответствии с программой памидронат вводился 1 раз в месяц в дозе 2 мг на 1 кг массы тела через 48–72 ч после введения доксорубина, метотрексата, суммарно 12 введений.

Оперативное удаление первичного опухолевого очага выполнялось на 11-й неделе. Аджьювантная химиотерапия начиналась с 13-й недели. Удаление метастатических очагов проводилось индивидуально на этапе адьювантной терапии. Частота достижения хорошего и плохого гистологического ответа не указаны. Однако получены достаточно высокие уровни 5-летней общей и бессобытийной выживаемости: соответственно 93 и 72% у пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы, 64 и 45% у пациентов с метастатическим вариантом [24].

Американской детской онкологической группой (COG) были представлены результаты пилотного протокола AOST06P1, направленного на изучение сочетанного применения золедроновой кислоты с полихимиотерапией MAPIE у детей с первичным метастатическим вариантом остеосаркомы. В данное исследование включены 24 пациента. Золедроновая кислота вводилась в дозе 1,2–3,5 мг на 1 м² поверхности тела в каждом курсе химиотерапии. Установлена максимальная переносимая доза золедроновой кислоты, которая составила 2,3 мг на 1 м² поверхности тела. Уровни 2-летней общей и бессобытийной выживаемости достигли 60 и 32% соответственно [29].

S. Piperno-Neumann и соавт. [30] представили результаты III фазы рандомизированного исследования OS 2006, целью которого было выявление потенцирующего эффекта золедроновой кислоты при сочетанном применении с полихимиотерапией MIE и MAP. В исследование включены 217 детей: 107 в группе контроля и 110 в группе с золедроновой кислотой. Группы пациентов были статистически достоверно сопоставимы по полу, возрасту, очагам первичного и метастатического поражения, гистологическому варианту опухоли. Золедроновая кислота вводилась в дозе 0,05 мг на 1 кг массы тела (максимальной дозе 4 мг) с каждым курсом химиотерапии (IE и AP).

Неадьювантная химиотерапия состояла из 2 курсов IE (ифосфамид (I) 12 г на 1 м² поверхности тела, этопозид 300 мг на 1 м² поверхности тела) и 7 введений высокодозного метотрексата (M) 12 г на 1 м² поверхности тела). Оперативное удаление первичного опухолевого очага проводилось на 14-й неделе. Аджьювантная химиотерапия включала 2 курса MIE в группе с хорошим гистологическим ответом и 5 курсов MAP в группе с плохим гистологическим ответом. Хороший гистологический ответ после неадьювантной полихимиотерапии был достигнут у 73% пациентов. При этом не было отмечено статистически достоверных различий по достижению

хорошего гистологического ответа, по уровням общей выживаемости и бессобытийной выживаемости в группах пациентов, получавших программное лечение с золедроновой кислотой или без нее. Число событий в группе с золедроновой кислотой составило 42% (47/110), в группе без золедроновой кислоты – 31% (34/107). Следовательно, в данном исследовании показана высокая эффективность курсов химиотерапии IE в сочетании с метотрексатом в неадекватном режиме. Наличие потенцирующего эффекта применения золедроновой кислоты не доказано [31].

Рефрактерные формы остеосаркомы

В терапии рефрактерных форм остеосаркомы также используются препараты, влияющие на различные клеточные сигнальные пути. Понимание механизмов опухолевой активации открывает возможность применения мультикиназных и mTOR (mammalian target of rapamycin complex) ингибиторов. N. Peng и соавт. [32] и S. Takagi и соавт. [33] в эксперименте *in vitro* на клеточных линиях (SaOS2, MG63, HOS) показали патофизиологические механизмы цитокининдуцированной опухолевой трансформации и пролиферации через активацию VEGF/VEGFR/PI3K (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase)/АКТ (Protein kinase B) и PDGFR (Platelet-derived growth factor receptor)/PI3K/АКТ сигнальных путей [32, 33]. Наиболее изученными препаратами из данной группы в настоящее время являются сорафениб (нексавар) и эверолимус (афинитор) [34]. Сорафениб представляет собой неселективный мультикиназный ингибитор, подавляющий активность различных клеточных сигнальных путей, в частности VEGFR1, VEGFR2, PDGFR α , PDGFR β , в то время как эверолимус является mTOR-ингибитором [35].

Y. Pignochino и соавт. [36] из Italian Sarcoma Group опубликовали результаты преclinical исследования (*in vitro* и *in vivo*), в котором был отмечен взаимный потенцирующий противоопухолевый эффект эверолимуса и сорафениба в отношении клеточных линий остеосаркомы (KHOS, MNNG-HOS, U2OS). Влияние эверолимуса и сорафениба на mTORC1/mTORC2 проявляется в уменьшении экспрессии mTORC1 и увеличении экспрессии mTORC2, чем обеспечиваются проапоптотический и антипролиферативный эффекты. При сочетанном применении эверолимуса и сорафениба происходит уменьшение экспрессии как mTORC1, так и mTORC2 [36].

С 2008 по 2009 г. G. Grignani и соавт. [37] из Italian Sarcoma Group провели II фазу клинических испытаний препарата сорафениб у пациентов с рецидивом и рефрактерным течением остеосаркомы. В исследование включены 35 пациентов старше 14 лет. Частичный ответ был достигнут у 5 (14%) больных, стабилизация заболевания – у 12 (34%). Общая частота ответа составила 48%. При этом 4-месячная

выживаемость без прогрессирования заболевания была 45% (15 из 35) [37].

С 2011 по 2013 г. G. Grignani и соавт. [38] провели вторую фазу клинических испытаний комбинации препаратов эверолимуса и сорафениба у пациентов с рецидивом и рефрактерным течением остеосаркомы после стандартной полихимиотерапии MAP (исследование NCT01804374). В исследование включены 38 пациентов старше 18 лет. Эверолимус вводился в дозе 5 мг 1 раз в день, сорафениб – 400 мг 2 раза в день. Длительность курса химиотерапии составила 28 дней. Частичный ответ был достигнут у 4 (10%) пациентов, стабилизация заболевания – у 20 (53%). Общая частота ответа – 63%. Этот показатель на 15% больше, чем в исследовании, в котором сорафениб применялся в монорежиме. При этом 4-месячная выживаемость без прогрессирования заболевания составила 58%, 6-месячная – 45% (17 из 38) [38]. Применение комбинации препаратов эверолимус/сорафениб привело к достижению частичного ответа в 35,7% случаев при удовлетворительном профиле токсичности [39].

В настоящее время проведен ряд исследований, направленных на изучение роли опухоль-ассоциированных макрофагов. Активация опухоль-ассоциированных макрофагов может осуществляться за счет применения препаратов липосомальных трипептидов (мифамуртид), препаратов интерферонов (интерферона альфа-2A). P.A. Meyers и соавт. [40] представили результаты рандомизированного исследования CCG 7921/POG 9351, проведенного с 1993 по 1997 г. В исследование были включены 662 пациента с локализованным вариантом остеосаркомы.

Особенностью в линии терапии А было применение 2 курсов неадекватной химиотерапии MAP; в линии терапии В – 2 курсов неадекватной химиотерапии MAi, альтернирующие курсы MAP и MAi на этапе адекватной химиотерапии. Оперативное удаление первичного опухолевого очага выполнялось на 10-й неделе. Мифамуртид (МТР) вводился в дозе 2 мг на 1 м² поверхности тела 2 раза в неделю 12 нед, затем 1 раз в неделю 24 нед в соответствии с рандомизацией. Механизм действия МТР заключается в активации моноцитов/макрофагов, обладающих противоопухолевой активностью. Эффект МТР реализуется в результате связывания со специфическими рецепторами TLR4 (toll-like receptor 4) и NOD2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2 receptor) с последующим изменением активности клеточных сигнальных путей (ERK1/2 – extracellular-signal regulated kinase 1/2; NF- κ B – nuclear factor kappa-B, AP1 – adapter protein 1) [41].

После удаления первичного опухолевого очага хороший гистологический ответ в группе А был достигнут у 42% пациентов, в группе В – у 48%, плохой гистологический ответ в группе А – 58%, в группе В – 52%. При этом 6-летняя общая выжи-

ваемость составила 74%, без применения МТР – 70%, с МТР – 78%; бессобытийная выживаемость – 64%, без применения МТР – 61%, с МТР – 67%. В группе А: общая выживаемость без применения МТР – 71%, с МТР – 75%; бессобытийная выживаемость без МТР – 64%, с МТР – 63%. В группе В: общая выживаемость без применения МТР – 71%, с МТР – 75%; бессобытийная выживаемость без МТР – 64%, с МТР – 63%. Добавление МТР к полихимиотерапии привело к статистически достоверному увеличению 6-летней общей выживаемости с 70 до 78% ($p=0,03$), а также отмечена тенденция к увеличению бессобытийной выживаемости, преимущественно в группе В ($p=0,08$) [23].

Т. Kubo и соавт. [42] опубликовали результаты пилотного исследования, в котором определялась прогностическая значимость уровня экспрессии рецепторов интерферона α/β у 40 пациентов с локализованной остеосаркомой, получивших лечение по программе NECO95J. У 45% больных была выявлена экспрессия рецепторов интерферона α/β . При проведении многофакторного статистического анализа была отмечена достоверная связь между экспрессией рецепторов интерферона α/β и 5-летней общей выживаемостью и выживаемостью без метастатического поражения. При этом 5-летняя общая выживаемость при наличии в опухолевом субстрате экспрессии рецептора интерферона α/β составила 81%, в отсутствие экспрессии – 47% ($p=0,043$), 5-летняя бессобытийная выживаемость – соответственно 75 и 41% ($p=0,023$). Данное исследование подтверждает возможность применения препаратов интерферона при лечении пациентов с остеосаркомой с гиперэкспрессией рецепторов интерферона α/β [42].

S.S. Bielack и соавт. [43] представили результаты исследования EURAMOS1 у пациентов с хорошим гистологическим ответом после неадьювантной химиотерапии MAP. В возрастной группе до 30 лет линия терапии MAP проведена 359 пациентам, линия MAP INF- α 2b – 357 пациентам, в возрастной группе

до 20 лет – 333 (92,7%) и 332 (92,9%) соответственно. Группы были статистически достоверно сопоставимы по полу, возрасту, локализации первичного опухолевого очага, наличию метастатического поражения, гистологическому варианту опухоли.

В соответствии с программой пегилированный INF- α 2b вводился в дозе 0,5 мг на 1 кг массы тела (в максимальной дозе 50 мг) 1 раз в неделю в течение 4 нед, затем 1 мг на 1 кг массы тела (в максимальной дозе 100 мг) 1 раз в неделю (с 30-й по 104-ю неделю программного лечения). В группе из 630 пациентов с локализованным вариантом остеосаркомы выявлено 135 событий; 72 – у пациентов, получивших линию терапии MAP; 63 – у пациентов, получивших линию терапии MAP INF- α 2b. При этом 3-летняя бессобытийная выживаемость составила 77 и 80% соответственно. Следовательно, применение INF- α 2b в качестве поддерживающей терапии после MAP у пациентов с хорошим гистологическим ответом не привело к увеличению бессобытийной выживаемости [42].

Заключение

Таким образом, результаты лечения детей с первичным метастатическим вариантом остеосаркомы, рецидивом и рефрактерным течением заболевания остаются неудовлетворительными. В настоящее время выявлены молекулярно-биологические факторы, определяющие чувствительность к химиотерапии, инвазивный и метастатический потенциалы опухоли, а также прогноз заболевания, среди которых особого внимания заслуживают экспрессия белка MGMT, метилирование промоторной части гена MGMT, экспрессия белков ERCC1, VEGF, CD133, p-STAT3^{tyr705}, C-MYC, экспрессия микро-РНК RFC1 и наличие реаранжировки гена TOP2A. Важно отметить, что не проводилось комплексной оценки значения данных маркеров для гистологического ответа на неадьювантную химиотерапию и показателей выживаемости у пациентов с остеосаркомой.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Cui Q., Jiang W., Guo J., Cheng L., Dingfeng L., Xiaohong W. et al. Relationship between hypermethylated MGMT gene and osteosarcoma necrosis rate after chemotherapy. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 587–591. DOI: 10.1007/s12253-010-9354-7
2. Cui Q., Li D., Liu C., Guo G., Liu S., Liu Y. et al. The significance of MGMT protein detection in evaluation of osteosarcoma necrosis rate after cisplatin chemotherapy. *Bosnian J Basic Med Sci* 2011; 11(2): 80–83.
3. Hattinger C.M., Michelacci F., Sella F., Magagnoli G., Benini S., Gambarotti M. et al. ERCC1 protein expression predicts survival in patients with high-grade, non-metastatic osteosarcoma treated with neoadjuvant chemotherapy. *Histopathol* 2015; 67(3): 338–347. DOI: 10.1111/his.12653
4. Nguyen A., Lasthaus C., Guerin E., Marcellin L., Pancreach E., Gaub M. et al. Role of topoisomerases in pediatric high grade osteosarcomas: TOP2A gene is one of the unique molecular biomarkers of chemoresistance. *Cancer* 2013; 5: 662–675. DOI: 10.3390/cancers5020662
5. Pitano-Garcia A., Zalacain M., Marrodan L., San-Julian M., Sierrasesumaga L. Methotrexate in pediatric osteosarcoma: response and toxicity in relation to genetic polymorphisms and dihydrofolate reductase and reduced folate carrier 1 expression. *J Pediatr* 2009; 154(5): 688–693. DOI: 10.1016/j.jpeds.2008
6. Xiao X., Wang W., Zhang H., Gao P., Fan B., Huang C. et al. Individualized chemotherapy for osteosarcoma and identification of gene mutations in osteosarcoma. *Tumour Biol* 2015; 36(4): 2437–35. DOI: 10.1007/s13277-014-2853-5
7. Gorlick R., Huvos A.G., Heller G., Aledo A., Beardley G.P., Healey J.H. et al. Expression of HER2/erbB-2 Correlates

- With Survival in Osteosarcoma. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2781–2788. DOI: 10.1200/JCO.1999.17.9.2781
8. He A., Qi W., Huang Y., Feng T. CD133 expression predicts lung metastases and poor prognosis in osteosarcoma patients: a clinical and experimental study. *Exp Therap Med* 2012; 4: 435–441. DOI: 10.3892/etm.2012.603
 9. Rossi B., Schinzari G., Maccauro G., Scaramuzza L., Signorelli D., Rosa M. et al. Neoadjuvant multidrug chemotherapy including high-dose methotrexate modifies VEGF expression in osteosarcoma: an immunohistochemical analysis. *BMC Musculoskeletal Dis* 2010; .gov/pmc/articles/PMC2835659/pdf/1471-2474-11-34.pdf
 10. Tu B., Du L., Fan Q.M., Tang Z., Tang T. STAT3 activation by IL6 from mesenchymal stem cell promotes the proliferation and metastasis of osteosarcoma. *Cancer letters* 2012; 325: 80–88. DOI: 10.1016/j.canlet.2012.06.006
 11. Yang R., Qin J., Hoang B.H., Healey J., Gorlick R. Polymorphism and methylation of the reduced folate carrier in osteosarcoma. *Clin Orthoped Rel Res* 2008; 466: 2046–2051. DOI: 10.1007/s11999-008-0323-3
 12. Abarategi A., Tornin J., Martinez-Cruzado L., Hamilton A., Martinez-Campos E., Rodrigo J. et al. Osteosarcoma: cells of origin, cancer stem cells, and target therapies. *Stem Cells Inter* 2016; <https://www.hindawi.com/journals/sci/2016/3631764>
 13. Fan H., Liu G., Zhao C., Li X., Yang X. Transcription factor OCT4 promotes osteosarcoma by regulating IncRNAAK055347. *Oncol letters* 2017; 13: 396–402. DOI: 10.3892/ol.2016.5400
 14. Posthuma DeBoer J., van Royen B.J., Helder M.N. Mechanisms of therapy resistance in osteosarcoma: a review. *Oncol Discov* 2013; .
 15. Li J.J., Zhong X.Y., Li Z.Y., Cai J.F., Zou L., Li J.M. et al. CD133 expression in osteosarcoma and derivation of CD133 cells. *Mol Med Rep* 2013; 7: 577–584. DOI: 10.3892/mmr.2012.1231
 16. Tu B., Zhu J., Liu S., Wang L., Fan Q., Hao Y. et al. Mesenchymal stem cells promote osteosarcoma cell survival and drug resistance through activation of STAT3. *Oncotarget* 2016; 7(30): 48296–48308. DOI: 10.18632/oncotarget.10219
 17. Han G., Wang Y., Bi W. C-MYC overexpression promotes osteosarcoma cell invasion via activation of MEK-ERK pathway. *Oncol Res* 2012; 20: 149–156. DOI: 10.3727/096504012X1352227232237
 18. Wu X., Cai Z.D., Lou L.M., Zhu Y.B. Expressions of p53, C-MYC, BCL2 and apoptotic index in human osteosarcoma and their correlations with prognosis of patients. *Cancer Epidemiol* 2012; 36: 212–216. DOI: 10.1016/j.canep.2011.08.002
 19. Ohba T., Cates A.M.M., Cole H.A., Slosky D., Haro H., Ando T. et al. Autocrine VEGF/VEGFR1 signaling in a subpopulation of cell associates with aggressive osteosarcoma. *Mol Cancer Res* 2014; 12(8): 1100–1111. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0037
 20. Han K., Peyret T., Quartino A., Gosselin N. Bevacizumab dosing strategy in pediatric cancer patients based on population pharmacokinetic analysis with external validation. *Brit J Clin Pharmacol* 2015; 81: 148–160. DOI: 10.1111/bcp.12778
 21. Turner D.C., Navid F., Daw N.C., Mao S., Wu J., Santana V. et al. Population pharmacokinetics of bevacizumab in children with osteosarcoma: implications for dosing. *Clin Cancer Res* 2014; 20 (10): 2783–27924. DOI: 10.1158/1078-0432.
 22. Akatsuka T., Wada T., Kokai Y., Kawaguchi S., Isu K., Yamashiro K. et al. ErbB2 Expression Is Correlated with Increased Survival of Patients with Osteosarcoma. *Cancer* 2002; 94: 1397–404. DOI: 10.1002/cncr.10360
 23. Gorlick S., Barkauskas D.A., Krailo M., Piperdi S., Sowers R., Gill J. et al. HER-2 Expression is Not Prognostic in Osteosarcoma; A Children’s Oncology Group Prospective Biology Study. *Ped Blood Cancer* 2014; 61: 1558–1564. DOI: 10.1002/pbc.25074
 24. Ebb D., Holcombe G., Karen M., Bernstein M., Gorlick R., Lipshultz S. et al. Phase II Trial of Trastuzumab in Combination With Cytotoxic Chemotherapy for Treatment of Metastatic Osteosarcoma With Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Overexpression: A Report From the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol* 2012; 30(20): 2245–2551. DOI: 10.1200/JCO.2011.37.4546
 25. Akiyama T., Dass C.R., Choong P.F. Novel therapeutic strategy for osteosarcoma targeting osteoclast differentiation, bone-resorbing activity, and apoptosis pathway. *Mol Cancer Ther* 2008; 7(11): 3461–69. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0530
 26. Clezardin P., Benzaid I., Croucher P.I. Bisphosphonates in preclinical bone oncology. *Bone* 2011; 49: 66–70. DOI: 10.1016/j.bone.2010.11.017
 27. Lee J.A., Jung J.S., Kim D.H., Lim J.S., Kim M.S., Kong C.B. et al. RANKL Expression Is Related to Treatment Outcome of Patients With Localized, High-Grade Osteosarcoma. *Ped Blood Cancer* 2010; 56: 738–743. DOI: 10.1002/pbc.22720
 28. Li Z. Potential of human $\gamma\delta$ T cells for immunotherapy of osteosarcoma. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 427–437. DOI: 10.1007/s11033-012-2077-y
 29. Goldsby R.E., Fan T.M., Vallaluna D., Wagner L., Isakoff M., Meyer J. et al. Feasibility and dose discovery analysis of zoledronic acid with concurrent chemotherapy in the treatment of newly diagnosed metastatic osteosarcoma: A report from the Children’s Oncology Group. *Eur J Cancer* 2013; 49: 2384–2391. DOI: 10.1016/j.ejca.2013.03.018
 30. Piperno-Neumann S., Le Deley M.C., Redini F., Pacquement H., Marec-Berard P., Petit P. et al. Zoledronate in combination with chemotherapy and surgery to treat osteosarcoma (OS2006): a randomized, multicenter, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17(8): 1070–1080. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30096-1
 31. Meyers P. A., Healey J.H., Chou A.J., Wexler L.H., Meroia P.R., Morris C.D. et al. Addition of pamidronate to chemotherapy for the treatment of osteosarcoma. *Cancer* 2011; 117 (8): 1736–1744. DOI: 10.1002/cncr.25744
 32. Peng N., Gao S., Guo X. Silencing of VEGF inhibits human osteosarcoma angiogenesis and promotes cell apoptosis via VEGF/PI3K/AKT signaling pathway. *Amer J Transl Res* 2016; 8(2): 1005–1015.
 33. Takagi S., Ai T., Takami M., Oh-Hara T., Fujita N. Platelets promote osteosarcoma cell growth through activation of the platelet-derived growth factor receptor-AKT signaling axis. *Cancer Sci* 2014; 105(8): 983–988. DOI: 10.1111/cas.12464
 34. Shaikh A.B., Li F., Li M., He B., He X., Chen G. et al. Present advances and future perspectives of molecular target therapy for osteosarcoma. *Inter J Mol Sci* 2016; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2705853>
 35. Kansara M., Teng M.W., Smith M.J., Thomas D.M. Translational biology of osteosarcoma. *Nature Rev Cancer* 2014; 14: 722–735. DOI:10.1038/nrc3838
 36. Pignochino Y., Dell’Aglia C., Basiricò M., Capozzi F., Soster M., Marchio S. et al. The Combination of Sorafenib and Everolimus Abrogates mTORC1 and mTORC2 Upregulation in Osteosarcoma Preclinical Models. *Clin Cancer Res* 2013; 19 (8): 2117–31. DOI: 10.1158/1078-0432
 37. Grignani G., Palmerini E., Dileo P., Asaifei S.D. A phase II trial of sorafenib in relapsed and unresectable high-grade osteosarcoma after failure of standard multimodal therapy: an Italian Sarcoma Group study. *Ann Oncol* 2012; 23 (2): 508–516. DOI: 10.1093/annonc/mdr151
 38. Grignani G., Palmerini E., Ferraresi V., Bertulli R., Asaifei S.D., Tamburini A. et al. Sorafenib and everolimus for patients with unresectable high-grade osteosarcoma progressing after standard treatment: a non-randomised phase 2 clinical

- trial. *Lancet Oncol* 2015; 16: 98–107. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71136-2
39. Fedenko A., Senzhapova E., Aliev M. Everolimus/sorafenib combination in the treatment of pediatric osteosarcomas: single center experience. *J Clin Oncol* 2016; 34(suppl): e22501.
40. Meyers P.A., Schwartz C.L., Krailo M.D., Healye J.H., Bernstein M.L., Betcher D. et al. Osteosarcoma: the addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival – a report from the Children’s Oncology Group. *Journal of clinical oncology*. 2008; 28 (9): 633–638. DOI: 10.1200/JCO.2008.14.0095
41. Ando K., Mori K., Corradini N., Redini F. Mifamurtide for the treatment of nonmetastatic osteosarcoma. *Expert Opin Pharmacother* 2011; 12: 285–292. DOI: 10.1517/14656566.2011.543129
42. Kubo T., Shimose S., Matsuo T., Fujimori J., Arihiro K., Ochi M. et al. Interferon- α/β receptor as a prognostic marker in osteosarcoma. *J Bone Joint Surg Am* 2011; 93: 519–526. DOI: 10.2106/JBJS.J.00198
43. Bielack S.S., Smeland S., Whelan J.S., Marina N., Jovic G., Hook J.M. et al. Methotrexate, doxorubicin and cisplatin (MAP) plus maintenance pegylated interferon α -2b versus MAP alone in patients with resectable high-grade osteosarcoma and good histologic response to preoperative MAP: first results of the EURAMOS1 Good response Randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2015; 33 (20): 2279–2287. DOI: 10.1200/JCO.2014.60.0734

Поступила: 24.12.18

Received on: 2018.12.24

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.