

И. В. Василенко, Р. Б. Кондратюк, И. А. Колесникова, А. Г. Кудряшов

Экспрессия виментина в опухолевых клетках раков различных органов и разного гистологического строения

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальная трансформация, рак желудка, рак легкого, рак почки.

Эпителиально-мезенхимальная трансформация наделяет опухоль такими свойствами, как способность к инвазии и метастазированию, предупреждает их апоптоз и старение, способствует ангиогенезу, иммуносупрессии, устойчивости к химио- и радиотерапии, определяет прогноз. С целью выявления полной эпителиально-мезенхимальной трансформации с экспрессией виментина иммуногистохимически изучены 24 случая рака желудка, 46 случаев рака легкого, 15 случаев почечно-клеточного рака. Установлено, что экспрессию виментина чаще отмечают в раке почки (86,7%), аденокарциноме легкого (44,1%) и диффузном раке желудка (80%); достоверно ниже частота экспрессии в кишечном типе рака желудка (14,3%), плоскоклеточных и нейроэндокринных раках легкого (16,7%). Это свидетельствует, что экспрессия виментина связана с эмбриональным гистогенезом органа, а также с особенностями канцерогенеза различных форм опухолей. Экспрессия виментина также может быть связана с прогрессией опухоли.

Експресія виментину в пухлинних клітинах різних органів і різноманітної гістологічної будови

І. В. Василенко, Р. Б. Кондратюк, І. А. Колеснікова, О. Г. Кудряшов

Епітеліально-мезенхімальна трансформація надає пухлині такі властивості, як здатність до інвазії та метастазування, запобігає їх апоптозу і старінню, сприяє ангиогенезу, імуносупресії, резистентності до хіміо- та радіотерапії, визначає прогноз. Із метою виявлення повної епітеліально-мезенхімальної трансформації з експресією виментину імуногістохімічно дослідили 24 випадки раку шлунка, 46 випадків раку легені, 15 випадків нирково-клітинного раку. Встановлено, що експресію виментину частіше виявляють у раку нирки (86,7%), аденокарциномі легені (44,1%) і дифузному раку шлунка (80%); вірогідно нижчою є частота експресії виментину в кишковому типі раку шлунка (14,3%), плоскоклітинних і нейроендокринних раках легені (16,7%). Це свідчить, що експресія виментину пов'язана з ембріональним гістогенезом органа, а також з особливостями канцерогенезу. Експресія виментину також може бути пов'язана з прогресією пухлини.

Ключові слова: епітеліально-мезенхімальна трансформація, рак шлунка, рак легені, рак нирки.

Патологія. – 2014. – №1 (30). – С. 84–86

Vimentin expression in the tumor cells of carcinomas of different organs and different histological types

I. V. Vasilenko, R. B. Kondratjuk, I. A. Kolesnikova, A. G. Kudryashov

Aims. Epithelial-mesenchymal transition endows tumors with such qualities as ability to invasion and metastasis development, prevents their apoptosis and ageing, promotes angiogenesis, immunosuppression, resistance to chemo- and radiotherapy.

Methods and results. For the purpose of revealing complete epithelial-mesenchymal transition with expression of vimentin 24 cases of gastric carcinoma, 46 cases of pulmonary carcinoma and 15 cases of renal cell carcinoma were studied immunohistochemically. Expression of vimentin was revealed more often in renal carcinomas (86,7%), adenocarcinomas of the lung (44,1%) and diffuse gastric carcinomas (80%). Authentically lower frequency expression of vimentin in intestinal gastric cancer (14,3%) and squamous cell and neuroendocrinal lung cancer (16,7%).

Conclusion. The expression of vimentin may be connected with embrional histogenesis of organ, peculiarities of cancerogenesis and also with tumor progression.

Key words: epithelial-mesenchymal transition, stomach neoplasms, lung neoplasms, kidney neoplasms.

Pathologia. 2014; №1 (30): 84–86

Эпителиально-мезенхимальная трансформация (transition) (ЭМТ) – процесс, инициируемый многими факторами, характеризуется большим числом морфологических проявлений с разной степенью их выраженности и различным влиянием на биологическое поведение опухоли. Это может быть обусловлено и тем, что в развитии ЭМТ реализуются программы, которые регулируют эмбриональный морфогенез, и этим объясняются молекулярные и морфологические изменения в клетках при ЭМТ [1–4].

Интересно сопоставить особенности ЭМТ и, в частности, ее полноту, сопровождающуюся экспрессией соединительнотканного маркера виментина в раках органов различного происхождения. Для сопоставле-

ния избрали рак желудка, рак легкого энтодермального происхождения и рак почки – органа мезодермального генеза, развивающегося путем мезенхимально-эпителиального перехода [5].

Цель работы

Изучение влияния эмбрионального органогенеза и гистологического строения на частоту полной эпителиально-мезенхимальной трансформации в раке.

Материалы и методы исследования

Изучены 24 случая рака желудка различного типа, 15 случаев почечно-клеточного светлоклеточного рака, но встречались очаги анапластического саркоматоидного (веретенноклеточного) рака, а также 46 случаев

рака легкого, из них 34 аденокарциномы и 12 случаев плоскоклеточного и нейроэндокринного рака. Кроме гистологических методов исследования использовали иммуногистохимические с применением маркеров эпителиальной дифференцировки (панцитокератина AE1/AE3, цитокератина 18, маркера железистого эпителия и высокомолекулярного веса цитокератина HMW, маркера плоскоклеточного эпителия); маркера соединительнотканной (виментина) и гладкомышечной (альфа-гладкомышечного актина и десмина) дифференцировки. Материал фиксировали в забуференном 10% формалине и заливали в парафин. После инкубации депарафинированных срезов в растворе специфических антител подобранной концентрации и длительности проводили визуализацию системой En Vision и диаминобензидином фирмы DAKO.

Гистологические препараты изучены под светооптическим микроскопом Olympus BX-40, микрофотографирование произведено цифровой фотокамерой Olympus U-TV1X с программным обеспечением Olympus DP-Soft.

Статистическая обработка полученных результатов исследований произведена на персональном компьютере в пакете MedStat с применением базовых методов математической статистики. Статистический анализ показателей, полученных в результате обработки стабильнограмм, показал, что их распределение отличается от нормального (на уровне $p < 0,001$), в связи с чем при дальнейшем статистическом анализе применяли непараметрические критерии.

Результаты и их обсуждение

В случаях рака желудка в очагах ЭМТ во всех наблюдениях отмечено снижение, часто вплоть до потери экспрессии, эпителиальных маркеров панцитокератина и цитокератина 18, и только в 12 из 24 (50%) случаев появлялась в опухолевых клетках очаговая экспрессия виментина (рис. 1, цв. вкладка 7). Следует отметить, что частота экспрессии виментина различалась в опухолях разного гистологического строения: ее наблюдали только в 1 из 7 случаев рака кишечного типа, в 3 из 7 смешанного типа, и в 8 из 10 раков диффузного типа. Возможно, это связано с различиями этиологии и патогенеза, т.е. путей онкогенеза кишечного и диффузного рака: если развитие кишечного типа рака связано в основном с действием факторов внешней среды, то диффузного – с наследственной предрасположенностью [6].

Экспрессия виментина часто появлялась в глубоких слоях стенки желудка – среди мышечного и даже субсерозного, т.е. по мере прогрессии опухоли с прорастанием ее до этих слоев. В одном случае смешанного типа рака желудка в субсерозном слое в резко вытянутых фибробластоподобных клетках сохранялась экспрессия панцитокератина, что вместе с крупными размерами ядер позволяло отличить их от клеток стромы (рис. 2А, цв. вкладка 7). В опухолевых клетках здесь отмечена экспрессия виментина (рис. 2Б, цв. вкладка 7), а также альфа-гладкомышечного актина (рис. 2В, цв. вкладка 7) и даже десмина, т.е. происходил их переход в миофибробласты.

Среди 46 случаев раков легких полная ЭМТ с экспрессией виментина в опухолевых клетках отмечена в 17 наблюдениях (37%). По гистологическому строению раки легких поделены на 2 группы: аденокарциномы (34 случая); плоскоклеточные (6 случаев) и нейроэндокринные (6 случаев) раки. Среди аденокарцином частота полной ЭМТ с экспрессией виментина в очагах опухолевых клеток составила 44,1% (15 из 34 случаев), среди плоскоклеточных и нейроэндокринных – 16,7% (2 из 12 случаев), тогда как потеря экспрессии панцитокератина AE1/AE3 (рис. 3, цв. вкладка 7) не сопровождалась появлением экспрессии виментина. Различия частоты экспрессии виментина достоверны на уровне $p < 0,01$ (критерий множественных сравнений Данна, ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса).

В аденокарциномах ближе к периферии опухоли появлялись очаги часто высокой экспрессии виментина как солидного строения, так и в обособленных клетках (рис. 4, цв. вкладка 7), но в последних его экспрессия более выражена.

В почечно-клеточном раке полную ЭМТ с экспрессией виментина наблюдали в 13 из 15 случаев, что составило 86,7%, т.е. частота ее была наиболее высокой из трех изученных локализаций рака (при использовании критерия множественных сравнений Данна, рангового однофакторного анализа Крускала-Уоллиса различия достоверны на уровне $p < 0,01$). Как правило, экспрессия виментина была все же в виде нечетко отграниченных очагов как светлоклеточного строения (рис. 5, цв. вкладка 7), так и в очагах ЭМТ саркоматоидного типа с веретенообразными опухолевыми клетками, формирующими пучки (рис. 6, цв. вкладка 7).

Таким образом, экспрессия виментина в очагах ЭМТ в раках различной локализации зависит от эмбриогенеза органа, в котором развилась опухоль. В нашем материале она была наиболее высокой в светлоклеточном раке почки, что, вероятно, связано с мезенхимальным происхождением органа.

Согласно исследованию Tun H.W. et al. (2010) [2], в светлоклеточном раке почки обнаружено снижение 4 факторов транскрипции, которые важны для нормального развития почек, что ведет к отсутствию в опухоли эпителиальной дифференцировки и мезенхимальной адипогенной трансдифференцировки. Следовательно, в светлоклеточном раке почек экспрессия генов соответствует ЭМТ.

В настоящее время ведется усиленный поиск критериев прогноза раков различных локализаций [7,8], известна роль появления ЭМТ в опухолях, проявляющаяся в резком повышении их агрессивности [9,10]. Однако ценность для прогноза отдельных морфологических проявлений ЭМТ различна. Так, например, показано, что потеря экспрессии цитокератинов недостаточна для индукции ЭМТ и повышения инвазивности, метастазирования в мышечной модели спорадического рака легкого [11], тогда как экспрессия виментина была связана с низкой дифференцировкой и метастазированием немелкоклеточного рака легкого [12].

Выводы

В оценке значения экспрессии виментина в опухолевых клетках раков различных органов следует учитывать источник эмбрионального развития последних. В связи с этим относительно благоприятно протекающие светлоклеточные раки почек характеризуются очень высокой частотой экспрессии виментина.

В раках желудка и легких с развитием ЭМТ и сходной средней частотой экспрессии виментина имеются различия в зависимости от гистологического строения опухоли, которое может быть обусловлено или гистогенезом, как в раках легкого, или особенностями онкогенеза, как в раках желудка. В этих органах экспрессия виментина в опухолевых клетках, возможно, имеет прогностическое значение.

Список литературы

1. Micalizzi D.S. Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression / D.S. Micalizzi, S.M. Farabaugh, H.L. Ford // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*. – 2010. – Vol. 15. – P. 117–134.
2. Pathway signature and cellular differentiation in clear cell renal cell carcinoma / [H.W. Tun, L.A. Marlow, C.A. von Roemeling, S.J. Cooper et al.] // *PLoS One*. – 2010. – Vol. 8. – № 5. – P. 10696.
3. Sato M. Emerging evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in lung carcinogenesis / M. Sato, D.S. Shames, Y. Hasegawa // *Respirology*. – 2012. – Vol. 17. – P. 1048–1059.
4. Gli1 mediates lung cancer cell proliferation and sonic hedgehog-dependent mesenchymal cell activation / [O. Bermudez, E. Hennen, I. Koch, M. Lindner O. Eickelberg] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 5. – e63226.
5. Uhlenhaut N.H. Transcriptional regulators in kidney disease: gatekeepers of renal homeostasis / N.H. Uhlenhaut, M. Treier // *Trends Genet.* – 2008. – Vol. 24. – № 7. – P. 361–371.
6. Василенко И.В. Предрак и рак желудка: этиология, патогенез, морфология, лечебный патоморфоз / И.В. Василенко, В.Д. Садчиков, К.А. Галахин. – К. : Книга плюс, 2001. – 232 с.
7. Прогностическая роль экспрессии рецепторов к эпидермальным факторам роста у больных с I–II стадией немелкоклеточного рака легкого / [А.П. Колесник, А.И. Шевченко, В.А. Туманский, А.В. Евсеев, М.А. Шишкин] // *Патология*. – 2013. – № 2. – С. 17–21.
8. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – [4-е издание]. – Казань, 2012. – 374 с.
9. Epithelial-to-mesenchymal transition in the development and progression of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung / [L. Prudkin, DD. Liu, NC. Ozburn, M. Sun et al.] // *Mod Pathol*. – 2009. – Vol. 22. – № 5. – P. 668–678.
10. Epithelial-mesenchymal transition ns in development and disease / [J.P. Thierry, H. Acloque, R.Y. Huang, M.A. Nieto] // *Cell*. – 2009. – Vol. 139. – № 5. – P. 871–890.
11. König K. Loss of the keratin cytoskeleton is not sufficient to induce epithelial mesenchymal transition in novel KRAS driven sporadic lung cancer mouse model / K. König, L. Meder, C. Kroger // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – № 3. – e57996.
12. Dauphin M. Vimentin expression predicts the occurrence of metastases in non small cell lung carcinomas / M. Dauphin, C. Barbe, S. Lemaire // *Lung cancer*. – 2013. – Vol. 8. – P. 117–122.

References

1. Micalizzi, D. S., Farabaugh, S. M. & Ford, H. L. (2010) Epithelial-mesenchymal transition in cancer: parallels between normal development and tumor progression. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*, 15, 117–134. doi: 10.1007/s10911-010-9178-9.
2. Tun, H. W., Copland, J. A., Creighton, C., Anastasiadis, P. Z., Sinha, M., Luxon, B. A., et al. (2010). Pathway Signature and Cellular Differentiation in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *PLoS ONE*, 5(5), e10696. DOI: 10.1371/journal.pone.0010696.
3. Sato, M., Shames, D. S., & Hasegawa, Y. (2012). Emerging evidence of epithelial-to-mesenchymal transition in lung carcinogenesis. *Respirology*, 17(7), 1048–1059. doi: 10.1111/j.1440-1843.2012.02173.
4. Bermudez, O., Hennen, E., Koch, I., Lindner, M., Eickelberg, O., & Katoh, M. (2013). Gli1 Mediates Lung Cancer Cell Proliferation and Sonic Hedgehog-Dependent Mesenchymal Cell Activation. *PLoS ONE*, 8(5), e63226. doi: 10.1371/j.
5. Uhlenhaut, N. H., & Treier, M. (2008). Transcriptional regulators in kidney disease: gatekeepers of renal homeostasis. *Trends in Genetics*, 24(7), 361–371. doi: 10.1016/j.tig.2008.05.001.
6. Vasilenko, I. V., Sadchikov, V. D. & Galakhin, K. A. (2001) Predrak i rak zheludka: e'tiologoya, patogenez, morfologiya, lechebnyj patomorfoz [Precancer and cancer of stomach: etiology, pathogenesis, morphology, treatment pathomorphosis]. Kiev: Knigaplyus [in Ukrainian].
7. Kolesnik, A. P., Shevchenko, A. I., Tumanskij, V. A., Evseev, A. V. & Shishkin, M. A. (2013) Prognosticheskaya rol' e'kspressii receptorov k e'pidermal'nym faktorom rosta u bol'nykh s I–II stadij nemelkokletochnogo raka legkogo [Prognostic role of expression receptor of epidermal growth factor in patients with I–II stage non-small cell lung carcinoma]. *Pathologia*, 2, 17–21.
8. Petrov, S. V. & Rajkhlin, N. T. (2012) Rukovodstvo po immunogistokhimicheskoj diagnostike opukholej cheloveka [Manual on immunohistochemical diagnostics of human tumours. 4-th edition]. Kazan [in Russian].
9. Prudkin, L., Moran, C., Bekele, B. N., Brown, K. C., Tang, X., Behrens, C., et al. (2009). Epithelial-to-mesenchymal transition in the development and progression of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung. *Modern Pathology*, 22(5), 668–678.
10. Thierry, J. P., Acloque, H., Huang, R. Y. & Nieto, M. A. (2009) Epithelial-mesenchymal transition ns in development and disease. *Cell*, 139(5), 871–890.
11. König, K., Neukamp, L. C., Meder, L., Lawson, V., Buettner, R., Magin, T. M., et al. (2013). Loss of the Keratin Cytoskeleton Is Not Sufficient to Induce Epithelial Mesenchymal Transition in a Novel KRAS Driven Sporadic Lung Cancer Mouse Model. *PLoS ONE*, 8(3), e57996.
12. Dauphin, M., Barbe, C. & Lemaire, S. (2013) Vimentin expression predicts the occurrence of metastases in non small cell lung carcinomas. *Lung cancer*, 8, 117–122.

Сведения об авторах:

Василенко И.В., д. мед. н., профессор, зав. каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького. Кондратюк Р.Б., к. мед. н., доцент каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, E-mail: roman.kondrat@dsmu.edu.ua.

Колесникова И.А., к. мед. н., доцент каф. патоморфологии, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького. Кудряшов А.Г., к. мед. н., доцент каф. онкологии, лучевых методов диагностики и лечения, Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького.

Надійшла в редакцію 24.03.2014 р.

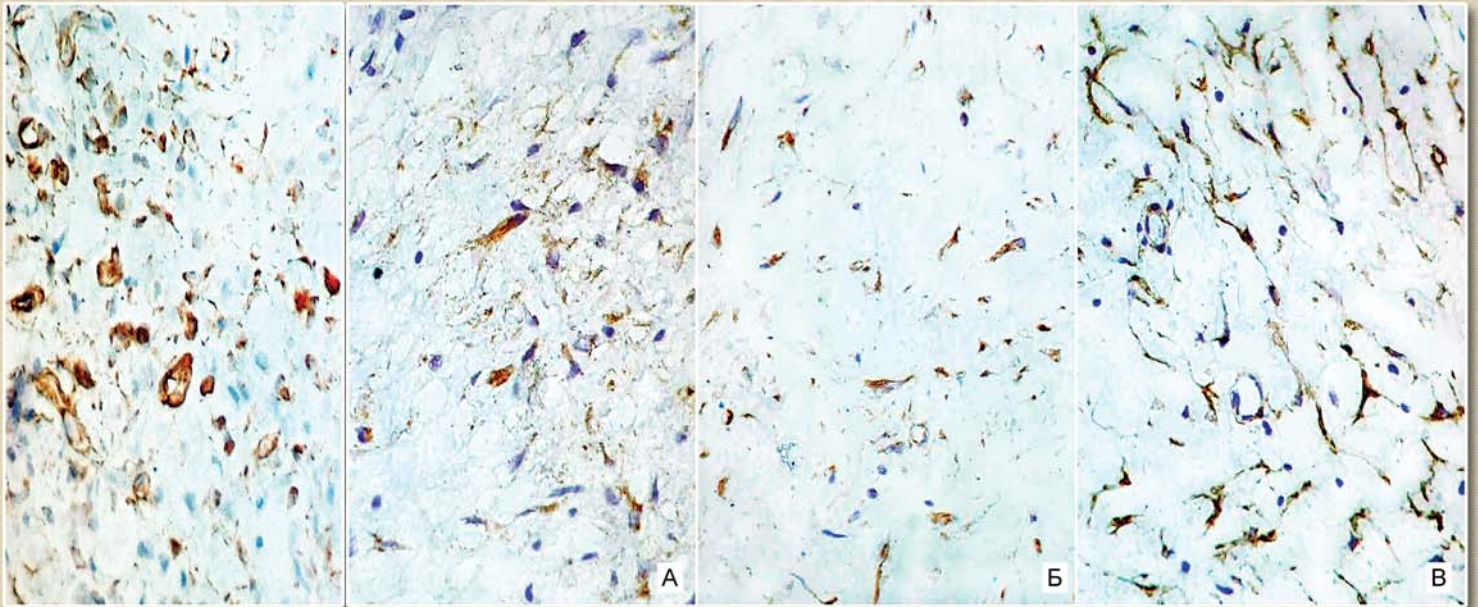


Рис. 1. Экспрессия виментина в опухолевых клетках диффузного рака желудка. Ув. 400.

Рис. 2. Экспрессия панцитокератина АЕ1/АЕ3 (А), виментина (Б), альфа-гладкомышечного актина (В) в вытянутых фибробластоподобных клетках в субсерозном слое желудка. Ув. 400.

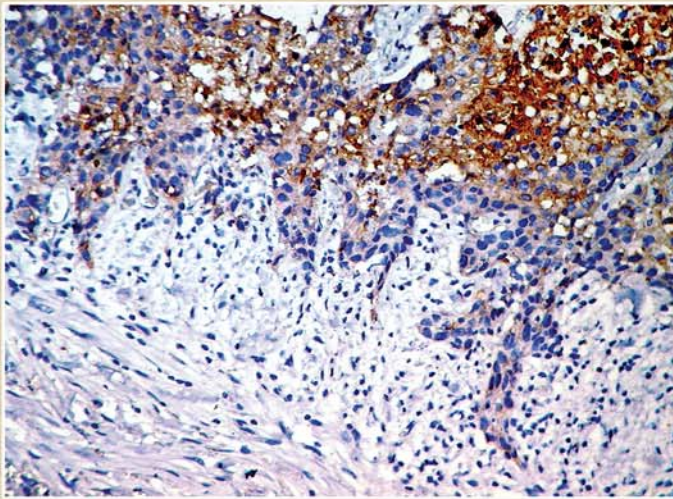


Рис. 3. Резкое снижение экспрессии панцитокератина АЕ1/АЕ3 в очагах ЭМТ плоскоклеточного рака легкого. Ув. 200.

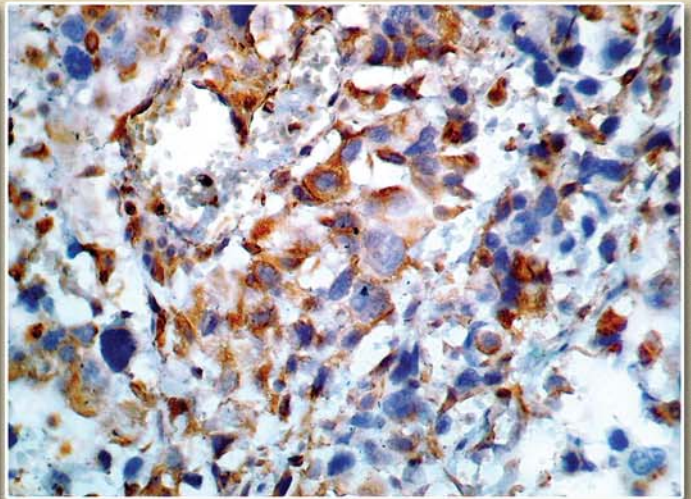


Рис. 4. Высокая экспрессия виментина в опухолевых клетках рака легкого. Ув. 400.

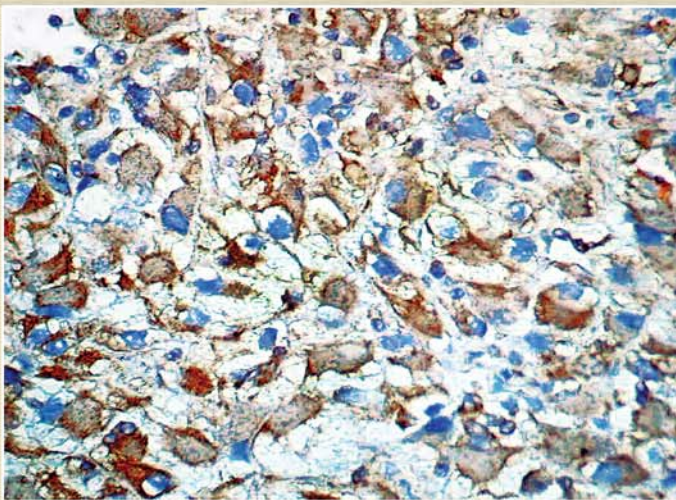


Рис. 5. Умеренная до высокой экспрессия виментина в светлоклеточном раке почки. Ув. 400.

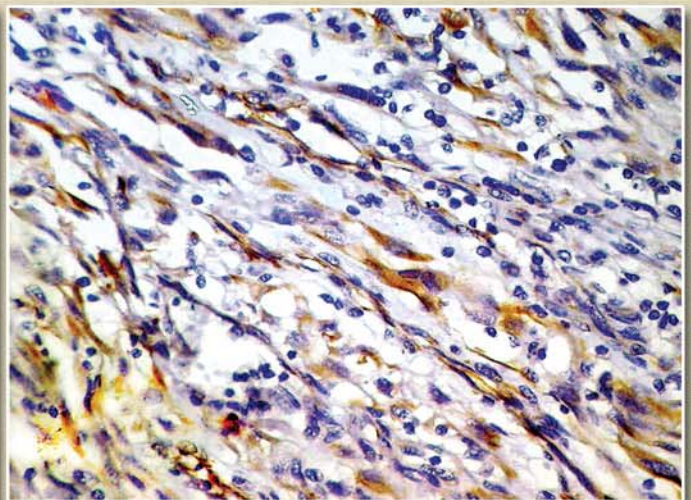


Рис. 6. Неравномерная экспрессия виментина в очагах рака почки саркоматоидного типа. Ув. 400.

(Рис. 2–4 к статье И. В. Василенко, Р. Б. Кондратюка, И. А. Колесниковой, А. Г. Кудряшова «Экспрессия виментина в опухолевых клетках раков различных органов и разного гистологического строения», с. 84–86)