Значимость экспрессии онкопротеина Her-2/neu и компонента межклеточного матрикса тенасцина для метастатической активности рака мочевого пузыря

Ю.Ю. Андреева, Л.Э. Завалишина, А.Н. Петров, Г.А. Франк

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена

IMPLICATION OF EXPRESSION OF THE ONCOPROTEIN HER-2/NEU AND THE INTRACELLULAR MATRIX COMPONENT TENASCIN FOR METASTATIC ACTIVITY OF URINARY BLADDER CANCER

Yu.Yu. Andreyeva, L.E. Zavalishina, A.N. Petrov, G.A. Frank

P.A. Herzen Moscow Research Oncological Institute, Russian Ministry of Health

The authors conducted an immunohistochemical study with antibodies to Her-2/neu and tenascin in urothelial bladder carcinoma. The samples taken from 32 patients with stages T2b/T3a, N0 and N+ urinary bladder carcinoma were studied. The tumor cells showed hyperexpression of the oncoprotein Her-2/neu in 6 out of 13 patients with metastases to the regional lymph nodes (T3b u T3a) and in 2 out of 7 tumors (T3a) without lymph node involvement. Quantitative assessment of the reaction with tenascin antibodies revealed that in the metastatic lymph node involvement group, the staining area was much larger than that in metastasis-free group and it averaged 49.83 and 44.21% and 11.27 and 15.7%, respectively. Comparison analysis of Her-2/neu and tenascin expression revealed no clinically significant regularities. The study of the intercellular matrix showed a high correlation between the increase in the share of tenascin-expressing and/or containing structures and the rise in the metastatic activity of a tumor.

В современных исследованиях опухолевый рост рассматривается как результат дисбаланса между пролиферацией клеток и апоптозом — запрограммированной их гибелью. Регулирование апоптоза происходит комплексно, как и процесс пролиферации клеток. Апоптоз может быть инициирован множеством внутренних и внешних сигналов. Снижение способности к апоптозу у опухолевых клеток играет существенную роль в канцерогенезе, в том числе и рака мочевого пузыря (РМП), однако осуществляется это с помощью различных механизмов, анализ которых может быть полезен для оценки существующих и поиска новых путей подавления опухолевого роста.

Наиболее хорошо изученным механизмом угнетения апоптоза является повышение экспрессии рецепторов к ростовым факторам, возникающее в опухолевых клетках вследствие активации онкогенов. Белок Her-2/neu принадлежит к семейству рецепторов эпидермального фактора роста. Избыточная экспрессия этого белка на мембране клетки возникает чаще всего в результате амплификации гена, кодирующего синтез соответствующего белка. Это сопровождается резким снижением апоптоза, усилением пролиферации клеток, снижением эффективности химио- и гормонотерапии и т.д.

Данные о прогностической значимости этого онкопротеина для РМП противоречивы, однако отмечено, что в низкодифференцированных опухолях (G3) гиперэкспрессия Her-2/neu наблюдается в большинстве случаев, выявлено также повышение выработки этого белка в опухолях большого размера и при множественных поражениях [1, 2]. В одной из работ была установлена связь гиперэкспрессии Her-2/neu с увеличением стадии процесса [3]. Отмечено также нарастание экспрессии Her-2/neu в малигнизированном уротелии по сравнению с нормой.

Не менее важной проблемой является изучение свойств опухоли, которыми определяется ее метастатический и инвазивный потенциал. Данные современной теоретической онкологии свидетельствуют о том, что инфильтративный рост новообразований и процесс их метастазирования осуществляются за счет последовательного взаимодействия различных биологических механизмов [4]. Среди последних большое значение придается изменениям в структуре белков внеклеточного матрикса (ВКМ) опухоли, вследствие чего ее клетки утрачивают адге-

Таблица **1**. *Распределение уровня экспрессии Her-2/neu в зависимости от стадии процесса*

Стадия	Уровень экспрессии Her-2/neu		
	0/+	2+	3+
T2b N0	11	1	—
T2b N+	2	1	3
T3a N0	5	—	2
T3a N+	3	1	3

зивные свойства, приобретают способность к миграции и имплантации на отдалении от первичного очага. Так, в строме различных опухолей выявлено замещение белков зрелой соединительной ткани (ламинина, коллагенов и фибронектина) на тенасцин. Последний представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 1,900 КД, состоящий из 6 субъединиц. Молекула тенасцина имеет сложную структуру, поскольку на одной из ее терминалей располагаются лиганды, препятствующие адгезии клеточных мембран, а на другой локализуются белки, обеспечивающие образование межклеточных контактов [4—6]. Впервые тенасцин С был описан как мезенхимальный антиген ВКМ в глиомах головного мозга. Дальнейшие исследования показали, что его интенсивная экспрессия коррелирует с опухолевой стадией и служит индикатором плохого прогноза [7, 8], а также коррелирует с пролиферацией и ангиогенезом в астроцитомах [9].

Изучение экспрессии тенасцина С при инвазивной карциноме мочевого пузыря показало, что увеличение его экспрессии в строме положительно коррелирует со степенью дифференцировки и клинической стадией и может являться независимым прогностическим фактором [10, 11]. В связи с этим представляет интерес количественная оценка площади ткани опухоли, содержащей тенасцин. В отделении патологической анатомии МНИОИ им. П.А. Герцена был разработан метод количественной оценки иммуногистохимической реакции с антителами к тенасцину на оцифрованных изображениях микропрепаратов опухоли [12].

Материалом для данного исследования послужили 32 наблюдения уротелиальной карциномы мочевого пузыря у больных с T2b/T3a стадией процесса, N0 и N+. Клиническая стадия T2b была установлена у 18 пациентов (N+ — у 6 больных), стадия T3a — у 14 пациентов (N+ — у 7 больных). С учетом этих показателей и были сформированы 4 группы наблюдений.

Операционный материал после резекции мочевого пузыря или цистэктомии фиксировали 10% формалином, изготавливали гистологические срезы и проводили иммуногистохимическое исследование с антителами к онкопротеину Her-2/neu и тенасцину по общепринятой методике. Реакцию проводили в стандартных условиях в иммуногистостейнере Avtostainer (DAKO).

Реакцию с антителами к Her-2/neu оценивали по шкале 0—3+. Экспрессию тенасцина оценивали количественно при помощи анализатора изображения с использованием инструментов программы Adobe Photoshop 7,0.

Таблица **2**. *Площадь поля зрения (%), занятая структурами, содержащими тенасцин*

1-я группа (*n*=12) T2b N0	2-я группа (*n*=6) T2b N+	3-я группа (*n*=7) T3a No	4-я группа (*n*=7) T3a N+
0,738	69,087	31,422	26,185
3,943	34,180	6,193	34,25
11,508	68,263	8,843	68,895
0,734	48,174	10,171	40,783
25,137	55,137	0,872	59,634
15,38	24,113	4,365	24,139
2,593		44,414	55,604
8,236			
24,167			
12,7			
0,92			
29,155			
Среднее значение			
11,27	49,83	15,17	44,21

Примечание. Подчеркнуты значения, резко превышающие средние показатели по группе.

В результате оценки Her-2/neu-статуса получены следующие данные (табл. 1). Гиперэкспрессия данного белка (3+), свидетельствующая об амплификации соответствующего гена в опухолевых клетках, выявлена у 6 из 13 пациентов с метастазами в регионарных лимфатических узлах (T3b и T3a) и в 2 из 7опухолей стадии T3a с началом инвазии в околопузырную жировую клетчатку, без поражения лимфатических узлов. Таким образом, отмечается тенденция нарастания экспрессии Her-2/neu по мере увеличения стадии болезни, в том числе более заметная гиперэкспрессия при наличии метастазов в регионарных лимфатических узлах.

Результаты количественного определения тенасцина в уротелиальной карциноме мочевого пузыря отражены в табл. 2.

В опухолях больных 2-й и 4-й групп площадь структур, содержащих тенасцин, существенно больше, чем в опухолях

больных 1-й и 3-й групп. При этом в опухолях без метастазов выявлены случаи, в которых площадь структур, содержащих тенасцин, превышает среднее значение для группы в 2—2,5 раза. Можно предположить, что метастатический потенциал этих карцином больше, чем у других опухолей подгруппы, однако он еще не успел реализоваться ко времени проведения данного исследования.

Сравнительный анализ экспрессии Her-2/neu и тенасцина не выявил клинически значимых закономерностей, однако у двух пациентов со стадией заболевания T3aN0 помимо гиперэкспрессии Her-2/neu (3+) было выявлено превышение средних значений содержания тенасцина более чем в 2 раза.

Результаты исследования свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения прогностической значимости онкопротеина Her-2/neu при РМП. Исследование межклеточного матрикса показало высокую корреляцию между увеличением доли структур, экспрессирующих и/или содержащих тенасцин, и увеличением метастатической активности опухоли, что, возможно, позволит выделять опухоли с повышенным метастатическим потенциалом.

Литература

1. Coogan C.L., Estrada C.R., Kapur S. et al. Her-2/neu protein overexpression and gene amplification in human transitional cell carcinoma of the bladder. Urology 2004;63(4):786—90.
2. San Miguel Fraile P., Anton Badiola I., Ortiz Rey J.A. et al. [Comparative study of the expression of p53, Ki-67, bcl-2 and CK20 in superficial transitional carcinoma of the bladder: correlation with recurrence, histological grade, and clinical stage]. Actas Urol Esp 2003;27(8):587—93.
3. Wang C., Liu X., Wang L. et al. [p16, p53 and c-erbB-2 gene expression in bladder carcinoma] Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi 2000;29(1):20—3.
4. Levine A.I., Schmidek H.H. Molecular genetics of nervous system tumors. NY, Wiley-Liss; 1993.
5. Chiquet-Ehrismann R., Kalla P., Pearson C.A. Participation of tenascin and transforming growth factor-beta in reciprocal epithelial-mesenchymal interactions of MCF7 cells and fibroblasts. Cancer Res 1989;49(15):4322—5.
6. Lightner V.A., Erickson H.P. J Cell Sci 1990;95(Pt 2):263—77.
7. Herold-Mende C., Mueller M.M., Bonsanto M.M. et al. Clinical impact and functional aspects of tenascin-C expression during glioma progression. Int Cancer 2002;98(3):362—9.
8. Korshunov A., Golanov A., Timirgaz V. Immunohistochemical markers for intracranial ependymoma recurrence. An analysis of 88 cases. J Neurol Sci 2000;177(1):72—82.
9. Kim C.H., Bak K.H., Kim Y.S. et al. Expression of tenascin-C in astrocytic tumors: its relevance to proliferation and angiogenesis. Surg Neurol 2000;54(3):235—40.
10. Brunner A., Mayerl C., Tzankov A. et al. Prognostic significance of tenascin-C expression in superficial and invasive bladder cancer. J Clin Pathol 2004;57(9): 927—31.
11. Ioachim E., Michael M., Stavropoulos N.E. et al. A clinicopathological study of the expression of extracellular matrix components in urothelial carcinoma. BJU Int 2005;95(4):655—9.
12. Завалишина Л.Э., Петров А.Н., Андреева Ю.Ю. Количественная оценка результатов иммуногистохимического исследования тенасцина в инфильтративном протоковом раке молочной железы. Арх патол 2005;(6):21—4.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

1. Статьи, направляемые в журнал «Онкоурология», должны быть представлены на дискете или CD-носителях (электронная версия) с распечаткой на бумаге (в двух экз., через 2 интервала, шрифт — Times New Roman, 14 пунктов).
К статьям должны быть приложены резюме на русском и желательно на английском языках объемом не более 1/3 машинописной страницы.
2. В выходных данных следует указать: название статьи, инициалы и фамилии всех авторов, название учреждения, город. Необходимо также приложить рекомендацию руководителя учреждения.
В конце статьи обязательно следует дать контактные телефоны, адрес электронной почты и Ф.И.О. авторов для связи.
Статьи и резюме должны быть структурированы: «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение».
3. Объем лекции и обзора не должен превышать 10—12 стр., оригинальной статьи – 8 стр. машинописного текста. Список литературы соответственно не должен превышать 20 и 40 источников.
4. Если статья сопровождается рисунками и таблицами, ссылки на них в тексте обязательны.
5. Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. На рисунке указываются: «верх» и «низ»; фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т.д. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, расшифровываются в подрисуночной подписи. Электронный вариант рисунков должен быть выполнен в формате TIFF, JPG, CMYK, 300dpi. Векторные иллюстрации – в формате EPS Adobe Illustrator 7.0 – 10.0.
6. Все таблицы должны быть пронумерованы и иметь заголовки. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.
7. Список литературы приводится в порядке цитирования. Для каждого источника необходимо указать: Ф.И.О. авторов (если авторов не более четырех, то перечислить все их фамилии. Если более четырех, следует указать фамилии и инициалы трех первых авторов, а вместо перечисления остальных ставится «и др.» или «et al.»). Также следует дать название книги или статьи, название журнала, год, том и номер выпуска (для книги –место издания, название издательства, год), страницы.
8. Буквенные сокращения в тексте статьи допускаются только после полной расшифровки понятия.
9. Редакция оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Журнал «Онкоурология» приглашает авторов к активному сотрудничеству.
Статьи направлять по адресу:
115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24, проф. Б.П. Матвееву.
e-mail: oncourolog@netoncology.ru
www.netoncology.ru