

Л.М. Шлапацька

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2024.03.208>

КЛІТИННІ ЛІНІЇ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЯК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ МОДЕЛІ ПУХЛИН

Ключові слова: клітинні лінії, молекулярний підтип, люмінальний А, люмінальний Б, базальноподібний/тричі негативний, Her2/neu-позитивний, Her2-збагачений рак молочної залози.

Культура клітин — унікальний біологічний інструмент для вивчення клітини поза організмом і слугує моделлю для різноманітних досліджень. Вже понад півстоліття в арсеналі дослідників раку молочної залози (РМЗ) саме клітинні лінії займають провідні позиції як об’єкт дослідження при ідентифікації фенотипових характеристик, біологічних властивостей злоякісно трансформованих клітин, випробуванні лікарських засобів та вивченні механізмів їх дії, оцінці нових стратегій лікування, пошуку та ідентифікації мішеней дії таргетних препаратів, впливу окремих елементів мікрооточення на пухлинні клітини, тощо. Виконання спектру таких досліджень є можливим лише за умов знання молекулярного портрету клітинної лінії, який за багатьма параметрами є співставним із таким пухлин одного із молекулярних підтипів злоякісних новоутворень молочної залози — люмінального А, люмінального Б, базальноподібного/тричі негативного та Her2/neu-позитивного. В даному огляді виокремлено базові характеристики клітин ліній РМЗ, поскольку вибір необхідної модельної системи є вкрай важливим перед проведенням досліджень і вимагає врахування її молекулярної характеристики.

Значна частка сучасних знань про рак молочної залози (РМЗ) обґрунтована дослідженнями *in vitro*, проведеними з використанням клітинних ліній — необмеженим джерелом гомогенного самовідтворювального матеріалу, який використовується для моделювання, в тому числі, молекулярних підтипів РМЗ *in vitro* [1]. Перша лінія клітин РМЗ BT-20 була отримана в 1958 році [2], а основна кількість клітинних ліній — лише починаючи з кінця 70-х років ХХ століття [3]. Так були створені серії клітинних ліній, які і на сьогодні

застосовуються в арсеналі дослідників, причому у багатьох випадках їх назви відображають назву закладу, де вони були отримані (табл. 1) [4–7]. За таким же принципом були названі клітинні лінії MCF-7 (Michigan Cancer Foundation) [8], SK-BR-3 (Sloan-Kettering Breast Cancer Cell Line 3) [9], CAL148 (Centre Antoine Lacassagne) [10]. Серія ліній клітин “BT” засвідчує кількість нарощених в конкретній чашці клітин (н-д, BT-20, BT-549, BT-474), а клітинна лінія T-47D була отримана Iafa Keydar (Tel Aviv University)

Таблиця 1

Серії ліній клітин, що найбільш часто застосовують у дослідженнях

Серія	Місце отримання	Кількість ліній клітин та їх походження
MDA-MB	M.D. Anderson Hospital and Tumor Institute (Houston, Texas, USA) [4]	19 ліній клітин, із яких 16 отримані з клітин плевральних випотів, 2 — із метастазів у мозок та 1 — із клітин перикардіальної рідини
HCC	Hamon Cancer Centre (Dallas, Texas, USA) [5]	18 клітинних ліній із 177 первинних пухлин та 3 лінії клітин із 12 метастазів
SUM	Streamlined University of Michigan (Ann Arbor, Michigan, USA) [6]	12 клітинних ліній із клітин первинних пухлин та метастазів плевральних рідин
HMT	Hospital Necker-Enfants Malades (Paris, France) [7]	HMT 3522 отримана із клітин фіброзно-кістозної доброякісної пухлини молочної залози 48-річної жінки. В ході культивування у безсироватковому середовищі, без антибіотиків, на колагені IV ці клітини спочатку були виключно диплоїдними, не туморогенними. Проте, протягом серії послідовного культивування за різних умов отримано клітинні лінії із: мутацією P53; ампліфікацією MYC; надекспресією EGFR, HER2/neu, TGF-alfa.
UACC	University of Arizona Cancer Center (Tucson, Arizona, USA) [10]	13 клітинних ліній: 5 — із первинних пухлин, 6 — із метастазів плевральних рідин та по одній із метастазів кісткового мозку та лімфатичного вузла

в 47-й чашці Петрі. Важливо зазначити, що більшість ліній клітин одержані не з первинної пухлини, а з більш агресивних, швидко проліферуючих клітин метастазів, зокрема із плеврального канцероматозного випоту [11].

На сьогодні при дослідженні патобіології РМЗ ресурс клітинних ліній РМЗ доповнено колекцією ксенотрансплантатів хворих та значним арсеналом тривимірних (3D) культур *ex vivo* органодів пацієнта. Дані модельні системи також знайшли своє застосування при тестуванні терапевтичних засобів, результати яких мають високу чутливість та специфічність у прогнозуванні клінічної відповіді хворих на РМЗ [12]. Важливо, що використання в експериментальних дослідженнях саме клітинних ліній дозволило досягти значних успіхів у вивченні біології РМЗ, встановити біологічні особливості пухлин із відмінними фенотиповими характеристиками на різних рівнях організації, закономірності їх виникнення і росту, механізми метастазування та ін.

Використання клітинних ліній РМЗ у дослідницьких цілях, окрім етичних аспектів, має низку переваг над залученням тваринних моделей: легкість отримання великої кількості клітин, можливість тестувати окремих типів клітин без елементів мікрооточення. Даний об'єкт дослідження відносно простий у технічному виконанні *in vitro*, що дозволяє проведення різноманітних функціональних аналізів, фармакологічних та генетичних маніпуляцій, вивчення епігенетичних змін. Проте клітинні лінії під час серій культивувань і багаторічного зберігання здатні накопичувати мутації і з часом набувають характеристик, які не співпадають із початковими, тобто відбувається дрейф їх генотипу і виникнення субпопуляції клітин із фенотиповими змінами [13]. Дане явище викликає серйозне занепокоєння, особливо якщо такі клітинні лінії розглядають в якості моделі для оцінки патобіології злоякісного процесу та/або ймовірної реакції на нові препарати для медикаментозної терапії. Тому, інколи інформація щодо клітинних ліній у першоджерелах різниться [1, 14–17]. Не дивно, що Osborne C.K. et al. [18] вже через 14 років після отримання клітинної лінії MCF-7 відмітили невідповідність у проліферативній активності, рівні експресії рецептора естрогена- α (PE), каріотипі, незважаючи на морфологічну ідентичність клітин MCF-7, отриманих для дослідження із різних лабораторій світу. Такі особливості отримали підтвердження і в роботі Bahia H. et al. [19]. Наведене вимагає від дослідників, перш ніж зробити будь-який висновок на рівні пухлини за допомогою співставлення її характеристик із такими у клітинних лініях, провести перевірку відповідності біологічних ознак даної модельної системи її первинним характеристикам вже на етапі планування досліджень.

Співставлення молекулярних підтипів ліній клітин та пухлин молочної залози та їх основні характеристики. Підходи, які визначають належність клітинної лінії РМЗ до певного молекулярного підтипу, аналогічні до таких, які застосовують по відношенню до пухлин молочної залози, тобто базовими стратифікаторами є, перш за все, статус експресії PE, рецептора прогестерону (РП), рецептора епідермального фактора росту людини 2 типу (Her2/neu) та Ki-67. Наразі враховують також ряд молекулярно біологічних характеристик, зокрема патерн експресії генів та зміни в кількості копій окремих локусів хромосом (CNAs), мультиомний аналіз протеїнів, який застосовують для визначення підтипів пухлин, [17, 20–22].

Перші лінії клітин **люмінального підтипу** були отримані в 1970-х роках і на сьогодні частіше за все співвідносяться із пухлинами люмінального А — PE⁺, РП⁺, Her2/neu⁻, Ki-67^{low} (н-д: MCF-7, T-47D, SK-BR-3, MDA-MB-453, KPL-, EVSA-T, тощо) та люмінального Б — PE⁺, РП^{-/+}, Her2/neu^{-/+}, Ki-67^{high} (н-д: BT-474, MDA-MB-361, UACC-812, DU-4475, HDQ-P1, HS-578T, тощо) підтипів [1, 17]. За наявності експресії Her2/neu клітинні лінії люмінального Б підтипу також класифікують як PE⁺Her2/neu⁺ або ж як люмінальний-ERBB2⁺ підтип [14, 16]. Хоча статистично РМЗ більш представлений PE⁺ пухлинами (50–60% PE⁺/РП⁺; 10–20% PE⁺/РП⁻; 5–15% PE⁻/РП⁺; 15–25% PE⁻/РП⁻), проте в ході отримання клітинних ліній люмінального типу після багаточисельних пересівів клітин РМЗ людини *in vitro* відбувається втрата їх епітеліальних ознак та поступова активізація програми епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП), що частково є поясненням значної чисельності ліній клітин із PE⁻ фенотипом (20% PE⁺/РП⁺; 7% PE⁺/РП⁻; 5% PE⁻/РП⁺; 68% PE⁻/РП⁻) [15, 23].

У ряді публікацій лінії клітин люмінального підтипу не підрозділяють на люмінальний А та люмінальний Б підтипи, тим само не надаючи відомостей про експресію Her2/neu та Ki-67 [1, 15, 17, 24]. Проте цим клітинним лініям, подібно пухлинам люмінального підтипу, властива експресія PE- α регуляторних генів *MYB*, *RET*, *EGR3*, *TFF1*, *TFF3*, *PGR*, *TPD52*, *RERG* [25], генів ключових медіаторів люмінального диференціювання епітеліальних клітин *GATA3*, *FOXA1*, *ST14*, *SPINT1*, *PRLR*, *IGFBP2*, *IGFBP5* [1, 26], транскрипційних факторів *KLF4*, *TFAP2C* [1], ампліфікація генів *цикліна D1*, *HDM2*, мутації генів Е-кадгерину (*CDH1*), *MAP3K1*, *MAP2K4* та *PI3KCA* [16, 23], експресія цитокератинів 8/18/19 [17]. Для клітин ліній РМЗ люмінального підтипу також характерним є значне збільшення копійності 1q, 8q, 11q, 12q, 14q, 17q, 20q ділянок плечей хромосом та зменшення кількості копій 8p, 9p, 11q, 13q, 18p локусів [17]. Щодо пухлин молочної залози, то при люмінальному

А підтипі частіше відмічають збільшення копійності 1q і 16p ділянок хромосом, зменшення кількості копій 16q, високу частоту мутацій *MAP3K1*, а при люмінальному Б — переважне зростання кількості 1q, 8q, 17q, 20q та зменшення кількості копій 1p, 3q, 8p, 13q, 16q, 17p, 22q локусів хромосом. При РМЗ обох люмінальних підтипів констатують високий рівень ампліфікації 8p11-12, 8q22, 8q24, 11q13-14, 20q13 хромосомних ділянок, високу частоту мутацій *GATA3*, *PIK3CA*, *TP53* та менш виражену в *AFF2*, *AKT1*, *CBFB*, *CDH1*, *CDKN1B*, *CTCF*, *FOXA1*, *PI3KR1*, *PRRX1*, *PTEN*, *PTPN22*, *PTPRD*, *RBI*, *RUNX1*, *TBX3* [23].

Клітини ліній люмінального підтипу є більш диференційовані, порівняно з клітинами РМЗ інших молекулярних підтипів, мають низькі інвазивні властивості через щільні міжклітинні контакти. Для клітинних ліній люмінального А підтипу характерним є високий рівень експресії *GATA3*, *TOB1*, *KLF4*, *ERBB3*, *TFAP2C*, *RERG*, *TFF1*, *TFF3*, *PRLR* та *SPDEF*, асоційований з більш диференційованим, неінвазивним фенотипом [1, 15]. Клітинні лінії люмінального Б підтипу вирізняють як слабо люмінальні, оскільки їм властива вища міграційна та інвазивна активність аніж клітинам люмінального А підтипу (що зокрема пов'язано з експресією Her2/neu, який опосередковує пригнічення експресії PE) та відзначаються вищим рівнем експресії Ki-67 порівняно з таким у клітинах люмінального А типу [27, 28]. Окрім того, клітинні лінії люмінального Б типу характеризуються високим рівнем експресії генів, пов'язаних із ангиогенезом (*SERPINE1*, *PLAU*, *MMP14*, *ANGPT1*, *MET*), синтезом колагена (*LOX*, *LOXL2*) та прозапальних цитокінів *IL6* та *IL11* [1].

Базальноподібний РМЗ — надзвичайно гетерогенна група захворювання за гістологічними ознаками, патерном експресії генів та прогнозом перебігу [23]. За профілем експресії генів базальноподібний РМЗ подібний до такого, що відповідає базальним клітинам епітелію і у 70% випадків є тричі негативним, тобто за результатами імуногістохімічних досліджень характеризується відсутністю експресії PE, РП та Her2/neu. Водночас, близько 71% тричі негативних пухлин є базальноподібними [29, 30]. Важливо відмітити, що у 15–45% базальноподібних пухлин відмічають низьку експресію PE, РП, або ж Her2/neu. На сьогодні не існує загальноприйнятої класифікації тричі негативних пухлин, у зв'язку з чим фахівці використовують різні підходи щодо їх розподілу. В одній із перших класифікацій РМЗ, сформованій на глобальному аналізі профіля експресії генів, серед тричі негативних пухлин виділяли власне базальноподібні та “claudin-low” пухлини [31]. Базальноподібні пухлини мають відносно високу чутливість до впливу хіміопрепаратів, зокрема препаратів платини, інгібіторів полі(АДФрибозо)полімера-

зи та інгібіторів ангиогенезу, проте у них досить швидко розвивається резистентність. Злоякісно трансформовані клітини таких пухлин мають високий мітотичний індекс та рівень експресії Ki-67, значну частоту алельного дисбалансу, серед якого слід відзначити втрату локуса 5q11, що кодує багато генів-супресорів пухлин, часто виражені мутації в *TP53*, *PIK3CA* та *BRCA1/2*, високий рівень експресії цитокератинів 5/6/14/17, а також EGFR [23]. “Claudin-low” підтип РМЗ був вперше виділений Herschkowitz JI et al [32]. Субстратним клітинам даного підтипу властиві ознаки стовбурової клітини молочної залози — CD44⁺CD24^{-/low}, низька експресія клаудину 3, 4, 7, Ki-67, оклюдину та Е-кадгерину [33]. Частка “claudin-low” пухлин є невисокою і варіює від 1 до 14% [34]. Такий низький відсоток пояснюють тим, що попередниками “claudin-low” пухлини є стовбурові клітини молочної залози, вміст яких складає всього 1% [35]. До основних біологічних характеристик злоякісно трансформованих клітин “claudin-low” пухлин відносять низький рівень геномної нестабільності та експресії генів, що опосередковують міжклітинну адгезію та проліферативну активність порівняно з іншими підтипами РМЗ, високий рівень експресії генів, властивий менш диференційованим стовбуровим клітинам молочної залози, а також ЕМП і *PD-L1* [33]. Окрім того, “claudin-low” пухлинам властива підвищена інфільтрація імунними клітинами і компонентами строми [34]. Загалом, базальноподібні пухлини мають люмінально/міоепітеліальний або фенотип клітин попередників, тоді як “claudin-low” пухлини — переважно мезенхімальні ознаки [36].

Наступні спроби класифікації тричі негативного РМЗ з урахуванням профіля експресії генів були зроблені Lehmann B. et al. [37]. Даний підхід дозволив виділити наступні підгрупи: базальноподібний 1 типу — БП1; базальноподібний 2 типу — БП2; імуномодулюючий із залученням генів сигналювання клітин імунної системи — ІМ; мезенхімальний — М; мезенхімальний стовбуровоподібний; люмінальний з експресією рецептора андрогена — ЛАР. Проте згодом, застосувавши додаткові методи дослідження, у тричі негативному РМЗ автори виокремили лише БП1, БП2, М та ЛАР підтипи, констатували найкращі показники виживаності та відповідь на хіміотерапію у хворих на БП1 РМЗ [38]. Кожен із виділених підтипів має свої генетичні і епігенетичні особливості, що може бути пояснено їх походженням із різних клітин попередників. Вважають, що БП1 розвивається з біпотентних люмінальних клітин-попередників L1.2, ЛАР — із гормонотутливих люмінальних клітин L2, а БП2 та М підтипи — з міоепітеліальних/базальних клітин [39, 40]. Враховуючи подібний мутаційний та CNAs статус злоякісно трансформованих клітин БП1 та М підти-

пів, не виключають можливість розвитку М підтипу із БП1 [39].

Подальші підходи щодо виділення підгруп тричі негативного РМЗ, окрім дослідження профіля експресії генів, включали вивчення глобального протеому, CNAs та соматичних мутацій у злоякісно трансформованих клітинах. Найбільш масштабні дослідження були проведені Burstein et al. [41], Jiang et al. [39], Bareche et al. [42], Gong et al. [43], Asleh et al. [44]. Не дивлячись на застосування різних підходів та отримані певні розбіжності, у всіх роботах за необхідне було виділення ЛАР та М підгруп тричі негативного РМЗ та у більшості — базальноподібного з імуносупресією [39, 41, 43, 44]. Окрім того, авторами було виокремлено базальноподібний варіант з активацією імунної системи [41, 44], або ж імунomodulatory підтип [39, 42, 43], які характеризуються найкращими показниками виживаності серед хворих на тричі негативний РМЗ.

Щодо клітинних ліній, отриманих з тричі негативного РМЗ, то на сьогодні не існує їх єдиної класифікації. Однак, загально визнаним є той факт, що їм властива відсутність або слабкий рівень експресії PE, RP та Her2/neu поряд з наявністю маркерів епітеліальних клітин (MSN, ETS1, CAV1 та EGFR [24, 45, 46]), часті мутації *TP53* і *PTEN* [47]. В свою чергу, такі клітинні лінії часто ділять на базальний А та базальний Б підтипи.

Клітини ліній базального А підтипу (н-д BT20, HCC1143, HCC1937, MDA468, HCC1187) є CD44⁺CD24⁺, у них виявляють мутації *BRCAl*, експресію маркера пухлинних стовбурових клітин PROM1(CD133) [48], а також *GABRP*, *VTCTN* [17], генів ЕМП сигнального шляху. У цих клітинах виражена експресія мРНК цитокератинів 5, 6, 13, 14, 15, 16, 17, а деякі із цих клітинних ліній експресують характерні для люмінального підтипу клітин цитокератини 8 та 18 [17]. Окрім того, для ідентифікації клітин ліній базального А підтипу часто застосовують визначення наявності експресії мРНК *ITGA6*, *ITGB4*, *S100A2*, *SLPI*, *LYN*, *LAMB3*, *LAMC2*, *TRIM29*, *COL17A1*, *ANXA8*, *MET*, *BNC1*, *CD10* [17, 46].

Серед клітинних ліній базального Б підтипу є як іморталізовані епітеліальні клітинні лінії молочної залози людини MCF10A, hTERT-HME1, 184A1, так і високо інвазивні пухлинні клітинні лінії MDA-MB231, MDA-MB436, MDA-MB157, Hs578t [49], що експресують властиві для агресивних пухлин маркери PLAT, TGFB1, COL3A1, MMP2/14, FN1, FBN1, CTSC, SPARC, PRG1, SERPINE1/2 [15, 17, 46, 50, 51]. Для даних клітинних ліній характерним є наступний фенотип — CD44⁺CD24^{-/low}, CD227-CD10⁺, ITGB3⁺(CD61), який притаманний стовбуровим або біпотентним клітинам-попередникам пухлин молочної залози [52–54]. Загалом клітинам ліній базального Б підтипу, на

відміну від клітин базального А, більш властивий профіль експресії регуляторних генів ЕМП (*FN1*, *SNAI2*, *TWIST1*, *ZEB1*), віментину (*VIM*), а також маркерів базального епітелію — цитокератину 17 (*KRT17*), інтегрину альфа-6 (*ITGA6*), мембранних металопротеїназ (*MME*), стромальних клітин — альфа ланцюгів колагену різних типів (*COL1A1*, *COL3A1*, *COL5A1*, *COL1A2*, *COL6A2*, *COL6A3*) [17, 55]. За результатами досліджень E. Charafe-Jauffret et al. [46] мінімальна панель маркерів для ідентифікації тричі негативних клітинних ліній включає EGFR, CAV1/2, MSN, ETS1, а додатковими стратифікаторами для їх зарахування до базального А підтипу є наявність цитокератинів 5/6, CD10 та MET, до базального Б підтипу — CD44. За фенотиповими ознаками клітини ліній базального А підтипу є більш диференційованими, мають ознаки люмінальних або базальних клітин, тоді як клітини ліній базального Б підтипу є високоінвазивними, а на морфологічному рівні їм більш властиві характеристики мезенхімальних клітин. Клітинні лінії базального А та базального Б підтипів за фенотиповими і молекулярно біологічними характеристиками переважно співвідносяться із базальноподібними та “claudin-low” підтипами пухлин, відповідно [13, 15, 17].

Окрім вище вказаного, є і інший підхід щодо класифікації клітинних ліній, отриманих з тричі негативного РМЗ. Це обумовлено, перш за все, пошуком ефективних таргетних препаратів для лікування таких хворих, не зважаючи на те, що найбільш ефективним інструментом у лікуванні хворих даної категорії є хіміотерапія. Провівши комплексний аналіз мультиомних даних клітин ліній тричі негативного РМЗ, Lehmann B et al. [56] співвіднесли їх із запропонованими раніше підгрупами тричі негативного РМЗ [38], і використали у якості об'єкта дослідження мішеней таргетного впливу (табл. 2). Виявлені чисельні генетичні та епігенетичні відмінності серед клітинних ліній різних підтипів тричі негативного РМЗ є площею для подальших робіт у галузі молекулярної фармакології і пошуку інгібіторів, які блокують шляхи передачі сигналів у злоякісно трансформованих клітинах хворих даної категорії.

Her2/neu-позитивний РМЗ за профілем експресії генів представлений всіма молекулярними підтипами, при цьому найбільшу частку складає **Her2-збагачений підтип** (близько 47% випадків), менш представлений люмінальним Б (18–28%), люмінальним А (11–23%) і базальноподібним (7–14%). **Her2-збагачені** пухлини, які серед інших вирізняються, перш за все, високим рівнем експресії гена *ERBB2* та/або надекспресією білка Her2/neu, відмічають у 15–20% хворих на РМЗ [57, 58]. Окрім того, злоякісно трансформовані клітини характеризуються ампліфікацією генів *EGFR4*, відсутністю або низьким рівнем експресії генів *ESR1*,

Сигнальні шляхи та окремі гени, які досліджують в якості нових мішеней впливу при розробці таргетних препаратів в клітинах ліній тричі негативного РМЗ різних підтипів

Підгрупа тричі негативного РМЗ	Клітинні лінії	Сигнальні шляхи та гени мішені
ЛАР	MDAMB453, MFM223, SUM185	Сигнальний шлях андрогенового рецептора (<i>AR, SPDEF, FOXA1</i>); PI3K/Akt/mTOR сигнальний шлях (<i>PIK3CA, AKT1, EIF4A2, RPS6</i>); <i>CCND1, CDK4</i>
БП1	HCC1143, MDAMB468	<i>AURKA/B, CDK1/2, PLK1/2, ATM, DNAPK</i>
БП2	MDAMB436, HCC1806, HDQP1	MEK-сигнальний шлях; <i>CDK6</i>
М	BT549, CAL51, HS578T, CAL120	<i>PDK1, RSK, RTK, RARA</i>

PGR, PTEN, INPP4B, високою частотою мутацій *PIK3CA, TP53* і дещо нижчою *AKT1, CBFB, FOXA1, GATA3, MAP3K1, MAP2K4, MLL3, NF1, PI3KR1, PTEN, PTPN22, RB1, RUNX1, SF3B1, SRPR* [14, 23, 59].

Згідно результатів імуногістохімічного дослідження у таких пухлинах статус експресії РЕ та РП може бути як позитивний, так і негативний, тому серед кагорти Her2-збагачених пухлин близько 80% є Her2⁺РЕ-РП⁻ та 40% — Her2⁺РЕ⁺РП⁺ [60]. На відміну від Her2-збагачених пухлин, клітинні лінії є виключно Her2⁺РЕ-РП⁻ і тому в літературних джерелах їх окрім Her2-позитивного часто відносять до люмінального-ERBB2⁺ (HCC202, SKBR3, UACC893, SUM190PT, SUM225CWN) [14], РЕ-негативного-ERBB2⁺ (HCC1008, HCC1569, HCC1954) [14], або ж люмінального (AU565, HCC2218, OCUB-F, SKBR5, HCC202, SKBR3, UACC893, EVSA-T, IPH-926, JIMT-1, SK-BR-3) [14, 15, 17, 61] кластерів. Дані клітинні лінії за біологічними характеристиками поєднують ознаки як люмінальних так і базальноподібних клітин і виділяються більш агресивними властивостями порівняно із люмінальними клітинами [62]. Частіше за все у них виявляють високий рівень експресії генів, притаманний епітеліальним клітинам *ERBB2, ERBB3, EPCAM (CD326), EGFR, CDH1, TGA6, KRT8/18/19, FOXA1, GATA3, CD24, GRB7, PERLD1, STARD3, C17ORF37* [46, 55], а також клітинам стромы *FBLN1, COL6A3* [55].

Враховуючи, що основною характеристикою Her2-позитивних клітинних ліній (н-д SUM190PT, MDA-MB-453, AU565, SK-BR-3, HCC1569) є експресія білків родини EGFR/ErbB, вони виступають в якості основної експериментальної моделі для дослідження препаратів, мішенню яких є білок Her2/неу. Встановлено, що підвищені рівні експресії ESR1, TYK2, FASN, GRB7, MEK (S217/219) і MAPK1/3 (Thr202/Tyr204) передбачають чутливість Her2-позитивних клітинних ліній до дії трас-тузумабу, тоді як підвищену експресію SFN, CAV2, GRB2, RB1, FLNA і активацію mTOR, TLR, IP-3 сигнальних каскадів пов'язують із резистентністю

до його дії [15, 63]. Перспективними є дослідження комплексної дії Герцептину та інгібіторів PI3K [64], інгібітора гістондеацетилази (HDAC) CG-1521 [65], виконанні на моделях Her2-позитивних клітинних ліній, що обґрунтовують потенційне впровадження результатів роботи до клінічного застосування.

Отже, дослідження профілю експресії молекулярно-генетичних маркерів клітинних ліній є вкрай актуальним і досить високоінформативним. Деякі розбіжності у профілі експресії фенотипових маркерів, що відмічають між клітинами ліній РМЗ та пухлин, можна зокрема пояснити наявністю певних взаємодій між злоякісно трансформованими клітинами та нормальними клітинами, присутніми в навколишній стромі пухлин та іншими елементами мікрооточення. Відмінності між клітинними лініями, отриманих із злоякісно трансформованих клітин люмінального А, люмінального Б, базального і Her2-позитивного РМЗ, є відображенням трансформації різних компартментів епітеліальних клітин-попередників молочної залози, а класифікація їх підтипу є важливим аспектом роботи дослідників.

Робота виконана в рамках НДР “Гормонально-рецепторний статус клітин пухлинного мікрооточення як фактор модуляції онкогенезу в ендометрії та молочної залози” (№ держреєстрації 0123U100100).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Lacroix M, Leclercq G. Relevance of breast cancer cell lines as models for breast tumours: an update. *Breast Cancer Res Treat* 2004; **83** (3): 249–89. doi: 10.1023/B:BREA.0000014042.54925.cc.
2. Lasfargues EY, Ozzello L. Cultivation of human breast carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1958; **21** (6): 1131–1147.
3. Holliday DL, Speirs V. Choosing the right cell line for breast cancer research. *Breast Cancer Res* 2011; **13** (4): 215–222. doi: 10.1186/bcr2889.
4. Cailleau R, Olive M, Cruciger QV. Long-term human breast carcinoma cell lines of metastatic origin: preliminary characterization. *In vitro* 1978; **14** (11): 911–5. doi: 10.1007/BF02616120.

5. **Gazdar AF, Kurvari V, Virmani A, et al.** Characterization of paired tumor and non-tumor cell lines established from patients with breast cancer. *Int J Cancer* 1998; **78** (6): 766–74. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19981209)78:6<766::aid-ijc15>3.0.co;2-l.
6. **Ethier SP, Mahacek ML, Gullick WJ, et al.** Differential isolation of normal luminal mammary epithelial cells and breast cancer cells from primary and metastatic sites using selective media. *Cancer Res* 1993; **53** (3): 627–35.
7. **Briand P, Petersen OW, Van Deurs B.** A new diploid non-tumorigenic human breast epithelial cell line isolated and propagated in chemically defined medium. *In vitro Cell Dev Biol* 1987; **23** (3): 181–8. doi: 10.1007/BF02623578.
8. **Soule HD, Vazquez J, Long A, et al.** A human cell line from a pleural effusion derived from a breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1973; **51** (5): 1409–13. doi: 10.1093/jnci/51.5.1409.
9. **Cameron DJ, Churchill WH.** Cytotoxicity of human macrophages for tumor cells. Enhancement by human lymphocyte mediators. *J Clin Invest* 1979; **63** (5): 977–84. doi: 10.1172/JCI109398.
10. **CellSaurus.** <https://www.cellosaurus.org/>
11. **Keller PJ, Lin AF, Arendt LM, et al.** Mapping the cellular and molecular heterogeneity of normal and malignant breast tissues and cultured cell lines. *Breast Cancer Res* 2010; **12** (5): R87–104. doi: 10.1186/bcr2755.
12. **Finlay-Schultz J, Jacobsen BM, Riley D, et al.** New generation breast cancer cell lines developed from patient-derived xenografts. *Breast Cancer Res* 2020; **22** (1): 68. doi: 10.1186/s13058-020-01300-y.
13. **Burdall SE, Hanby AM, Lansdown MR, Speirs V.** Breast cancer cell lines: friend or foe? *Breast Cancer Res* 2003; **5** (2): 89–95. doi: 10.1186/bcr577.
14. **Riaz M, van Jaarsveld MT, Hollestelle A, et al.** miRNA expression profiling of 51 human breast cancer cell lines reveals subtype and driver mutation-specific miRNAs. *Breast Cancer Res* 2013; **15** (2): R33. doi: 10.1186/bcr3415.
15. **Neve RM, Chin K, Fridlyand J, et al.** A collection of breast cancer cell lines for the study of functionally distinct cancer subtypes. *Cancer cell* 2006; **10** (6): 515–27. doi: 10.1016/j.ccr.2006.10.008.
16. **Hollestelle A, Nagel JH, Smid M, et al.** Distinct gene mutation profiles among luminal-type and basal-type breast cancer cell lines. *Breast Cancer Res Treat* 2010; **121** (1): 53–64. doi: 10.1007/s10549-009-0460-8.
17. **Kao J, Salari K, Bocanegra M, et al.** Molecular profiling of breast cancer cell lines defines relevant tumor models and provides a resource for cancer gene discovery. *PloS ONE* 2009; **4** (7): e6146. doi: 10.1371/journal.pone.0006146.
18. **Osborne CK, Hobbs K, Trent JM.** Biological differences among MCF-7 human breast cancer cell lines from different laboratories. *Breast Cancer Res Treat* 1987; **9** (2): 111–21. doi: 10.1007/BF01807363.
19. **Bahia H, Ashman JN, Cawkwell L, et al.** Karyotypic variation between independently cultured strains of the cell line MCF-7 identified by multicolour fluorescence in situ hybridization. *Int J Oncol* 2002; **20**: 489–94. doi: 10.3892/ijo.20.3.489.
20. **Perou CM, Sørlie T, Eisen MB et al.** Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; **406** (6797): 747–52. doi: 10.1038/35021093.
21. **Bergamaschi A, Kim YH, Wang P, et al.** Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene-expression subtypes of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; **45** (11): 1033–40. doi: 10.1002/gcc.20366.
22. **Sørlie T, Perou CM, Tibshirani R, et al.** Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98** (19): 10869–74. doi: 10.1073/pnas.191367098.
23. **Taurin S, Alkhalifa H.** Breast cancers, mammary stem cells, and cancer stem cells, characteristics, and hypotheses. *Neoplasia* 2020; **22** (12): 663–78. doi: 10.1016/j.neo.2020.09.009.
24. **Pommerenke C, Nagel S, Haake J, et al.** Molecular characterization and subtyping of breast cancer cell lines provide novel insights into cancer relevant genes. *Cells* 2024; **13** (4): 301. doi: 10.3390/cells13040301.
25. **Boulay A, Breuleux M, Stephan C, et al.** The Ret receptor tyrosine kinase pathway functionally interacts with the ERalpha pathway in breast cancer. *Cancer Res* 2008; **68** (10): 3743–51. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5100.
26. **Kouros-Mehr H, Slorach EM, Sternlicht MD, Werb Z.** GATA-3 maintains the differentiation of the luminal cell fate in the mammary gland. *Cell* 2006; **127** (5): 1041–55. doi: 10.1016/j.cell.2006.09.048.
27. **Healey MA, Hirko KA, Beck AH, et al.** Assessment of Ki67 expression for breast cancer subtype classification and prognosis in the Nurses' Health Study. *Breast Cancer Res Treat* 2017; **166** (2): 613–22. doi: 10.1007/s10549-017-4421-3.
28. **Yin L, Zhang XT, Bian XW, et al.** Disruption of the ER-α36-EGFR/HER2 positive regulatory loops restores tamoxifen sensitivity in tamoxifen resistance breast cancer cells. *PLoS ONE* 2014; **9** (9): e107369. doi: 10.1371/journal.pone.0107369.
29. **Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, et al.** Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol* 2013; **24** (9): 2206–23. doi: 10.1093/annonc/mdt303.
30. **Turashvili G, Brog E.** Tumor heterogeneity in breast cancer. *Front Med (Lausanne)* 2017; **4**: 227. doi: 10.3389/fmed.2017.00227.
31. **Prat A, Perou CM.** Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol* 2011; **5** (1): 5–23. doi: 10.1016/j.molonc.2010.11.003.
32. **Herschkowitz JI, Simin K, Weigman VJ, et al.** Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors. *Genome Biol* 2007; **8** (5): R76. doi: 10.1186/gb-2007-8-5-r76.
33. **Prat A, Parker JS, Karginova O, et al.** Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res* 2010; **12** (5): R68. doi: 10.1186/bcr2635.
34. **Fougner C, Bergholtz H, Norum JH, Sørlie T.** Re-definition of claudin-low as a breast cancer phenotype. *Nat Commun* 2020; **11** (1): 1787–98. doi: 10.1038/s41467-020-15574-5.
35. **Mollenhauer J, Knoop A, Bak M, et al.** Breast cancer stem cells: a moving target for cancer nanomedicine. *Eur J Nanomed* 2012; **4** (2–4): 59–72. doi: 10.1515/ej2012-0006.
36. **Chan S, Sridhar P, Kirchner R, et al.** Basal-A triple-negative breast cancer cells selectively rely on RNA splicing for survival. *Molecular Cancer Therapeutics* 2017; **16** (12): 2849–61. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0461.
37. **Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al.** Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest* 2011; **121** (7): 2750–67. doi: 10.1172/JCI45014.
38. **Lehmann BD, Jovanović B, Chen X, et al.** Refinement of triple-negative breast cancer molecular subtypes: implications for neoadjuvant chemotherapy selection. *PLoS ONE* 2016; **11** (6): e0157368. doi: 10.1371/journal.pone.0157368.
39. **Jiang YZ, Ma D, Suo C, et al.** Genomic and transcriptomic landscape of triple-negative breast cancers: subtypes and treatment strategies. *Cancer Cell* 2019; **35** (3): 428–40.e5. doi: 10.1016/j.ccell.2019.02.001.

40. Nguyen QH, Pervolarakis N, Blake K, *et al.* Profiling human breast epithelial cells using single cell RNA sequencing identifies cell diversity. *Nat Commun* 2018; **9** (1): 2028. doi: 10.1038/s41467-018-04334-1.
41. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, *et al.* Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res* 2015; **21** (7): 1688–98. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-0432.
42. Bareche Y, Venet D, Ignatiadis M, *et al.* Unravelling triple-negative breast cancer molecular heterogeneity using an integrative multiomic analysis. *Ann Oncol* 2018; **29** (4): 895–902. doi: 10.1093/annonc/mdy024.
43. Gong TQ, Jiang YZ, Shao C, *et al.* Proteomecentric cross-omics characterization and integrated network analyses of triple-negative breast cancer. *Cell Rep* 2022; **38** (9): 110460. doi: 10.1016/j.celrep.2022.110460.
44. Asleh K, Negri GL, Spencer Miko SE, *et al.* Proteomic analysis of archival breast cancer clinical specimens identifies biological subtypes with distinct survival outcomes. *Nat Commun* 2022; **13** (1): 896. doi: 10.1038/s41467-022-28524-0.
45. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, *et al.* Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; **10** (16): 5367–74. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0220.
46. Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Monville F, *et al.* Gene expression profiling of breast cell lines identifies potential new basal markers. *Oncogene* 2006; **25** (15): 2273–84. doi: 10.1038/sj.onc.1209254.
47. Saal LH, Gruvberger-Saal SK, Persson C, *et al.* Recurrent gross mutations of the PTEN tumor suppressor gene in breast cancers with deficient DSB repair. *Nat Genet* 2008; **40** (1): 102–7. doi: 10.1038/ng.2007.39.
48. Neuzil J, Stantic M, Zabolova R, *et al.* Tumour-initiating cells vs. cancer 'stem' cells and CD133: what's in the name? *Biochem Biophys Res Commun* 2007; **355** (4): 855–9. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.01.159.
49. Bae SN, Arand G, Azzam H, *et al.* Molecular and cellular analysis of basement membrane invasion by human breast cancer cells in Matrigel-based *in vitro* assays. *Breast Cancer Res Treat* 1993; **24** (3): 241–55. doi: 10.1007/BF01833264.
50. Holst-Hansen C, Johannessen B, Hoyer-Hansen G, *et al.* Urokinase-type plasminogen activation in three human breast cancer cell lines correlates with their *in vitro* invasiveness. *Clin Exp Metastasis* 1996; **14** (3): 297–307. doi: 10.1007/BF00053903.
51. Dumont N, Bakin AV, Arteaga CL. Autocrine transforming growth factor-beta signaling mediates Smad-independent motility in human cancer cells. *J Biol Chem* 2003; **278** (5): 3275–85. doi: 10.1074/jbc.M204623200.
52. Stingl J, Eaves CJ, Zandieh I, Emerman JT. Characterization of bipotent mammary epithelial progenitor cells in normal adult human breast tissue. *Breast Cancer Res Treat* 2001; **67** (2): 93–109. doi: 10.1023/a:1010615124301.
53. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, *et al.* Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100** (7): 3983–8. doi: 10.1073/pnas.0530291100.
54. Vaillant F, Asselin-Labat ML, Shackleton M, *et al.* The mammary progenitor marker CD61/beta3 integrin identifies cancer stem cells in mouse models of mammary tumorigenesis. *Cancer Res* 2008; **68** (19): 7711–7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1949.
55. Gambardella G, Viscido G, Tumaini B, *et al.* A single-cell analysis of breast cancer cell lines to study tumour heterogeneity and drug response. *Nat Commun* 2022; **13** (1): 1714. doi: 10.1038/s41467-022-29358-6.
56. Lehmann BD, Colaprico A, Silva TC, *et al.* Multiomics analysis identifies therapeutic vulnerabilities in triple-negative breast cancer subtypes. *Nat Commun* 2021; **12** (1): 6276. doi: 10.1038/s41467-021-26502-6.
57. Prat A, Pascual T, Angelis C, Gutierrez C, *et al.* HER2-enriched subtype and ERBB2 expression in HER2-positive breast cancer treated with dual HER2 blockade. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2020; **112** (1): 46–54. doi: 10.1093/jnci/djz042.
58. Schettini F, Prat A. Dissecting the biological heterogeneity of HER2-positive breast cancer. *Breast* 2021; **59**: 339–350. doi: 10.1016/j.breast.2021.07.019.
59. Brasó-Maristany F, Griguolo G, Pascual T, *et al.* Phenotypic changes of HER2-positive breast cancer during and after dual HER2 blockade. *Nat Commun* 2020; **11** (1): 385. doi: 10.1038/s41467-019-14111.
60. Llombart-Cussac A, Cortés J, Paré L, *et al.* HER2-enriched subtype as a predictor of pathological complete response following trastuzumab and lapatinib without chemotherapy in early-stage HER2-positive breast cancer (PAMELA): an open-label, singlegroup, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017; **18** (4): 545–54. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30021-9.
61. Witt B, Tollefsbol T. Molecular, cellular, and technical aspects of breast cancer cell lines as a foundational tool in cancer research. *Life (Basel)* 2023; **13** (12): 2311. doi: 10.3390/life13122311.
62. Lacroix M, Haibe-Kains B, Hennuy B, *et al.* Gene regulation by phorbol 12-myristate 13-acetate in MCF-7 and MDA-MB-231, two breast cancer cell lines exhibiting highly different phenotypes. *Oncol Reports* 2004; **12** (4): 701–7. doi: 10.3892/or.12.4.701.
63. Cope LM, Fackler MJ, Lopez-Bujanda Z, *et al.* Do breast cancer cell lines provide a relevant model of the patient tumor methylome? *PloS ONE* 2014; **9** (8): e105545. doi: 10.1371/journal.pone.0105545.
64. Chung WP, Huang WL, Lee CH, *et al.* PI3K inhibitors in trastuzumab-resistant HER2-positive breast cancer cells with PI3K pathway alterations. *Am J Cancer Res* 2022; **12** (7): 3067–82. eCollection 2022.
65. Chatterjee N, Wang WL, Conklin T, *et al.* Histone deacetylase inhibitors modulate miRNA and mRNA expression, block metaphase, and induce apoptosis in inflammatory breast cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2013; **14** (7): 658–71. doi: 10.4161/cbt.25088.

BREAST CANCER CELL LINES AS EXPERIMENTAL TUMOR MODELS

L.M. Shlapatska

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology National Academy
of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. Cell culture is a unique biological tool for studying cells outside the body and serves as a model for various studies. For more than half a century, cell lines have been the leading objects of research in the arsenal of breast cancer (BC) researchers in identifying phenotypic characteristics, biological properties of malignantly transformed cells, testing drugs and studying their mechanisms

of action, evaluating new treatment strategies, searching for and identifying targets for targeted drugs, the impact of individual elements of the microenvironment on tumor cells, etc. Carrying out a range of such studies is possible only if the molecular portrait of the cell line is known, which in many parameters can be compared with one of the molecular subtypes of malignant neoplasms of the mammary gland — luminal A, luminal B, basal-like/triple negative and Her2/neu-positive. In this review, the basic characteristics of cells of breast cancer lines are highlighted, since the choice of the necessary model system is extremely important before conducting research

and needs to take into account its molecular characteristics.

Key words: cell lines, molecular subtype, luminal A, luminal B, basal-like/triple-negative, Her2/neu-positive, Her2-enriched breast cancer.

Адреса для листування:

Шлапацька Л.М.

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

E-mail: larisash70@ukr.net

Одержано: 26.06.2024