

DOI: 10.17650/2222-1468-2021-11-1-78-85



# Мутационный профиль папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток: результаты анализа 5 случаев с использованием широкопанельного таргетного секвенирования

И.Л. Плакса<sup>1, 2</sup>, М.Р. Савчук<sup>2, 3</sup>, Н.В. Швед<sup>4</sup>, Н.А. Савелов<sup>5</sup>, Д.Н. Хмелькова<sup>2</sup>, А.А. Исаев<sup>2</sup>, Р.В. Деев<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ «Ленинградский областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 191014 Санкт-Петербург, Литейный проспект, 37;

<sup>2</sup>ООО Центр генетики и репродуктивной медицины «Генетико»; Россия, 119333 Москва, ул. Губкина, 3, корп. 1;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; Россия, 390026 Рязань, ул. Высоковольная, 9;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России; Россия, 191015 Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41;

<sup>5</sup>ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница №62 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, Московская область, Красногорский р-н, п/о Степановское, 143423 Истра, 27

**Контакты:** Мария Руслановна Савчук savchuk@genetico.ru

**Цель исследования** – оценить мутационный профиль случаев папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток.

**Материалы и методы.** Основным критерием включения в группу анализа было наличие высококлеточного компонента в количестве не менее 30 % от общего объема опухоли. Генетическое исследование выполнялось с использованием диагностического теста FoundationOne CDx (США) со средней глубиной покрытия >500x. В исследование было включено 5 пациентов (1 мужчина и 4 женщины, средний возраст 52,6 года (48–56 лет)). Размеры опухоли варьировали от 0,4 × 0,5 до 11,0 × 9,0 см. Все пациенты получали оперативное лечение, у пациента №1 ввиду небольшого размера узла была выполнена гемитиреоидэктомия (pT1b), у пациента 2 – тиреоидэктомия (pT3b), у пациентов №3, 4 и 5 – расширенная тиреоидэктомия с удалением паратрахеальной клетчатки (№3 – pT3bN0; №4 – pT3bN1b; №5 – pT3bN1b). У 3 из 5 пациентов фоновым заболеванием был аденоматозный зоб. Наблюдение за пациентами продолжалось от 3,4 до 5,2 года.

**Результаты.** Опухоли всех пациентов характеризовались низкой мутационной нагрузкой – от 0 до 4 мутаций на 1 млн нуклеотидов (мегабазу) и отсутствием микросателлитной нестабильности. У всех пациентов была выявлена мутация p.V600E в гене *BRAF*, у 2 пациентов была обнаружена мутация в промоторе гена *TERT* с.-124C>T. У всех пациентов были выявлены мутации с неизвестным клиническим значением: p.V562I в гене *EPHB1* (у 2 пациентов); мутации в генах *AR*, *CREBBP*, *EP300*, *ERCC4*, *FLT1*, *IKBKE*, *JAK2*, *MAF*, *MLL2*, *MST1R*, *MYC*, *MYCL1*, *NTRK2*, *TSC2* (каждая из мутаций – у 1 пациента). У одного из пациентов с наибольшим размером опухоли и наиболее агрессивным течением были обнаружены амплификации генов *BTG2*, *MAP3K1*, *SMAD2*, *TBX3*.

**Заключение.** В 5 изученных случаях мутационный профиль папиллярного рака из высоких клеток характеризуется низкой мутационной нагрузкой, отсутствием микросателлитной нестабильности и наличием во всех случаях мутации p.V600E гена *BRAF*, которая у части пациентов сочеталась с мутацией с.-124C>T в гене *TERT* и p.V562I в гене *EPHB1*.

**Ключевые слова:** папиллярный рак щитовидной железы из высоких клеток, *BRAF*, *TERT*, *EPHB1*, Foundation One

**Для цитирования:** Плакса И.Л., Савчук М.Р., Швед Н.В. и др. Мутационный профиль папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток: результаты анализа 5 случаев с использованием широкопанельного таргетного секвенирования. Опухоли головы и шеи 2021;11(1):78–85.

## Mutation profile of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: analysis of 5 cases using wide-panel next-generation sequencing

I.L. Plaksa<sup>1, 2</sup>, M.R. Savchuk<sup>2, 3</sup>, N.V. Shved<sup>4</sup>, N.A. Savelov<sup>5</sup>, D.N. Khmelkova<sup>2</sup>, A.A. Isaev<sup>2</sup>, R.V. Deev<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Leningrad Regional Clinical Oncological Dispensary; 37 Liteyny Ave., St. Petersburg 191014, Russia;

<sup>2</sup>Center of Genetics and Reproductive Medicine "Genetico"; Bld. 1, 3 Gubkina St., Moscow 119333, Russia;

<sup>3</sup>I.P. Pavlov Ryazan State Medical University, Ministry of Health of Russia; 9 Vysokovolt'naya St., Ryazan 390026, Russia;

<sup>4</sup>North-Western State Medical University n. a. I.I. Mechnikov, Ministry of Health of Russia; 41 Kirochnaya St., St. Petersburg 191015, Russia;

<sup>5</sup>Moscow City Oncological Hospital No. 62, Moscow Healthcare Department; 27, Istra 143423, Stepanovskoye Silt, Krasnogorsky Dstr., Moscow Region, Russia

**Contacts:** Maria Ruslanovna Savchuk savchuk@genetico.ru

**The study objective** is to analyze the mutation profile of the tall cell variant (TCV) of papillary thyroid carcinoma (PTC).

**Materials and methods.** The main inclusion criteria according to the WHO classification (2017) was PTC composed of at least 30 % of tall cells. Genetic examination was conducted using the FoundationOne CDx assay (USA) with median depth of coverage of >500x. This study included 5 patients (1 man and 4 women) with a mean age of 52.6 years (range: 48–56 years). The tumor size varied between 0.4 × 0.5 cm and 11.0 × 9.0 cm. All patients have undergone surgical treatment: hemithyroidectomy for patient No. 1 with a small tumor (pT1b); thyroidectomy for patient No. 2 (pT3b); extensive thyroidectomy with the removal of paratracheal tissue for patients No. 3, 4, and 5 (No. 3 – pT3bN0; No. 4 – pT3bN1b; No. 5 – pT3bN1b). Three out of the five patients also had adenomatous goiter. The mean follow-up time was 3.4 to 5.2 years.

**Results.** Tumors in all patients were characterized by low mutational load (0 to 4 mutations per 1 million nucleotides (megabase)) and no microsatellite instability. All study participants were found to have p.V600E mutation in the *BRAF* gene; two patients had c.-124C>T mutation in the promoter region of the *TERT* gene. All patients carried mutations with unknown clinical significance: p.V562I in the *EPHB1* gene (in 2 patients); mutations in the genes *AR*, *CREBBP*, *EP300*, *ERCC4*, *FLT1*, *IKBKE*, *JAK2*, *MAF*, *MLL2*, *MST1R*, *MYC*, *MYCL1*, *NTRK2*, *TSC2* (each mutation registered in one patient). One individual with the largest tumor and the most aggressive disease was found to have amplifications of the *BTG2*, *MAP3K1*, *SMAD2*, and *TBX3* genes.

**Conclusion.** In 5 patients analyzed in this study, the mutation profile of TCV PTC was characterized by low mutational load, no microsatellite instability, and presence of p.V600E mutation in the *BRAF* gene in all cases. Some patients also had c.-124C>T mutation in the *TERT* gene and p.V562I mutation in the *EPHB1* gene.

**Key words:** tall cell variant of papillary thyroid carcinoma, *BRAF*, *TERT*, *EPHB1*, Foundation One

**For citation:** Plaksa I.L., Savchuk M.R., Shved N.V. et al. Mutation profile of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma: analysis of 5 cases using wide-panel next-generation sequencing. *Opuholi golovy i shei = Head and Neck Tumors* 2021;11(1):78–85. (In Russ.).

## Введение

Папиллярный рак из высоких клеток составляет от 3,7 до 8,0 % случаев папиллярного рака щитовидной железы (ЩЖ). Выделение папиллярного рака из высоких клеток основано на морфологических критериях, согласно которым высота клеток должна быть в 2–3 раза больше ширины, а компонент из высоких клеток составляет не менее 30 % от общего объема опухоли [1]. По данным метаанализа, этот гистологический вариант имеет менее благоприятный прогноз по сравнению с классическим папиллярным раком, что проявляется большей вероятностью рецидива, частотой регионарных и отдаленных метастазов на момент постановки диагноза [2]. Морфологически рак ЩЖ из высоких клеток достоверно чаще ассоциирован с инвазией в капсулу ЩЖ и сосудистой инвазией [3].

Молекулярно-генетические причины более агрессивных биологических свойств папиллярного рака ЩЖ из высоких клеток остаются малоизученными. В отдельных исследованиях показано, что при этой форме достоверно чаще встречаются мутации в гене *BRAF*, среди которых преобладает вариант V600E [4]. В то же время наличие одной этой мутации при папиллярном раке ЩЖ не ассоциировано с клинической стадией,

мультицентричностью и риском рецидива [5]. В отдельных исследованиях было показано, что 2-й по распространенности мутацией при папиллярном раке ЩЖ из высоких клеток является мутация в промоторе гена *TERT* [6]. Есть мнение, что это обеспечивает увеличение экспрессии *TERT*, что сопровождается активацией теломеразы и приобретением иммортализации клетки [6]. С целью уточнения природы более агрессивных свойств папиллярного рака ЩЖ из высоких клеток нами было проведено исследование с применением комплексного генетического профилирования опухолей пациентов с раком ЩЖ из высоких клеток.

**Цель исследования** — оценить мутационный профиль 5 случаев папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток.

## Материалы и методы

Исследование проводилось на архивном материале, полученном от пациентов с папиллярным раком ЩЖ с 2012 по 2019 г. и хранившемся в патологоанатомическом отделении Московской городской онкологической больницы № 62. Основным критерием включения в группу анализа было наличие компонента из высоких клеток, который, согласно классификации Всемирной

организации здравоохранения (2017), должен занимать не менее 30 % от общей площади среза опухоли. Высота клеток при этом должна быть в 2–3 раза больше ширины. С целью объективизации размера компонента из высоких клеток выполнялась гистоморфометрия оцифрованных гистологических препаратов при помощи программы Aperio ImageScope 12.1 (США).

После получения информированного согласия пациентов выполнялось молекулярно-генетическое исследование на материале парафиновых блоков с использованием диагностического теста FoundationOne CDx, который одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration). В ходе исследования проводилось секвенирование ДНК нового поколения со средней глубиной покрытия >500х с целью выявления однонуклеотидных замен, инсерций, делеций, а также изменения копийности в генах *ABL1*, *ACVR1B*, *AKT1*, *AKT2*, *AKT3*, *ALK*, *ALOX12B*, *AMER1* (*FAM123B*), *APC*, *AR*, *ARAF*, *ARFRP1*, *ARID1A*, *ASXL1*, *ATM*, *ATR*, *ATRX*, *AURKA*, *AURKB*, *AXIN1*, *AXL*, *BAP1*, *BARD1*, *BCL2*, *BCL2L1*, *BCL2L2*, *BCL6*, *BCOR*, *BCORL1*, *BRAF*, *BRCA1*, *BRCA2*, *BRD4*, *BRIP1*, *BTG1*, *BTG2*, *BTK*, *C11orf30* (*EMSY*), *C17orf39* (*GID4*), *CALR*, *CARD11*, *CASP8*, *CBFB*, *CBL*, *CCND1*, *CCND2*, *CCND3*, *CCNE1*, *CD22*, *CD274* (*PD-L1*), *CD70*, *CD79A*, *CD79B*, *CDC73*, *CDH1*, *CDK12*, *CDK4*, *CDK6*, *CDK8*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *CDKN2C*, *CEBPA*, *CHEK1*, *CHEK2*, *CIC*, *CREBBP*, *CRKL*, *CSF1R*, *CSF3R*, *CTCF*, *CTNNA1*, *CTNNB1*, *CUL3*, *CUL4A*, *CXCR4*, *CYP17A1*, *DAXX*, *DDR1*, *DDR2*, *DIS3*, *DNMT3A*, *DOT1L*, *EED*, *EGFR*, *EP300*, *EPHA3*, *EPHB1*, *EPHB4*, *ERBB2*, *ERBB3*, *ERBB4*, *ERCC4*, *ERG*, *ERRF1*, *ESR1*, *EZH2*, *FAM46C*, *FANCA*, *FANCC*, *FANCG*, *FANCL*, *FAS*, *FBXW7*, *FGF10*, *FGF12*, *FGF14*, *FGF19*, *FGF23*, *FGF3*, *FGF4*, *FGF6*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FGFR4*, *FH*, *FLCN*, *FLT1*, *FLT3*, *FOXL2*, *FUBP1*, *GABRA6*, *GATA3*, *GATA4*, *GATA6*, *GNAI1*, *GNAI3*, *GNAQ*, *GNAS*, *GRM3*, *GSK3B*, *H3F3A*, *HDAC1*, *HGF*, *HNFA1*, *HRAS*, *HSD3B1*, *ID3*, *IDH1*, *IDH2*, *IGF1R*, *IKBKE*, *IKZF1*, *INPP4B*, *IRF2*, *IRF4*, *IRS2*, *JAK1*, *JAK2*, *JAK3*, *JUN*, *KDM5A*, *KDM5C*, *KDM6A*, *KDR*, *KEAP1*, *KEL*, *KIT*, *KLHL6*, *KMT2A* (*MLL*), *KMT2D* (*MLL2*), *KRAS*, *LTK*, *LYN*, *MAF*, *MAP2K1* (*MEK1*), *MAP2K2* (*MEK2*), *MAP2K4*, *MAP3K1*, *MAP3K13*, *MAPK1*, *MCL1*, *MDM2*, *MDM4*, *MED12*, *MEF2B*, *MEN1*, *MERTK*, *MET*, *MITF*, *MKNK1*, *MLH1*, *MPL*, *MRE11A*, *MSH2*, *MSH3*, *MSH6*, *MST1R*, *MTAP*, *MTOR*, *MUTYH*, *MYC*, *MYCL* (*MYCL1*), *MYCN*, *MYD88*, *NBN*, *NF1*, *NF2*, *NFE2L2*, *NFKBIA*, *NKX2-1*, *NOTCH1*, *NOTCH2*, *NOTCH3*, *NPM1*, *NRAS*, *NSD3* (*WHSC1L1*), *NT5C2*, *NTRK1*, *NTRK2*, *NTRK3*, *P2RY8*, *PALB2*, *PARK2*, *PARP1*, *PARP2*, *PARP3*, *PAX5*, *PBRM1*, *PDCD1* (*PD-1*), *PDCD1LG2* (*PD-L2*), *PDGFRA*, *PDGFRB*, *PDK1*, *PIK3C2B*, *PIK3C2G*, *PIK3CA*, *PIK3CB*, *PIK3R1*, *PIM1*, *PMS2*, *POLD1*, *POLE*, *PPARG*, *PPP2R1A*, *PPP2R2A*, *PRDM1*, *PRKARIA*, *PRKCI*, *PTCH1*, *PTEN*, *PTPN11*, *PTPRO*, *QKI*,

*RAC1*, *RAD21*, *RAD51*, *RAD51B*, *RAD51C*, *RAD51D*, *RAD52*, *RAD54L*, *RAF1*, *RARA*, *RBI*, *RBM10*, *REL*, *RET*, *RICTOR*, *RNF43*, *ROS1*, *RPTOR*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *SETD2*, *SF3B1*, *SGK1*, *SMAD2*, *SMAD4*, *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMO*, *SNCAIP*, *SOC3*, *SOX2*, *SOX9*, *SPEN*, *SPOP*, *SRC*, *STAG2*, *STAT3*, *STK11*, *SUFU*, *SYK*, *TBX3*, *TEK*, *TET2*, *TGFBR2*, *TIPARP*, *TNFAIP3*, *TNFRSF14*, *TP53*, *TSC1*, *TSC2*, *TYRO3*, *U2AF1*, *VEGFA*, *VHL*, *WHSC1*, *WT1*, *XPO1*, а также транслокаций в генах *ALK*, *BCL2*, *BCR*, *BRAF*, *BRCA1*, *BRCA2*, *CD74*, *EGFR*, *ETV4*, *ETV5*, *ETV6*, *EWSR1*, *EZR*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *KIT*, *KMT2A* (*MLL*), *MSH2*, *MYB*, *MYC*, *NOTCH2*, *NTRK1*, *NTRK2*, *NUTM1*, *PDGFRA*, *RAF1*, *RARA*, *RET*, *ROS1*, *RSPO2*, *SDC4*, *SLC34A2*, *TERC*, *TERT*, *TMPRSS2*. Оценка мутационной нагрузки основывалась на количестве синонимичных и несинонимичных нуклеотидных замен с долей вариантной аллели 5 % и выше, приходящихся на 1 млн нуклеотидов. Микросателлитная нестабильность оценивалась по 95 микросателлитным локусам.

## Результаты

В исследование были включены 5 пациентов (1 мужчина и 4 женщины, средний возраст 52,6 года (48–56 лет)). Размеры опухоли варьировали от 0,4 × 0,5 до 11,0 × 9,0 см. В 3 случаях опухоль располагалась в левой доле, в 2 – в правой (см. таблицу). Во всех случаях объектом исследования стал операционный материал: у пациента № 1 ввиду небольшого размера узла была выполнена гемитиреоидэктомия (pT1b), у пациентов № 2 и 5 – тиреоидэктомия (pT3b), у пациентов № 3 и 4 – расширенная тиреоидэктомия с удалением паратрахеальной клетчатки (№ 3 – pT3bN0) или шейномедиастинальной лимфодиссекцией (№ 4 – pT3bN1b). У 3 из 4 пациентов фоновым заболеванием был аденоматозный зоб, у 1 имелся хронический аутоиммунный тиреоидит. Наблюдение за пациентами продолжалось от 3,5 до 5 лет после выполнения операции.

Объем компонента из высоких клеток составил от 36 до 72 % (см. рисунок). У всех пациентов выявлено экстраиреоидное распространение. У отдельных пациентов имелись гистологические особенности строения опухоли, ассоциированные с неблагоприятным прогнозом: мультифокальный рост ( $n = 1$ ) и интраваскулярная инвазия ( $n = 1$ ).

У всех пациентов в результате секвенирования выявлена мутация p.V600E в гене *BRAF*, что коррелирует с ранее опубликованными данными о повышенной частоте встречаемости данной мутации в опухоли у пациентов с папиллярным раком ЩЖ из высоких клеток по сравнению с классическим папиллярным раком. У 2 пациентов была обнаружена мутация в промоторе гена *TERT* (с.-124C>T). Мутация p.V562I в гене *EPHB1* была выявлена у пациентов № 1 и 4. У 2 пациентов была выявлена мутация p.R273H в гене *TP53*. У всех



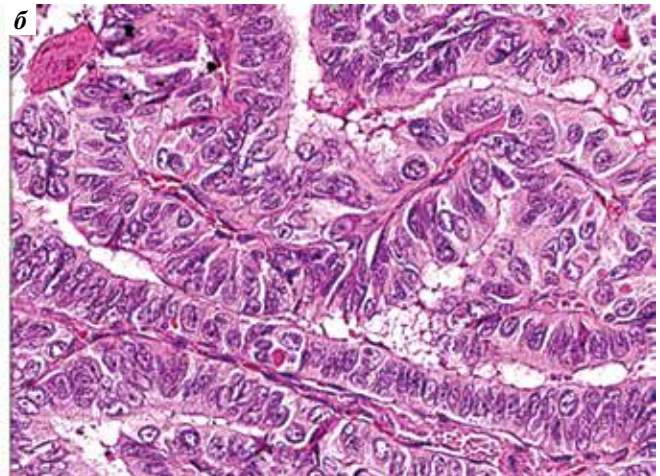
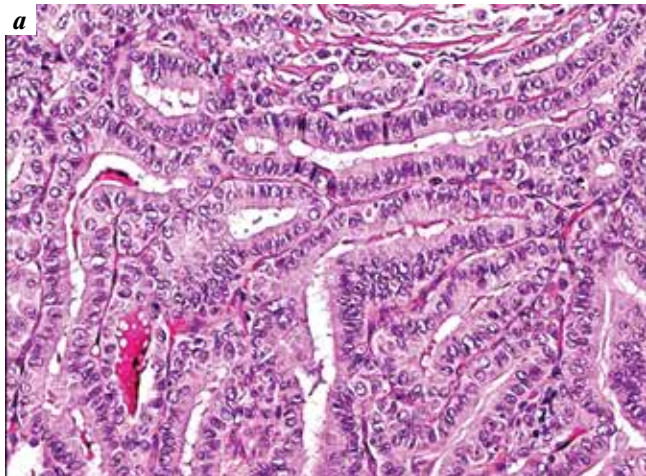
пациентов были обнаружены мутации с неизвестным клиническим значением, как минимум по одной у каждого, в генах *AR*, *CREBBP*, *EP300*, *ERCC4*, *FLT1*, *IKBKE*, *JAK2*, *MAF*, *MLL2*, *MST1R*, *MYC*, *MYCL1*, *NTRK2*, *TSC2*. У пациента № 4 с наибольшим размером опухоли были выявлены амплификации генов *BTG2*, *MAP3K1*, *SMAD2*, *TBX3*. Опухоли 4 пациентов характеризовались низкой мутационной нагрузкой: у 2 пациентов в среднем приходилось 4 мутации на 1 млн нуклеотидов (мегабазу); у 2 — 3 и 0 мутаций на мегабазу соответственно. Ни у одного пациента не было выявлено микросателлитной нестабильности (см. таблицу).

### Обсуждение

Все случаи папиллярного рака ЩЖ из высоких клеток в настоящем исследовании характеризовались наличием мутации p.V600E гена *BRAF*. Ранее результаты метаанализа с участием 5000 пациентов показали, что данная мутация ассоциирована с более агрессивными биологическими свойствами заболевания по таким параметрам, как наличие экстракapsулярного распространения опухоли и метастазов в регионарных лимфатических узлах, а также с большей вероятностью рецидива [7]. В отдельных работах показано, что связанная с мутацией *BRAF* активация сигнального пути MAPK сопровождается снижением экспрессии белков, обеспечивающих захват йода, что определяет развитие резистентности к применению радиойодтерапии [8]. В то же время мутация V600E в гене *BRAF* обуславливает наличие точки приложения для таргетной терапии ингибиторами *BRAF*. Результаты 2-й фазы исследования вемурафениба с участием 51 пациента с метастатической формой и (или) рецидивом папиллярного рака ЩЖ с мутацией *BRAF* V600E, которые ранее не по-

лучали терапию мультикиназным ингибитором VEGFR (сорафениб), показали, что применение препарата обеспечило достижение частичного ответа у 38,5 % ( $n = 10$ ) пациентов с йодрезистентным раком ЩЖ, частичный ответ был достигнут у 27,3 % ( $n = 6$ ) больных при медиане безрецидивной выживаемости соответственно 18,2 и 8,9 мес [9]. На сегодняшний день вемурафениб доступен в США и странах Евросоюза для лечения *BRAF* V600E-позитивной меланомы. Необходимы последующие исследования для оценки возможности применения этого ингибитора для лечения прогрессирующего папиллярного рака ЩЖ у пациентов, которым противопоказана терапия сорафенибом. Другим препаратом из группы ингибиторов *BRAF* является дабрафениб. Клинические исследования демонстрируют положительную динамику при лечении дабрафенибом: у 9 из 14 пациентов достигнуто как минимум 10 % снижение активности процесса при оценке по шкале RECIST, у 6 из 14 пациентов — стабилизация заболевания [10, 11]. В отдельных работах было показано, что клинический эффект от применения ингибиторов *BRAF* в комбинации с ингибиторами MAPK может быть обусловлен восстановлением захвата радиоактивного йода [12]. Таким образом, наличие мутации в гене *BRAF* в папиллярном раке ЩЖ из высоких клеток ассоциировано с более агрессивными свойствами заболевания, однако это может быть использовано для таргетной терапии ингибиторами *BRAF* у пациентов с метастатическим йодрезистентным папиллярным раком ЩЖ.

У 2 из 5 пациентов была выявлена мутация в промоторе гена *TERT*, кодирующем теломеразную обратную транскриптазу, которая, в свою очередь, регулирует активность теломеразы. По данным метаанализа



Морфологические особенности папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток. Пациент № 4: а — клетки опухоли формируют характерный паттерн роста по типу «железнодорожных рельсов» (train lines). Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ ; б — высота клеток папиллярного рака больше ширины в 2–3 раза. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 400$

Morphological features of the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma. Patient No. 4: а — tumor cells form a typical growth pattern called “train lines”. Hematoxylin and eosin staining.  $\times 100$ ; б — the height of papillary cancer cells is 2–3 times greater than their width. Hematoxylin and eosin staining.  $\times 400$

Клинико-морфологическая характеристика пациентов с папиллярным раком щитовидной железы из высоких клеток

Clinical and morphological characteristics of patients with the tall cell variant of papillary thyroid carcinoma

Параметр Parameter	Пациент № 1 Patient No. 1	Пациент № 2 Patient No. 2	Пациент № 3 Patient No. 3	Пациент № 4 Patient No. 4	Пациент № 5 Patient No. 5
Пол Gender	Жен. Fem.	Жен. Fem.	Жен. Fem.	Муж. Male	Жен. Fem.
Возраст, лет Age, years	56	48	51	51	56
Размер опухоли, см Tumor size, cm	0,4 × 0,5	3,7 × 1,6	1,6 × 1,5	11,0 × 9,0	4,2 × 2,5
Локализация опухоли Tumor location	Левая доля Left lobe	Левая доля Left lobe	Правая доля Right lobe	Правая доля Right lobe	Левая доля Left lobe
Стадия pTNM pTNM stage	pT1a	pT3b	pT3bN0	pT3bN1b	pT3bN0
Объем лечения Treatment	Гемитиреоид-эктомия Hemithyroid-ectomy	Тиреоид-эктомия Thyroid-ectomy	Тиреоидэктомия с удалением паратрахеальной клетчатки, 2 курса радиойодтерапии Thyroidectomy with the removal of paratracheal tissue; 2 courses of radioiodine therapy	Цервикостернотомия, тиреоидэктомия, лимфодиссекция, 6 курсов радиойодтерапии Cervicosternotomy, thyroidectomy, lymph node dissection, 6 courses of radioiodine therapy	Тиреоид-эктомия Thyroid-ectomy
Объем компонента из высоких клеток, % Proportion of tall cells, %	36	64	72	68	56
Мультифокальный рост Multifocal growth	+	—	—	—	—
Экстратиреоидное распространение Extrathyroid spread	+	+	+	+	+
Сосудистая инвазия Vascular invasion	—	—	—	—	+
Инвазия в капсулу опухоли Invasion to the tumor capsule	—	—	—	+	—
Длительность наблюдения, лет Follow-up time, years	4,0	4,5	5,0	4,5	3,5
Срок с момента операции до рецидива, лет Time between surgery and relapse, years	—	—	—	2	—
Фоновая патология Concomitant diseases	—	Аденоматозный зоб Adenomatous goiter	Аденоматозный зоб Adenomatous goiter	Аденоматозный зоб Adenomatous goiter	Хронический аутоиммунный тиреоидит Chronic autoimmune thyroiditis

TCGA (The Cancer Genome Atlas Program), мутации в гене *TERT* чаще встречаются в наименее дифференцированных формах папиллярного рака ЩЖ [8]. В работе Н.Г. Vuong и соавт. (2017) показано, что наличие

одновременных мутаций в генах *TERT* и *BRAF* ассоциировано с более агрессивным течением заболевания в сравнении с изолированными мутациями в этих генах. Агрессивное течение оценивалось по таким

параметрам, как мультифокальность, экстракapsулярное распространение, метастазы в лимфатических узлах, отдаленные метастазы, рецидив опухоли [13]. При этом изолированная мутация в гене *TERT* практически не приводила к отличиям ни по одному из параметров от *BRAF*-позитивных опухолей (за исключением отдаленных метастазов). Похожие результаты были продемонстрированы в работе G. Gandolfi и соавт. в 2015 г. Сравнительный анализ показал, что у пациентов с метастатическим папиллярным раком ( $n = 43$ ) статистически значимо чаще встречается мутация C228T в гене *TERT* (33 %), чем у пациентов, не имевших отдаленных метастазов ( $n = 78$ ) (17 %) [14]. В то же время при наличии компонента из высоких клеток в объеме более 10 % достоверно чаще встречаются мутации в гене *TERT*, что также ассоциировано с увеличением частоты рецидива заболевания [15]. Таким образом, наличие мутации в гене *TERT* рядом авторов рассматривается как неблагоприятный фактор прогноза, ассоциированный с более высокой частотой рецидива и отдаленного метастазирования у пациентов с дифференцированным раком ЩЖ.

В нашем исследовании у 2 из 5 пациентов была выявлена ранее не описанная мутация V562I в гене *EphB1*. Существует большое семейство рецепторов тирозинкиназ (RTKs), включающее в себя ряд белков Ephs и Ephrins, основная функция которых состоит в регуляции клеточной миграции и адгезии путем запуска отталкивающих и (или) привлекающих сигналов, а также в участии в ангиогенезе и формировании цитоскелета [16]. Белок EphB1 в основном участвует в регуляции клеточной миграции и адгезии. В других исследованиях было продемонстрировано, что он различает поверхностную плотность EphrinB1 и регулирует за счет этого клеточную адгезию, направляя сигнал изнутри клетки наружу, обеспечивая прикрепление клеток к внеклеточному матриксу через интегрин  $\alpha\beta1$  [17]. Также EphB1 способствует активации сигнального пути MAPK/внеклеточного сигнала, регулируемого киназой (ERK) [18]. В то же время роль семейства в онкогенезе остается малоизученной: есть исследования, указывающие на выявление гиперэкспрессии отдельных представителей семейства при папиллярном раке ЩЖ — EphA2 [19], EphB4 [20], EphB6 [21], но данных о роли EphB1 пока нет. В настоящее время существуют экспериментальные данные о возможности супрессии опухолевого роста путем воздействия на те или иные типы белков RTKs, однако данные о терапевтических опциях для регуляции функции белка EphB1 в настоящий момент весьма немногочисленны. В 1 исследовании было продемонстрировано, что нокдаун рецептора EphB1 у мышей с медуллобластомой увеличивал сенситизацию клеток опухоли к лучевой терапии, а также уменьшал миграцию клеток и их рост [22]. В целом информации про EphB1 мало, в связи с чем за-

труднительно интерпретировать клиническое значение обнаруженной нами мутации p.V562I в гене *EphB1*. Однако факт того, что она выявлена у 2 из 5 пациентов, весьма интересен, и, возможно, целенаправленное изучение этого гена на большей выборке пациентов позволит определить ее значение в патогенезе заболевания.

Показатель мутационной нагрузки позволяет прогнозировать эффект иммунотерапии, в частности эффект ингибиторов контрольных точек. Масштабные исследования продемонстрировали прямую пропорциональную зависимость между высокой мутационной нагрузкой и успешностью лечения иммунотерапевтическими препаратами [23]. Согласно данным TCGA, средняя мутационная нагрузка при папиллярном раке ЩЖ составляет 0,41 мутации на мегабазу, что ниже полученных нами данных (у 4 из 5 пациентов ТМВ составлял 3 или 4 мутации на мегабазу). Такие низкие показатели мутационной нагрузки позволяют прогнозировать, что у пациентов с папиллярным раком ЩЖ в целом и больных раком из высоких клеток в частности будет наблюдаться плохой ответ на терапию ингибиторами контрольных точек. Экспериментальные исследования подтверждают это предположение: например, пембролизумаб демонстрирует противоопухолевую активность у наименьшей части пациентов [24]. Следовательно, показатель мутационной нагрузки не может использоваться как мишень для изолированного терапевтического воздействия ингибиторами контрольных точек у пациентов с раком ЩЖ из высоких клеток.

Микросателлитная нестабильность — это нарушение работы системы репарации ошибочно спаренных нуклеотидов, которая отвечает за исправление ошибок, возникающих в ходе репликации ДНК. В нашем исследовании опухоли всех пациентов не обладали микросателлитной нестабильностью. Считается, что в опухолях ЩЖ папиллярного строения микросателлитная нестабильность встречается редко. Однако исследования, изучающие этот аспект генома папиллярного рака ЩЖ, крайне немногочисленны, проводились давно и в основном на маленькой выборке пациентов. Этим обусловлен резкий разброс результатов в данной области исследования: от 84 [25] до 7,7 % [26] опухолей с микросателлитной нестабильностью. Следовательно, интерпретировать полученные нами результаты в сравнении с другими работами весьма затруднительно.

### Заключение

В 5 изученных случаях мутационный профиль папиллярного рака из высоких клеток характеризуется низкой мутационной нагрузкой, отсутствием микросателлитной нестабильности и наличием во всех случаях мутации p.V600E гена *BRAF*, которая у части пациентов сочеталась с мутацией c.-124C>T в гене *TERT* и p.V562I в гене *EPHB1*.



## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Lloyd R.V., Osamura R.Y., Kloppel G. et al. WHO classification of tumours of endocrine organs, 4<sup>th</sup> edn. Lyon, France: IARC, 2017. Vol. 10.
- Vuong H.G., Long N.P., Anh N.H. et al. Papillary thyroid carcinoma with tall cell features is as aggressive as tall cell variant: a meta-analysis. *Endocr Connect* 2018;7(12):R286–93. DOI: 10.1530/EC-18-0333.
- Ghossein R.A., Leboeuf R., Patel K.N. et al. Tall cell variant of papillary thyroid carcinoma without extrathyroid extension: biologic behavior and clinical implications. *Thyroid* 2007;17(7):655–61. DOI: 10.1089/thy.2007.0061.
- Yan C., Huang M., Li X. et al. Relationship between BRAF V600E and clinical features in papillary thyroid carcinoma. *Endocr Connect* 2019;8(7):988–96. DOI: 10.1530/EC-19-0246.
- Walczyk A., Kowalska A., Kowalik A. et al. The BRAF (V600E) mutation in papillary thyroid microcarcinoma: does the mutation have an impact on clinical outcome? *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;80(6):899–904. DOI: 10.1111/cen.12386.
- Muzza M., Colombo C., Rossi S. et al. Telomerase in differentiated thyroid cancer: promoter mutations, expression and localization. *Mol Cell Endocrinol* 2015;399:288–95. DOI: 10.1016/j.mce.2014.10.019.
- Kim T.H., Park Y.J., Lim J.A. et al. The association of the BRAF (V600E) mutation with prognostic factors and poor clinical outcome in papillary thyroid cancer: a meta-analysis. *Cancer* 2012;118(7):1764–73. DOI: 10.1002/cncr.26500.
- Cancer Genome Atlas Research Network. Integrated genomic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Cell* 2014;159(3):676–90. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.050.
- Brose M.S., Cabanillas M.E., Cohen E.E. et al. Vemurafenib in patients with BRAF (V600E)-positive metastatic or unresectable papillary thyroid cancer refractory to radioactive iodine: a non-randomised, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016;17(9):1272–82. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30166-8.
- Falchook G.S., Millward M., Hong D. et al. BRAF inhibitor dabrafenib in patients with metastatic BRAF-mutant thyroid cancer. *Thyroid* 2015;25(1):71–7. DOI: 10.1089/thy.2014.0123.
- Rothenberg S.M., McFadden D.G., Palmer E.L. et al. Redifferentiation of iodine-refractory BRAF V600E-mutant metastatic papillary thyroid cancer with dabrafenib. *Clin Cancer Res* 2015;21(5):1028–35. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2915.
- Zhang H., Chen D. Synergistic inhibition of MEK/ERK and BRAF V600E with PD98059 and PLX4032 induces sodium/iodide symporter(NIS) expression and radioiodine uptake in BRAF mutated papillary thyroid cancer cells. *Thyroid Res* 2018;11:13. DOI: 10.1186/s13044-018-0057-6.
- Vuong H.G., Altibi A.M.A., Duong U.N.P. et al. Prognostic implication of BRAF and TERT promoter mutation combination in papillary thyroid carcinoma – A meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2017;87(5):411–7. DOI: 10.1111/cen.13413.
- Gandolfi G., Ragazzi M., Frasoldati A. et al. TERT promoter mutations are associated with distant metastases in papillary thyroid carcinoma. *Eur J Endocrinol* 2015;172(4):403–13. DOI: 10.1530/EJE-14-0837.
- Dettmer M.S., Schmitt A., Steinert H. et al. Tall cell papillary thyroid carcinoma: new diagnostic criteria and mutations in BRAF and TERT. *Endocr Relat Cancer* 2015;22(3):419–29. DOI: 10.1530/ERC-15-0057.
- Kandouz M. The Eph/Ephrin family in cancer metastasis: communication at the service of invasion. *Cancer Metastasis Rev* 2012;31(1–2):353–73. DOI: 10.1007/s10555-012-9352-1.
- Huynh-Do U., Stein E., Lane A.A. et al. Surface densities of ephrin-B1 determine EphB1-coupled activation of cell attachment through  $\alpha$ 5 $\beta$ 1 integrins. *EMBO J* 1999;18(8):2165–73. DOI: 10.1093/emboj/18.8.2165.
- Vindis C., Cerretti D.P., Daniel T.O., Huynh-Do U. EphB1 recruits c-Src and p52Shc to activate MAPK/ERK and promote chemotaxis. *J Cell Biol* 2003;162(4):661–71. DOI: 10.1083/jcb.200302073.
- Karidis N.P., Giaginis C., Tsourouflis G. et al. Eph-A2 and Eph-A4 expression in human benign and malignant thyroid lesions: an immunohistochemical study. *Med Sci Monit* 2011;17(9):BR257–65. DOI: 10.12659/msm.881929.
- Xuqing W., Lei C., Zhengfa M. et al. EphB4 is overexpressed in papillary thyroid carcinoma and promotes the migration of papillary thyroid cancer cells. *Tumor Biol* 2012;33(5):1419–27. DOI: 10.1007/s13277-012-0392-5.
- Giaginis C., Alexandrou P., Poulaki E. et al. Clinical Significance of EphB4 and EphB6 Expression in Human Malignant and Benign Thyroid Lesions. *Pathol Oncol Res* 2016;22(2):269–75. DOI: 10.1007/s12253-014-9879-2.
- Bhatia S., Baig N.A., Timofeeva O. et al. Knockdown of EphB1 receptor decreases medulloblastoma cell growth and migration and increases cellular radiosensitization. *Oncotarget* 2015;6(11):8929–46. DOI: 10.18632/oncotarget.3369.
- Samstein R.M., Lee C.H., Shoushtari A.N. et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet* 2019;51(2):202–6. DOI: 10.1038/s41588-018-0312-8.
- Mehnert J.M., Varga A., Brose M.S. et al. Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with advanced, PD-L1-positive papillary or follicular thyroid cancer. *BMC Cancer* 2019;19(1):196. DOI: 10.1186/s12885-019-5380-3.
- Santos J.C., Bastos A.U., Cerutti J.M., Ribeiro M.L. Correlation of MLH1 and MGMT expression and promoter methylation with genomic instability in patients with thyroid carcinoma. *BMC Cancer* 2013;13:79. DOI: 10.1186/1471-2407-13-79.
- Yamamoto T. Infrequent microsatellite instability in papillary carcinomas of the thyroid. *Hiroshima J Med Sci* 1999;48(3):95–8.

**Вклад авторов**

И.Л. Плакса, М.Р. Савчук: написание текста статьи, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи;

Н.В. Швед: анализ полученных данных, научное консультирование;

Н.А. Савёлов: разработка дизайна исследования;

А.А. Исаев, Д.Н. Хмелькова: получение данных для анализа;

Р.В. Деев: научное консультирование, научное редактирование.

**Authors' contributions**

I.L. Plaksa, M.R. Savchuk: writing the text of the article, analysis of the obtained data, review of publications on the topic of the article;

N.V. Shved: analysis of the obtained data, scientific consulting;

N.A. Savelov: research design development;

A.A. Isaev, D.N. Khmelkova: obtaining data for analysis;

R.V. Deev: scientific consulting, scientific editing.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

И.Л. Плакса / I.L. Plaksa: <https://orcid.org/0000-0001-6600-0933>

М.Р. Савчук / M.R. Savchuk: <https://orcid.org/0000-0001-6684-2532>

Н.В. Швед / N.V. Shved: <https://orcid.org/0000-0001-6462-1875>

Д.Н. Хмелькова / D.N. Khmelkova: <https://orcid.org/0000-0002-4673-1031>

А.А. Исаев / A.A. Isaev: <http://orcid.org/0000-0001-5848-5117>

Р.В. Деев / R.V. Deev: <https://orcid.org/0000-0001-8389-3841>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики**

Основанием для проведения клинического исследования явилось разрешение локального этического комитета ГБУЗ «Московская городская онкологическая больница № 62 Департамента здравоохранения города Москвы» (№ 10 от 10.04.2019). Основной целью этической экспертизы являлась оценка соблюдения прав субъектов исследований по защите персональных данных.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics**

The basis for the clinical study was the permission of the local ethics committee of the Moscow City Oncological Hospital No. 62 of the Department of Health of the City of Moscow (No. 10 of 10.04.2019). The main purpose of the ethical review was to assess compliance with the rights of research subjects to protect personal data.

**Статья поступила:** 12.01.2021. **Принята к публикации:** 18.03.2021.

**Article submitted:** 12.01.2021. **Accepted for publication:** 18.03.2021.