

Для цитирования: Степанов И.В., Алтыбаев С.Р., Крахмаль Н.В., Рачковский К.В., Сорокин Д.А., Афанасьев С.Г., Вторушин С.В., Завьялова М.В. Особенности экспрессии EGFR при раке прямой кишки, связь с частотой метастатического поражения регионарных лимфатических узлов. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16 (2): 42–49. - DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-42-49

For citation: Stepanov I.V., Altybaev S.R., Krakhmal N.V., Rachkovsky K.V., Sorokin D.A., Afanasyev S.G., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V. EGFR expression in rectal cancer, relation to the frequency of lymph node metastasis. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16 (2): 42–49. - DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-42-49

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ EGFR ПРИ РАКЕ ПРЯМОЙ КИШКИ, СВЯЗЬ С ЧАСТОТОЙ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ РЕГИОНАРНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ

И.В. Степанов^{1,2}, С.Р. Алтыбаев², Н.В. Крахмаль^{1,2}, К.В. Рачковский², Д.А. Сорокин¹, С.Г. Афанасьев¹, С.В. Вторушин^{1,2}, М.В. Завьялова^{1,2}

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹

634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: i_v_stepanov@mail.ru¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,

г. Томск, Россия²

634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Процессы жизнедеятельности раковых клеток во многом зависят от продукции ростовых факторов и их рецепторов. Одним из таковых является эпидермальный фактор роста (EGFR), представляющий собой тирозин-киназный рецептор, принадлежащий к семейству ErbB рецепторов мембран клеток. В норме связывание лигандов EGFR и трансформирующего фактора роста альфа (TGF α) индуцирует активацию рецепторов, что запускает еrk и PI3K сигнальные пути, контролируемые клеточную пролиферацию, миграцию, инвазию и множество других процессов. Ряд исследований показал, что высокий уровень экспрессии EGFR наблюдается в 25–82 % случаев рака прямой кишки. Таким образом, экспрессия и мутация гена EGFR связаны с различными вариантами прогрессирования опухоли и неблагоприятным прогнозом при злокачественных новообразованиях различных локализаций. **Цель исследования** – изучить экспрессионные характеристики эпидермального фактора роста (EGFR) в опухолевой ткани и оценить их взаимосвязь с параметрами лимфогенного метастазирования при раке прямой кишки. **Материал и методы.** Исследовался операционный материал, полученный от 149 больных с аденокарциномой прямой кишки T₁₋₄N₀₋₂M₀, которым проводилось лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Из них у 88 (59,1 %) пациентов выявлена позитивная экспрессия EGFR. Гистологическое и иммуногистохимическое исследование выполнялось по стандартной методике. Диагноз устанавливался согласно классификации ВОЗ (2010). **Результаты.** При изучении экспрессионных параметров эпидермального фактора роста в опухолевых клетках на различной глубине инвазии оказалось, что позитивная экспрессия этого маркера отмечалась в случаях с наличием и отсутствием лимфогенных метастазов. Анализ экспрессии EGFR в различных структурах паренхиматозного компонента опухоли, расположенных в разных слоях стенки кишки, показал, что в солидных структурах слизистой оболочки позитивная экспрессия EGFR выявлялась чаще в случаях без лимфогенных метастазов. У пациентов с наличием лимфогенных метастазов процент экспрессии EGFR оказался ниже. Подобная картина наблюдалась в дискретных группах опухолевых клеток, находящихся в серозной оболочке прямой кишки. **Заключение.** Проведенное исследование показало наличие неоднородности экспрессионных характеристик эпидермального фактора роста в различных структурах опухоли, расположенных на разной глубине инвазии. Взаимосвязь параметров лимфогенного метастазирования с позитивной экспрессией EGFR свидетельствует о прогностической значимости данного маркера.

Ключевые слова: рак прямой кишки, экспрессия, рецептор, эпидермальный фактор роста, лимфогенное метастазирование.

Мультидисциплинарный подход в лечении рака прямой кишки (РПК) является наиболее оптимальным и позволяет предупредить прогрессирование злокачественного процесса [1–3]. Известно, что

процессы жизнедеятельности опухолевых клеток во многом зависят от продукции ростовых факторов и их рецепторов. Одним из таких наиболее существенных агентов является эпидермальный

фактор роста (EGFR), представляющий собой тирозин-киназный рецептор, принадлежащий к семейству ErbB-рецепторов мембран клеток. В норме связывание лигандов EGFR и трансформирующего фактора роста альфа (TGF α) индуцирует активацию рецепторов, что запускает ERK и PI3K сигнальные пути, контролирующие клеточную пролиферацию, миграцию, инвазию, апоптоз путем фосфорилирования транскрипционного фактора p53 и пролиферацию эндотелиальных клеток при ангиогенезе [4–6]. В условиях опухолевого роста отмечается нарушение регуляции каскада сигнальных путей, вызываемое аномальной экспрессией EGFR клетками первичной опухоли, что приводит к удлинению срока жизни клеток и прогрессированию процесса [7]. Экспрессия и мутация гена *EGFR* связаны с различными вариантами прогрессирования опухоли и неблагоприятным прогнозом при различных злокачественных новообразованиях. Показано, что высокий уровень экспрессии EGFR наблюдается в 25–82 % случаев РПК [8]. Также имеются данные о связи экспрессии EGFR со степенью дифференцировки и глубиной инвазии опухоли: максимальная экспрессия данного маркера наблюдается при аденокарциноме низкой степени дифференцировки, а также при местнораспространенном РПК [9, 10].

Эффективность терапии РПК во многом обусловлена чувствительностью ткани первичной опухоли к химиолучевому воздействию. Неудовлетворительные результаты химиолучевой терапии РПК связывают с мутациями в гене *EGFR* [11]. Ряд авторов считает гиперэкспрессию EGFR при РПК неблагоприятным прогностическим фактором, так как у данной группы пациентов отмечалась низкая безрецидивная выживаемость [12, 13]. При гиперэкспрессии EGFR в случаях регрессии рака пищевода и желудка после неoadъювантной химиолучевой терапии (объем остаточной опухоли менее 10 %) отмечалось развитие ранних рецидивов [14]. При анализе выживаемости пациентов с аденокарциномой прямой кишки, получавших лечение моноклональными антителами, гиперэкспрессия EGFR выявлялась в случаях с позитивным и негативным исходом заболевания [15, 16]. У больных РПК с выраженным опухолевым ответом на неoadъювантную химиолучевую терапию в диагностических биоптатах были выявлены низкие уровни экспрессии EGFR [17]. Н. Yasuda et al. выявили прогностическую значимость экспрессии EGFR в группе больных, получавших предоперационную лучевую терапию, в сравнении с группой больных, которым она не проводилась [18]. Некоторые исследователи полагают, что для преодоления резистентности к специфической анти-EGFR терапии необходимо руководствоваться мутантным статусом ряда генов [19, 20]. Точечные мутации, обнаруженные в гене *KRAS*, оказались неблагоприятным фактором в от-

ношении эффективности терапии РПК некоторыми моноклональными антителами [21]. Однако наличие мутации в других генах дикого типа, таких как *BRAF*, *NRAS*, *PIK3CA*, не позволяет ограничиться применением каких-либо конкретных моноклональных антител в терапии РПК, поскольку прогрессирование злокачественной опухоли идет за счет активации целого комплекса сигнальных путей [22]. Таким образом, исследование экспрессии EGFR у больных с РПК является крайне актуальным, поскольку этот молекулярно-биологический маркер имеет связь с прогнозом заболевания. Кроме того, данные литературы неоднозначны и противоречивы, что требует глубокого анализа взаимосвязи экспрессионных характеристик маркера с различными вариантами прогрессирования опухолевого процесса.

Цель исследования – изучить особенности экспрессии EGFR при раке прямой кишки и сопоставить их с частотой метастатического поражения регионарных лимфатических узлов.

Материал и методы

Исследовался операционный материал, полученный от 149 больных раком прямой кишки T₁₋₄N₀₋₂M₀, которым проводилось лечение в торакоабдоминальном отделении НИИ онкологии Томского НИМЦ с 1999 по 2015 г. В окончательный анализ включены 88 (59,1 %) пациентов РПК, у которых была выявлена позитивная экспрессия EGFR. Средний возраст пациентов – 58,2 ± 10,1 года, из них 51 (58 %) мужчина и 37 (42 %) женщин. Всем больным выполнено оперативное вмешательство в радикальном объеме, которое в 28 (31,8 %) случаях предварялось неoadъювантной химиолучевой терапией по методике, принятой в клинике [23]. Морфологическому исследованию подвергалась ткань первичной опухоли. Материал фиксировался в 10–12 % растворе нейтрального формалина. Проводка материала и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Исследование выполнялось с применением светового микроскопа «Carl Zeiss Axio Lab.A1». Гистологический тип рака устанавливался согласно рекомендациям ВОЗ (2010). Включались только случаи с аденокарциномой прямой кишки.

В паренхиматозном компоненте опухоли на разной глубине инвазии: в слизистой оболочке, подслизистом и мышечном слоях, а также в серозной оболочке выделяли железистоподобные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток. Иммуногистохимическое исследование выполнялось по стандартной методике. Использовались антитела Anti-EGFR antibody [EP38Y] ab52894 Abcam (кроличьи моноклональные 1:100). В цитоплазме клеток железистоподобных, солидных структур и в группах опухолевых клеток,

располагающихся на разной глубине инвазии (в слизистой оболочке, подслизистом и мышечном слоях, а также в серозной оболочке), оценивались наличие, интенсивность и процент экспрессии исследуемого маркера (рис. 1). Интенсивность экспрессии учитывалась по трехбалльной системе: 1 балл – слабая, 2 балла – умеренная, 3 балла – выраженная. Процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркера EGFR рассчитывался в 10 полях зрения на 1000 клеток при увеличении $\times 400$. Фотографирование гистологических и иммуногистохимических препаратов осуществлялось с использованием гистосканера MIRAX MIDI фирмы «Zeiss». Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 10». Применялись дисперсионный анализ и критерий χ^2 . Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией к различиям при $p < 0,1$.

Результаты

Выявлено, что позитивная экспрессия маркера EGFR у пациентов с раком прямой кишки чаще наблюдалась в клетках железистоподобных структур новообразования, в то же время в солидных структурах и дискретно расположенных группах клеток экспрессия данного молекулярно-биологического

маркера была ниже. Следует отметить, что данная закономерность наблюдалась при анализе частоты экспрессии EGFR на всех уровнях инвазии опухоли в стенку кишки. Также нами была отмечена связь частоты экспрессии EGFR с глубиной инвазии опухоли в стенку прямой кишки. В серозной оболочке позитивная экспрессия EGFR в железистоподобных, солидных структурах и в дискретных группах опухолевых клеток наблюдалась реже по сравнению с подслизистым и мышечным слоями (табл. 1).

При этом не выявлено различий в интенсивности экспрессии EGFR в зависимости от морфологического типа опухолевых структур и глубины инвазии опухоли в стенку кишки. Уровень экспрессии EGFR был ниже в группах опухолевых клеток в сравнении с таковым в железистоподобных структурах. В солидных структурах и в группах опухолевых клеток более низкий уровень экспрессии отмечался в серозной оболочке по сравнению со значениями экспрессии EGFR в слизистой оболочке и подслизистом слое (табл. 2).

Позитивная экспрессия EGFR в солидных структурах, располагающихся в слизистой оболочке и в дискретных группах опухолевых клеток, располагающихся в серозной оболочке, наблюдалась чаще в случаях с метастатическим поражением

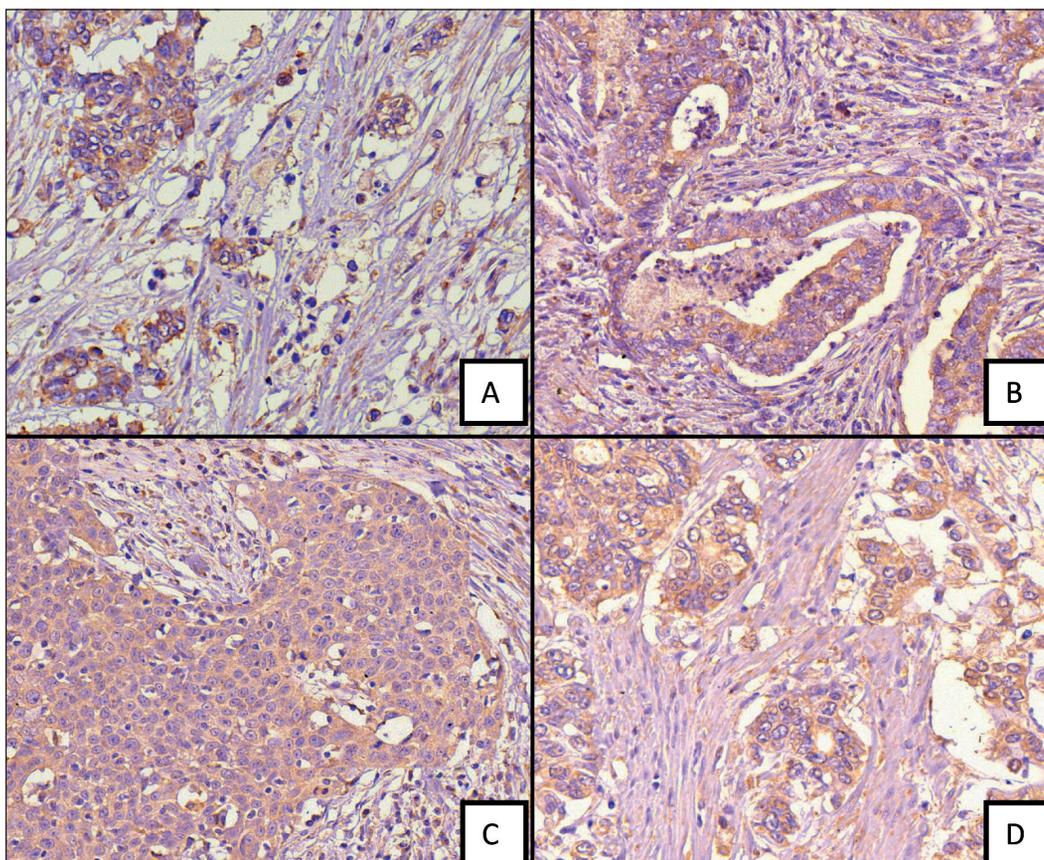


Рис. 1. Микрофото. А – экспрессия EGFR в группах опухолевых клеток, $\times 400$. В – экспрессия EGFR в железистоподобных структурах, $\times 400$. С – экспрессия EGFR в солидных структурах, $\times 400$. D – экспрессия EGFR в различных типах опухолевых структур: солидных, группах клеток, железистоподобных, $\times 600$

Таблица 1

Наличие экспрессии EGFR в разных структурах опухоли при раке прямой кишки

| Глубина инвазии | | Наличие экспрессии EGFR | | |
|--------------------|---|---|--|--|
| | | Железистоподобные структуры а | Солидные структуры б | Группы клеток в |
| Слизистая оболочка | 1 | 48/88 (54 %) $p_6=0,0000$ $p_8=0,0000$ 67/88 (76 %) $p_1=0,001$ | 4/88 (4,5 %) | 6/88 (6,8 %) |
| Подслизистый слой | 2 | $p_3=0,01$ $p_4=0,0000$ $p_6=0,0000$ $p_8=0,0000$ 54/88 (61 %) | 10/88 (11 %) $p_1=0,03$ $p_4=0,02$ | 24/88 (27 %) $p_1=0,0003$ $p_4=0,0003$ |
| Мышечный слой | 3 | $p_6=0,0000$ $p_8=0,0000$ 8/88 (9 %) | 10/88 (11 %) | 19/88 (21 %) |
| Серозная оболочка | 4 | $p_1=0,0000$ $p_2=0,0000$ $p_3=0,0000$ $p_6=0,04$ | 3/88 (3,4 %) $p_2=0,02$ $p_4=0,02$ | 6/88 (6,8 %) $p_2=0,004$ $p_4=0,004$ |

Таблица 2

Экспрессия EGFR в разных структурах опухоли при раке прямой кишки

| Глубина инвазии | | Экспрессия EGFR | | |
|--------------------|---|----------------------------------|---|--|
| | | Железистоподобные структуры а | Солидные структуры б | Группы клеток в |
| Слизистая оболочка | 1 | 59,4 ± 29,0 % (n=48) | 54,5 ± 9,6 % (n=4) | 62,8 ± 28,9 % (n=6) |
| Подслизистый слой | 2 | 59,3 ± 26,2 % (n=67) | 55,3 ± 26,2 % (n=10) | 42,5 ± 27,1 % (n=24) $p_a=0,004$ |
| Мышечный слой | 3 | 52,3 ± 29,3 % (n=54) | 43,8 ± 28,3 % (n=10) | 36,2 ± 27,7 % (n=19) $p_a=0,02$ |
| Серозная оболочка | 4 | 62,1 ± 35,1 % (n=8) | 17,0 ± 5,2 % (n=3) $p_1=0,0009$ $p_2=0,02$ | 19,0 ± 8,1 % (n=6) $p_a=0,03$ $p_6=0,006$ $p_1=0,0025$ $p_2=0,02$ |

Таблица 3

Экспрессия EGFR при раке прямой кишки в зависимости от частоты лимфогенного метастазирования

| Глубина инвазии | Наличие экспрессии EGFR, количество больных | | | | | |
|--------------------|---|---------------|--------------------|---------------|----------------------|---------------|
| | Железистоподобные структуры | | Солидные структуры | | Группы клеток | |
| | N_0 | N_+ | N_0 | N_+ | N_0 | N_+ |
| Слизистая оболочка | 31/62 (50 %) | 17/26 (65 %) | 1/62 (1,6 %) | 3/26 (11,5 %) | 3/62 (4,8 %) | 3/26 (11,5 %) |
| Подслизистый слой | 46/62 (74 %) | 21/26 (81 %) | 6/62 (9,7 %) | 4/26 (15 %) | 16/62 (26 %) | 8/26 (31 %) |
| Мышечный слой | 35/62 (56 %) | 19/26 (73 %) | 6/62 (9,7 %) | 5/26 (19 %) | 12/62 (19 %) | 7/26 (27 %) |
| Серозная оболочка | 5/62 (8 %) | 3/26 (11,5 %) | 2/62 (3 %) | 1/26 (3,8 %) | 2/62 (3 %) | 4/26 (15 %) |
| | | | | | $\chi^2=4,2; p=0,03$ | |

Таблица 4

Интенсивность экспрессии EGFR при раке прямой кишки в зависимости от частоты лимфогенного метастазирования

| Глубина инвазии | Интенсивность экспрессии EGFR | | | | | |
|--------------------|-------------------------------|------------------|--------------------|-----------------|------------------|------------------|
| | Железистоподобные структуры | | Солидные структуры | | Группы клеток | |
| | N ₀ | N ₊ | N ₀ | N ₊ | N ₀ | N ₊ |
| Слизистая оболочка | 1,2 ± 0,4 (n=31) | 1,3 ± 0,4 (n=17) | 1,0 (n=1) | 1,0 ± 0,0 (n=3) | 1,3 ± 0,5 (n=3) | 1,3 ± 0,5 (n=1) |
| Подслизистый слой | 1,2 ± 0,4 (n=46) | 1,3 ± 0,4 (n=21) | 1,2 ± 0,4 (n=6) | 1,0 ± 0,0 (n=4) | 1,3 ± 0,4 (n=16) | 1,1 ± 0,3 (n=7) |
| Мышечный слой | 1,1 ± 0,3 (n=35) | 1,2 ± 0,4 (n=19) | 1,2 ± 0,4 (n=5) | 1,0 ± 0,0 (n=5) | 1,3 ± 0,4 (n=31) | 1,1 ± 0,3 (n=17) |
| Серозная оболочка | 1,0 ± 0,0 (n=4) | 1,3 ± 0,5 (n=3) | 1,0 ± 0,0 (n=2) | 1,0 (n=1) | 1,0 ± 0,0 (n=2) | 1,0 ± 0,0 (n=4) |

Таблица 5

Экспрессия EGFR при раке прямой кишки в зависимости от частоты лимфогенного метастазирования

| Глубина инвазии | Экспрессия EGFR | | | | | |
|--------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| | Железистоподобные структуры | | Солидные структуры | | Группы клеток | |
| | N ₀ | N ₊ | N ₀ | N ₊ | N ₀ | N ₊ |
| Слизистая оболочка | 61,1 ± 29,4 % (n=31) | 55,1 ± 28,8 % (n=18) | 58,0 % (n=1) | 53,3 ± 11,5 % (n=3) | 79,3 ± 4,1 % (n=3) | 50,5 ± 34,4 % (n=4) |
| Подслизистый слой | 58,4 ± 27,8 % (n=46) | 61,2 ± 23,0 % (n=21) | 58,8 ± 23,1 % (n=6) | 50,0 ± 33,3 % (n=4) | 41,3 ± 29,7 % (n=16) | 45,8 ± 20,8 % (n=6) |
| Мышечный слой | 54,0 ± 30,0 % (n=35) | 48,8 ± 28,1 % (n=18) | 58,6 ± 29,4 % (n=5) | 29,0 ± 19,2 % (n=5) | 35,5 ± 32,0 % (n=12) | 37,4 ± 20,3 % (n=7) |
| Серозная оболочка | 71,5 ± 43,7 % (n=4) | 49,6 ± 20,5 % (n=3) | 17,0 ± 0,0 % (n=2) | 15,0 % (n=1) | 21,0 ± 3,4 % (n=2) | 19,0 ± 8,1 % (n=4) |

регионарных лимфоузлов (табл. 3). С интенсивностью и процентом экспрессии EGFR в клетках разных структур новообразования лимфогенное метастазирование связано не было (табл. 4, 5).

Заключение

В результате исследования выявлены особенности экспрессии эпидермального фактора роста EGFR при раке прямой кишки и их взаимосвязь с лимфогенным метастазированием. Полученные результаты можно объяснить тем, что угнетение экспрессии EGFR в опухолевых клетках связано со снижением дифференцировки и прогрессированием рака прямой кишки. Об этом свидетельствует выявленная закономерность сохранения высокого уровня экспрессии изучаемого маркера в высокодифференцированных опухолевых структурах, таких как железистоподобные, расположенных на разной глубине инвазии. В пользу дедифференцировки опухоли, а, следовательно, и более агрессивного течения заболевания свидетельствует снижение уровня экспрессии EGFR во всех морфологических типах структур по мере нарастания глубины инвазии, при этом в серозной оболочке прямой кишки наблюдались самые низкие показатели экспрессии этого фактора. Также в наиболее

низкодифференцированных структурах опухоли, таких как солидные и дискретные группы опухолевых клеток, было обнаружено стойкое снижение уровня экспрессии EGFR, что, вероятно, связано с нарушением баланса сигнальных путей, ответственных за дифференцировку клеток. Кроме того, исследуемый маркер был связан с таким вариантом прогрессирования опухоли, как лимфогенное метастазирование. Так, позитивная экспрессия EGFR, выявленная в низкодифференцированных солидных структурах, расположенных в слизистой оболочке и в дискретных группах опухолевых клеток, расположенных в серозной оболочке, наблюдалась чаще в случаях с метастатическим поражением регионарных лимфатических узлов. Подобные изменения свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия EGFR может быть ассоциирована с прогрессированием опухоли и неблагоприятным прогнозом. Результаты проведенного исследования отчетливо демонстрируют нарушение экспрессии эпидермального фактора роста в агрессивно протекающих опухолях с низкой степенью дифференцировки, в большинстве которых преобладают такие морфологические структуры, как солидные и дискретные группы опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корытова Л.И. Непосредственные результаты комбинированной терапии местных рецидивов рака прямой кишки. Вопросы онкологии. 2015; 61 (1): 52–56.
2. Lescut N., Lepinoy A., Schipman B., Cerda T., Guimas V., Bednarek C., Bosses J.F. Preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer: experience from one centre. Cancer Radiother. 2015; 19 (2): 98–105. doi: 10.1016/j.canrad.2014.11.011.
3. Бердов Б.А. Комбинированное лечение больных с местнораспространенным раком прямой кишки. Вопросы онкологии. 2014; 4: 497–503.
4. Han W., Lo H.W. Landscape of EGFR signaling network in human cancers: biology and herapeutic response in relation to receptor subcellular locations. Cancer Lett. 2012 May 28; 318 (2): 124–34. doi: 10.1016/j.canlet.2012.01.011.
5. Minder P., Zajac E., Quigley J.P., Deryugina E.I. EGFR Regulates the Development and Microarchitecture of Intratumoral Angiogenic Vasculature Capable of Sustaining Cancer Cell Intravasation. Neoplasia. 2015 Aug; 17 (8): 634–49. doi: 10.1016/j.neo.2015.08.002.
6. Citri A., Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. Nat Rev Mol Cell Biol. 2006 Jul; 7 (7): 505–16.
7. Van Emburgh B.O., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Siena S., Bardelli A. Acquired resistance to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. Mol Oncol. 2014 Sep 12; 8 (6): 1084–94. doi: 10.1016/j.molonc.2014.05.003.
8. Jeong W.J., Cha P.H., Choi K.Y. Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in metastatic colorectal cancer. World J Gastroenterol. 2014 Aug 7; 20 (29): 9862–71. doi: 10.3748/wjg.v20.i29.9862.
9. Rego R.L., Foster N.R., Smyrk T.C., Le M., O'Connell M.J., Sargent D.J., Windschitl H., Sinicrope F.A. Prognostic effect of activated EGFR expression in human colon carcinomas: comparison with EGFR status. Br J Cancer. 2010 Jan 5; 102 (1): 165–72. doi: 10.1038/sj.bjc.6605473.
10. Giralt J., de las Heras M., Cerezo L., Eraso A., Hermosilla E., Velez D., Benavente S. The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy: a multicenter, retrospective analysis. Radiother Oncol. 2005 Feb; 74 (2): 101–8.
11. Ohashi K., Maruyka Y.E., Michor F., Pao W. Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor–Resistant Disease. J Clin Oncol. 2013 Mar 10; 31 (8): 1070–80. doi: 10.1200/JCO.2012.43.3912.
12. Richter I., Dvořák J., Urbanec M., Bluml A., Čermáková E., Bartoš J., Petera J. The prognostic significance of tumor epidermal growth factor receptor (EGFR) expression change after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma. Contemp Oncol (Pozn). 2015; 19 (1): 48–53. doi: 10.5114/wo.2015.50013.
13. Du C., Zhao J., Xue W., Dou F., Gu J. Prognostic value of microsatellite instability in sporadic locally advanced rectal cancer following neoadjuvant radiotherapy. Histopathology. 2013 Apr; 62 (5): 723–30. doi: 10.1111/his.12069.
14. McCollum A.D., Kocs D.M., Chadha P., Monticelli M.A., Boyd T.E., Fain J.D., Thummala A. Randomized phase II trial of preoperative chemoradiotherapy with or without cetuximab in locally advanced rectal adenocarcinoma. J. Clin. Oncol. 2014; 32 (suppl 3): abstr 537.
15. Ott K., Blank S., Becker K., Langer R., Weichert W., Roth W., Sasic L., Stange A., Jäger D., Büchler M., Siewert J.R., Lordick F. Factors predicting prognosis and recurrence in patients with esophago-gastric adenocarcinoma and histopathological response with less than 10% residual tumor. Langenbecks Arch Surg. 2013 Feb; 398 (2): 239–49. doi: 10.1007/s00423-012-1039-0.
16. Kim S.Y., Shim E.K., Yeo H.Y., Baek J.Y., Hong Y.S., Kim D.Y., Kim T.W., Kim J.H., Im S.A., Jung K.H., Chang H.J. KRAS mutation status and clinical outcome of preoperative chemoradiation with cetuximab in locally advanced rectal cancer: a pooled analysis of 2 phase II trials. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2013 Jan 1; 85 (1): 201–7. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.03.048.
17. Kurt A., Yanar F., Asoglu O., Balik E., Olgac V., Karanlik H., Kucuk S.T., Ademoglu E., Yegen G., Bugra D. Low Mmp 9 and VEGF levels predict good oncologic outcome in mid and low rectal cancer patients with neoadjuvant chemoradiation. BMC Clin Pathol. 2012 Dec 31; 12: 27. doi: 10.1186/1472-6890-12-27.
18. Yasuda H., Tanaka K., Saigusa S., Toiyama Y., Koike Y., Okugawa Y., Kusunoki M. Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer. Oncol Rep. 2009 Oct; 22 (4): 709–17.
19. Hainsworth J.D., Waterhouse D.M., Penley W.C., Shipley D.L., Thompson D.S., Webb C.D., Anthony Greco F. Sorafenib and everolimus in advanced clear cell renal carcinoma: a phase I/II trial of the SCRI Oncology Research Consortium. Cancer Invest. 2013 Jun; 31 (5): 323–9. doi: 10.3109/07357907.2013.789900.
20. Ng K., Taberero J., Hwang J., Bajetta E., Sharma S., Del Prete S.A., Arrowsmith E.R., Ryan D.P., Sedova M., Jin J., Malek K., Fuchs C.S. Phase II study of everolimus in patients with metastatic colorectal adenocarcinoma previously treated with bevacizumab-, fluoropyrimidine-, oxaliplatin-, and irinotecan-based regimens. Clin Cancer Res. 2013; 19: 3987–3995.
21. Bardelli A., Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. J Clin Oncol. 2010 Mar 1; 28 (7): 1254–61. doi: 10.1200/JCO.2009.24.6116.
22. Van Cutsem E., Köhne C.H., Láng I., Folprecht G., Nowacki M.P., Cascinu S., Shchepotin I., Maurel J., Cunningham D., Tejpar S., Schlichling M., Zabel A., Celik I., Rougier P., Ciardiello F. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. J Clin Oncol. 2011 May 20; 29 (15): 2011–9. doi: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
23. Усова А.В., Фролова И.Г., Афанасьев С.Г., Тарасова А.С. Возможности МРТ в диагностике и оценке эффективности лечения рака прямой кишки. Сибирский онкологический журнал. 2012; 5: 74–80.

Поступила 5.02.17

Принята в печать 20.03.17

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Степанов Иван Вадимович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России; врач-патологоанатом, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: i_v_stepanov@mail.ru. SPIN-код: 5930-3160.

Алтыбаев Сельвер Рафаэльевич, очный аспирант кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: selver_altibaev@mail.ru.

Крахмаль Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России; врач-патологоанатом, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: krakhmal@mail.ru. SPIN-код: 1543-6546.

Рачковский Кирилл Владимирович, очный аспирант кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: kirillvt@yandex.ru. SPIN-код: 6814-7094.

Сорокин Дмитрий Александрович, аспирант торако-абдоминального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: Dmitrii1110@mail.ru.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник торако-абдоминального отделения, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Российская Федерация). E-mail: AfanasievSG@oncology.tomsk.ru. SPIN-код: 9206-3037.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России; ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский

институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: wtorushin@rambler.ru. SPIN-код: 2442-4720.

Завьялова Марина Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии, Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России; ведущий научный сотрудник, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN-код: 1229-0323.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

EGFR EXPRESSION IN RECTAL CANCER, RELATION TO THE FREQUENCY OF LYMPH NODE METASTASIS

I.V. Stepanov^{1,2}, S.R. Altybaev², N.V. Krakhmal^{1,2}, K.V. Rachkovsky², D.A. Sorokin¹, S.G. Afanasyev¹, S.V. Vtorushin^{1,2}, M.V. Zavyalova^{1,2}

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Medical Sciences, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny str., 634009-Tomsk, Russia. E-mail: i_v_stepanov@mail.ru¹

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky tract, 634050-Tomsk, Russia²

Abstract

The processes of vital activity of cancer cells mainly depend on the production of growth factors and their receptors. The epidermal growth factor receptor (EGFR) is a member of the ErbB family of receptor tyrosine kinases. Normally, binding of EGFR ligands and transforming growth factor alpha (TGF α) induces receptor activation, which triggers erk and PI3K signaling pathways that control cell proliferation, migration, invasion and many other processes. A number of studies have shown that a high percentage of EGFR expression is observed in 25–82 % of cases with rectal cancer. Thus, the expression and mutation of the EGFR gene is associated with various variants of tumor progression and an unfavorable prognosis for malignant tumors of various localizations. **The purpose of the study** was to investigate the EGFR expression in cancer tissue and evaluate the relationship between EGFR expression and parameters of lymphogenous metastasis in patients with rectal cancer. **Material and methods.** Surgical specimens of 149 patients with stage T₁₋₄N₀₋₂M₀ rectal adenocarcinoma, who were treated at the Cancer Research Institute of Tomsk National Research Medical Center, were studied using histological and immunohistochemical analyses. Positive EGFR expression was found in 88 (59.1 %) patients. Diagnosis was made according to WHO classification (2010). **Results.** When studying the EGFR expression in tumor cells on different depth of invasion, it was found that the positive expression of this marker was observed in cases with and without lymph node metastases. The analysis of the EGFR expression in various structures of the parenchymatous component of the tumor located in different layers of the intestinal wall showed that in the solid structures of the mucosa, the positive expression of EGFR was detected more often in cases without lymph node metastases. In patients with lymph node metastases, the percentage of the EGFR expression was lower. A similar pattern was observed in discrete groups of tumor cells. **Conclusion.** The study showed the presence of heterogeneity of the expression characteristics of the epidermal growth factor in various tumor structures located at different depths of infestation. The relationship between the parameters of lymphogenous metastasis and the positive EGFR expression indicates the prognostic significance of this marker.

Key words: rectal cancer, expression, receptor, epidermal growth factor, lymphnodes metastasis.

REFERENCES

1. Korytova L.I. Short-term results of combination therapy for locally recurrent rectal cancer. *Problems in oncology*. 2015; 61 (1): 52–56. [in Russian]
2. Lescut N., Lepinoy A., Schipman B., Cerda T., Guimas V., Bednarek C., Bossset J.F. Preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer: experience from one centre. *Cancer Radiother*. 2015; 19 (2): 98–105. doi: 10.1016/j.canrad.2014.11.011.
3. Berdov B.A. Multimodality treatment of patients with locally advanced rectal cancer. *Problems in oncology*. 2014; 4: 497–503. [in Russian]
4. Han W., Lo H.W. Landscape of EGFR signaling network in human cancers: biology and herapeutic response in relation to receptor subcellular locations. *Cancer Lett*. 2012 May 28; 318 (2): 124–34. doi: 10.1016/j.canlet.2012.01.011.
5. Minder P., Zajac E., Quigley J.P., Deryugina E.I. EGFR Regulates the Development and Microarchitecture of Intratumoral Angiogenic Vasculature Capable of Sustaining Cancer Cell Intravasation. *Neoplasia*. 2015 Aug; 17 (8): 634–49. doi: 10.1016/j.neo.2015.08.002.
6. Citri A., Yarden Y. EGF-ERBB signalling: towards the systems level. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006 Jul; 7 (7): 505–16.
7. Van Emburgh B.O., Sartore-Bianchi A., Di Nicolantonio F., Siena S., Bardelli A. Acquired resistance to EGFR-targeted therapies in colorectal cancer. *Mol Oncol*. 2014 Sep 12; 8 (6): 1084–94. doi: 10.1016/j.molonc.2014.05.003.
8. Jeong W.J., Cha P.H., Choi K.Y. Strategies to overcome resistance to epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy in metastatic colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2014 Aug 7; 20 (29): 9862–71. doi: 10.3748/wjg.v20.i29.9862.

9. Rego R.L., Foster N.R., Smyrk T.C., Le M., O'Connell M.J., Sargent D.J., Windschitl H., Sinicrope F.A. Prognostic effect of activated EGFR expression in human colon carcinomas: comparison with EGFR status. *Br J Cancer*. 2010 Jan 5; 102 (1): 165–72. doi: 10.1038/sj.bjc.6605473.
10. Giralt J., de las Heras M., Cerezo L., Eraso A., Hermsilla E., Velez D., Benavente S. The expression of epidermal growth factor receptor results in a worse prognosis for patients with rectal cancer treated with preoperative radiotherapy: a multicenter, retrospective analysis. *Radiation Oncol*. 2005 Feb; 74 (2): 101–8.
11. Ohashi K., Maruyka Y.E., Michor F., Pao W. Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor-Resistant Disease. *J Clin Oncol*. 2013 Mar 10; 31 (8): 1070–80. doi: 10.1200/JCO.2012.43.3912.
12. Richter I., Dvořák J., Urbanec M., Bluml A., Čermáková E., Bartoš J., Petera J. The prognostic significance of tumor epidermal growth factor receptor (EGFR) expression change after neoadjuvant chemoradiation in patients with rectal adenocarcinoma. *Contemp Oncol (Pozn)*. 2015; 19 (1): 48–53. doi: 10.5114/wo.2015.50013.
13. Du C., Zhao J., Xue W., Dou F., Gu J. Prognostic value of microsatellite instability in sporadic locally advanced rectal cancer following neoadjuvant radiotherapy. *Histopathology*. 2013 Apr; 62 (5): 723–30. doi: 10.1111/his.12069.
14. McCollum A.D., Kocs D.M., Chadha P., Monticelli M.A., Boyd T.E., Fain J.D., Thummala A. Randomized phase II trial of preoperative chemoradiotherapy with or without cetuximab in locally advanced rectal adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol*. 2014; 32 (suppl 3): abstr 537.
15. Ott K., Blank S., Becker K., Langer R., Weichert W., Roth W., Sasic L., Stange A., Jäger D., Büchler M., Siewert J.R., Lordick F. Factors predicting prognosis and recurrence in patients with esophago-gastric adenocarcinoma and histopathological response with less than 10% residual tumor. *Langenbecks Arch Surg*. 2013 Feb; 398 (2): 239–49. doi: 10.1007/s00423-012-1039-0.
16. Kim S.Y., Shim E.K., Yeo H.Y., Baek J.Y., Hong Y.S., Kim D.Y., Kim T.W., Kim J.H., Im S.A., Jung K.H., Chang H.J. KRAS mutation status and clinical outcome of preoperative chemoradiation with cetuximab in locally advanced rectal cancer: a pooled analysis of 2 phase II trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2013 Jan 1; 85 (1): 201–7. doi: 10.1016/j.ijrobp.2012.03.048.
17. Kurt A., Yanar F., Asoglu O., Balik E., Olgac V., Karanlık H., Kucuk S.T., Ademoglu E., Yegen G., Bugra D. Low Mmp 9 and VEGF levels predict good oncologic outcome in mid and low rectal cancer patients with neoadjuvant Chemoradiation. *BMC Clin Pathol*. 2012 Dec 31; 12: 27. doi: 10.1186/1472-6890-12-27.
18. Yasuda H., Tanaka K., Saigusa S., Toiyama Y., Koike Y., Okugawa Y., Kusunoki M. Elevated CD133, but not VEGF or EGFR, as a predictive marker of distant recurrence after preoperative chemoradiotherapy in rectal cancer. *Oncol Rep*. 2009 Oct; 22 (4): 709–17.
19. Hainsworth J.D., Waterhouse D.M., Penley W.C., Shipley D.L., Thompson D.S., Webb C.D., Anthony Greco F. Sorafenib and everolimus in advanced clear cell renal carcinoma: a phase I/II trial of the SCRI Oncology Research Consortium. *Cancer Invest*. 2013 Jun; 31 (5): 323–9. doi: 10.3109/07357907.2013.789900.
20. Ng K., Tabernero J., Hwang J., Bajetta E., Sharma S., Del Prete S.A., Arrowsmith E.R., Ryan D.P., Sedova M., Jin J., Malek K., Fuchs C.S. Phase II study of everolimus in patients with metastatic colorectal adenocarcinoma previously treated with bevacizumab-, fluoropyrimidine-, oxaliplatin-, and irinotecan-based regimens. *Clin Cancer Res*. 2013; 19: 3987–3995.
21. Bardelli A., Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2010 Mar 1; 28 (7): 1254–61. doi: 10.1200/JCO.2009.24.6116.
22. Van Cutsem E., Köhne C.H., Láng I., Folprecht G., Nowacki M.P., Cascinu S., Schchepotin I., Maurel J., Cunningham D., Tejpar S., Schlich-ting M., Zabel A., Celik I., Rougier P., Ciardiello F. Cetuximab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: updated analysis of overall survival according to tumor KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol*. 2011 May 20; 29 (15): 2011–9. doi: 10.1200/JCO.2010.33.5091.
23. Usova A.V., Frolova I.G., Afanasyev S.G., Tarasova A.S. Potential role of magnetic resonance imaging in diagnosis and assessment of treatment response in patients with rectal cancer. *Siberian Journal of Oncology*. 2012; 5: 74–80. [in Russian]

Received 5.02.17
Accepted 20.03.17

ABOUT THE AUTHORS

- Stepanov Ivan V.**, MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; pathologist, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: i_v_stepanov@mail.ru. SPIN-код: 5930-3160.
- Altybaev Selver R.**, postgraduate, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: selver_altybaev@mail.ru.
- Krakhmal Nadezhda V.**, MD, PhD, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; pathologist, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: krakhmal@mail.ru. SPIN-код: 1543-6546.
- Rachkovsky Kirill V.**, postgraduate, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: kirillvr@yandex.ru. SPIN-код: 6814-7094.
- Sorokin Dmitry A.**, Postgraduate, Thoracic and Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: Dmitrii1110@mail.ru.
- Afanasyev Sergey G.**, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Thoracic and Abdominal Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russian Federation). E-mail: AfanasievSG@oncology.tomsk.ru. SPIN-code: 9206-3037.
- Vtorushin Sergey V.**, MD, DSc, Professor, Department of Pathological Anatomy, Siberian State Medical University; Leading Researcher, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: vtorushin@rambler.ru. SPIN-code: 2442-4720.
- Zavyalova Marina V.**, MD, DSc, Professor, Senior Researcher, Department of Pathological Anatomy, Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; Head of Pathological Anatomy Department of Siberian State Medical University (Tomsk, Russia). E-mail: zavyalovamv@mail.ru. SPIN code: 1229-0323.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests