

Трансформація аденокарциноми в дрібноклітинний рак легенів як один із механізмів набутої резистентності до анти-EGFR інгібіторів тирозинкінази

О. О. Ковальов¹*, О. П. Толок², К. О. Ковальов¹

¹Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна, ²Медичний онкологічний центр «Юліс», м. Запоріжжя, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключові слова: аденокарцинома легені, дрібноклітинний рак легенів, трансдиференціювання клітини, інгібітори тирозинкінази, резистентність.

Патологія. 2024. Т. 21, № 1(60). С. 84-88

*E-mail: Kovalev.onco@gmail.com

Трансформація аденокарциноми в дрібноклітинний рак легені (ДКРЛ) є рідкісною та унікальною біологічною властивістю ракової клітини, що відповідає за механізм набутої резистентності до EGFR-інгібіторів тирозинкінази.

У фаховій літературі описано дуже мало клінічних спостережень фенотипічної клітинної трансформації під час метастатичної прогресії раку легені.

Мета роботи – описати клінічне спостереження фенотипічної трансформації метастатичної EGFR-мутованої аденокарциноми в дрібноклітинний рак легені з нейроендокринною диференціацією під час терапії інгібіторами тирозинкінази.

Клінічний випадок. Зважаючи на рідкісність цього біологічного феномена, наведено власне спостереження трансформації EGFR-мутованої метастатичної аденокарциноми в ДКРЛ з нейроендокринною диференціацією, що відбулася у 42-річної жінки під час лікування гефітінібом.

Висновки. Трансформація та зміна фенотипу клітин у процесі терапії інгібітором тирозинкінази була причиною резистентності та невдачі наступного лікування осимертинібом у другій лінії. Зробили висновок про необхідність враховувати цей механізм резистентності у клінічній практиці та виконувати повторні біопсії під час метастатичної прогресії у хворих з EGFR-мутованою аденокарциномою легені.

Keywords: lung adenocarcinoma, small cell lung cancer, cell transdifferentiation, tyrosine kinase inhibitors, resistance.

Pathologia. 2024;21(1):84-88

Transformation of adenocarcinoma into small cell lung cancer as one of the mechanisms of acquired resistance to anti-EGFR tyrosine kinase inhibitors

O. O. Kovalov, O. P. Tolok, K. O. Kovalov

Transformation of adenocarcinoma into small cell lung cancer (SCLC) is a rare and unique biological property of a cancer cell that is responsible for the mechanism of acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors.

There are very few clinical observations of phenotypic cellular transformation during metastatic progression of lung cancer in the literature.

The aim of the work is to demonstrate clinical observation of phenotypic transformation of metastatic EGFR-mutated adenocarcinoma into small cell lung cancer with neuroendocrine differentiation during therapy with tyrosine kinase inhibitors.

Case report. Due to the rarity of this biological phenomenon, we describe our own observation of the transformation of EGFR-mutated metastatic adenocarcinoma into DCLC with neuroendocrine differentiation, which occurred in a 42-year-old woman during treatment with gefitinib.

Conclusions. Transformation and changes in cell phenotype during tyrosine kinase inhibitor therapy were the cause of resistance and failure of further treatment with osimertinib in the second line. It was concluded that it is necessary to consider this mechanism of resistance in clinical practice and to perform repeat biopsies during metastatic progression in patients with EGFR-mutated lung adenocarcinoma.

Недрібноклітинний (НДКРЛ) і дрібноклітинний (ДКРЛ) раки легенів є різними злжякісними захворюваннями зі специфічним фенотипом і молекулярним профілем. Разом із тим, ці форми раку можуть виникати синхронно та метакронно в одного і того самого пацієнта; це свідчить про наявність спільних стовбурових плюрипотентних клітин походження [1,2].

Синхронні комбіновані раки легенів, у яких спочатку визначають спонтанну суміш компонентів дрібноклітинної та недрібноклітинної карциноми, діагностують рідко – від 1,0 % до 3,2 % усіх випадків. Очевидно, вони пов'язані з мутованим статусом EGFR [3].

Можливо, метакронна поява клітин із новим фенотипом у результаті процесу трансдиференціювання відбувається частіше, ніж вважають, проте така трансформація залишається недіагностованою через відсутність рутинної практики виконання повторних біопсій.

Трансформація аденокарциноми в ДКРЛ є унікальною біологічною властивістю ракової клітини, що відповідає за механізм набутої резистентності до EGFR-інгібіторів тирозинкінази [4].

У доступній науковій літературі наведено дуже мало описів клінічних спостережень фенотипічної

трансформації [5]. Найбільша серія спостережень трансдиференціювання аденокарциноми до дрібноклітинного раку легень зареєстрована в Республіці Корея в 2016 році та включала лише шість випадків [6].

Зважаючи на рідкісність цього біологічного феномена, наводимо власне спостереження трансформації EGFR-мутованої метастатичної аденокарциноми в ДКРЛ із нейроендокринною диференціацією, оскільки це має не тільки теоретичне, але й конкретне практичне значення для клінічної онкології.

Мета роботи

Описати клінічне спостереження фенотипічної трансформації метастатичної EGFR-мутованої аденокарциноми в дрібноклітинний рак легень з нейроендокринною диференціацією під час терапії інгібіторами тирозинкінази.

Матеріали і методи дослідження

Пацієнт перебував на лікуванні у Медичному онкологічному центрі «Юліс», який є базою кафедри онкології та онкохірургії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Морфологічні й імуногістохімічні дослідження виконали в патоморфологічній лабораторії OncoLab-Ulis (м. Запоріжжя, ліцензія № М11-21 від 29.03.2021 року). Онкогенні мутації виявляли в молекулярно-генетичній лабораторії CSD (м. Київ, ліцензія № 526963).

Морфологічні дослідження біопсійного матеріалу здійснили за допомогою забарвлення гематоксиліном та еозином.

Для імуногістохімічного дослідження використали антитіла Cytokeratin 7 (DAKO, клон OV-TL 12/30), Thyroid Transcription Factor (TTF-1) – Diagnostic BioSystems, клон 8G7G3/1, Synaptophysin (DAKO, клон DAK-SYNAP) та Chromogranin BioSystems (клон LK2H10).

Клінічний випадок

У травні 2022 року після радіологічного обстеження 42-річної жінки, яка ніколи не курила, але мала характерні симптоми (біль у грудній клітці, задишка, слабкість), діагностовано периферичну пухлину правої легень діаметром 5,0 см із поширенням на парієтальну плевру. Також були ознаки ураження медіастинальних лімфатичних вузлів. Отже, за класифікацією TNM 8 версії у хворої діагностована IV стадія захворювання.

Хірургічна біопсія, проведена під контролем торакоскопії, виявила аденокарциному ацинарної будови. Це підтверджено за даними морфологічного (забарвлення гематоксиліном та еозином) та імуногістохімічного (забарвлення на цитокератин-7 та TTF-1) досліджень (рис. 1, 2, 3).

Морфологічні й імуногістохімічні маркери (Cytokeratin 7 та TTF-1) свідчать про наявність аденокарциноми легень. За результатами ІГХ-дослідження, пухлина PD-L1 негативна. Під час молекулярного дослідження, що здійснили на парафінових блоках, виявлено делецію гена EGFR в 19 екзоні.

Протягом 7 місяців хвора отримувала інгібітор тирозинкінази гефїтиніб у дозі 250 мг на добу. Після клінічного та радіологічного рецидиву розпочато терапію осимертинібом у дозі 80 мг на добу. У другій лінії терапії ефекту від інгібітора тирозинкінази не було – метастатичну прогресію виявили через 2 місяці лікування за виникненням метастазів у лівій легень.

Повторна біопсія нових осередків із морфологічним та ІГХ-дослідженням підтвердила наявність трансформації аденокарциноми у дрібноклітинний рак легень з нейроендокринною диференціацією (рис. 4, 5, 6).

У крові хворої виявлено численні циркулюючі пухлинні клітини, цитологічно ідентичні дрібноклітинній карциномі (рис. 5).

Морфологічні й імуногістохімічні маркери у повторній біопсії свідчили про трансформацію аденокарциноми легень ацинарної будови у дрібноклітинну карциному з нейроендокринною диференціацією.

У грудні 2023 року пацієнтка одержує терапію комбінацією карбоплатину й етопозиду з задовільним ефектом.

Обговорення

Пухлини з одночасною комбінованою гістологією аденокарциноми, плоскоклітинного та дрібноклітинного раку легень можуть виникати спонтанно (синхронний варіант хвороби) або з'являтися як результат клітинної трансформації (метахронний варіант хвороби).

Трансдиференціювання – епігенетичний процес, що полягає у втраті клітиною початкових і набутті нових фенотипічних ознак. Природна спонтанна клітинна трансформація – рідкісна подія, що відбувається в окремих дуже специфічних випадках, переважно пов'язаних із прискореним ростом і регенерацією тканин [7]. Механізми, що лежать в основі цього явища, остаточно не з'ясовано і, ймовірно, пов'язані з багатьма генетичними змінами в стовбурових ракових клітинах.

Додаткові фенотипічні властивості *de novo* набувають тільки клітини-попередники, оскільки лише вони здатні досягати трансдиференціювання завдяки своїй пластичності [8].

Усе більшого поширення набуває гіпотеза про існування спільних клітин-попередників аденокарциноми та дрібноклітинної карциноми легень.

Загалом трансформація клітин аденокарциноми легень може відбуватися шляхом трансдиференціювання в плоскоклітинний рак або в дрібноклітинну карциному. Так, відомо про здатність альвеолярних клітин II типу започатковувати і плоскоклітинну карциному, й аденокарциному з мутацією EGFR [9, 10].

Результати досліджень підтверджують: ДКРЛ виникає в результаті клональної дивергентної еволюції, що відбувається на ранній стадії аденокарциноми легень. Цей процес пов'язують із наявністю мутацій у гені EGFR [11].

Гістологічна трансформація аденокарциноми з мутантним варіантом гена EGFR у плоскоклітинний рак легень вперше описана у 2006 році у 45-річної жінки на фоні лікування ерлотинібом. Це спостереження є

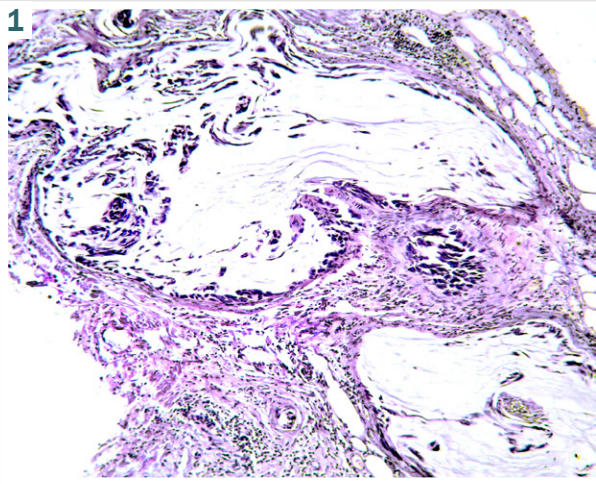


Рис. 1. Аденокарцинома легень ацинарної будови (гематоксилін та еозин, $\times 100$).

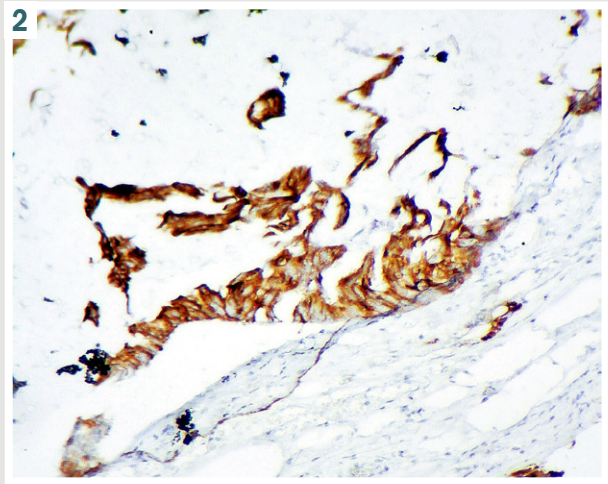


Рис. 2. Імуногістохімічне забарвлення на Cytokeratin 7 (DAKO, клон OV-TL 12/30) $\times 200$, позитивне мембранно-цитоплазматичне забарвлення.

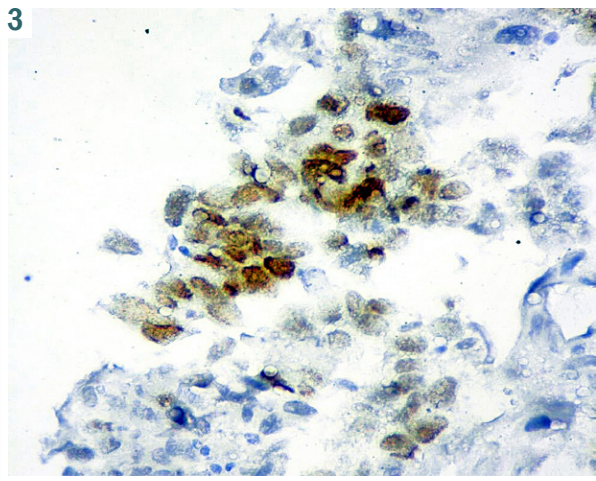


Рис. 3. Імуногістохімічне забарвлення на Thyroid Transcription Factor (TTF-1) – Diagnostic BioSystems, клон 8G7G3/1, $\times 400$, позитивне ядерне забарвлення.

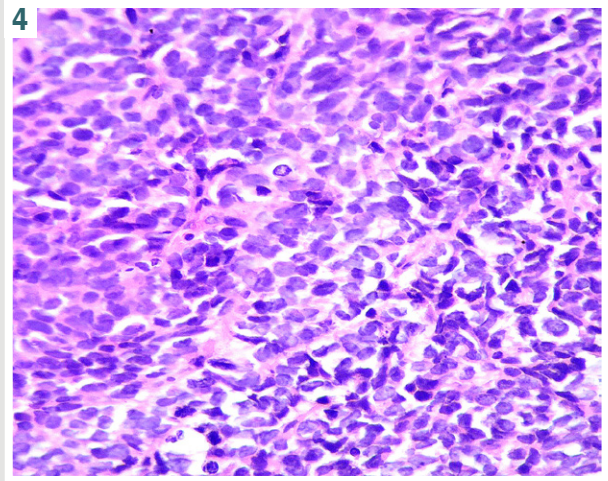


Рис. 4. Дрібноклітинна карцинома легені (гематоксилін та еозин, $\times 400$).

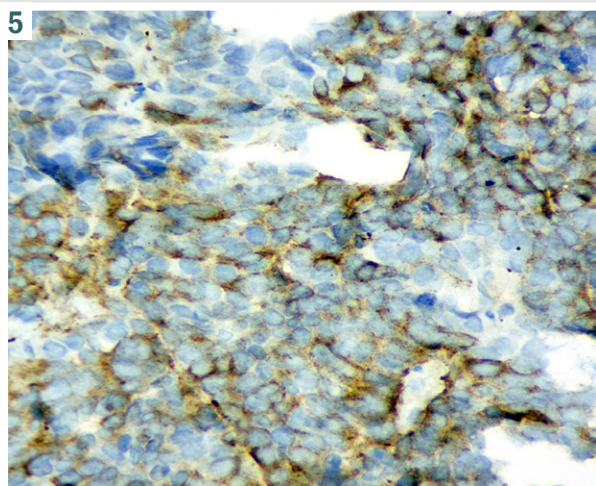


Рис. 5. Імуногістохімічне забарвлення на Synaptophysin (DAKO, клон DAK-SYNAP), $\times 400$, позитивне цитоплазматичне забарвлення.

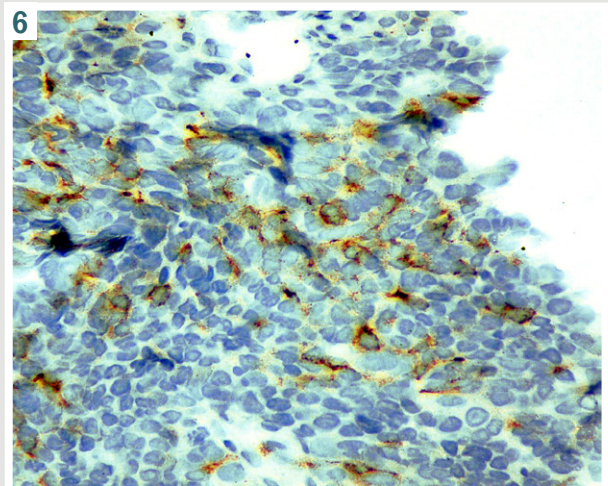


Рис. 6. Імуногістохімічне забарвлення на Chromogranin A (Diagnostic BioSystems, клон LK2H10), $\times 400$, позитивне цитоплазматичне забарвлення.

першим рідкісним прикладом механізму набутої резистентності до інгібіторів тирозинкінази, що виникає майже у 3 % випадків [12].

На відміну від НДКРЛ, онкогенні мутації EGFR, що активують, при ДКРЛ дуже рідкісні та в рутинній клінічній практиці не потребують визначення. У трьох дослідженнях повідомляли про частоту цих мутацій у хворих на ДКРЛ в 2,6 % (n = 2), 4 % (n = 5) та 5 % (n = 2) випадків. Майже завжди хворі – жінки, які ніколи не курили [13,14].

Роль онкогенних мутацій у прогресуванні раку легені дуже важлива. Відомо, що мутації гена EGFR при аденокарциномі легені активують тирозинкіназу навіть без ліганда. Більшість (75–90 %) цих мутацій перебувають у екзонах 18–21. Найчастіше – це делеції в екзоні 19 і мутації L858R в екзоні 21. Пацієнти з такими мутаціями будуть чутливими до терапії гефітінібом, однак у всіх, хто спочатку відповів на лікування, протягом 12 місяців виникне резистентність, почнеться нове прогресування захворювання [15].

Механізми резистентності до інгібіторів тирозинкінази зазвичай пов'язують з еволюцією аденокарциноми та виникненням нових мутацій (загалом описано майже 10 в одній пухлині). Найчастіше виявляють мутації PIK3CA, MET, HER2, BRAF, AXL, що активують. Втім, у 50 % хворих визначають нові мутації кіназного домену EGFR в екзоні 20 (мутація Thr790Met або T790M) [16]. Це рідкісна первинна мутація у клітинах аденокарциноми легені, проте її частота збільшується до 60 % при рецидивах після використання інгібіторів тирозинкінази першого покоління (гефітініб та ерлотиніб) [17].

Розвиток резистентності можуть спричинити також епігенетичні механізми, що включають аутофагію, епітеліально-мезенхімальний перехід, убіквітування та трансдиференціювання клітин.

Отже, існують численні причини набутої резистентності під час лікування анти-EGFR терапією. Але передусім слід визначити два можливі механізми: появу нової мутації EGFR T790M і розвиток метакронної трансформації аденокарциноми у ДКРЛ, що може відбутися в середньому в термін до 12 місяців [18].

Актуальним залишається питання про те, чи впливає гефітініб на трансдиференціювання аденокарциноми у ДКРЛ, чи ця трансформація може бути природною, без участі інгібіторів тирозинкінази.

Доведено, що зазвичай при клітинній трансформації ті самі мутації EGFR (делеція екзону 19 або мутація L858R в екзоні 21) виявляють в компонентах і аденокарциноми, і ДКРЛ.

В окремих дослідженнях [19] під час аналізу зразків тканин пухлини, рефрактерної до інгібіторів EGFR, трансформація аденокарциноми в дрібноклітинний рак легені виявлена майже у 14 % випадків. Однак загалом поширеність цього механізму резистентності оцінити складно, оскільки в усіх пацієнтів із пухлинною прогресією ребіопсію осередків зазвичай не виконують.

Геномний аналіз показав, що мутації EGFR, RB1, TP53 та MYC, що спочатку були виявлені при аденокарциномі, зберігаються і при ДКРЛ.

Біологічні механізми, що лежать в основі трансформації аденокарциноми в ДКРЛ, досі не відомі [20]. Подібне трансдиференціювання є рідкісною причиною набутої резистентності до анти-EGFR терапії, проте цю імовірність завжди слід враховувати під час лікування інгібіторами тирозинкінази. Виявлення можливого трансдиференціювання клітин дуже важливе, оскільки повністю змінює стратегію наступної протипухлинної терапії.

Слід пам'ятати, що після пункційної біопсії пухлини підтвердження факту трансформації відбувається рідко. Разом із тим, після хірургічної ексцизійної біопсії наявність трансдиференціювання у зразках тканин підтверджується майже на 25 % частіше.

Висновки

1. Біологічний феномен трансдиференціювання ракових клітин характерний для аденокарциноми легені із мутаціями EGFR. Це рідкісний, але реальний механізм терапевтичної резистентності до інгібіторів тирозинкінази.

2. Можливість гістологічної трансформації НДКРЛ у ДКРЛ слід припускати в усіх випадках клінічного та радіологічного прогресування захворювання після лікування хворих гефітінібом, ерлотинібом або осимертинібом. Комбіновані пухлини з дрібноклітинним і дрібноклітинним компонентами завжди слід тестувати на наявність мутацій EGFR.

3. Після прогресування захворювання пацієнтам із діагнозом НДКРЛ і мутацією EGFR необхідно виконувати повторні біопсії.

Перспективи подальших досліджень полягають у виконанні повного геномного секвенування (NGS) тканини пухлини під час фенотипічної трансформації ракових клітин.

Фінансування

Фінансування наукової роботи здійснене завдяки Благодійній організації «Благодійний фонд «Світ проти раку», ЄДРПОУ 44711449.

Подяки

Автори висловлюють подяку співробітникам лабораторії CSD за виконання молекулярних досліджень щодо виявлення делеції гена EGFR.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 08.02.2024

Після доопрацювання / Revised: 21.02.2024

Схвалено до друку / Accepted: 26.02.2024

Відомості про авторів:

Ковальов О. О., д-р мед. наук, професор, зав. каф. онкології та онкохірургії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-8191-3132

Толок О. П., зав. патологічного відділення, Медичний онкологічний центр «Юліс», м. Запоріжжя, Україна.

ORCID ID: 0009-0000-7832-912X

Ковальов К. О., канд. мед. наук, асистент каф. загальної хірургії та післядипломної хірургічної освіти Навчально-наукового інституту післядипломної освіти, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
ORCID ID: 0009-0009-2232-3429

Information about authors:

Kovalov O. O., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncology and Oncosurgery, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Tolok O. P., Head of the Pathology Department, Medical Oncology Center "Ulis", Zaporizhzhia, Ukraine.

Kovalov K. O., MD, PhD, Assistant of the Department of General Surgery and Postgraduate Surgical Education, Educational and Scientific Institute of Postgraduate Education, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Small Cell Lung Cancer in Patients With Brain Metastases: The GAP BRAIN Open-Label, Randomized, Multicenter, Phase 3 Study. *JAMA Netw Open*. 2023;6(2):e2255050. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.55050

18. Bai W, Zhen C, Zhang R, Yu W, Zhou Z. Clinicopathological features of patients with transformation from EGFR mutant lung adenocarcinoma to small cell lung cancer. *Transl Cancer Res*. 2021;10(8):3694-704. doi: 10.21037/tcr-21-653
19. Ahmed T, Vial MR, Ost D, Stewart J, Hasan MA, Grosu HB. Non-small cell lung cancer transdifferentiation into small cell lung cancer: A case series. *Lung Cancer*. 2018;122:220-3. doi: 10.1016/j.lungcan.2018.06.024
20. Sato Y, Saito G, Fujimoto D. Histologic transformation in lung cancer: when one door shuts, another opens. *Ther Adv Med Oncol*. 2022;14:17588359221130503. doi: 10.1177/17588359221130503

References

1. Zeng C, Qiu G, Xie X, Liu T, Chen Z, Zhang X, et al. Combined small cell lung cancer: current progress and unmet needs. *Am J Cancer Res*. 2023;13(9):3864-74.
2. Ullah A, Saeed O, Karki NR, Goodbee M, Yasinza AQK, Waheed A, et al. Clinicopathological and Treatment Patterns of Combined Small-Cell Lung Carcinoma with Future Insight to Treatment: A Population-Based Study. *J Clin Med*. 2023;12(3):991. doi: 10.3390/jcm12030991
3. He J, Xu S, Pan H, Li S, He J. Treatments for combined small cell lung cancer patients. *Transl Lung Cancer Res*. 2020;9(5):1785-94. doi: 10.21037/tlcr-20-437
4. Nishimatsu K, Minami S, Ihara S, Yasuoka H. Transformation From Adenocarcinoma to Pleomorphic Carcinoma as an Acquired Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Med Cases*. 2021;12(8):310-4. doi: 10.14740/jmc3710
5. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, Sage J. Small-cell lung cancer. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):3. doi: 10.1038/s41572-020-00235-0
6. Ahn S, Hwang SH, Han J, Choi YL, Lee SH, Ahn JS, et al. Transformation to Small Cell Lung Cancer of Pulmonary Adenocarcinoma: Clinicopathologic Analysis of Six Cases. *J Pathol Transl Med*. 2016;50(4):258-63. doi: 10.4132/jptm.2016.04.19
7. Khan P, Siddiqui JA, Maurya SK, Lakshmanan I, Jain M, Ganti AK, et al. Epigenetic landscape of small cell lung cancer: small image of a giant recalcitrant disease. *Semin Cancer Biol*. 2022;83:57-76. doi: 10.1016/j.semcancer.2020.11.006
8. Osman A, Afify SM, Hassan G, Fu X, Seno A, Seno M. Revisiting Cancer Stem Cells as the Origin of Cancer-Associated Cells in the Tumor Microenvironment: A Hypothetical View from the Potential of iPSCs. *Cancers (Basel)*. 2020;12(4):879. doi: 10.3390/cancers12040879
9. Sainz de Aja J, Dost AFM, Kim CF. Alveolar progenitor cells and the origin of lung cancer. *J Intern Med*. 2021;289(5):629-35. doi: 10.1111/joim.13201
10. Shao Y, Zhong DS, Guan SS. Histologic transformation of lung adenocarcinoma to squamous cell carcinoma after chemotherapy: two case reports. *Transl Cancer Res*. 2020;9(1):388-93. doi: 10.21037/tcr.2019.11.34
11. Drapkin BJ, Rudin CM. Advances in Small-Cell Lung Cancer (SCLC) Translational Research. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2021;11(4):a038240. doi: 10.1101/cshperspect.a038240
12. Zakowski MF, Ladanyi M, Kris MG; Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Lung Cancer OncoGenome Group. EGFR mutations in small-cell lung cancers in patients who have never smoked. *N Engl J Med*. 2006;355(2):213-5. doi: 10.1056/NEJM053610
13. Ham JS, Kim S, Kim HK, Byeon S, Sun JM, Lee SH, et al. Two Cases of Small Cell Lung Cancer Transformation from EGFR Mutant Adenocarcinoma During AZD9291 Treatment. *J Thorac Oncol*. 2016;11(1):e1-4. doi: 10.1016/j.jtho.2015.09.013
14. Ahn S, Hwang SH, Han J, Choi YL, Lee SH, Ahn JS, et al. Transformation to Small Cell Lung Cancer of Pulmonary Adenocarcinoma: Clinicopathologic Analysis of Six Cases. *J Pathol Transl Med*. 2016;50(4):258-63. doi: 10.4132/jptm.2016.04.19
15. Wu PS, Lin MH, Hsiao JC, Lin PY, Pan SH, Chen YJ. EGFR-T790M Mutation-Derived Interactome Rerouted EGFR Translocation Contributing to Gefitinib Resistance in Non-Small Cell Lung Cancer. *Mol Cell Proteomics*. 2023;22(9):100624. doi: 10.1016/j.mcpro.2023.100624
16. Majem M, Sullivan I, Viteri S, López-Vivanco G, Cobo M, Sánchez JM, et al. First-line osimertinib in patients with epidermal growth factor receptor-mutant non-small-cell lung cancer and with a coexisting low allelic fraction of Thr790Met. *Eur J Cancer*. 2021;159:174-81. doi: 10.1016/j.ejca.2021.09.039
17. Hou X, Li M, Wu G, Feng W, Su J, Jiang H, et al. Gefitinib Plus Chemotherapy vs Gefitinib Alone in Untreated EGFR-Mutant Non-