

УДК 618.19-006.6-07:577.175.722

ИНСУЛИНОПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА I И II В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© О.И. Костылева, Е.С. Герштейн, В.Д. Ермилова,
А.В. Масляев, Л.К. Овчинникова, Н.А. Огнерубов

Ключевые слова: инсулиноподобные факторы роста; ИФР-I; ИФР-II; рак молочной железы.

Содержание ИФР-I и ИФР-II исследовали иммуноферментными методами в сыворотке крови 79 больных раком молочной железы (РМЖ) и 16 практически здоровых женщин. Не выявлено связи исходного содержания ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови с показателями системы TNM. Многофакторный анализ выявил достоверную связь исходного содержания ИФР с репродуктивной функцией. Обнаружены достоверные отличия в уровнях ИФР-I и ИФР-II в зависимости от рецепторного статуса (РЭ, РП, Her-2/neu) РМЖ.

ВВЕДЕНИЕ

Система инсулиноподобных факторов роста (ИФР) включает ИФР-лиганды (ИФР-I, ИФР-II), их рецепторы и белки сыворотки крови, связывающие ИФР (ИФРСБ), которые образуют сложно регулирующую сеть взаимодействий не только между собой, но и с другими биологическими модуляторами роста и выживаемости клеток [1–7].

Эффекты ИФР на клетки опосредуются двумя типами специфических ИФР рецепторов, рецепторами инсулина и гибридным рецептором, связывающим как инсулин, так и ИФР-I [3, 6, 7].

Известно, что ИФР рецептор 1 типа (ИФР-R1) опосредует первичный ответ всех ИФР, экспрессируется во всех типах клеток, кроме гепатоцитов и Т-лимфоцитов, и считается важным элементом обеспечения нормального развития организма. Эмбрионы мышей, лишённые ИФР-R1, имеют дефекты развития легких, кожи, костей, неврологические нарушения [8]. Связывание лигандов с ИФР-R1 приводит к его олигомеризации, аутофосфорилированию и активации внутренней тирозинкиназы, которая, в свою очередь, фосфорилирует различные клеточные субстраты и сигнальные молекулы, участвующие в регуляции апоптоза, построении цитоскелета и процессах клеточной адгезии [5].

Рецептор ИФР 2 типа (ИФР-R2) – катион-независимый маннозо-6-фосфатный рецептор, и его роль в реализации эффектов ИФР до сих пор неясна [3], однако известно, что он не связывает инсулин. Вместе с тем показано, что в механизмах реализации эффектов ИФР через ИФР-R2 последний работает как рецептор-поглотитель (scavenger receptor), регулируя интернализацию, деградацию экстраклеточного ИФР-II и уровень циркулирующего ИФР-II [3].

В отличие от инсулина, циркулирующие ИФР-I и ИФР-II взаимодействуют с высокоаффинными ИФРСБ. В настоящее время известно шесть ИФРСБ, а также семейство гомологичных связывающих белков, которые обладают значительно меньшим сродством к ИФР-лигандам. Показано, что ИФРСБ модулируют биологи-

ческие эффекты ИФР: они переносят ИФР по кровеносному руслу к тканям-мишеням (ИФРСБ-1, -2, -3 и -4), поддерживают резервный уровень ИФР в крови (преимущественно ИФРСБ-3), потенцируют или ингибируют эффекты ИФР, опосредуют ИФР-независимые биологические эффекты [6].

ИФР-I синтезируется гепатоцитами под влиянием гормона роста. Клетки стромы опухолей и собственно опухолевые клетки также синтезируют ИФР, которые ауто/паракринным путем опосредуют рост, метастазирование и антиапоптотические ответы злокачественных клеток [1, 3, 4]. ИФР-I экспрессируется стромальными клетками как в доброкачественных, так и в злокачественных новообразованиях молочной железы, тогда как ИФР-II обнаружен в строме большинства аденокарцином молочной железы и в небольших количествах в злокачественно трансформированном эпителии [9–12]. Благодаря активным исследованиям системы ИФР в последние 10 лет установлена прямая зависимость между высоким уровнем ИФР-I в крови и риском развития злокачественных опухолей. У человека ИФР-I играет существенную роль в развитии рака предстательной и молочной желез, легкого, яичников и шейки матки, а также толстой кишки [3, 13–17].

Цель настоящего исследования – анализ уровней ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных раком молочной железы (РМЖ) и практически здоровых женщин, оценка взаимосвязи изученных показателей с основными клинически-морфологическими характеристиками заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 79 больных РМЖ в различных стадиях опухолевого процесса и 16 практически здоровых женщин в возрасте от 27 до 76 лет (средний возраст $54,0 \pm 1,3$ лет.). Из них 30 больных РМЖ находились в репродуктивном периоде, у большинства (49 пациенток) была менопауза длительностью от 1 до 25 лет. Большинство опухолей гистологически представлены инфильтративно-протоковым раком (56), остальные морфологические варианты РМЖ

были представлены единичными наблюдениями (6 – инфильтративно-дольковый, 7 – смешанный, 6 – тубулярный, 4 – слизистый).

Концентрацию ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа «IGF-I-ELISA», «IGF-II-ELISA» (Mediagnost GmbH, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшет EL_x800 (Bio-Tek Instruments Inc., США). Исследование рецепторов Her-2/neu, рецепторов эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП) в ткани РМЖ проводили стандартными иммуногистохимическими методами. Полученные данные обрабатывали с помощью программы «Statistica 7.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полагают, что патогенез РМЖ в определенной степени связан с нарушениями функционирования системы регуляции эффектов ИФР. В активизации ИФР-сигнального пути принимают участие, по крайней мере, несколько механизмов: а) экспрессия стромальными

клетками опухоли ИФР-II; б) мутации маннозо-6-фосфат/ИФР-Р2, ведущие к снижению деградации ИФР-II; в) гиперэкспрессия ИФР-Р1 клетками злокачественного эпителия молочной железы; г) комплексные нарушения экспрессии ИФРСБ, модулирующих сывороточные уровни ИФР [18]. Можно предположить, что в крови пациентов РМЖ должны обнаруживаться повышенные уровни ИФР, однако, данные литературы на эту тему носят весьма противоречивый характер.

На первом этапе настоящего исследования были определены уровни ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови 16 практически здоровых женщин, составивших группу контроля, у 79 больных РМЖ до лечения и у 29 пациенток после лечения (табл. 1). Содержание ИФР-I в сыворотке крови в контрольной группе было достоверно выше, чем у больных РМЖ как до, так и после лечения. Уровень ИФР-II, напротив, был достоверно выше у больных при РМЖ, чем в контрольной группе. В связи с этим можно предположить, что ИФР-II также вносит вклад в развитие суммарного ответа на ИФР клетками стромы и эпителия молочной железы.

Не выявили зависимости уровней сывороточных ИФР-I и ИФР-II от гистологического строения РМЖ (табл. 2).

Таблица 1

Содержание ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ до и после лечения

Группы	N	ИФР-I, нг/мл		ИФР-II, мкг/мл	
		$M \pm m$	Медиана (квартили)	$M \pm m$	Медиана (квартили)
Контроль ¹	16	181 ± 16,9	173 (132–246)	1,5 ± 0,1	1,5 (1,3–1,8)
До лечения ²	79	100 ± 3,8	93,8 (76,1–120)	2,5 ± 0,1	2,5 (2,0–2,8)
После лечения ³	29	106 ± 5,4	104 (88,2–124)	2,4 ± 0,1	2,4 (2,0–2,8)
<i>P</i>		1vs2,3 $p < 0,0001$		1vs2,3 $p < 0,0001$	

Таблица 2

Содержание ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от гистологического строения опухоли

Гистологический вариант РМЖ	N	ИФР-I, нг/мл		ИФР-II, мкг/мл	
		$M \pm m$	Медиана (квартили)	$M \pm m$	Медиана (квартили)
Протоковый	56	99,7 ± 4,8	90,9 (76,1–121)	2,4 ± 0,08	2,5 (2,0–2,8)
Тубулярный	6	99,7 ± 11,3	108 (69,6–118)	2,7 ± 0,3	2,6 (2,3–3,0)
Смешанный	7	102 ± 6,8	107 (88,0–111)	2,9 ± 0,2	3,1 (2,5–3,2)
Дольковый	6	107 ± 16,8	96,8 (95,2–136)	2,2 ± 0,4	2,2 (1,8–2,6)
Слизистый	4	90,0 ± 18,9	72,3 (69,9–128)	2,7 ± 0,4	2,7 (2,3–3,1)

Таблица 3

Содержание ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ с учетом состояния репродуктивной функции пациенток

Репродуктивная функция	N	ИФР-I, нг/мл		ИФР-II, мкг/мл	
		$M \pm m$	Медиана (квартили)	$M \pm m$	Медиана (квартили)
Сохранена	30	116 ± 6,5	111 (88,9–136)	2,3 ± 0,09	2,4 (1,8–2,6)
Менопауза	49	91,1 ± 4,2	88,0 (69,9–107)	2,6 ± 0,1	2,5 (2,0–3,1)
<i>P</i>		0,0014		0,049	

Таблица 4

Исходное содержание ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ с учетом критериев TNM

Критерий	N	ИФР-I, нг/мл		ИФР-II, мкг/мл	
		$M \pm m$	Медиана (квартили)	$M \pm m$	Медиана (квартили)
Размер опухоли					
T1	37	97,2 ± 5,6	95,2 (69,6–111)	2,4 ± 0,1	2,5 (2,0–2,7)
T2	36	103 ± 5,6	94,8 (79,4–127)	2,5 ± 0,1	2,5 (2,1–2,9)
T3	4	102 ± 18,5	92,3 (79,6–124)		
Tis	2	75,7 и 110*			
Регионарные метастазы					
N0	40	95,7 ± 5,2	92,8 (69,8–111)	2,48 ± 0,1	2,5 (2,0–2,9)
N1	31	108 ± 6,2	99,4 (81,4–136)	2,5 ± 0,1	2,5 (2,1–2,8)
N2	3	67,2 ± 7,4	68,0 (54,0–79,7)	2,5 ± 0,06	
N3	5	106 ± 9,9	107 (93,7–127)	2,2 ± 0,2	2,5 (1,8–2,5)
Отдаленные метастазы					
M0	42	98,5 ± 5,4	94,1 (69,9–118)	2,5 ± 0,1	2,5 (2,0–2,9)
M1	12	92,7 ± 6,5	88,0 (79,4–106)	2,6 ± 0,2	2,5 (2,3–2,9)
M2	9	100 ± 10,8	94,2 (79,6–113)	2,4 ± 0,3	2,2 (1,9–2,8)
Mn	16	110 ± 9,5	103 (77,9–138)	2,4 ± 0,2	2,5 (2,1–2,6)

Примечание: все различия недостоверны.

Таблица 5

Содержание ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ и рецепторный статус опухоли

Рецепторный статус РМЖ	N	ИФР-I, нг/мл		ИФР-II, мкг/мл	
		$M \pm m$	Медиана (квартили)	$M \pm m$	Медиана (квартили)
Рецепторы эстрогенов (РЭ)					
РЭ+	44	98,8 ± 5,7 ¹	93,3 (69–121)	2,7 ± 0,1	2,6 (2,2–3,2)
РЭ–	35	100,6 ± 7,6 ²	96,4 (76,1–118)	2,3 ± 0,1	2,3 (2,0–2,5)
Рецепторы прогестерона (РП)					
РП+	39	106 ± 5,9 ³	102 (76,0–132)	2,6 ± 0,1	2,5 (2,1–2,9)
РП–	40	91,2 ± 6,1 ⁴	86,2 (72,1–118)	2,4 ± 0,1	2,5 (2,0–2,9)
Рецепторы эпидермального фактора роста (Her-2/neu)					
Her-2/neu+	17	73,9 ± 4,0 ⁵	76,1 (63,3–80)	2,3 ± 0,08	2,4 (2,1–2,5)
Her-2/neu–	62	114,4 ± 7,8 ⁶	116 (76,0–157)	2,5 ± 0,2	2,6 (2,1–2,9)

Примечание: p1vs2 < 0,01; p3vs4 < 0,05; p5vs6 < 0,04.

Установлено, что высокий сывороточный уровень ИФР-I является маркером повышенного риска РМЖ у женщин в постменопаузе, однако взаимосвязь сывороточных ИФР-I и ИФР-II с менопаузальным статусом в целом, РЭ-статусом и основными клинико-морфологическими характеристиками РМЖ до сих пор остается невыясненной [18].

Нами обнаружены достоверно более высокие уровни ИФР-I в сыворотке крови больных РМЖ репродуктивного возраста, чем у больных в постменопаузе (табл. 3), а содержание ИФР-II, напротив, было достоверно выше у пациенток в постменопаузе. Многофакторный анализ также подтвердил достоверную связь уровней ИФР с состоянием репродуктивной функции женщин.

Не выявлено связи исходных уровней ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ с показателями системы TNM ($p = 0,22$; табл. 4). Следовательно, содержание ИФР-I в сыворотке крови больных РМЖ

до лечения достоверно не отражало стадию заболевания.

Известно, что эстрогены и ИФР оказывают синергетические эффекты на пролиферацию РЭ⁺ клеток РМЖ. ИФР, вероятно, принимают участие в формировании резистентности РЭ⁺ РМЖ к антиэстрогенам, в частности к тамоксифену [2]. Функциональная активность ИФР-сигнального пути в РЭ-клетках РМЖ активно изучают в последние 3 года, однако окончательные итоги этих исследований не подведены [18]. В исследованиях на «тройных негативных» линиях клеток РМЖ (с фенотипом РЭ-РП-Her-2/neu-), характеризующихся резистентностью к антиэстрогенам и блокаторам активности рецепторов эпидермального фактора роста [18], показано, что эти клеточные линии, тем не менее, экспрессируют рецепторы ИФР-I на уровне, сопоставимом с уровнем экспрессии в эстроген- и ИФР-чувствительных клеточных линиях. Несмотря на противоречивость полученных результатов, в настоя-

щее время широко ведутся клинические исследования антагонистов ИФР-гуманизированных антител к ИФР-Р1 и ингибиторов тирозинкиназы при РМЖ [18]. Полученные нами данные о сывороточных уровнях ИФР-I и ИФР-II с учетом рецепторного статуса РМЖ подтверждают гипотезу об участии ИФР-сигнального пути в регуляции функционирования рецептор-негативных РМЖ. Нами обнаружены достоверные отличия в группах больных РМЖ с различным статусом Her-2/neu в опухоли. Так, выявлено, что в сыворотке крови пациентов с Her-2/neu-негативными опухолями уровни ИФР-I достоверно выше, чем у пациенток с Her-2/neu+ опухолями ($p < 0,01$) и в РП+ опухолях, по сравнению с РП-. Достоверные отличия были также выявлены нами между уровнями ИФР-II в РЭ+ и РЭ- опухолях молочной железы (табл. 5).

ВЫВОДЫ

1. Содержание ИФР-I в сыворотке крови практически здоровых женщин достоверно выше, чем у больных РМЖ как до, так и после лечения, а уровни ИФР-II, напротив, достоверно выше у больных РМЖ, чем в группе контроля.

2. Не выявлено связи исходного содержания ИФР-I и ИФР-II в сыворотке крови больных РМЖ с показателями системы TNM.

3. Многофакторный анализ показал, что достоверная связь исходного содержания сывороточного ИФР выявлена только с репродуктивным статусом больных РМЖ.

4. Обнаружены достоверные отличия в уровнях ИФР-I и ИФР-II в зависимости от рецепторного статуса (РЭ, РП, Her-2/neu) РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2007. № 1. С. 4-9.
2. Fox E.M., Miller T.W., Balko J.M. et al. A kinome-wide screen identifies the insulin/IGF-I receptor pathway as a mechanism of escape from hormone dependence in breast cancer // Cancer Res. 2011. V. 71. № 21. P. 773-784.
3. Frasca F., Pandini G., Sciacca L. et al. The role of insulin receptors and IGF-I receptors in cancer and other diseases // Arch. Physiol. Biochem. 2008. V. 114. № 1. P. 23-37.
4. Grimberg A. Mechanisms by which IGF-I may promote cancer // Cancer Biol. Ther. 2003. V. 2. № 6. P. 630-635.
5. Hartog H., Wesseling J., Boezen H.M. et al. The insulin-like growth factor I receptor in cancer: old focus, new future // Eur. J. Cancer. 2007. V. 43. № 13. P. 1895-1904.
6. Laviola L., Natalicchio A., Giorgino F. The IGF-I signaling pathway // Curr. Pharm. Des. 2007. V. 13. № 7. P. 663-669.

7. Pavelić J., Matijević T., Knezević J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family // Indian J. Med. Res. 2007. V. 125. № 4. P. 511-522.
8. Pollak M.N., Schernhammer E.S., Hankinson S.E. Insulin-like growth factors and neoplasia // Nat. Rev. Cancer. 2004. V. 4. P. 505-518.
9. Yakar S., Leroith D., Brodt P. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models // Cytokine Growth Factor Rev. 2005. V. 16. P. 407-420.
10. Chen C., Lewis S.K., Voigt L.F. et al. Prostate carcinoma incidence in relation to prediagnostic circulating levels of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein-3, and insulin // Cancer. 2004. V. 103. № 1. P. 76-84.
11. Schernhammer E.S., Holly J.M., Hunter D.J. et al. Insulin-like growth factor-I, its binding proteins (IGFBP-1 and IGFBP-3), and growth hormone and breast cancer risk in The Nurses Health Study II // Endocr. Relat. Cancer. 2006. V. 13. № 2. P. 583-592.
12. Eppler E., Zapfl J., Bailer N. et al. IGF-I in human breast cancer: low differentiation stage is associated with decreased IGF-I content // Eur. J. Endocrinol. 2002. V. 146. P. 813-821.
13. Belfiore A., Frasca F. IGF and insulin receptor signaling in breast cancer // J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 2008. V. 13. № 4. P. 381-406.
14. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group (Key T.J., Appleby P.N., Reeves G.K. et al.). Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies // Lancet Oncol. 2010. V. 11. № 6. P. 530-542.
15. Moschos S.J., Mantzoros C.S. The role of the IGF system in cancer: from basic to clinical studies and clinical applications // Oncology. 2002. V. 64. P. 317-332.
16. Platz E.A., Pollak M.N., Leitzmann M.F. et al. Plasma insulin-like growth factor-1 and binding protein-3 and subsequent risk of prostate cancer in the PSA era // Cancer Causes Control. 2005. V. 16. № 3. P. 255-262.
17. Samani A.A., Yakar S., LeRoith D. et al. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights // Endocr. Rev. 2007. V. 28. № 1. P. 20-47.
18. Davison Z., de Blacquièrre G.E., Westley B.R., May F.E. Insulin-like growth factor-dependent proliferation and survival of triple-negative breast cancer cells: implications for therapy // Neoplasia. 2011. V. 13. № 6. P. 504-515.

БЛАГОДАРНОСТИ: Исследование поддержано РФФИ, грант № 12-03-00401.

Поступила в редакцию 18 ноября 2013 г.

Kostyleva O.I., Gershtein E.S., Ermilova V.D., Maslyayev A.V., Ovchinnikova L.K., Ognerubov N.A. INSULIN-LIKE I AND II GROWTH FACTORS IN BREAST CANCER PATIENTS' SERUM

Insulin-like growth factors I and II (IGF-I and IGF-II) were measured by ELISA techniques in blood serum of 79 primary breast cancer patients and 16 control practically healthy women. No associations were found between IGF-I and IGF-II serum levels and TNM criteria of breast cancer. The differences were shown between serum IGFs levels depending on reproductive and ER, PR, Her-2/neu status of breast cancer patients.

Key words: IGF-I; IGF-II; breast cancer.

Костылева Ольга Ивановна, Российский научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, г. Москва, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической биохимии, e-mail: secretariat@oparina4.ru

Kostyleva Olga Ivanovna, Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after V.I. Kulakov, Moscow, Russian Federation, Candidate of Medicine, Senior research Worker of Clinical Bio-chemistry Laboratory, e-mail: secretariat@oparina4.ru

Герштейн Елена Сергеевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии НИИ клинической онкологии, e-mail: esgershtein@gmail.com

Gerstein Elena Sergeyevna, N.N. Blokhin Russian Oncologic Scientific Center RAMS, Moscow, Russian Federation, Doctor of Biology, Professor, Leading Research Worker of Clinical Bio-chemistry of SRI of Clinical Oncology Laboratory, e-mail: esgershtein@gmail.com

Ермилова Валерия Дмитриевна, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела патологической анатомии опухолей человека, e-mail: kne3108@gmail.com

Ermilova Valeriya Dmitriyevna, Blokhin Russian Oncologic Scientific Center RAMS, Moscow, Russian Federation, Candidate of Medicine, Leading Research Worker of Pathological Anatomy of Human's Tumors Department, e-mail: kne3108@gmail.com

Масляев Александр Владимирович, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва, Российская Федерация, врач-онколог отделения радиохирургии, e-mail: kne3108@gmail.com

Maslyayev Aleksander Vladimirovich, Blokhin Russian Oncologic Scientific Center RAMS, Moscow, Russian Federation, Oncologist of Radio-surgery Department, e-mail: kne3108@gmail.com

Овчинникова Лариса Константиновна, Московский областной онкологический диспансер, г. Балашиха, Московская область, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, зав. хирургическим отделением маммологии, e-mail: guzmood@yandex.ru

Ovchinnikova Larisa Konstantinovna, Moscow Regional Oncologic Dispensary, Balashikha, Moscow region, Russian Federation, Candidate of Medicine, Head of Surgery Department of Breast Care, e-mail: guzmood@yandex.ru

Огнерубов Николай Алексеевич, Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина, г. Тамбов, Российская Федерация, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой онкологии, оперативной хирургии и топографической анатомии, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru

Ognerubov Nikolay Alekseyevich, Tambov State University named after G.R. Derzhavin, Tambov, Russian Federation, Doctor of Medicine, Professor, Head of Oncology, Operative Surgery and Topographical Anatomy Department, e-mail: ognerubov_n.a@mail.ru