

ALK и нейробластома: от молекулярной генетики до клиники

Н.А. Андреева, А.Е. Друй, Т.В. Шаманская, Д.Ю. Качанов, С.Р. Варфоломеева

ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Саморы Машела, 1

Контактные данные: Наталья Александровна Андреева andreeva793@bk.ru

Нейробластома (НБ) — самая частая экстракраниальная эмбриональная опухоль у детей с разнообразными молекулярно-биологическими и клиническими характеристиками. Единого молекулярно-генетического механизма, участвующего в патогенезе НБ нет, что и обуславливает ее гетерогенность. Патогенетически важным событием в развитии НБ являются абберации гена ALK (Anaplastic lymphoma kinase), которые обнаруживаются у 70 % больных с семейной формой НБ и у 7–10 % пациентов со спорадическими случаями. Онкоген ALK кодирует одноименный рецептор, экспрессирующийся на мембране клеток центральной и периферической нервной системы, который находится в активированном состоянии при НБ. Описано негативное влияние аномалий гена ALK на прогноз при НБ у пациентов разных групп риска. Абберации гена ALK чаще выявляются при рецидиве и рефрактерном течении болезни. Ввиду своей тканеспецифичности белок ALK является идеальной мишенью для таргетной терапии. В данной статье представлен литературный обзор роли ALK при НБ.

Ключевые слова: нейробластома, дети, онкоген ALK, миссенс-мутации ALK, высокопроизводительное секвенирование, ALK-ингибиторы

Для цитирования: Андреева Н.А., Друй А.Е., Шаманская Т.В., Качанов Д.Ю., Варфоломеева С.Р. ALK и нейробластома: от молекулярной генетики до клиники. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2019;6(2):54–60.

ALK and neuroblastoma: from molecular genetics to clinics

N.A. Andreeva, A.E. Druy, T.V. Shamanskaya, D. Yu. Kachanov, S.R. Varfolomeeva

Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia;
1 Samory Mashela St., Moscow, 117997, Russia

Neuroblastoma (NB) is the most common extracranial embryonic tumor in children with a variety of molecular biological and clinical characteristics. There is no single molecular genetic mechanism involved in the pathogenesis of NB, which determines its heterogeneity. Pathogenetically important event in the development of NB are aberrations of ALK gene (Anaplastic lymphoma kinase), which are found in 70 % of patients with familial form of NB and in 7–10 % of patients with sporadic cases. ALK oncogene encodes a receptor of the same name, expressed on the membrane of cells of the central and peripheral nervous system, which is in the activated state in NB. The negative effect of ALK gene anomalies on the prognosis in patients with different risk groups of NB is described. ALK gene aberrations are more often detected during relapse and refractory course of the disease. Because of its tissue specificity, ALK protein is an ideal target for targeted therapy. This article presents a literature review of the role of ALK in NB.

Key words: neuroblastoma, children, ALK oncogene, ALK missense mutations, high-throughput sequencing, ALK inhibitors

For citation: Andreeva N.A., Druy A.E., Shamanskaya T.V., Kachanov D. Yu., Varfolomeeva S.R. ALK and neuroblastoma: from molecular genetics to the clinic. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2019;6(2):54–60.

Информация об авторах

Н.А. Андреева: врач-детский онколог отделения клинической онкологии НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: andreeva793@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5626-218X>

А.Е. Друй: к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории цитогенетики и молекулярной генетики НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: Dr-Druy@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

Т.В. Шаманская: к.м.н., ученый секретарь Института онкологии, радиологии и ядерной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: shamanskaya.tatyana@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Д.Ю. Качанов: д.м.н., заведующий отделением клинической онкологии, заместитель директора Института онкологии, радиологии и ядерной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, e-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru; SPIN-код: 9878-5540, <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

С.Р. Варфоломеева: д.м.н., профессор, заместитель генерального директора — директор Института управления и трансляционной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, исполнительный директор ООО НОДГО, e-mail: clinoncology@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Information about the authors

N.A. Andreeva: Pediatric Oncologist, Department of Clinical Oncology Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: andreeva793@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5626-218X>

A.E. Druy: Cand. of Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory of Cytogenetics and Molecular Genetics Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: Dr-Druy@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1308-8622>

T.V. Shamanskaya: Cand. of Sci. (Med.), Academic Secretary of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: shamanskaya.tatyana@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

D. Yu. Kachanov: Dr. of Sci. (Med.), Head of the Department of Clinical Oncology and Department of Embryonic Tumor Research & Deputy Director of the Institute of Oncology, Radiology and Nuclear Medicine at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, e-mail: Denis.Kachanov@fccho-moscow.ru; SPIN-код: 9878-5540, <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>
S.R. Varfolomeeva: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Deputy General Director – Director of the Institute of Management and Translational Medicine at the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Executive Director of Regional Public Organization National Society of Pediatric Hematologists and Oncologists, e-mail: clinoncology@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6131-1783>

Вклад авторов

Н.А. Андреева: анализ научного материала, анализ полученных данных, разработка дизайна статьи, подготовка списка литературы, написание текста рукописи, составление резюме
А.Е. Друй: анализ научного материала, анализ полученных данных, анализ данных секвенирования, разработка дизайна статьи, научная редакция статьи
Т.В. Шаманская: анализ научного материала, анализ полученных данных, разработка дизайна статьи, научная редакция статьи
Д.Ю. Качанов: анализ научного материала, анализ полученных данных, разработка дизайна статьи, дополнение текста рукописи, научная редакция статьи
С.Р. Варфоломеева: анализ научного материала, анализ полученных данных, разработка дизайна статьи, научная редакция статьи, дополнение текста рукописи

Authors' contributions

N.A. Andreeva: analysis of scientific material, analysis of the data obtained, design of the article, preparation of the list of references, writing the text of the manuscript, composing a resume
A.E. Druy: analysis of scientific material, analysis of the data obtained, analysis of sequencing data, article design, scientific edition of the article
T.V. Shamanskaya: analysis of scientific material, analysis of the data obtained, design of the article, scientific edition of the article
D. Yu. Kachanov: analysis of scientific material, analysis of the data obtained, design of the article, manuscript text supplement, scientific edition of the article
S.R. Varfolomeeva: analysis of scientific material, analysis of the data obtained, design of the article, manuscript text supplement, scientific edition of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Введение

Нейробластома (НБ) – самая частая экстракраниальная солидная эмбриональная опухоль, развивающаяся из клеток-предшественников симпатической нервной системы, составляющая 6–10 % всех злокачественных новообразований (ЗНО) у детей, и 9–15 % – в структуре детской смертности от ЗНО [1, 2].

НБ представляет собой клинически гетерогенную группу опухолей. В ряде случаев она способна к спонтанной регрессии и дифференцировке, в то время как в других случаях отмечается агрессивное течение с быстрым прогрессированием и формированием лекарственной резистентности, несмотря на проводимую интенсивную многокомпонентную терапию. Гетерогенность отмечается и в показателях выживаемости пациентов: общая выживаемость пациентов прогностически благоприятных групп составляет 85–90 %, в то время как для пациентов с неблагоприятными факторами – менее 50 % [3, 4]. Такого рода гетерогенность при НБ обусловлена генетическими особенностями опухоли.

ALK как ген, предрасполагающий к развитию нейробластомы

В журнале *Nature* в 2008 г. были опубликованы результаты 4 исследовательских групп, параллельно доказавших вклад *ALK* в развитие НБ. Так, например, Y.P. Mossé et al. [5] пытались объяснить генетическую этиологию развития НБ. У 8 пациентов из 14 семей, в которых наблюдались семейные случаи НБ (у 2 детей и более в 1-й линии родства), была идентифицирована герминальная мутация гена *ALK*. Таким образом, *ALK* стал рассматриваться как онкоген, участвующий в патогенезе семейной формы НБ [5–8].

Далее был исследован 491 случай спорадической НБ. В 22,8 % наблюдений (122/491) было зарегистрировано увеличение количества копий большого участка короткого плеча 2-й хромосомы, включающего locus *ALK*. В 3,3 % (16/491) обнаружена амплификация гена *ALK* [5]. Таким образом, был доказан вклад гена *ALK* и в спорадические случаи заболевания.

В изучение генетической составляющей спорадических форм НБ огромный вклад внесло исследование полногеномного поиска ассоциаций (Genome-wide association studies, GWAS), которое включало анализ 720 случаев НБ и 2128 контрольных наблюдений для выделения ассоциирующихся с НБ полиморфизмов. Были выявлены аллели, коррелирующие с высокой (*ALK*, *TP53*, *PHOX2B* и т. д.) и низкой (*CASC15*, *BARD1*, *LMO1*, *LIN28B*, *HACE1*, *DUSP12*, *DDX4*, *IL31RA*, *HSD17B12*, *NEFL*, *NBP23*) степенью предрасположенности к развитию НБ [9].

Согласно базе данных Cosmic (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer), при НБ самым частым геном, в котором встречаются соматические мутации, является *ALK*, на который приходится 7 % всех соматических мутаций при данном ЗНО. В остальных генах абберации встречаются несколько реже: *EPAS1* (3 %), *ATRX* (2 %), *NF1* (1 %), *PTPN11* (1 %), *TERT* (1 %), *ARID1A* (1 %), *MYCN* (1 %), *LRP1B* (1 %), *NRAS* (1 %), *CDKN2A* (1 %), *ZFH3* (1 %), *TP53* (1 %), *MET* (1 %), *VHL* (1 %), *FAT1* (1 %), *AR* (1 %), *ARID1B* (1 %) [10].

Высокая частота встречаемости нуклеотидных замен в гене *ALK* (7–10 % при спорадических случаях [3, 11], до 70 % – при семейных формах) позволяет рассматривать его как драйверный онкоген в развитии НБ [12]. Этот факт подтверждается экспериментальными данными на мышиных моделях, где

показано, что активирующие мутации *ALK* являются онкогенными факторами (*de novo*) в развитии НБ [3]. Так, более выраженная киназная активность мутированного *ALK* вела к трансформации клеток, способствуя формированию колоний на мягком агаре, а при подкожном введении этих клеток мышам линии Nude в 100 % случаев наблюдалось формирование подкожной опухолевой массы. Экспрессия мутантной формы *ALK* в развивающемся нервном гребне мышей приводила к развитию НБ [6].

Что такое *ALK*?

Ген *ALK* (Anaplastic Lymphoma Kinase — киназа анапластической лимфомы) открыт в 1994 г. и впервые описан в составе химерного гена *NPM-ALK* при анапластической крупноклеточной лимфоме, откуда и берет свое название [1]. Он локализован на 2-й хромосоме, в локусе 2p23, состоит из 29 экзонов и кодирует соответствующий тирозинкиназный рецептор. Рецептор *ALK* относится к суперсемейству рецепторов инсулиноподобных факторов роста и состоит из внеклеточного, трансмембранного и внутриклеточного регионов. Последний, в свою очередь включает юкстамембранный, тирозинкиназный (1122–1376) и С-концевой домены. *ALK* — это тканеспецифический рецептор, представленный главным образом на мембране дифференцирующихся клеток центральной и периферической нервных систем. Рецептор *ALK* активирует внутриклеточные сигнальные пути RAS/MAPK, PI3K/AKT и JAK/STAT [14], в компонентах которых также могут быть обнаружены мутации при НБ [15].

ALK является зависимым рецептором, который может проявлять разнонаправленные функции: проапоптотическую или антиапоптотическую соответственно в зависимости от отсутствия или наличия лиганда [3]. Лиганд-зависимая димеризация внеклеточного региона запускает фосфорилирование киназного домена рецептора *ALK*, который, в свою очередь, активирует вторичные мессенджеры — участники сигнальных путей. Таким образом передается пролиферативный сигнал внутрь клетки. Однако деление клетки может быть стимулировано через aberrantный рецептор *ALK* вне связи с лигандом. Их anomalous активирование происходит в результате мутаций в тирозинкинажном домене и амплификаций. Aberrantная форма *ALK* проявляет нерегулируемую киназную активность и приводит к фосфорилированию внутриклеточных белков-передатчиков пролиферативного сигнала [3, 14]. В то же время не все мутации *ALK* приводят к aberrantной киназной активности белка, и могут не участвовать в патогенезе заболевания, рассматриваясь в качестве «пассажирских» мутаций [12].

Аберрации *ALK* при нейробластоме

Большинство мутаций в гене *ALK*, обнаруживаемых при НБ, являются нуклеотидными заменами

(миссенс-мутациями, точечными мутациями) в тирозинкинажном домене рецептора. Основная доля миссенс-мутаций *ALK* приводит к замене аминокислот в белке в 3 позициях (hotspots): F1174, F1245, R1275, составляя 85 % всех мутаций *ALK* при НБ [9]. R1275Q — самая частая замена, представленная в 45 % семейных случаев и трети случаев sporadicческой НБ. Аминокислотные замены в позициях F1174 и F1245, как правило, обнаруживаются при sporadicческих случаях заболевания, и их частота составляет 30 % и 12 % соответственно.

Редким механизмом aberrantной активации *ALK* при НБ, встречающимся в 2–3 % случаях, являются амплификации гена, приводящие к повышению экспрессии белка и конституциональной киназной активации [12].

Влияние *ALK* на прогноз при нейробластоме

На сегодняшний день данных, свидетельствующих об ассоциации между уровнем экспрессии *ALK* и стандартными прогностическими факторами, такими как возраст, стадия, статус гена *MYCN*, плоидность ДНК, нет. Однако показано, что наличие мутации *ALK* выступает как предиктор плохого прогноза при НБ. Такое предположение сделано, исходя из анализа частоты встречаемости aberrаций *ALK* у больных различных групп. Так, в группе пациентов высокого риска частота мутаций *ALK* составляет 14 % [12], тогда как в общей группе больных НБ — не более 10 %. Несмотря на небольшой процент *ALK*-позитивных случаев при НБ, прослеживается влияние данного фактора на прогноз заболевания. S.C. Bresler et al. (2014) на 1596 диагностических образцах НБ показали, что мутации *ALK* коррелировали со снижением показателя выживаемости пациентов в группах промежуточного и высокого риска [16].

Интересным представляется тот факт, что в ряде работ показано влияние на прогноз не только aberrаций гена *ALK*, но и высокого уровня его экспрессии [17, 18]. Так, J.H. Schulte et al. на группе из 263 пациентов с НБ показали, что высокий уровень экспрессии мРНК *ALK* дикого типа был также ассоциирован с неблагоприятным прогнозом [18]. Полученные результаты указывают на то, что существуют альтернативные механизмы активации *ALK* при НБ помимо описанных выше мутаций и амплификаций [17].

Также отмечена более высокая частота встречаемости мутаций *ALK* у пациентов с рефрактерным течением и рецидивами НБ [19, 20]. Было обнаружено, что некоторые мутации, выявленные в рецидиве заболевания, встречаются и в первичной ткани опухоли, но с более низкой аллельной частотой, что свидетельствует об инициальном наличии поликлональной опухоли. Кроме того, в ткани опухоли при рецидиве отмечается возникновение *de novo* мутаций. Мутации *ALK* F1174 и R1275 были идентифицированы у 10 % (27/277) пациентов с аллельной частотой 0,56–40,41 % [21]. Таким образом, возможна роль мутаций *ALK* в каче-

стве онкогенного драйвера или события, определяющего субклональность опухоли [12].

O. Padovan-Merhar et al. проанализировали 151 случай НБ (44 — инициальных, 42 — после терапии 1-й линии, 59 — рецидивов, 6 — в неизвестной временной точке) и показали увеличение частоты нуклеотидных замен и других генетических aberrаций в рецидиве заболевания [11].

Мутации гена *ALK* часто сочетаются с амплификациями гена *MYCN*. Исследования на мышинных моделях и моделях рыб *Danio rerio* показывают совместный вклад этих 2 онкогенов в инициацию НБ. Часто ген *ALK* ко-амплифицируется с геном *MYCN*, что объясняется близостью их расположения в локусе 2p23-24 [7, 16].

На экспериментальных моделях установлено, что сочетание мутации *ALK*, в особенности F1174 [22], с амплификацией *MYCN* негативно влияет на прогноз, приводя к более быстрому формированию НБ с высокой агрессивностью и повышенной летальностью [23, 24]. У детей с НБ, сочетающей амплификацию *MYCN* с мутацией *ALK* F1174, летальность достигала 90 % (9 из 10 детей).

T. Ogura et al. (2012), проанализировав 19 случаев НБ с aberrациями *ALK* (16 — миссенс-мутации, 3 — амплификации), отметили связь между выявлением мутации *ALK* и прогрессией заболевания и, таким образом, установили роль *ALK* в ранней диагностике прогрессии НБ. Также авторами определены аминокислотные замены *ALK* в положениях F1174 и R1275 как коррелирующие с худшим прогнозом [19].

Значимые мутации в генах могут возникать и во время терапии заболевания. Использование высокопроизводительного секвенирования позволило установить, что частота соматических мутаций в опухоли значительно возрастает после химиолучевой терапии и опухолевый клон, присутствующий при рецидиве или прогрессии заболевания, обогащается нетипичными мутациями. В зависимости от патогенетического значения они могут быть «пассажирскими» (не имеющими значения) и «вторичными драйверами» (имеющими значение в прогрессии заболевания), которые потенциально могут быть значимыми в патогенезе прогрессии и являться мишенями для молекулярно-направленной (таргетной) терапии [12].

Клиническое значение *ALK*

В основе проведения индивидуализированного лечения лежит поиск предиктивных биологических маркеров, обуславливающих его эффективность. Выявление мишеней для таргетной терапии, в частности aberrаций гена *ALK*, является принципиально важным для назначения соответствующей терапии.

Для определения aberrаций гена *ALK* в настоящее время используется метод высокопроизводительного секвенирования, который позволяет одновременно анализировать большое количество генов в нескольких образцах, благодаря одновременному прочтению

последовательности множества коротких фрагментов ДНК.

Учитывая частоту встречаемости соматических мутаций гена *ALK* при НБ (7–10 %), роль *ALK* в развитии наследственных форм, а также доказанное на животных моделях значение *ALK* в качестве драйверной мутации при НБ и возможность воздействия на aberrантный рецептор, *ALK* представляет собой потенциальную мишень для таргетной терапии.

Сегодня для таргетной терапии *ALK*-позитивных опухолей применяются малые молекулы, ингибирующие ферментную активность тирозинкиназного домена *ALK* [1, 25, 26].

Ингибитором *ALK* 1-го поколения является кризотиниб — малая молекула, конкурентный ингибитор *ALK* и *MET*-киназной активности. Первоначально эта молекула была разработана как ингибитор с-*MET*, позже обнаружили способность ингибирования фосфорилирования *ALK* [27]. Кризотиниб имеет структуру аминопиридина и конкурентно связывается с активным аденозинтрифосфат-связывающим киназным участком [28].

В 2011 г. кризотиниб был одобрен Food and Drug Administration (FDA) для применения у пациентов с *ALK*-позитивным немелкоклеточным раком легкого на основании рандомизированных клинических исследований [14]. Исследования *in vitro* показали, что кризотиниб эффективен на клеточных линиях НБ с амплификацией *ALK* или мутацией *ALK* R1275Q, одним из наиболее распространенных вариантов aberrации *ALK* при семейной НБ [29]. В то же время, было обнаружено, что клетки, экспрессирующие *ALK* F1174L, относительно устойчивы к кризотинибу [5, 20, 30]. В опытах *in vivo* кризотиниб вызывал полную и устойчивую регрессию ксенотрансплантатов с мутацией *ALK* R1275Q, но оказывал ограниченное влияние на рост *ALK* F1174L-положительных опухолей [16, 20].

В сентябре 2009 г. Детской онкологической группой (Children's Oncology Group, COG) была запущена I фаза клинических исследований эффективности кризотиниба при различных детских ЗНО, при рецидивах, а также рефрактерном их течении вне зависимости от наличия мутаций в гене *ALK*. В это исследование включались и пациенты с НБ: как *ALK*-позитивные, так и негативные. Промежуточные результаты опубликованы в 2013 г. [20]. Оказалось, что из 11 больных с наличием мутации *ALK*, у 3 пациентов зафиксирован ответ на терапию: у 1 — полный ответ, у 2 — стабилизация заболевания. У 2 из них мутация в гене *ALK* носила герминальный характер. Среди 23 больных НБ без мутаций *ALK*, вошедших в данное исследование, у 9 также был зафиксирован ответ на терапию: у 1 пациента был отмечен полный ответ, у 8 — частичный ответ или стабилизация заболевания [20].

Неэффективность кризотиниба у большей части *ALK*-позитивных НБ объясняется тем, что имеются резистентные к кризотинибу мутации, например

ALK F1174L, частота которых превалирует при НБ, составляя 37 % всех мутаций *ALK*.

В настоящее время разработаны ингибиторы 2-го поколения, способные преодолеть резистентность к кризотинибу, включая церитиниб, бригаиниб (AP26113), алектиниб, лорлатиниб (PF-6463922), энсартиниб (X-396), энтректиниб (RXDX-101) и белизатиниб (TSR 011), которые были испытаны в клинических исследованиях на взрослых пациентах [31].

Церитиниб был одобрен FDA в 2014 г. для лечения пациентов с *ALK*-позитивным раком легкого, рецидивировавших после 1-й линии терапии. Он активен в отношении некоторых резистентных к кризотинибу мутаций, однако *ALK* F1174L обладает резистентностью и к церитинибу [32].

В настоящее время, по данным сайта clinicaltrials.gov, ведется 8 исследований по изучению эффективности применения ингибиторов *ALK* различных поколений при большом количестве ЗНО у детей, в том числе и при *ALK*-позитивных НБ, а также при рецидивах и рефрактерном течении НБ. Все эти исследования на момент написания настоящей статьи открыты для набора пациентов [33].

В 2017 г. группой NANT (New Approaches to Neuroblastoma Therapy) открыты клинические исследования, использующие лорлатиниб – *ALK*/*ROS*-ингибитор с повышенной активностью к различным мутациям *ALK*, в том числе резистентным к кризотинибу, церитинибу (NCT03107988). Также начата I фаза исследований энтректиниба (NCT02650401, NCT02097810), который рассматривается в качестве многообещающего лекарства, ингибирующего кроме *ALK* TrkB рецептор нейротрофина, высокоэкспрессированный при неблагоприятных формах НБ.

В качестве альтернативного варианта повышения клинической эффективности кризотиниба у пациентов с НБ рассматривается его назначение с другими препаратами, в частности комбинация кризотиниба с цитостатиками. В рамках доклинических исследований на стандартизованных клеточных линиях НБ, и клетках НБ, полученных от пациентов, был продемонстрирован синергичный цитотоксический эффект комбинации топотекана/циклофосфида и кризотиниба [34]. Следует отметить, что комбинация кризотиниба с 2 химиопрепаратами, обладающими доказанной активностью в отношении НБ, оказывала цитотоксический эффект как на моделях с кризоти-

ниб-чувствительными аберрациями *ALK*, так и при *de novo* резистентных мутациях. Синергизм кризотиниба и топотекана показан и в других исследованиях [35]. На основании данных работ COG в настоящее время проводит исследование III фазы у первичных пациентов с НБ группы высокого риска, в ходе которого больные с доказанными аберрациями гена *ALK* (мутации и/или амплификации) будут получать стандартную полихимиотерапию с параллельным приемом кризотиниба [36]. Результаты данного исследования позволят понять вклад кризотиниба в улучшение результатов терапии у пациентов группы высокого риска.

Несмотря на определенные результаты, требуются дополнительные исследования по изучению эффективности кризотиниба и других ингибиторов *ALK* на правильно подобранной когорте пациентов (необходима оценка предиктивных онкомаркеров) и возможности обхода путей резистентности к ингибиторам *ALK*, возникающих *de novo*.

Заключение

Мутации гена *ALK* являются самыми частыми соматическими мутациями при НБ с патогенетическим вкладом в развитие, течение и прогрессирование заболевания. Среди всех миссенс-мутаций гена *ALK* при НБ особое внимание привлекает мутация с.3824G>A, которая приводит к замене аминокислоты в положении R1275Q, как самая частая мутация при семейных случаях НБ, а также мутация с.3520T>C, р. F1174L как наиболее неблагоприятный вариант мутации *ALK* для прогноза при НБ.

ALK является идеальной мишенью для таргетной терапии НБ. Доклинические исследования ингибиторов *ALK* показали их высокую эффективность при *ALK*-позитивных опухолях. На момент написания статьи ведется 8 клинических исследований по изучению эффективности применения *ALK*-ингибиторов при НБ.

При проведении терапии ингибиторами *ALK* особое внимание необходимо уделить условиям их назначения. Так, целесообразно их применять только при наличии мутации/амплификации *ALK*. При этом ряд нуклеотидных замен определяют неэффективность препарата, например, мутация *ALK* F1174L является резистентной к кризотинибу. Таким образом, исчерпывающие знания о биологии опухоли необходимы для эффективного применения таргетной терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Schulte J.H., Schulte S., Heukamp L.C., Astrahantseff K., Stephan H., Fischer M., Schramm A., Eggert A. Targeted therapy for neuroblastoma: ALK inhibitors. *Klin Padiatr* 2013;225(6):303–8. doi: 10.1055/s-0033-1357132.
- Park J.R., Bagatell R., London W.B., Maris J.M., Cohn S.L., Mattay K.K., Hogarty M.; COG Neuroblastoma Committee. Children's Oncology Group's 2013 blueprint for research: neuroblastoma. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(6):985–93. doi: 10.1002/pbc.24433.
- Johnsen J.I., Dyberg C., Fransson S., Wickstrom M. Molecular mechanisms and therapeutic targets in neuroblastoma. *Pharmacological Research* 2018;131:164–76. doi: 10.1016/j.phrs.2018.02.023.
- Whittle S.B., Smith V., Doherty E., Zhao S., McCarty S., Zage P.E. Overview and recent advances in the treatment of neuroblastoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2017;17(4):369–86. doi: 10.1080/14737140.2017.1285230.
- Mossé Y.P., Laudenslager M., Longo L., Cole K.A., Wood A., Attiyeh E.F., Laquaglia M.J., Sennett R., Lynch J.E., Perri P., Laureys G., Speleman F., Kim C., Hou C., Hakonarson H., Torkamani A., Schork N.J., Brodeur G.M., Tonini G.P., Rappaport E., Devoto M., Maris J.M. Identification of ALK as a major familial neuroblastoma predisposition gene. *Nature* 2008;455(7215):930–5. doi: 10.1038/nature07261.
- Chen Y., Takita J., Choi Y.L., Kato M., Ohira M., Sanada M., Wang L., Soda M., Kikuchi A., Igarashi T., Nakagawara A., Hayashi Y., Mano H., Ogawa S. Oncogenic mutations of ALK kinase in neuroblastoma. *Nature* 2008;455(7215):971–4. doi: 10.1038/nature07399.
- George R.E., Sanda T., Hanna M., Fröhling S., Luther W. 2nd, Zhang J., Ahn Y., Zhou W., London W.B., McGrady P., Xue L., Zozulya S., Gregor V.E., Webb T.R., Gray N.S., Gilliland D.G., Diller L., Greulich H., Morris S.W., Meyerson M., Look A.T. Activating mutations in ALK provide a therapeutic target in neuroblastoma. *Nature* 2008;455(7215):975–8. doi: 10.1038/nature07397.
- Janoueix-Lerosey I., Lequin D., Brugieres L., Ribeiro A., de Pontual L., Combaret V., Raynal V., Puisieux A., Schleiermacher G., Pierron G., Valteau-Couanet D., Frebourg T., Michon J., Lyonnet S., Amiel J., Delattre O. Somatic and germline activating mutations of the ALK kinase receptor in neuroblastoma. *Nature* 2008;455(7215):967–70. doi: 10.1038/nature07398.
- Tolbert V.P., Coggins G.E., Maris J.M. Genetic susceptibility to neuroblastoma. *Curr Opin Genet Dev* 2017;42:81–90. doi: 10.1016/j.gde.2017.03.008.
- Catalogue of somatic mutations in cancer (GRCh38 COSMIC v.87). Режим доступа: [Электронный ресурс]. URL: https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/browse/tissue?hn=neuroblastoma&in=t&sn=autonom ic_ganglia&ss=all (дата обращения 09.01.2019).
- Padovan-Merhar O.M., Raman P., Ostrovnya I., Kalletta K., Rubnitz K.R., Sanford E.M., Ali S.M., Miller V.A., Mossé Y.P., Granger M.P., Weiss B., Maris J.M., Modak S. Enrichment of targetable mutations in the relapsed neuroblastoma genome. *PLoS Genetics* 2016;12(12):e1006501. doi: 10.1371/journal.pgen.1006501.
- Trigg R.M., Turner S.D. ALK in neuroblastoma: biological and therapeutic implications. *Cancers (Basel)* 2018;10(4):113. doi: 10.3390/cancers10040113.
- Buechner J., Tømte E., Haug B.H., Henriksen J.R., Løkke C., Flæstad T., Einvik C. Tumour-suppressor microRNAs let-7 and mir-101 target the proto-oncogene MYCN and inhibit cell proliferation in MYCN-amplified neuroblastoma. *Br J Cancer* 2011;105(2):296–303. doi: 10.1038/bjc.2011.220.
- Hallberg B., Palmer R.H. The role of the ALK receptor in cancer biology. *Ann Oncol* 2016;27(Suppl 3):iii4–iii15. doi: 10.1093/annonc/mdw301.
- Elefeld T.F., Oldridge D.A., Bernard V., Koster J., Colmet Daage L., Diskin S.J., Schild L., Bentahar N.B., Bellini A., Chicard M., Lapouble E., Combaret V., Legoix-Né P., Michon J., Pugh T.J., Hart L.S., Rader J., Attiyeh E.F., Wei J.S., Zhang S., Naranjo A., Gastier-Foster J.M., Hogarty M.D., Asgharzadeh S., Smith M.A., Guidry Auvil J.M., Watkins T.B., Zwijnenburg D.A., Ebus M.E., van Sluis P., Hakker A., van Wezel E., van der Schoot C.E., Westerhout E.M., Schulte J.H., Tytgat G.A., Dolman M.E., Janoueix-Lerosey I., Gerhard D.S., Caron H.N., Delattre O., Khan J., Versteeg R., Schleiermacher G., Molenaar J.J., Maris J.M. Relapsed neuroblastomas show frequent RAS-MAPK pathway mutations. *Nat Genet* 2015;47(8):864–71. doi: 10.1038/ng.3333.
- Bresler S.C., Weiser D.A., Huwe P.J., Park J.H., Krytska K., Ryles H., Laudenslager M., Rappaport E.F., Wood A.C., McGrady P.W., Hogarty M.D., London W.B., Radhakrishnan R., Lemmon M.A., Mossé Y.P. ALK mutations confer differential oncogenic activation and sensitivity to ALK inhibition therapy in neuroblastoma. *Cancer Cell* 2014;26(5):682–94. doi: 10.1016/j.ccell.2014.09.019.
- Passoni L., Longo L., Collini P., Coluccia A.M., Bozzi F., Podda M., Gregorio A., Gambini C., Garaventa A., Pistoia V., Del Grosso F., Tonini G.P., Cheng M., Gambacorti-Passerini C., Anichini A., Fossati-Bellani F., Di Nicola M., Luksch R. Mutation-independent anaplastic lymphoma kinase overexpression in poor prognosis neuroblastoma patients. *Cancer Res* 2009;69(18):7338–46. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4419.
- Schulte J.H., Bachmann H.S., Brockmeyer B., Depreter K., Oberthür A., Ackermann S., Kahler Y., Pajtl K., Theissen J., Westermann F., Vandesompele J., Speleman F., Berthold F., Eggert A., Brors B., Hero B., Schramm A., Fischer M. High ALK receptor tyrosine kinase expression supersedes ALK mutation as a determining factor of an unfavorable phenotype in primary neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2011;17(15):5082–92. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2809.
- Ogura T., Hiyama E., Kamei N., Kamimatsuse A., Ueda Y., Ogura K. Clinical feature of anaplastic lymphoma kinase-mutated neuroblastoma. *J Pediatr Surg* 2012;47(10):1789–96. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2012.05.007.
- Mossé Y.P., Lim M.S., Voss S.D., Wilner K., Ruffner K., Laliberte J., Rolland D., Balis F.M., Maris J.M., Weigel B.J., Ingle A.M., Ahern C., Adamson P.C., Blaney S.M. Safety and activity of crizotinib for paediatric patients with refractory solid tumours or anaplastic large-cell lymphoma: a Children's Oncology Group phase 1 consortium study. *Lancet Oncol* 2013;14(6):472–80. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70095-0.
- Bellini A., Bernard V., Leroy Q., Rio Frio T., Pierron G., Combaret V., Lapouble E., Clement N., Rubie H., Thebaud E., Chastagner P., Defachelles A.S., Bergeron C., Buchbinder N., Taque S., Auvignon A., Valteau-Couanet D., Michon J., Janoueix-Lerosey I., Delattre O., Schleiermacher G. Deep sequencing reveals occurrence of subclonal ALK mutations in neuroblastoma at diagnosis. *Clin Cancer Res* 2015;21(21):4913–21. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0423.
- De Brouwer S., De Preter K., Kumps C., Zabrocki P., Porcu M., Westerhout E.M., Lakeman A., Vandesompele J., Hoebeek J., Van Maerken T., De Paepe A., Laureys G., Schulte J.H., Schramm A., Van Den Broecke C., Vermeulen J., Van Roy N., Beiske K., Renard M., Noguera R., Delattre O., Janoueix-Lerosey I., Kogner P., Martinsson T., Nakagawara A., Ohira M., Caron H., Eggert A., Cools J., Versteeg R., Speleman F. Meta-analysis of neuroblastomas reveals a skewed ALK mutation spectrum in tumors with MYCN amplification. *Clin Cancer Res* 2011;16(17): 4353–62. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2660.
- Berry T., Luther W., Bhatnagar N., Jamin Y., Poon E., Sanda T., Pei D., Sharma B., Vetharoy W.R., Hallsworth A., Ahmad Z., Barker K., Moreau L., Webber H., Wang W., Liu Q., Perez-Atayde A., Rodig S., Cheung N.K., Raynaud F., Hallberg B., Robinson S.P., Gray N.S., Pearson A.D., Eccles S.A., Chesler L., George R.E. The ALK (F1174L) mutation potentiates the oncogenic activity of MYCN in neuroblastoma. *Cancer Cell* 2012;22(1):117–30. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.001.
- Lopez-Delisle L., Pierre-Eugene C., Louis-Brennetot C., Surdez D., Raynal V., Baulande S., Boeva V., Grossetete-Lalami S., Combaret V., Peuchmaur M., Delattre O., Janoueix-Lerosey I. Activated ALK

- signals through the ERK-ETV5-RET pathway to drive neuroblastoma oncogenesis. *Oncogene* 2018;37(11):1417–29. doi:10.1038/s41388-017-0039-5.
25. Matthay K.K., George R.E., Yu A.L. Promising therapeutic targets in neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2012;18(10):2740–53. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1939.
 26. Carpenter E.L., Mossé Y.P. Targeting ALK in neuroblastoma – preclinical and clinical advancement. *Nat Rev Clin Oncol* 2012;9(7):391–9. doi: 10.1038/nrclinonc.2012.72.
 27. Rodig S.J., Shapiro G.I. Crizotinib, a small-molecule dual inhibitor of the c-Met and ALK receptor tyrosine kinases. *Curr Opin Investig Drugs* 2010;11(12):1477–90. PMID: 21154129.
 28. Felkali L., Banusz R., Kovalszky I., Sápi Z., Garami M., Papp G., Karázi K., Varga E., Csóka M. The presence of ALK alterations and clinical relevance of crizotinib treatment in pediatric solid tumors. *Pathol Oncol Res* 2019;25(1):217–24. doi: 10.1007/s12253-017-0332-1.
 29. Azarova A.M., Gautam G., George R.E. Emerging importance of ALK in neuroblastoma. *Semin Cancer Biol* 2011;21(4):267–75. doi: 10.1016/j.semcancer.2011.09.005.
 30. Bresler S.C., Wood A.C., Haglund E.A., Courtright J., Belcastro L.T., Plegaria J.S., Cole K., Toporovskaya Y., Zhao H., Carpenter E.L., Christensen J.G., Maris J.M., Lemmon M.A., Mossé Y.P. Differential inhibitor sensitivity of anaplastic lymphoma kinase variants found in neuroblastoma. *Sci Transl Med* 2011;3(108):108ra114. doi: 10.1126/scitranslmed.3002950.
 31. Infarinato N.R., Park J.H., Krytska K., Ryles H.T., Sano R., Szigety K.M., Li Y., Zou H.Y., Lee N.V., Smeal T., Lemmon M.A., Mossé Y.P. The ALK/ROS1 inhibitor PF-06463922 overcomes primary resistance to crizotinib in ALK-driven neuroblastoma. *Cancer Discov* 2016;6(1):96–107. doi: 10.1158/2159-8290.CD-15-1056.
 32. Friboulet L., Li N., Katayama R., Lee C.C., Gainor J.F., Crystal A.S., Michellys P.Y., Awad M.M., Yanagitani N., Kim S., Pflerdekamper A.C., Li J., Kasibhatla S., Sun F., Sun X., Hua S., McNamara P., Mahmood S., Lockerman E.L., Fujita N., Nishio M., Harris J.L., Shaw A.T., Engelman J.A. The ALK inhibitor ceritinib overcomes crizotinib resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Discov* 2014;4(6):662–73. doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0846.
 33. Clinicaltrials.gov. Режим доступа: [Электронный ресурс]. URL: https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=neuroblastoma+alk&age_v=&age=0&gndr=&type=&rslt=&Search=Apply (дата обращения 10.12.2018).
 34. Krytska K., Ryles H.T., Sano R., Raman P., Infarinato N.R., Hansel T.D., Makena M.R., Song M.M., Reynolds C.P., Mossé Y.P. Crizotinib synergizes with chemotherapy in preclinical models of neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2016;22(4):948–60. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0379.
 35. Zhang L., Wu B., Baruchel S. Oral metronomic topotecan sensitizes crizotinib antitumor activity in ALKF^{1174L} drug-resistant neuroblastoma preclinical models. *Transl Oncol* 2017;10(4):604–11. doi: 10.1016/j.tranon.2017.04.008.
 36. A Phase 3 Study of ¹³¹I-Metaiodobenzylguanidine (¹³¹I-MIBG) or Crizotinib Added to Intensive Therapy for Children With Newly Diagnosed High-Risk Neuroblastoma (NBL). [Электронный ресурс]: <http://ClinicalTrials.gov>. Identifier: NCT03126916.

Статья поступила в редакцию: 10.03.2019. Принята в печать: 26.03.2019.
Article was received by the editorial staff: 10.03.2019. Accepted for publication: 26.03.2019.

РЖДГиО



Подписка на журнал для стран СНГ

Уважаемые коллеги, появилась возможность оформить **ПЛАТНУЮ** подписку на «Российский журнал детской гематологии и онкологии» (РЖДГиО) для стран ближнего зарубежья и СНГ!

Вы можете воспользоваться любым удобным ресурсом для онлайн-оформления данной услуги:

- www.pressa-rf.ru — официальный сайт объединенного каталога «Пресса России»;

- www.press-med.ru — интернет-магазин медицинских книг и профессиональной периодики для врачей;
- www.akc.ru — агентство по распространению зарубежных изданий.

Или прийти в любое отделение Почты России и оформить подписку по каталогу «Пресса России». Индекс издания — 93505.