

Для цитирования: Синянский Л.Е., Крахмаль Н.В., Наумов С.С., Паталаяк С.В., Афанасьев С.Г., Вторушин С.В. Связь экспрессии маркеров эпителиально-мезенхимального перехода с клинико-морфологическими параметрами рака толстой кишки. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(4): 56–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-56-63

For citation: Sinyanskiy L.E., Krakhmal N.V., Naumov S.S., Patalyak S.V., Afanasyev S.G., Vtorushin S.V. Relationship of the epithelial-mesenchymal transition expression markers with clinical and morphological parameters of colon cancer. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(4): 56–63. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-4-56-63

СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ МАРКЕРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ПАРАМЕТРАМИ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ

Л.Е. Синянский^{1,2}, Н.В. Крахмаль^{1,2}, С.С. Наумов², С.В. Паталаяк^{1,2},
С.Г. Афанасьев¹, С.В. Вторушин^{1,2}

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

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5. E-mail: dr.sinyanskiy@gmail.com¹

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Томск, Россия²

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2²

Аннотация

Актуальной проблемой современной онкологии являются опухоли толстой кишки с мезенхимально-подобным подтипом, который определяет неблагоприятное клиническое течение заболевания. **Цель исследования** – изучить клинико-морфологические характеристики рака толстой кишки в зависимости от экспрессии маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 в ткани первичной опухоли. **Материал и методы.** Проведен совокупный анализ экспрессии FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 с патоморфологическими критериями у 100 больных раком толстой кишки T1–4bN0–2bM0. Результаты. Опухоли с выраженными мезенхимными признаками характеризуются большим размером первичной опухоли, низкой степенью дифференцировки, поражением регионарных лимфатических узлов и, как следствие, большей стадией заболевания. Обнаружена зависимость частоты и уровня экспрессии FRMD6, ZEB1 и HTR2B в отношении степени дифференцировки аденокарциномы кишки, показано, что при наличии позитивной экспрессии и высоких значениях процента экспрессии данных белков в ткани новообразования повышается степень морфологической анаплазии опухоли. **Заключение.** Исследование позволило обнаружить связь иммуногистохимических маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 с характеристиками опухоли, определяющими течение онкологического процесса. Изученные маркеры в дальнейшем могут иметь прогностическое и предиктивное значение при раке толстой кишки.

Ключевые слова: рак толстой кишки, эпителиально-мезенхимальный переход, FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2.

RELATIONSHIP OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION EXPRESSION MARKERS WITH CLINICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF COLON CANCER

L.E. Sinyanskiy^{1,2}, N.V. Krakhmal^{1,2}, S.S. Naumov², S.V. Patalyak^{1,2},
S.G. Afanasyev¹, S.V. Vtorushin^{1,2}

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

5, Kooperativny St., 634009, Tomsk, Russia. E-mail: dr.sinyanskiy@gmail.com¹

Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Tomsk, Russia²

2, Moskovsky tract, 634050, Tomsk, Russia²

Abstract

The treatment of colon cancer with a mesenchymal-like phenotype poses a great challenge. **Purpose of the study:** to research expression of FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 in the primary tumor tissue with relation of the clinical and pathological features of colon cancer. **Material and Methods.** A combined analysis of the expression of FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 with pathological criteria was performed in 100 patients with T1–4bN0–2bM0 colon cancer. Results of the study show that tumors with mesenchymal signs are characterized by a large size of the primary tumor, a high grade of differentiation, regional metastases, and eventually advanced stage of the disease. The frequency and expression levels of FRMD6, ZEB1 and HTR2B are depended of grade of adenocarcinoma. In cases with positive expression and a high percentage of expression of these proteins in the cancer cells, the degree of tumor morphological anaplasia increases. **Conclusion.** The study made it possible to reveal the relationship of IHC markers (FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2) with tumor characteristics that determine the outcome. The studied markers may have prognostic and predictive value in treatment approaches of colon cancer.

Key words: colon cancer, epithelial-mesenchymal transition, FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2.

Введение

Рак толстой кишки (РТК) является 4-м наиболее часто диагностируемым злокачественным новообразованием и занимает 5-е место среди причин онкологической смертности во всем мире [1]. Несмотря на то, что скрининг колоректального рака увеличил частоту выявления его ранних форм и улучшил показатели выживаемости больных, в 48,7 % случаев РТК диагностируется на поздней стадии (III–IV). В 2019 г. летальность в первый год с момента постановки диагноза РТК составила 24,1 % [2, 3].

В настоящее время при многих злокачественных опухолях доказана роль эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) в процессах инвазии, миграции и метастазирования клеток, что, в свою очередь, и определяет развитие метастатической болезни и выживаемость пациентов [4–6]. Многочисленные исследования подтвердили, что запуск ЭМП опосредован большим количеством различных сигнальных путей, включающих трансформирующий фактор роста- β /Smads [4], Wnt/ β -катенин, PI3K/Akt [7], Notch [8], HT-5/RAS, IL-6/STAT и сигнальный путь HIF1 α , индуцированный гипоксией [9]. Установлена роль нескольких ключевых факторов транскрипции ЭМП, участвующих в мезенхимальной трансформации при метастазировании опухоли, среди которых Snail, Slug (Snai2), ZEB1/2 и Twist [10–14]. Данные факторы транскрипции действуют в различных комбинациях, подавляя уровень эпителиального маркера E-кадгерина, одновременно активируя мезенхимальные сигналы, такие как N-кадгерин, виментин и фибронектин, тем самым способствуя склонности злокачественно измененных опухолевых клеток к мезенхимальному фенотипу [15].

С позиции молекулярной биологии опухоли и прогноза РТК является крайне гетерогенным заболеванием. Наиболее агрессивным клиническим течением характеризуются карциномы, имеющие мезенхимально-подобный молекулярный профиль и выделенные в отдельный подтип в соответствии

с Международным консенсусом от 2015 г. [16]. Новообразования данного подтипа свойственны повышенная активация ЭМП, ангиогенез, выраженная стромальная инфильтрация, высокий риск отдаленных и перитонеальных метастазов, а также резистентность к стандартной химиотерапии и более низкие показатели безрецидивной и общей выживаемости [17].

Субтипирование РТК на данный момент является нерешенной проблемой для применения в реальной практике в связи с недоступностью методов и дорогостоящей генетических исследований. Существуют работы, посвященные поиску решения данной проблемы [18], в них были выделены перспективные иммуногистохимические маркеры. Так, F. Wang et al. показано, что увеличение количества ZEB1 в клетках колоректального рака способствовало пролиферации, миграции и инвазии клеток, т.е. был индуцирован ЭМП [19]. Еще одним маркером, обладающим высокими показателями экспрессии в мезенхимальных опухолях, является рецептор серотонина HTR2B [20]. Серотонин посредством стимуляции HTR1B и HTR2B активирует сигнальный путь ERK, являющийся ключевым в системе митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК) [21], что приводит к пролиферации опухолевых клеток. Кроме того, путь МАРК/ERK участвует в процессах ЭМП, миграции и инвазии [22]. Ингибитором ЭМП выступает фактор транскрипции эпителиальных клеток кишечника CDX2, который посредством трансактивации PTEN подавляет Snail и стабилизирует β -катенин [23]. FRMD6 (FERM domain containing 6) представляет собой важный адаптерный протеин сигнального пути Hippo, способный связывать ассоциированные с плазматической мембраной белки цитоскелета [24] и имеющий высокий уровень экспрессии в мезенхимально-подобных опухолях [25].

Несмотря на большое количество исследований, посвященных биологии РТК, остается актуальным изучение молекулярных предикторов, ассоциированных с клинико-патологическими проявлениями

заболевания и потенциально обладающих прогностическим значением.

Цель исследования – изучить клинико-морфологические характеристики рака толстой кишки в зависимости от экспрессии маркеров FRMD6, ZEB1, HTR2B, CDX2 в ткани первичной опухоли.

Материал и методы

В исследование были включены 100 больных с первично-операбельным РТК стадии T1–4bN0–2bM0, проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ. Критерием включения в исследование был гистологически подтвержденный РТК. В группе исследования в 87 случаях гистотип опухоли соответствовал аденокарциноме NOS (not otherwise specified), в 13 случаях – муцинозной аденокарциноме. Критериями исключения явились РТК IV стадии и факт проведения предоперационной химиотерапии. Средний возраст больных составил $62,2 \pm 12,9$ года, 46 пациентов – мужчины (средний возраст – $63,1 \pm 10,5$ года) и 54 женщины (средний возраст – $63,5 \pm 14,7$ года). Распространенность РТК определялась согласно международной классификации TNM (8-е издание): Па стадия была диагностирована у 22 (22 %) пациентов, Пб стадия – у 23 (23 %), Пс стадия – у 22 (22 %), IIIа стадия – у 4 (4 %), IIIб стадия – у 21 (21 %), IIIс стадия – у 8 (8 %) больных. Хирургическое лечение было выполнено всем пациентам в объеме гемиколонэктомии или радикальной резекции кишки.

Морфологически исследовался операционный материал. В качестве параметров оценивалась макроскопическая форма опухоли, глубина инвазии, состояние краев резекции, проводилась оценка всех лимфатических узлов. Микроскопическое исследование осуществлялось с помощью светового микроскопа «AxioScore A1» фирмы Carl Zeiss. Диагноз новообразования устанавливался согласно «Гистологической классификации опухолей желудочно-кишечного тракта» (ВОЗ, 2020). На светооптическом уровне анализировали следующие параметры: степень дифференцировки карциномы, стромальный и паренхиматозный компоненты по их процентному соотношению в первичной опухоли, инфильтрацию стромы иммунными клетками (при $\times 400$ в 10 полях зрения). Результаты количественной оценки переведены в балльную шкалу (1 балл – слабо выраженная инфильтрация, до 300 иммунных клеток; 2 балла – умеренно выраженная инфильтрация, 300–600 клеток; 3 балла – резко выраженная, более 600 клеток).

Изучение молекулярных параметров проводили на парафиновых срезах образцов опухолевой ткани иммуногистохимическим способом. Исследование выполнялось на автоматическом иммуногистостейнере Bond RX (Leica Biosystem) с использованием антител к CDX2 (clone AMT28, RTU, DiagnosticBiosystem), HTR2B (polyclonal an-

tibody, разведение 1:100, Invitrogen USA), FRMD6 (polyclonal antibody, разведение 1:100, Invitrogen USA), ZEB1 (polyclonal antibody, разведение 1:100, Invitrogen USA). Экспрессию исследуемых маркеров оценивали по следующим параметрам: наличию (позитивное иммунное окрашивание) или отсутствию (негативное окрашивание) экспрессии; проценту опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркера (в 10 полях зрения на 1 000 клеток при $\times 400$).

Статистический анализ проведен с помощью программы Statistica 10.0. Количественные признаки, распределение которых отличалось от нормального, представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q1–Q3). Номинальные признаки описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Для сравнения независимых совокупностей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критериев χ^2 Пирсона и точного теста Фишера. Различия считались статистически значимыми при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты

Иммуногистохимическое исследование образцов ткани первичной опухоли у больных РТК показало довольно разнородную частоту встречаемости изученных молекулярно-биологических параметров. Так, экспрессия HTR2B наблюдалась у 24 пациентов, при этом медиана экспрессии составила 15 ($10 \div 36$). Позитивная экспрессия белков ZEB1 и FRMD6 наблюдалась у 39 и 37 пациентов соответственно. Медианы экспрессии ZEB1 и FRMD6 составили 0 ($0 \div 19$ и $0 \div 16$ соответственно). Иммуногистохимическое окрашивание опухолевых клеток к CDX2 отсутствовало в 4 случаях при позитивном внутреннем контроле, в 96 наблюдениях данный фактор транскрипции был позитивным, однако диапазон экспрессии отличался вариабельностью значений 57 ($18,0 \div 87,5$).

На первом этапе исследования нами был проведен сравнительный анализ частоты и процента экспрессии изучаемых молекулярно-биологических параметров в зависимости от основных клинико-патологических характеристик РТК. Было показано, что частота экспрессии иммуногистохимических маркеров существенно не различалась в зависимости от возраста, пола пациентов, стороны локализации первичной опухоли и макроскопической формы роста.

Анализ зависимости частоты экспрессии иммуногистохимических параметров и стадии заболевания показал, что наиболее значимые различия наблюдались для маркеров HTR2B ($\chi^2 = 14,91$; $p = 0,010$) и FRMD6 ($\chi^2 = 11,38$; $p = 0,044$). Экспрессия данных факторов характеризовалась наибольшей частотой выявления при распространенной стадии заболевания, у пациентов с IIIб и IIIс позитивная

экспрессия HTR2B определялась в 3 раза чаще, а FRMD6 – в 2 раза чаще. При оценке частоты позитивной экспрессии CDX2 и ZEB1 в зависимости от стадии заболевания подобных закономерностей выявлено не было. Однако при проведении подгруппового анализа наблюдалась отчетливая тенденция к большей частоте выявления IIIb стадии заболевания в зависимости от наличия факта позитивной экспрессии маркера ZEB1 в клетках опухоли ($p=0,063$).

Были обнаружены статистически значимые различия между размером первичной опухоли и наличием позитивной экспрессии HTR2B. В случаях отсутствия экспрессии размер новообразования составил 4 см ($3,0 \div 6,0$), при наличии экспрессии (позитивное иммуноокрашивание) указанного маркера данный показатель соответствовал значению 6,75 см ($4,25 \div 8,0$); $p=0,002$. В карциномах толстой кишки с отсутствием экспрессии ZEB1 размер опухоли составил 4 см ($3,0 \div 6,0$), в то время как наличие экспрессии ZEB1 в опухолевых клетках было сопряжено с наибольшими значениями исследуемого показателя – 6,0 см ($4,0 \div 8,0$), $p<0,001$. Аналогичного рода зависимость была обнаружена в отношении экспрессии FRMD6. Размер первичной опухоли составил 4,0 см ($3,0 \div 6,0$) в случаях с отсутствием экспрессии данного маркера, но при позитивном иммуноокрашивании исследуемый параметр соответствовал значению 6,0 см ($4,0 \div 8,0$), $p=0,018$. Анализ возможной взаимосвязи между экспрессией CDX2 и размером первичного очага выявил противоположную закономерность. Было показано, что при отсутствии в опухоли экспрессии транскрипционного фактора CDX2 размер неоплазии значимо превышал таковой по сравнению со случаями, в которых было зафиксировано наличие позитивной экспрессии маркера – 7,5 см ($6,5 \div 8,25$) и 4,5 см ($3,0 \div 7,0$) соответственно ($p=0,035$).

Глубина инвазии опухоли в стенку кишки имеет важное клиническое значение и определяет критерий T при стадировании онкологического процесса. В свою очередь, распространенность опухоли определяется инвазивными свойствами клеток, способностью к локомоции и деградации межклеточного матрикса. Проведен анализ частоты экспрессии изучаемых маркеров в зависимости от глубины прорастания опухолевой ткани в анатомические слои стенки толстой кишки. Статистически значимое различие было обнаружено в отношении экспрессии фактора HTR2B. При позитивной экспрессии данного маркера значимо чаще регистрировалась инвазия через все слои стенки кишки по сравнению с группой пациентов, у которых экспрессия отсутствовала, – 37,5 и 23,6 % ($\chi^2=7,51$; $p=0,051$) соответственно. Для других транскрипционных факторов подобных различий не выявлено.

Степень дифференцировки аденокарциномы толстой кишки на морфологическом уровне явля-

ется совокупным отражением глубины анаплазии опухолевых клеток, в основе которой лежат сложные молекулярные события, обусловленные, в том числе, экспрессией изучаемых нами факторов. При гистологической оценке данной характеристики опухоли учитываются как степень цитологической атипичности клеток, так и морфологические паттерны, которые они формируют. В основе гистологического разнообразия РТК лежат сложные биохимические процессы клеточной адгезии, межклеточной и стромальной интеграции, что обуславливает биологическое поведение опухоли и имеет клиническое значение. В связи с этим представляло интерес оценить сопряженность изучаемых факторов с гистологическим типом опухоли, степенью ее злокачественности и локализацией. В исследуемой группе больных частота встречаемости аденокарциномы NOS и муцинозной карциномы существенно не зависела от локализации опухоли в левой или правой гемиколон. Степень дифференцировки аденокарциномы NOS также не имела подобных различий. По рекомендациям ВОЗ степень дифференцировки не оценивается в муцинозных раках, по этой причине данные пациенты были исключены из статистического анализа ($n=13$).

При анализе сопряженности экспрессии маркера HTR2B и степени дифференцировки аденокарциномы было обнаружено, что позитивная экспрессия данного фактора статистически значимо чаще встречается в низкодифференцированных опухолях (Grade 3), при этом в карциномах с высокой степенью дифференцировки (Grade 1) экспрессия чаще негативная. Аналогичного рода связь была обнаружена между частотой иммунопозитивных опухолей к ZEB1 и FRMD6 и степенью злокачественности карцином толстой кишки. При наличии позитивного иммуногистохимического окрашивания маркера ZEB1 опухоли толстой кишки статистически значимо чаще имели высокую степень злокачественности (Grade 3), в новообразованиях с низкой степенью злокачественности (Grade 1) экспрессия данного белка выявлялась реже. Указанная закономерность была отмечена в отношении экспрессии маркера FRMD6 (табл. 1).

Распределение больных в зависимости от наличия в опухоли экспрессии транскрипционного фактора CDX2 показало более значимую сопряженность показателя со степенью дифференцировки новообразования. В случаях с высокой (Grade 1) и умеренной (Grade 2) степенью дифференцировки в опухолях всегда регистрировалась позитивная экспрессия CDX2. Лишь в 4 наблюдениях в опухолях отмечалась негативная экспрессия исследуемого маркера, при этом во всех случаях карциномы имели низкую степень дифференцировки (Grade 3) (табл. 1).

Обнаруженная зависимость между частотой экспрессии исследуемых факторов в опухоли и степенью ее дифференцировки была подтверждена

Таблица 1/Table 1

Частота позитивной и негативной экспрессии в опухолевой ткани маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 в зависимости от степени дифференцировки опухоли при раке толстой кишки
Frequency of positive and negative expression of markers HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 in tumor tissue depending on the degree of tumor differentiation in colon cancer

Степень дифференцировки опухоли/ Tumor grade	Частота позитивной и негативной экспрессии маркеров/ Frequency of positive and negative expression of markers							
	HTR2B		ZEB1		FRMD6		CDX2	
	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression	Позитивная экспрессия/ Positive expression	Негативная экспрессия/ Negative expression
Grade 1 (n=18)	4 (22,23 %)	14 (77,77 %)	7 (38,89 %)	11 (61,11 %)	6 (33,34 %)	12 (66,66 %)	18 (100 %)	0
Grade 2 (n=55)	8 (14,55 %)	47 (85,45 %)	18 (32,73 %)	37 (67,27 %)	17 (30,9 %)	38 (69,1 %)	55 (100 %)	0
Grade 3 (n=14)	12 (85,72 %)	2 (14,28 %)	11 (78,58 %)	3 (21,42 %)	12 (85,72 %)	2 (14,28 %)	10 (71,43 %)	4 (28,57 %)
Значимость различий/ Statistical significance	$\chi^2=28,6; p<0,001$		$\chi^2=9,7; p=0,007$		$\chi^2=14,38; p<0,001$		$\chi^2=21,86; p<0,001$	

Таблица 2/Table 2

Процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 в зависимости от степени дифференцировки опухоли при раке толстой кишки
Percentage of tumor cells with positive expression of HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 markers depending on the degree of tumor differentiation in colon cancer

Степень дифференцировки опухоли/ The degree of tumor differentiation	Процент опухолевых клеток с позитивной экспрессией маркеров/ Percentage of tumor cells with positive expression of HTR2B, ZEB1, FRMD6, CDX2 markers			
	Me (Q1÷Q3)			
	HTR2B	ZEB1	FRMD6	CDX2
Grade 1 (n=18)	10 (10÷47)	0 (0÷19)	0 (0÷10)	46 (15÷77)
Grade 2 (n=55)	14 (10÷27)	0 (0÷16)	0 (0÷8)	69 (36÷94)
Grade 3 (n=14)	39 (18÷74)	39,5 (12÷84)	41 (16÷87)	14,5 (7÷24)
Значимость различий/ Statistical significance	p=0,002	p=0,003	p<0,001	p<0,001

при оценке уровня экспрессии маркеров (процент экспрессии). Выявлено, что при снижении степени дифференцировки в карциномах толстой кишки отмечается повышение доли опухолевых клеток, имеющих позитивную экспрессию HTR2B, ZEB1, FRMD6. При этом уровень экспрессии маркера CDX2 при снижении степени дифференцировки опухоли закономерно уменьшался и был минимальным в карциномах Grade 3 (табл. 2).

В результате исследования обнаружены различия в профилях изучаемых молекулярно-биологических факторов у больных с разными гистологическими типами РТК. Выявлены различия в показателях уровня экспрессии маркеров CDX2 и FRMD6 в муцинозных аденокарциномах и в аденокарциномах NOS толстой кишки. Опухоли с муцинозной морфологией имели значимо более высокий уровень экспрессии CDX2 – 100 (98÷100) %

и крайне низкие значения данного показателя в отношении экспрессии FRMD6 (0 (0÷0)). По количественной оценке экспрессии маркеров HTR2B и ZEB1 указанные гистологические варианты исследуемых карцином толстой кишки не имели статистически значимых различий ($p>0,112$).

Согласно данным исследования, частота регионарного метастазирования РТК в исследованной группе пациентов составила 33 %. Проведен анализ между экспрессионными показателями изучаемых молекулярно-биологических маркеров и нодальным статусом. Наличие позитивной экспрессии HTR2B в опухоли было сопряжено с наибольшей частотой метастатического поражения регионарных лимфатических узлов ($\chi^2=9,16; p=0,002$). Аналогичная закономерность была выявлена в отношении маркеров ZEB1 ($\chi^2=3,81; p=0,050$) и FRMD6 ($\chi^2=6,5; p=0,014$). Частота лимфогенного

метастазирования не имела значимых различий при оценке экспрессии в опухолях маркера CDX2 ($p=0,462$). Обнаружено нарастание уровня экспрессии HTR2B ($p=0,026$), ZEB1 ($p=0,031$), FRMD6 ($p=0,023$) при развитии метастатического поражения лимфатических коллекторов. В то же время при позитивном нодальном статусе уровень экспрессии CDX2 в опухоли был значимо ниже (28,0 (16÷67) %), чем при отсутствии регионарных метастазов (66,0 (27÷94) %), $p=0,004$ соответственно).

В настоящее время при РТК убедительно показана роль опухолевого микроокружения в прогнозе и течении заболевания. В связи с этим представляло интерес изучение частоты экспрессии исследуемых факторов в зависимости от соотношения стромального и паренхиматозного компонентов, а также от степени инфильтрации опухолевой стромы иммунокомпетентными клетками. Согласно полученным данным, частота экспрессии маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6 и CDX2 не имела значимых различий в зависимости от соотношения стромального и паренхиматозного компонентов опухоли ($p>0,359$). Анализ инфильтрации стромы опухоли иммунокомпетентными клетками и частоты экспрессии исследуемых маркеров также не выявил существенных статистически значимых различий ($p>0,551$).

Заключение

Таким образом, проведенный комплексный анализ экспрессионных характеристик показал, что частота экспрессии исследуемых белков не сопряжена с возрастом, полом пациентов и локализацией РТК. Однако были обнаружены статистически значимые зависимости между экспрессией маркеров HTR2B, ZEB1, FRMD6 и размером первичной опухоли, клинической стадией заболевания, а так-

же регионарной распространенностью процесса. Рост уровня экспрессии вышеобозначенных белков сопровождался увеличением размеров первичного опухолевого узла, поражением регионарных лимфатических узлов и, как следствие, большей стадией заболевания. Зависимость частоты и процента экспрессии HTR2B, ZEB1, FRMD6 обнаружена и в отношении степени дифференцировки. Было показано, что частота позитивной экспрессии данных белков и процент экспрессии ассоциированы со степенью морфологической анаплазии опухоли. Противоположная взаимосвязь была отмечена в отношении фактора CDX2. Частота позитивной экспрессии и процент экспрессии CDX2 были ниже в опухолях, имеющих Grade 3, при этом размер первичного новообразования был наибольшим. Нами были обнаружены различия в экспрессионном профиле изучаемых маркеров в случаях аденокарциномы NOS и муцинозного рака толстой кишки. Опухоли муцинозного типа характеризовались высокими процентом экспрессии CDX2 и низкими значениями данного показателя при оценке FRMD6. Анализ частоты и уровня экспрессии HTR2B, FRMD6, ZEB1, CDX2 не показал наличия каких-либо взаимосвязей с параметрами опухолевого микроокружения, выраженностью стромы и степенью инфильтрации иммунными клетками. Результаты проведенного исследования отчетливо показывают возможность определения на основании комплекса иммуногистохимических маркеров аденокарцином толстой кишки мезенхимально-подобного подтипа, отличающихся по своим клинико-патологическим характеристикам и прогнозу. Изученные характеристики представленных маркеров при раке толстой кишки в дальнейшем могут иметь прогностическое и предиктивное значение.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Ferlay J., Colombet M., Soerjomataram I., Parkin D.M., Piñeros M., Znaor A., Bray F. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021. doi: 10.1002/ijc.33588.
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году. М., 2020. С. 72–5. [The state of cancer care to the population of Russia in 2019. Moscow, 2020. P. 72–5. (in Russian)].
3. Одинова И.Н., Черемисина О.В., Писарева Л.Ф., Спивакова И.О., Вусик М.В. Эпидемиология колоректального рака в Томской области. *Сибирский онкологический журнал*. 2017; 16(4): 89–95. [Odintsova I.N., Cheremisina O.V., Pisareva L.F., Spivakova I.O., Vusik M.V. Epidemiology of colorectal cancer in Tomsk region. *Siberian Journal of Oncology*. 2017; 16(4): 89–95. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-4-89-95.
4. Hao Y., Baker D., Ten Dijke P. TGF- β -Mediated Epithelial-Mesenchymal Transition in cancer metastasis. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(11): 2767. doi: 10.3390/ijms20112767.
5. Karlsson M.C., Gonzalez S.F., Welin J., Fuxe J. Epithelial-mesenchymal transition in cancer metastasis through the lymphatic system. *Mol Oncol*. 2017; 11(7): 781–91. doi: 10.1002/1878-0261.12092.
6. Erin N., Grahovac J., Brozovic A., Efferth T. Tumor microenvironment and epithelial mesenchymal transition as targets to overcome tumor multidrug resistance. *Drug Resist Updat*. 2020; 53. doi: 10.1016/j.drup.2020.100715.
7. Xu W., Yang Z., Lu N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition. *Cell Adh Migr*. 2015; 9(4): 317–24. doi: 10.1080/19336918.2015.1016686.
8. Wilson M.M., Weinberg R.A., Lees J.A., Guen V.J. Emerging Mechanisms by which EMT Programs Control Stemness. *Trends Cancer*. 2020; 6(9): 775–80. doi: 10.1016/j.trecan.2020.03.011.
9. Hapke R.Y., Haake S.M. Hypoxia-induced epithelial to mesenchymal transition in cancer. *Cancer Lett*. 2020; 487: 10–20. doi: 10.1016/j.canlet.2020.05.012.
10. Goossens S., Vandamme N., Van Vlierberghe P., Bex G. EMT transcription factors in cancer development re-evaluated: Beyond EMT and MET. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2017; 1868(2): 584–91. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.06.006.
11. Williams E.D., Gao D., Redfern A., Thompson E.W. Controversies around epithelial-mesenchymal plasticity in cancer metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2019; 19(12): 716–32. doi: 10.1038/s41568-019-0213-x.
12. Feng Y.L., Chen D.Q., Vaziri N.D., Guo Y., Zhao Y.Y. Small molecule inhibitors of epithelial-mesenchymal transition for the treatment of cancer and fibrosis. *Med Res Rev*. 2020; 40(1): 54–78. doi: 10.1002/med.21596.
13. Kumari N., Reabroi S., North B.J. Unraveling the Molecular Nexus between GPCRs, ERS, and EMT. *Mediators Inflamm*. 2021; 2021. doi: 10.1155/2021/6655417.
14. Lu Y., Ding Y., Wei J., He S., Liu X., Pan H., Yuan B., Liu Q., Zhang J. Anticancer effects of Traditional Chinese Medicine on epithelial-mesenchymal transition EMT in breast cancer: Cellular and molecular targets. *Eur J Pharmacol*. 2021; 907. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174275.
15. Dongre A., Weinberg R.A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implications for cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019; 20(2): 69–84. doi: 10.1038/s41580-018-0080-4.

16. Valenzuela G., Canepa J., Simonetti C., Solo de Zaldivar L., Marcelain K., González-Montero J. Consensus molecular subtypes of colorectal cancer in clinical practice: A translational approach. *World J Clin Oncol*. 2021; 12(11): 1000–8. doi: 10.5306/wjco.v12.i11.1000.

17. Roseweir A.K., Kong C.Y., Park J.H., Bennett L., Powell A.G.M.T., Quinn J., van Wijk H.C., Horgan P.G., McMillan D.C., Edwards J., Roxburgh C.S. A novel tumor-based epithelial-to-mesenchymal transition factor that associates with prognosis and metastasis in patients with Stage II/III colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2019; 144(1): 150–9. doi: 10.1002/ijc.31739.

18. Сиянский Л.Е., Вторушин С.В., Паталяк С.В., Афанасьев С.Г. Прогностическая роль молекулярных подтипов рака толстой кишки. Современный взгляд на проблему. *Сибирский онкологический журнал*. 2021; 20(3): 107–14. [Sinyanskiy L.E., Vtorushin S.V., Patalyak S.V., Afanasyev S.G. Prognostic role of molecular subtypes of colon cancer. A current view on the problem. *Siberian Journal of Oncology*. 2021; 20(3): 107–14. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2021-20-3-107-114.

19. Wang F., Sun G., Peng C., Chen J., Quan J., Wu C., Lian X., Tang W., Xiang D. ZEB1 promotes colorectal cancer cell invasion and disease progression by enhanced LOXL2 transcription. *Int J Clin Exp Pathol*. 2021; 14(1): 9–23.

20. Soll C., Riener M.O., Oberkofler C.E., Hellerbrand C., Wild P.J., DeOliveira M.L., Clavien P.A. Expression of serotonin receptors in human hepatocellular cancer. *Clin Cancer Res*. 2012; 18(21): 5902–10. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-1813.

21. Ebrahimkhani M.R., Oakley F., Murphy L.B., Mann J., Moles A., Perugorria M.J., Ellis E., Lakey A.F., Burt A.D., Douglass A., Wright M.C.,

White S.A., Jaffré F., Maroteaux L., Mann D.A. Stimulating healthy tissue regeneration by targeting the 5-HT_{2B} receptor in chronic liver disease. *Nat Med*. 2011; 17(12): 1668–73. doi: 10.1038/nm.2490.

22. Ye D., Xu H., Tang Q., Xia H., Zhang C., Bi F. The role of 5-HT metabolism in cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021; 1876(2). doi: 10.1016/j.bbcan.2021.188618.

23. Yu J., Li S., Xu Z., Guo J., Li X., Wu Y., Zheng J., Sun X. CDX2 inhibits epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer by modulation of Snail expression and β -catenin stabilisation via transactivation of PTEN expression. *Br J Cancer*. 2021; 124(1): 270–80. doi: 10.1038/s41416-020-01148-1.

24. Gunn-Moore F.J., Welsh G.I., Herron L.R., Brannigan F., Venkateswarlu K., Gillespie S., Brandwein-Gensler M., Madan R., Tavaré J.M., Brophy P.J., Prystowsky M.B., Guild S. A novel 4.1 ezrin radixin moesin (FERM)-containing protein, 'Willin'. *FEBS Lett*. 2005; 579(22): 5089–94. doi: 10.1016/j.febslet.2005.07.097.

25. De Sousa E. Melo F., Wang X., Jansen M., Fessler E., Trinh A., de Rooij L.P., de Jong J.H., de Boer O.J., van Leersum R., Bijlsma M.F., Rodermund H., van der Heijden M., van Noesel C.J., Tuynman J.B., Dekker E., Markowitz F., Medema J.P., Vermeulen L. Poor-prognosis colon cancer is defined by a molecularly distinct subtype and develops from serrated precursor lesions. *Nat Med*. 2013; 19(5): 614–8. doi: 10.1038/nm.3174.

Поступила/Received 26.04.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 18.05.2022

Принята к публикации/Accepted 21.05.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Сиянский Лев Евгеньевич, аспирант, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ассистент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). E-mail: dr.sinyanskiy@gmail.com. SPIN-код: 8190-9178. Researcher ID (WOS): AAY-9513-2020. ORCID: 0000-0003-0370-5201.

Крахмаль Надежда Валерьевна, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 1543-6546. Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Наумов Сергей Сергеевич, аспирант кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 5305-3001. Author ID (Scopus): 57200553050. ORCID: 0000-0003-3868-2310.

Паталяк Станислав Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий онкологическим отделением дневного стационара, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; доцент кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 8497-1750. Researcher ID (WOS): D-2358-2012. Author ID (Scopus): 56324415300. ORCID: 0000-0002-9468-1980.

Афанасьев Сергей Геннадьевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением абдоминальной онкологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9206-3037. Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Вторушин Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; профессор кафедры патологической анатомии, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2442-4720. Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

ВКЛАД АВТОРОВ

Сиянский Лев Евгеньевич: разработка концепции научной работы, набор материала, проведение исследования, статистическая обработка, составление черновика рукописи.

Крахмаль Надежда Валерьевна: проведение иммуногистохимического исследования, критический пересмотр статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Наумов Сергей Сергеевич: обработка биологического материала, работа с научной литературой по проблеме исследования.

Паталяк Станислав Викторович: анализ статьи с внесением ценного интеллектуального содержания.

Афанасьев Сергей Геннадьевич: анализ интеллектуального содержания статьи.

Вторушин Сергей Владимирович: внесение ценного интеллектуального содержания в основную концепцию, редактирование окончательного варианта статьи, утверждение рукописи для публикации.

Финансирование

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-315- 90027.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Lev E. Sinyanskiy, MD, Postgraduate, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia); Assistant, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). E-mail: dr.sinyanskii@gmail.com. Researcher ID (WOS): AAY-9513-2020. ORCID: 0000-0003-0370-5201.

Nadezhda V. Krakhmal, MD, PhD, Senior Researcher, Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant of Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3799-2016. Author ID (Scopus): 56678622400. ORCID: 0000-0002-1909-1681.

Sergey S. Naumov, MD, Postgraduate, Department of Pathology, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Author ID (Scopus): 57200553050. ORCID: 0000-0003-3868-2310.

Stanislav V. Patalyak, MD, PhD, Head of the Department of Day Hospital, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Assistant of Professor, Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2358-2012. Author ID (Scopus): 56324415300. ORCID: 0000-0002-9468-1980.

Sergey G. Afanasyev, MD, DSc, Professor, Head of the Department of Abdominal Oncology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): D-2084-2012. Author ID (Scopus): 7005336732. ORCID: 0000-0002-4701-0375.

Sergey V. Vtorushin, MD, DSc, Professor, Head of Department of General and Molecular Pathology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences; Professor of Pathology Department, Siberian State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): S-3789-2016. Author ID (Scopus): 26654562300. ORCID: 0000-0002-1195-4008.

AUTHOR CONTRIBUTION

Lev E. Sinyanskii: concept development, statistical processing, writing of the manuscript.

Nadezhda V. Krakhmal: critical revision for the important intellectual content.

Sergey S. Naumov: processing of biological material and molecular analysis.

Stanislav V. Patalyak: analysis of the article, critical revision with the introduction of valuable intellectual content.

Sergey G. Afanasyev: revision for the important intellectual content

Sergey V. Vtorushin: editing of the final version of the manuscript, critical revision for the important intellectual content.

Funding

The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90027.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.