
ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Василенко И.В., Кондратюк Р.Б., Брук Б.Б., 2014
УДК 616.24-006.3/.6-002.16-018.17-091

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ПАРЕНХИМАТОЗНО-СТРОМАЛЬНЫХ КОНТАКТОВ
В РАКЕ ЛЕГКОГО С ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОЙ
ТРАНСФОРМАЦИЕЙ**

И.В. ВАСИЛЕНКО, Р.Б. КОНДРАТЮК, Б.Б. БРУК

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького, г. Донецк

**MORPHOLOGICAL FEATURES
OF THE PARENHYMAL-STROMAL INTERACTION ZONE
IN LUNG CANCER WITH EPITHELIAL-MESENHYMAL TRANSITION**

I.V. VASILENKO, R.B. KONDRATYUK, B.B. BRUK

Donetsk National Medical University after by M. Gor'ky, Donetsk

Изучена зона паренхиматозно-стромальных контактов в 35 случаях не-мелкоклеточного рака легкого с эпителиально-мезенхимальной трансформацией с использованием кроме гистологических, гистохимических методов и иммуногистохимических, в частности маркеров эпителия, соединительнотканного и гладкомышечных маркеров. Установлено, что в зоне паренхиматозно-стромальных контактов часто (48,6%) обнаруживались признаки усиления активности стромы в виде накопления гликозаминогликанов, увеличения экспрессии α -гладкомышечного актина. Это сочеталось в 14 случаях (40%) со снижением маркеров эпителия в паренхиме опухоли в этой зоне, а в 5 наблюдениях даже появление экспрессии соединительнотканного маркера виментина. Обнаруженные изменения подчеркивают важность взаимного

влияния паренхимы опухоли и ее микроокружения в развитии эпителиально-мезенхимальной трансформации.

Ключевые слова: рак лёгкого, эпителиально-мезенхимальная трансформация.

The parenchymal-stromal interaction zone was studied in 35 cases of non-small cell lung cancer with epithelial-mesenchymal transition using histological, histochemical and immunohistochemical techniques, in particular, using epithelial, smooth muscle and connective tissue markers. Signs of increased activity in the stroma, characterized by accumulation of glycosaminoglycans and increasing α -smooth muscle actin expression, were often (48.6%) detected in the parenchymal-stromal interaction zone. It was accompanied by the reduction of epithelial markers in the parenchyma of tumor in that area in 14 cases (40%), and by the appearance of connective tissue marker vimentin in 5 cases. Detected changes emphasise the importance of mutual influence of tumor parenchyma and its microenvironment in the development of epithelial-mesenchymal transition.

Keywords: lung cancer, epithelial-mesenchymal transition.

Введение

В развитии эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ) в опухолях играют роль как генетические программы клеток паренхимы, так и особенности микроокружения их [8]. Взаимодействие между ними во многом определяет прогрессию опухоли, её инвазивность [3]. Учитывая это, особый интерес представляет зона контакта паренхимы и стромы опухоли.

Цель исследования

Изучение зоны паренхиматозно-стромальных контактов в 35 случаях немелкоклеточного рака легкого с эпителиально-мезенхимальной трансформацией с использованием кроме гисто-

логических, гистохимических методов и иммуногистохимических, в частности маркеров эпителия, соединительнотканного и гладкомышечных маркеров.

Материалы и методы

Изучены 35 случаев немелкоклеточного рака лёгкого с ЭМТ разной распространённости и полноты, из них 29 случаев аденокарцином, 6 плоскоклеточных раков. Кроме гистологических и гистохимических методов исследования (окраска гематоксилином и эозином, по ван Гизону, выявления сульфатированных и несulfатированных гликозаминогликанов альциановым синим при pH 1,0 и 2,5), использовались иммуногистохимиче-

ские методы с маркерами эпителия (панцитокератин AE1/AE3, цитокератины 18, высокомолекулярный цитокератин HMW, E-кадгерин), мезенхимальными маркерами (виментин, α -гладкомышечный актин, десмин), пролиферативной активности с Ki-67 (MIB), а также нейроэндокринным маркером (глиальный фибриллярный кислый протеин GFAP).

Результаты и их обсуждение

Признаками ЭМТ, описанными во многих исследованиях и обзорах [2, 6, 7] были: обособление опухолевых клеток от пласта в виде тяжей, мелких групп или единичных клеток; изменение их формы – приобретение вытянутой, веретенообразной или отросчатой формы (рис. 1); снижение

или потеря экспрессии цитокератинов; потеря мембранозной или приобретение цитоплазматической экспрессии E-кадгерина. При полной ЭМТ в цитоплазме опухолевых клеток появлялась экспрессия виментина, α -гладкомышечного актина, очень редко десмина, чаще очаговая. Количество и характер стромы были различны в очагах ЭМТ и вне их. В очагах ЭМТ строма приобретала характер активированной с появлением в ней гликозаминогликанов, миофибробластов с экспрессией виментина и α -гладкомышечного актина, редко (в 5 случаях) десмина, резким снижением или исчезновением иммуноклеточной и воспалительной инфильтрации стромы, что обусловлено иммуносупрессивным действием ЭМТ (рис. 1).

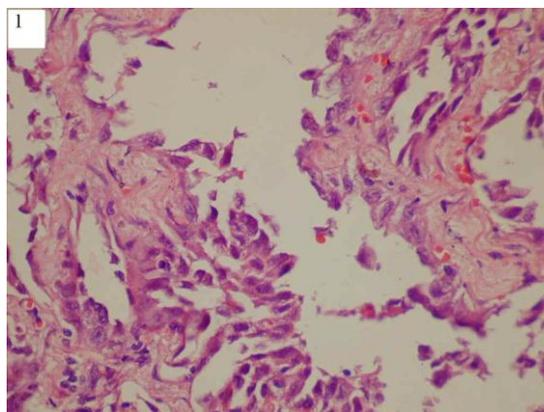


Рис. 1. Изменение формы опухолевых клеток – приобретение вытянутой, веретенообразной и отросчатой формы, отсутствие иммуноклеточной и воспалительной инфильтрации стромы. Окраска гематоксилином и эозином, х 200

В 8 случаях аденокарцином и плоскоклеточных раков в очагах ЭМТ в зоне паренхиматозно-стромальных контактов отмечалось усиление альцианофилии (рис. 2), все эти случаи отличались умеренной и высокой пролиферативной активностью опухолевых клеток: от 20% до 70-90% обнаруживали ядерную экспрессию Ki-67. Можно думать, что активация стромы в них с накоплением гликозаминогликанов связана с сигналами из паренхимы. Установлено, что накопление гиалуроновой кислоты стимулируется цитокинами и факторами роста (эпидермальным фактором роста, интерлейкином – 1 бета) и индуцирует эпителиально-мезенхимально-подобный фенотип в немелкоклеточном раке лёгкого [1]. В одном случае плоскоклеточного рака альцианофилия стромы была интенсивно выражена на всём протяжении, но кроме того очагово обнаруживалась в строме экспрессия

глиального фибриллярного кислого протеина, возможно как проявление не только снижения степени зрелости соединительной ткани, но и метаплазии её. В этом же случае на границе со стромой в тяжах эпителия отмечалось снижение и потеря экспрессии панци-токератина AE1/AE3 (рис. 3).

В 12 случаях на границе паренхимы и стромы обнаруживалось увеличение количества и густоты расположения миофибробластов (рис. 4). Нередко рядом с миофибробластами в строме располагаются крупные веретенообразной формы опухолевые клетки (рис. 5), т.е. признак ЭМТ. Нельзя исключить возможность приобретения ими со временем экспрессии α -гладкомышечного актина и смещение в строму, где они мало отличимы от других миофибробластов стромы. В 3 случаях вблизи эпителия наблюдалось одновременное усиление альцианофилии и увеличение числа миофибробластов.

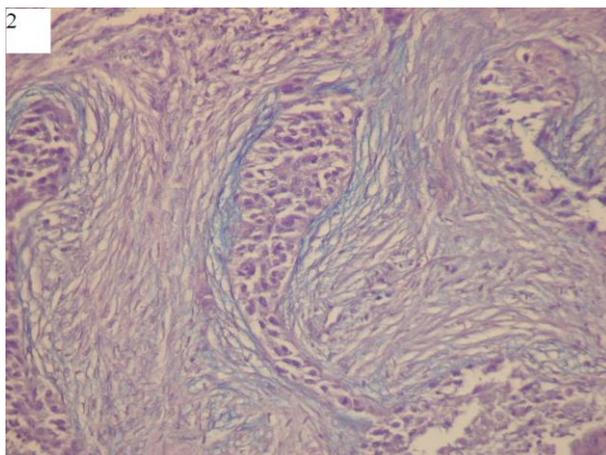


Рис. 2. Усиление альцианофилии стромы на границе с паренхимой опухоли.
Окраска альциановым синим при pH2,5, x 200

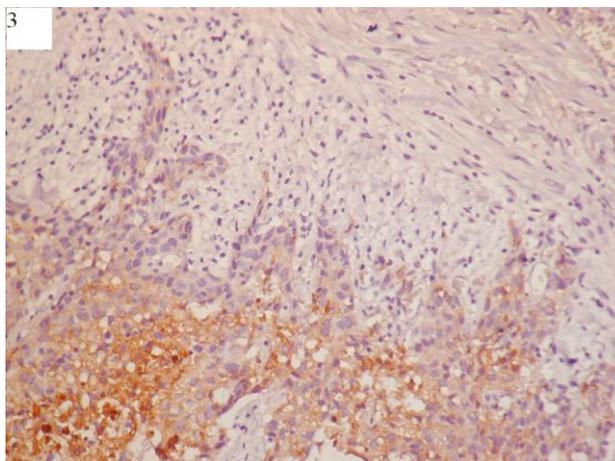


Рис. 3. Снижение и потеря экспрессии панцитокератина AE1/AE3 в тяжах опухолевых клеток на границе со стромой. х 200

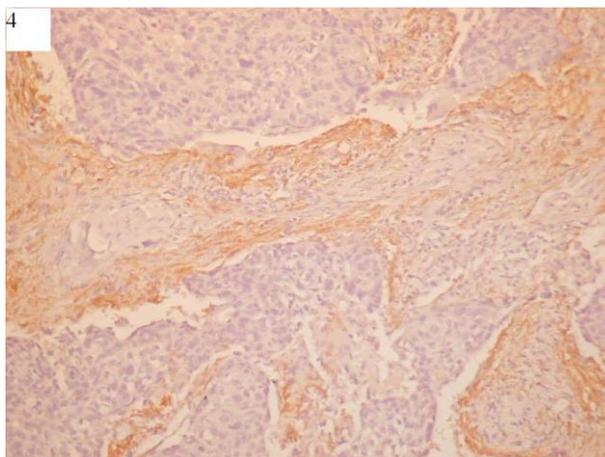


Рис. 4. Увеличение количества и густоты расположения миофибробластов в строме на границе с паренхимой. Экспрессия α -гладкомышечного актина, х 200

Активированная строма в аденокарциномах и плоскоклеточных раках на границе с эпителием сочетается со снижением до потери экспрессии эпителиальных маркеров цитокер-

ратинов (см. рис. 3, рис. 6), Е-кадгерина, изредка появлением в опухолевых клетках мезенхимального маркера виментина (рис. 7).

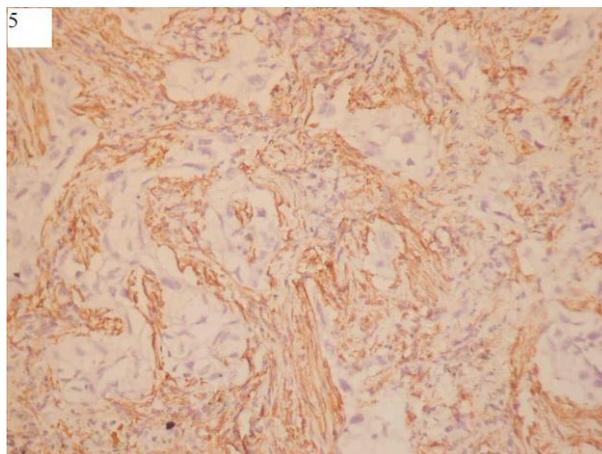


Рис. 5. Крупные веретенообразной формы опухолевые клетки в строме рядом с миофибробластами. Экспрессия α -гладкомышечного актина, х 200

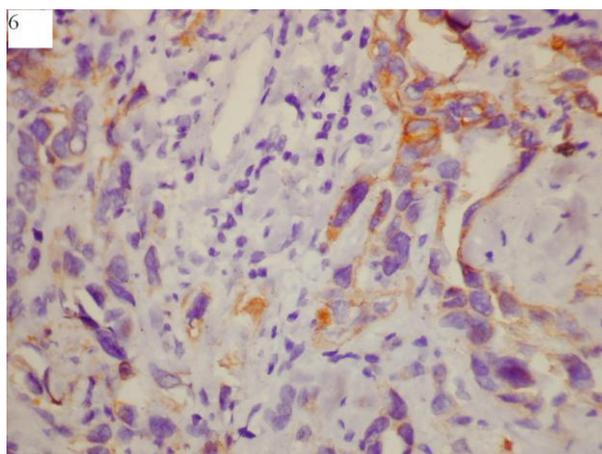


Рис. 6. Потеря экспрессии панцитокератина AE1/AE3 в опухолевых клетках вытянутой фибробластоподобной формы. х 400

В остальных 19 случаях не обнаружено усиления интенсивности активизации стромы вблизи контакта с эпителием. В части из них (в 9 наблюдениях) вытянутые фибробластоподобные

опухолевые клетки со снижением эпителиальных маркеров (рис. 8) обнаруживались в толще пласта опухолевых клеток без контакта с окружающей стромой. Можно предполагать, что в

этих случаях побудительный сигнал к ЭМТ возникает в самой паренхиме

опухоли, возможно без связи с изменениями в строме или до их развития.

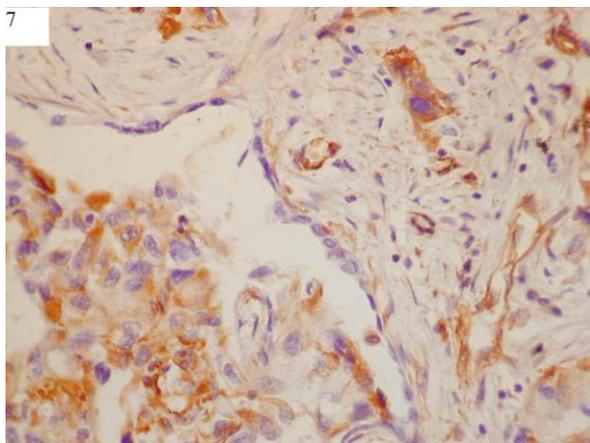


Рис. 7. Появление в опухолевых клетках мезенхимального маркера виментина. х 400

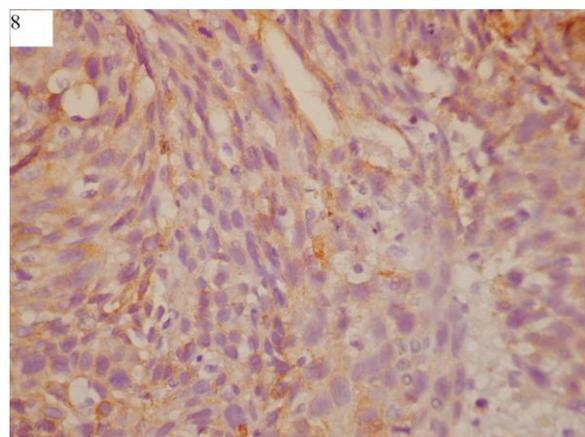


Рис. 8. Снижение экспрессии панцитокератина AE1/AE3 в фибробластоподобных опухолевых клетках в толще пласта. х 400

Множество индукторов ЭМТ, которые включают этиологические факторы развития опухолей, предопухолевые процессы в органах, в частности, хроническое воспаление, гипоксия, их каче-

ственные и количественные характеристики создают очень сложную картину регуляции этого процесса, что находит отражение и в отдельных морфологических проявлениях его [2, 5, 9].

Нами предпринята попытка оценить отдельные особенности паренхиматозно-стромальных взаимодействий, абстрагируясь от многих других важных факторов, таких, например, как воспалительные и иммуноклеточные реакции в строме, многие секреторные процессы в паренхиме опухоли и др., сосредоточившись на морфологических изменениях в зоне контакта опухолевого эпителия и стромы.

В зоне контакта опухолевых и стромальных клеток аденокарцином и плоскоклеточных раков часто (17 из 35 случаев – 48,6%) обнаруживались признаки активации стромы и в 14 (40% случаев) из них это сочеталось со снижением экспрессии эпителиальных маркеров (цитокератинов, изменение экспрессии E-кадгерина или обоих), а в 5 (14,5%) – появлением экспрессии мезенхимального маркера виментина.

Обнаруженное нами разнообразие морфологических изменений в зоне паренхиматозно-стромального контакта в раке лёгкого подтверждает мысль, что взаимодействие опухолевых клеток и их микроокружения является порочным циклом, когда микроокружение может усиливать прогрессию рака, ведущую к метастазированию [4]. Так, в наших случаях более высокой активации стромы вблизи эпителия несколько чаще наблюдалась инвазия сосудов опухолевыми клетками (16 из 17 случа-

ев – 94,1%), чем без такой активации (14 из 18 случаев – 77,7%).

Выводы

Применение гистохимических и иммуногистохимических методов исследования позволило выявить в немелкоклеточном раке лёгкого изменения в зоне эпителиально-стромального контакта, в частности, увеличение накопления гликозаминогликанов и α -гладкомышечного актина в строме и снижение экспрессии цитокератинов, E-кадгерина, изменение формы опухолевых клеток в направлении фибробластоподобных, т.е. фенотипа ЭМТ в паренхиме. В таких случаях наблюдается некоторое увеличение частоты инвазии сосудов опухолевыми клетками.

Литература

1. Chow G. Cytokines and grow factors stimulate hyaluronan production: role of hyaluronan in epithelial to mesenchymal-like transition in non-small cell lung cancer / G. Chow, J. Tauler, J.L. Mulshine // J. Biomed. Biotechnol. – 2010. – P. 4854-4868.
2. Christiansen J.J. Reassessing epithelial to mesenchymal transition as a prerequisite for carcinoma invasion and metastasis / J.J. Christiansen, A.K. Rajasekaran // Cancer Res. – 2006. – Vol. 66. – №17. – P. 8319-8326.
3. De Wever O. Molecular and pathological signatures of epithelial-mesenchymal transitions at the cancer

invasion front / O. De Wever, P. Pauwels, B. de Craene // *Histochem Cell Biol.* – 2008. – Vol. 130. – P. 481-494.

4. Kuo P.L. Lung cancer-derived galectin-1 enhances tumorigenic potentiation of tumor-associated dendritic cells by expressing heparin-binding EGF-like growth factor / P.L. Kuo [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2012. – №287 (13). – P. 9753-9764.

5. Lopez-Novoa J.M. Inflammation and EMT an alliance towards organ fibrosis and cancer progression / J.M. Lopez-Novoa, A.M. Nieto // *EMBO Molecular Medicine.* – 2009. – Vol. 1. – P. 303-314.

6. Nieto M.A. The SNAIL superfamily of zinc-finger transcription fac-

tors / A.M. Nieto // *Molecular cell biology.* – 2002. – Vol. 3. – P. 155-166.

7. Nieto M.A. Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. // *Int J Dev Biol.* – 2009. – Vol. 53. – P. 1541-1547.

8. Sato M. Emerging evidence of epithelial-to-Mesenchymal transition in lung carcinogenesis / M. Sato, D.S. Shames, Y. Hagegawa // *Rospirology.* – 2012, Mar 27 (in print).

9. Thierry J.P. Epithelial-mesenchymal transition ns in development and disease / J.P. Thierry // *Cell.* – 2009. – Vol. 139. – №5. – P. 871-890.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Василенко И.В. – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой патоморфологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк.

Тел.: +38 062 295-6333.

E-mail: roman.kondrat@dsmu.edu.ua.

Кондратюк Р.Б. – канд. мед. наук, доцент кафедры патоморфологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк.

Тел.: +38 062 295-7062.

E-mail: roman.kondrat@dsmu.edu.ua.

Брук Б.Б. – канд. мед. наук, доцент кафедры патоморфологии Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк.

Тел.: +38 062 295-6745.

E-mail: roman.kondrat@dsmu.edu.ua.