

ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНАЯ ТРАНЗИЦИЯ В КАРЦИНОМАХ АНОРЕКТАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ.

Богданская Нина, доктор хабилитат медицинских наук,
Дойкова Наталья, доктор медицинских наук,
Яковлева Ираида, профессор, доктор хабилитат медицинских наук

ПСТУ Институт Онкологии, г. Кишинев, Р. Молдова
e-mail: n.doikova@mail.ru

Rezumat

Tranziția epitelio-mezenchimală în carcinoamele regiunii ano-rectale

În cercetarea respectivă a fost studiat un proces teoretic existent de tranziție epitelio-mezenchimală (TEM) în adenocarcinoamele și carcinoamele scuamocelulare a regiunii ano-rectale, utilizând metode histologice și imunohistochemice. În carcinoamele studiate au fost depistate semne incomplete și focare de TEM, precum și legături între expresie și gradul de diferențiere a tumorii.

Cuvintele cheie: tranziție epitelio-mezenchimală, carcinom, regiunea ano-rectală

Summary

Epithelio- mezenchimal transition in carcinomas of anorectal region

In respective research, we have studied a theoretically existent process of epithelio-mesenchymal transition (EMT) in adenocarcinomas and squamocellular carcinomas of a anorectal region using histological and immunohistochemical methods. In the studied carcinomas were found characteristic sings of an incomplete and focal EMT as well as correlation between expression and the grade of differentiation of tumor.

Keywords: epithelio-mesenchymal transition, carcinoma, anorectal region

Резюме

В настоящем исследовании был изучен возможный процесс эпителиально-мезенхимальной транзиции (ЭМТ) в аденокарциномах и плоскоклеточных карциномах аноректальной области с использованием гистологических и иммуногистохимических методов. В исследованных карциномах были обнаружены признаки очаговой и неполной ЭМТ и взаимосвязь выраженности их со степенью дифференцировки опухоли

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальная транзиция, карцинома, аноректальная область

Введение

В последние годы большой интерес вызывает изучение эпителиально-мезенхимальной транзиции (ЭМТ). ЭМТ – сложный многоступенчатый процесс, при котором происходит изменение клеточного фенотипа с эпителиального на мезенхимальный, что наблюдается в эмбриогенезе [1], при заживлении ран [2] при фиброзировании ряда органов [3].

В настоящее время многие исследователи полагают, что ЭМТ имеет место в процессе опухолевой инвазии и метастазирования в раках разной локализации [4, 5, 6, 7, 8, 13, 17, 20]. ЭМТ харак-

теризуется обособлением опухолевых клеток в результате нарушения взаимосвязи между ними, а также изменением их гистологической формы на более вытянутую. В процессе ЭМТ опухолевые клетки теряют маркеры эпителия – цитокератины, меняется экспрессия е-кадгерина. В клетках карцином появляются мезенхимальные маркеры: виментин, гладкомышечный актин и др. [14, 15, 16, 17].

Кадгеринины – трансмембранные гликопротеины являются важными элементами межклеточных связей и в системе передачи сигналов, осуществляющих контроль миграции, роста и диффе-

ренцировки клеток. е-кадгерин – представитель семейства классических кадгеринов. Длинные экстрацеллюлярные участки молекул е-кадгерина формируют на поверхности клеток параллельные димеры, которые при контакте с другими молекулами е-кадгерина соседних эпителиальных клеток образуют прочные связи по типу молнии («zippers»). [9]. Изменения е-кадгерин-связанной межклеточной адгезии ведут к опухолевой прогрессии и метастазированию. Рядом авторов отмечена взаимосвязь между выраженностью и распределением е-кадгерина и плохим прогнозом для различных опухолей [10, 11, 17, 18, 20].

Различие гисто- и органогенеза карцином может предполагать и многообразие форм ЭМТ в зависимости от их локализации и гистологического строения. Рядом авторов были выделены 2 типа ЭМТ в зависимости от выраженности ее проявлений: неполное ЭМТ, при которой теряются признаки эпителия без приобретения мезенхимальных, полное ЭМТ, при которой обнаруживаются все признаки эпителиальных и мезенхимальных изменений. [5].

Особенностью ЭМТ является ее обратимость. Под влиянием различных стимулов, возможно как ускорение ЭМТ, так и обратный процесс [12]. Однако, ЭМТ в карциномах аноректальной области не изучена. Целью нашего исследования является изучение некоторых особенностей возможной ЭМТ в наиболее часто встречающихся типах карциномах аноректальной области.

Материал и методы

Гистологически и иммуногистохимически были изучены 20 случаев аноректального рака, из которых 14 имели строение аденокарциномы и 6 - плоскоклеточного рака с преобладанием умеренной степени дифференцировки.

Фрагменты опухоли фиксировали в 10% формалине и заливали в парафин. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим на слизь.

Иммуногистохимическое исследование было выполнено с использованием антител к Е-кадгерину (Clone NCH-38, IR059 RTU FLEX), панцитокератину (clone AE1/AE3), цитокератинам 19 (Clone RCK 108, IR615 RTU FLEX), 20 (Clone Ks20.8), виментину (Clone V9, IR 630 RTU FLEX), гладкомышечному актину (Clone 1A4, IR611 RTU FLEX) по стандартной методике.

Результаты

В иммуногистохимических реакциях с антителами к е-кадгерину нами было выявлено, что в высокодифференцированных аденокарциномах

окрашивался весь исследованный срез фрагмента опухоли с незначительными участками снижения интенсивности окрашивания. В умереннодифференцированных аденокарциномах наблюдались поля неоднородного окрашивания, но в целом опухоль была окрашена позитивно. В низкодифференцированных аденокарциномах присутствовали участки с негативной экспрессией е-кадгерина. В этих опухолях можно было выделить участки как более дифференцированные, так и менее дифференцированные. В менее дифференцированных участках отмечалось отсутствие экспрессии е-кадгерина.

Плоскоклеточный ороговевающий рак показал положительную экспрессию е-кадгерина. Только в нескольких случаях по краю опухоли отмечались небольшие группы клеток со сниженной экспрессией е-кадгерина. Плоскоклеточный неороговевающий рак в большинстве исследований продемонстрировал положительное окрашивание в реакциях с антителами к е-кадгерину, однако окрашивание было более неоднородно по сравнению с ороговевающим раком. Небольшие участки новообразования, где группы раковых клеток были более мелкими, состоящими иногда из клеток веретенообразной формы, не окрашивались. Таким образом, чем ниже была дифференцировка, тем менее была выражена экспрессия е-кадгерина в ткани опухоли вплоть до полного отсутствия.

В клетках аденокарцином и плоскоклеточного рака отмечалась неоднородность экспрессии цитокератина 19, которая отличалась по интенсивности. Высокодифференцированные карциномы показали выраженную реакцию к цитокератину 19. Среди умереннодифференцированных аденокарцином местами наблюдалось снижение выраженности экспрессии цитокератина 19, а в группе низкодифференцированных аденокарцином отмечались участки слабовыраженной реакции. Было выявлено, что при уменьшении степени дифференцировки опухолей наблюдалось уменьшение интенсивности экспрессии цитокератина 19.

В аденокарциномах отмечалась неравномерная экспрессия цитокератина 20. Окрашивание в реакциях выявлялось как в центральных, так и в периферических участках опухолей. В высокодифференцированных аденокарциномах экспрессия цитокератина 20 была более выраженной и равномерной, чем в умереннодифференцированных, а в низкодифференцированных участках опухоли нередко отсутствовали.

Одним из маркеров, характерных для мезен-

химальных клеток является виментин. Поэтому в настоящем исследовании было изучено распределение виментина в плоскоклеточных раках и аденокарциномах. Во всех случаях злокачественных неоплазий отмечалась выраженная положительная реакция в стромальном компоненте опухоли, однако эпителиальные клетки были виментин-негативны.

В реакциях с антителами к гладкомышечному актину отмечалась выраженное окрашивание стенок сосудов. Основной массив опухоли как в плоскоклеточных раках, так и в аденокарциномах показал негативное окрашивание эпителиальных опухолевых клеток к гладкомышечному актину, за исключением мелких сосудов в толще новообразования.

Выводы:

В настоящем исследовании был изучен возможный процесс ЭМТ в раках аноректальной области. В карциномах прямой кишки были выявлены признаки очаговой и неполной ЭМТ, что проявлялось снижением экспрессии в опухолевой ткани е-кадгерина, а также цитокератинов 19 и 20. Обнаружена взаимосвязь между степенью дифференцировки рака аноректальной области и выраженностью экспрессии е-кадгерина. Чем ниже была дифференцировка, тем меньше отмечалась экспрессия е-кадгерина в ткани опухоли вплоть до полного ее отсутствия в единичных участках, как в аденокарциномах, так и в плоскоклеточном раке. Также при снижении степени дифференцировки опухолевых клеток снижалась выраженность экспрессии цитокератинов 19 в аденокарциномах и плоскоклеточных раках, и цитокератина 20 в аденокарциномах, особенно в мелких комплексах по краю опухоли. Во всех случаях карцином отмечалась выраженная положительная реакция стромального компонента опухоли в реакциях к виментину и положительная реакция в стенках сосудов к гладкомышечному актину, однако эпителиальные клетки были виментин- и актин-негативны. Таким образом, в аденокарциномах и плоскоклеточных раках аноректального отдела обнаружены признаки ЭМТ и взаимосвязь выраженности их со степенью дифференцировки опухоли.

Библиография

1. Hay E.D. Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. In: Fleischmajer R., Billingham R.E., eds. Epithelial-mesenchymal interactions. Baltimore, Maryland, USA: Williams and Wilkins; 1968: 31—55.
2. López-Novoa J.M., Nieto M.A. Inflammation and

EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression. *EMBO Mol. Med.* 2009; 1 (6—7): 303—14.

3. Lee K., Nelson C.M. New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 2012; 294: 171—221.
4. Василенко И.В., Брук Б.Б., Гульков Ю.К., Кондратюк Р.Б., Лавров Д.В. Сопоставление частоты, распространенности и особенностей эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке желудка кишечного типа и в раке толстой кишки. Питання експериментальної та клінічної медицини. Збірник статей. 2011; 15 (2): 123—8.
5. Василенко И.В., Кондратюк Р.Б., Кудряшов А.Г., Гульков Ю.К., Малашкевич А.С., Сургай Н.Н. Особенности эпителиально-мезенхимальной трансформации в раках различной локализации и гистологического строения. *Клиническая онкология.* 2012; 5 (1): 163—7.
6. Пучинская М.В. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии. *Архив патологии* 1, 2015, с.75-83
7. Paliwal P1, Arora D, Mishra AK. Epithelial mesenchymal transition in urothelial carcinoma: twist in the tale. *Indian J Pathol Microbiol.* 2012 Oct-Dec;55(4):443-9.
8. Thompson E.W., Newgreen D.F. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition? *Cancer Res.* 2005; 65: 5991—5.
9. Бабиченко И.И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста. Москва 2008, с.109
10. Kim SA1, Inamura K1,2, Yamauchi M1, Nishihara R1,3, Mima K1, Sukawa Y1, Li T1,4, Yasunari M1, Morikawa T5, Fitzgerald KC6, Fuchs CS1,7, Wu K3, Chan AT7,8, Zhang X7, Ogino S1,6,9, Qian ZR1. Loss of CDH1 (E-cadherin) expression is associated with infiltrative tumour growth and lymph node metastasis. *Br J Cancer.* 2016 Jan 19;114(2):199-206.
11. Myung-Giun Noh,1 Se-Jeong Oh,1 Eun-Jung Ahn,2 Yeong-Jin Kim,2 Tae-Young Jung,2 Shin Jung,2 Kyung-Keun Kim,3 Jae-Hyuk Lee,1 Kyung-Hwa Lee, and Kyung-Sub Moon. Prognostic significance of E-cadherin and N-cadherin expression in Gliomas *BMC Cancer.* 2017; 17: 583.
12. Jordan NV1, Johnson GL, Abell AN. Tracking the intermediate stages of epithelial-mesenchymal transition in epithelial stem cells and cancer. *Cell Cycle.* 2011 Sep 1;10(17):2865-73
13. Dumanskiy Y.V.1, Kudriashov A.G.1, Vasilenko I.V.2, Kondratyuk R.B.2, Gulkov Y.K.2, Chystiakov R.S.3 Markers of epithelial-mesenchymal transition in renal cell carcinoma. *Exp Oncol.* 2013 Dec; 35(4):325-7
14. Guarino M1. Epithelial-mesenchymal transition and tumour invasion. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(12):2153-60.
15. Son H., Moon A. Epithelial-mesenchymal transition and cell invasion. *Toxicol. Res.* 2010; 26 (4): 245—52.
16. Gil J., Stembalska A., Pesz K.A., Sasiadek M.M.

Cancer stem cells: the theory and perspectives in cancer therapy. *J. Appl. Genet.* 2008; 49 (2): 193—9.

17. Tsai J.H., Donaher J.L., Murphy D.A., Chau S., Yang J. Spatiotemporal regulation of epithelial-mesenchymal transition is essential for squamous cell carcinoma metastasis. *Cancer Cell.* 2012; 22 (6): 725—36.

18. Kong D., Li Y., Wang Z., Sarkar F.H. Cancer stem cells and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-phenotypic cells: are they cousins or twins? *Cancers (Basel).* 2011; 3: 716—29.

19. Samavarchi-Tehrani P., Golipour A., David L., Sung H.K., Beyer T.A., Datti A. et al. Functional genomics reveals a BMP-driven mesenchymal-to-epithelial transition in the initiation of somatic cell reprogramming. *Cell Stem Cell.* 2010; 7 (1): 64—77.

20. Gunasinghe N.P., Wells A., Thompson E.W., Hugo H.J. Mesenchymal-epithelial transition (MET) as a mechanism for metastatic colonisation in breast cancer. *Cancer Metastas. Rev.* 2012; 31 (3—4): 469-78.