

УДК 616.006.04

ЯДЕРНО-ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

© Д.В. Буланов

Ключевые слова: иммуногистохимия; ядерно-транскрипционные факторы; молекулярная биология. Использование новых маркеров (ядерно-транскрипционных факторов), определяющих линейно-специфичные и прогностически значимые биологические свойства опухолевой клетки, позволяют патологу на современном этапе, оптимизируя имеющиеся иммуногистохимические алгоритмы, осуществлять точную морфологическую диагностику.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

Имуногистохимический метод занимает в последнее десятилетие одну из ключевых ролей в диагностике злокачественных опухолей. До недавнего времени основной целью этого диагностического метода была оценка линейной дифференцировки (тканеспецифичных свойств) опухолевых клеток. К сожалению, большинство традиционных иммуногистохимических маркеров (антител), активно используемых в практике (преимущественно направленных против цитоплазматических антигенных детерминант), показали относительно ограниченную и низкую специфичность. Например, белок S100 (S100B), наиболее широко используемый как маркер нейрональной клеточной дифференцировки, наряду с выраженной экспрессией в доброкачественных опухолях из оболочек периферических нервов (шваннома) и вариабельной экспрессией в подгруппе злокачественных опухолей из оболочек периферических нервов (malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST), экспрессируется в меланоцитах, хрящевых и миозитиальных доброкачественных и злокачественных опухолях, клетках Лангерганса, а иногда и в некоторых злокачественных карциномах, в частности, в ряде карцином молочной железы. За последнее десятилетие разработаны гораздо более чувствительные и высокоспецифичные иммуногистохимические маркеры для различных эпителиальных и неэпителиальных злокачественных опухолей.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ЯДЕРНО-ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРАХ, ИХ РОЛИ И ФУНКЦИИ В КЛЕТКЕ

Открытие ядерно-транскрипционных факторов (nuclear transcription factors, NTF) и изучение их функции в клетке во многом связано с именем Роджера Дэвида Корнберга, американского биохимика, Нобелевского лауреата (2006 г.) за изучение транскрипции у эукариот (рис. 1). Ядерно-транскрипционные факторы – группа внутриклеточных белков, регулирующих транскрипцию генов (т. е. активность синтеза новых белков) в клетке, что является критической функцией в меха-

низмах эмбрионального развития и клеточного гомеостаза (рис. 2). Активность ядерно-транскрипционных факторов обусловлена наличием лиганд-ассоциированных взаимодействий, в частности со стероидным, тиреоидными гормонами, производными жирных кислот. Основные функции этих белков в клетке: базальная экспрессия генов, регуляция онтогенеза, ответ на внеклеточные сигналы, ответ на изменение окружающей среды, контроль клеточного цикла. Являясь по своей структуре белковыми молекулами, с развитием иммуногистохимических методов это позволило на основе знаний структурной организации данных белковых молекул, которые могут выступать в роли антигенных детерминант, синтезировать высокоспецифичную группу т. н. антител, обозначаемых в литературе как «антитела линейно-ограниченных транскрипционных факторов» (lineage-restricted transcription factors). Использование данной группы антител в морфологии с целью иммуногистохимической диагностики опухолей занимает уже более 10 лет, а использование таких диагностических антител, как TTF-1, CDX-2, PAX-5, MyoD1 нашло широкое применение в диагностике злокачественных опухолей различного гистогенеза. В связи с активным развитием молекулярной биологии число антител линейно-ограниченных транскрипционных факторов увеличивается лавинообразно, и к началу 2014 г. новых маркеров насчитывается уже более 50. С учетом молекулярно-биологических характеристик ядерно-транскрипционных факторов в настоящее время наиболее актуальными и практически значимыми в иммуногистохимической диагностике являются следующие биологические свойства ядерно-транскрипционных факторов: опухольспецифичность, органоспецифичность и прогностическая значимость.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЬСПЕЦИФИЧНЫХ ЯДЕРНО-ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ

На современном этапе развития относительно новых диагностических методик в патологической анатомии, таких как иммуногистохимия, молекулярная

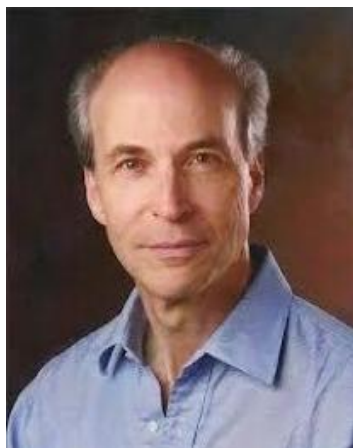


Рис. 1. Роджер Дэвид Корнберг

биология, с использованием в т. ч. *in situ*-гибридизации (флуоресцентной FISH и хромогенной CISH меток), в сочетании с использованием новых антител линейно-ограниченных транскрипционных факторов позволяет проводить дифференциальную диагностику в ряду формально фенотипически схожих недифференцированных и низкодифференцированных эпителиальных и неэпителиальных злокачественных опухолей на совершенно ином качественно новом уровне [1].

Опухольспецифичные ядерно-транскрипционные факторы – это внутриядерные белки, возникающие в результате специфических опухоль-ассоциированных, как правило, устойчивых генетических транслокаций или функционирующие на этапах эмбриогенеза – являются продуктами этих генов и не экспрессируются в нормальных тканях. Среди них следует отметить наиболее изученные опухольспецифичные ядерно-транскрипционные факторы: TLE 1 (transducin-like enhancer protein 1); TFE 3 (the specific molecular translocation der(17)t(X;17)(p11.2;q25) (basic/helix-loop-helix/leucine zipper transcription factor subfamily MiT); SOX 2, SOX 10, SOX 17 (transcriptions factors member of the sex-determining region); SALL 4 (zinc finger transcription factor); OCT 4 (POU-domain transcription factor).

TLE 1 – один из четырех членов семейства генов TLE, кодирующий транскрипционные факторы гомологичные продуктам гена *Drosophila groucho* gene, среди функций которого следует отметить участие данного гена в регуляции и контроле гемопоэза, дифференцировке нейронов на этапах эмбрионального развития. TLE 1 также играет важную роль в β -катенин зависимом сигнальном пути. В настоящее время известно, что β -катенин сигнальный путь играет одну из ведущих ролей в патогенезе синовиальной саркомы, что было подтверждено серией различных ДНК-микрочиповых исследований [2], в которых показано, что экспрессия белка TLE 1 является чувствительным и относительно высокоспецифичным маркером для синовиальной саркомы [3].

Синовиальная саркома – одна из наиболее распространенных типов сарком у взрослых и составляет 6–10 % из всех гистологических вариантов сарком мягких тканей (рис. 3). Около 70 % синовиальных сарком при морфологическом исследовании характеризуются монофазным веретенноклеточным строением и в 30 % – бифазным, при котором наряду с элементами верете-

ноклеточного строения определяются структуры с железистым типом дифференцировки. Низкодифференцированные синовиальные саркомы, как правило, мелкокруглоклеточного строения, составляют <5 % среди всех вариантов синовиальной саркомы и в условиях дедифференцировки могут возникнуть в любом варианте монофазной или двухфазной синовиальной опухолевой ткани. Ввиду крайне малоспецифичного иммунофенотипа нередко в практике патолога возникают трудности с проведением диагностики и дифференциальной диагностики синовиальной саркомы, особенно в случаях с низкой степенью дифференцировки опухоли. Молекулярный метод диагностики, такой как гибридизация *in situ* с использованием флуоресцентной метки (FISH) с целью обнаружения устойчивой опухольспецифичной транслокации t(X;18) (SS18-SSX1-2), все чаще используется для постановки окончательного диагноза синовиальной саркомы. Однако эти методы пока еще не доступны для всех патоморфологических лабораторий и требуют хорошо сохранившийся генетический материал. В связи с этим наиболее оптимальным методом морфологической верификации синовиальной саркомы является использование в иммуногистохимической диагностике опухоли специфичного ядерно-транскрипционного фактора TLE 1 (рис. 4).

Наряду с синовиальной саркомой, среди группы CD34-негативных сарком мягких тканей нередко возникают определенные сложности в дифференциальной диагностике злокачественной опухоли из оболочек периферических нервов (malignant peripheral nerve sheath tumors, MPNST), имеющей крайне малоспецифичный иммунофенотип. Нередко с увеличением госто-

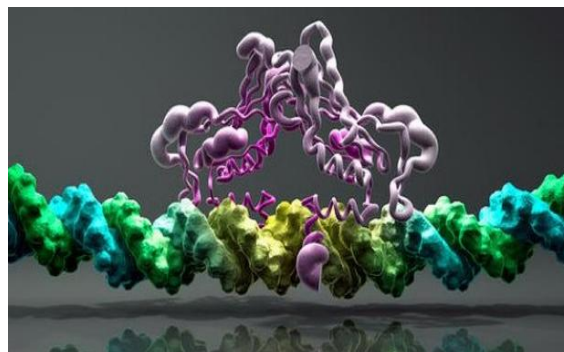


Рис. 2. Пространственная структура ядерно-транскрипционного фактора

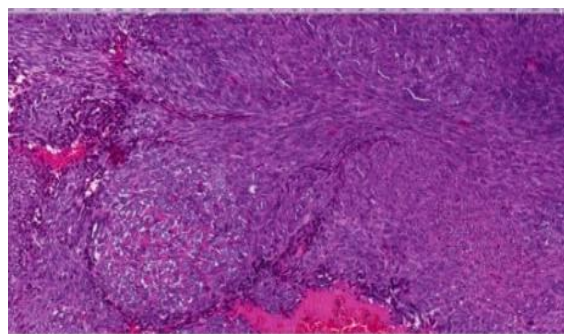


Рис. 3. Синовиальная саркома (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 200$)

логической степени злокачественности данных опухолей в них отмечается полная или частичная утрата специфических маркеров нейрональной дифференцировки (S-100; CD57; NSE). Данный гистологический вариант саркомы имеет признаки линейной нейроспецифичной дифференцировки, отражающей фенотипические свойства элементов оболочек периферических нервов. Классическая гистологическая картина злокачественной опухоли из оболочек периферических нервов представлена тесно расположенными разнонаправленными пучками, состоящими из веретеновидных клеток с гиперхромными ядрами и нечеткими контурами цитоплазмы (рис. 5).

SOX 10 (member of the sex-determining region Y-related HMG-box family) является ядерно-транскрипционным фактором, участвующим в регуляции миграции клеток нервного гребня на этапах эмбриогенеза [4]. Наряду с чем экспрессия данного белка сохраняется в клетках с признаками глиальной, шванновской и меланогитарной дифференцировки. Следует отметить, что сегодня линейно-ограниченное (ядерно-транскрипционный фактор) SOX 10 антитело является высочувствительным маркером меланомы и злокачественных опухолей из оболочек периферических нервов. Его экспрессия также отмечена в карциномах молочной железы с базальным и тройным-негативным нелиминальным молекулярно-биологическим подтипом рака молочной железы, для которых он имеет прогностическое значение (рис. 6).

В последнее время наблюдается всевозрастающий интерес к использованию ядерно-транскрипционных факторов в диагностике различных злокачественных опухолей. Особый интерес представляет использование линейно-ограниченных антител (ядерно-транскрипционных факторов) в отношении категории опухолей из незрелых зародышевых клеток (герминогенноклеточных опухолей, germ cell tumor), в частности, таких ядерных факторов транскрипции, как: OCT 3/4, также известный как OCT 4 и POU5F1, SALL 4 (zinc-finger transcriptional factor important for embryonic development, is mapped to chromosome 20q13), SOX 2 и SOX 17 (member's of the sex-determining region Y-related HMG-box family).

Диагностика герминогенных гонадных и экстрагонадных опухолей также нередко связана с определенными трудностями, обусловленными сложностью гистологического строения и нередко наличием элементов более одного гистологического типа. Современная иммуногистохимическая диагностическая панель включает в себя значительное число антител, которые в условиях абберантной коэкспрессии в ряде случаев, особенно при наличии нескольких компонентов в структуре герминогенной опухоли, приводят к определенным трудностям в интерпретации результатов исследования (рис. 7–8).

Использование ядерно-транскрипционных факторов позволяет оптимизировать алгоритм иммуногистохимической диагностики и количественно оценить каждый из компонентов в структуре герминогенных опухолей более одного гистологического типа. Так, OCT 3/4 – ядерно-транскрипционный фактор, играющий ключевую роль в поддержании функции плюрипотентной эмбриональной стволовой клетки, – утрачивается на этапах клеточной дифференцировки. Диффузная ядерного типа экспрессия маркера OCT 3/4 отмечена в герминогенных опухолях (семинома, эм-

бриональный рак), которые представлены плюрипотентными эмбриональными клетками, за исключением опухоли желточного мешка. Поэтому наиболее оптимальным в иммуногистохимической диагностике всех гистологических подтипов герминогенноклеточных опухолей является использование современного и хорошо изученного ядерно-транскрипционного фактора SALL 4. Ядерная экспрессия SALL 4 выявляется в более чем 90 % герминогенноклеточных опухолей (семинозных и несеминозных), включая опухоль желточного мешка (рис. 9–12).

SOX 2 и SOX 17 (member's of the sex-determining region Y-related HMG-box family) – семейство SOX транскрипционных факторов, осуществляет контроль дифференцировки клеток на многих этапах эмбриогенеза, таких как половая дифференцировка, нейро- и скелетогенез, и она охватывает около 20 SOX генов.

Среди них SOX 2 – ядерно-транскрипционный фактор, который, согласно литературным данным, показал себя в качестве хорошего иммуногистохимического маркера в диагностике эмбрионального рака в ряду герминогенноклеточных гонадных и экстрагонадных опухолей [5].

Молекулярно-биологические исследования последних лет по изучению транскрипционного ядерного фактора SOX 17 показали его ключевую роль в канцерогенезе опухолевых клеток семиномы. Эти данные также были подтверждены результатами иммуногистохимического анализа злокачественных семинозных герминогенноклеточных опухолей (рис. 13). SOX 17 не экспрессировался в опухолевых клетках эмбрионального рака, включая «чистый» – однокомпонентный эмбриональный рак, и структурах эмбриональной карциномы в герминогенноклеточных опухолях более одного гистологического типа, а также структурах внутриканальцевого эмбрионального рака *in situ*. Также отмечено в ряде исследований выраженное иммунопозитивное окрашивание различной степени выраженности SOX 17 во всех элементах опухоли желточного мешка [6].

Таким образом, использование в рутинной практике патолога ряда новых маркеров ядерно-транскрипционных факторов позволяет оптимизировать существующие подходы в иммуногистохимической диагностике злокачественных герминогенноклеточных (семинозных и несеминозных) опухолей, в т. ч. более одного гистологического типа.

TFE 3 (basic/helix-loop-helix/leucine zipper transcription factor subfamily MiT) – ядерно-транскрипционный фактор ассоциированный со специфическим типом несбалансированной транслокации *der(17)t(X;17)(p11.2;q25)*, выявляемой в светлоклеточном варианте почечно-клеточного рака, для которого ее наличие ассоциировано с прогнозом, а также в достаточно редком гистологическом варианте саркомы мягких тканей – «alveolar soft part sarcoma».

«Alveolar soft part sarcoma» относится к категории крайне редких сарком мягких тканей, на долю которой приходится около 0,5–0,9 % в общей структуре злокачественных опухолей мягких тканей. Как правило, это молодые пациенты широкой возрастной группы – от 15 до 35 лет. Локализация опухоли разнообразная, включающая в себя различные органы и системы (мягкие ткани конечностей; в детском возрасте: орбита, язык; реже – генитальный тракт, средостение, легкие, желудок). При микроскопическом исследовании опухоль

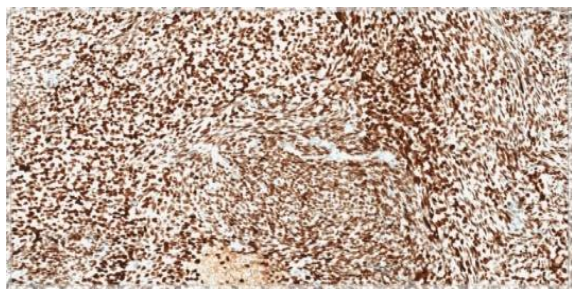


Рис. 4. Синовиальная саркома (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 200$). Гиперэкспрессия ядерного типа TLE 1 в опухолевых клетках

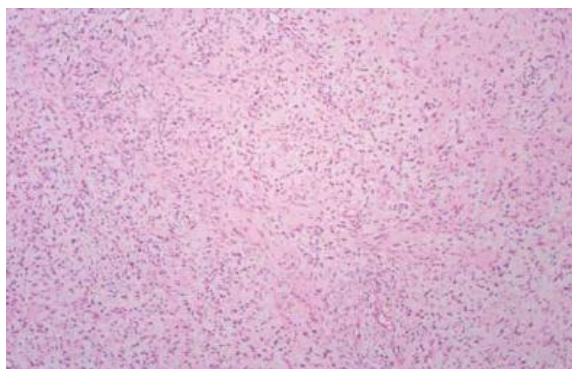


Рис. 5. Злокачественная опухоль из оболочек периферических нервов (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 200$)



Рис. 6. Злокачественная опухоль из оболочек периферических нервов (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 200$). Экспрессия ядерного типа SOX 10 в опухолевых клетках

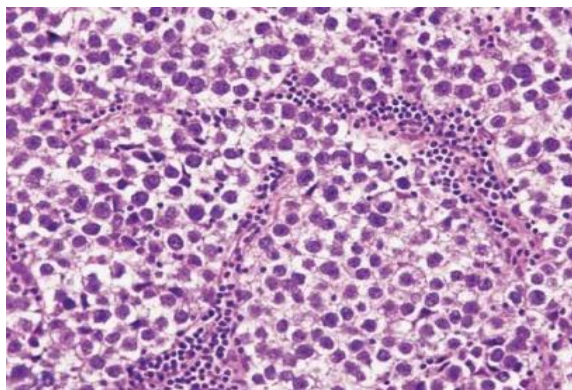


Рис. 7. Семинома (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 400$)

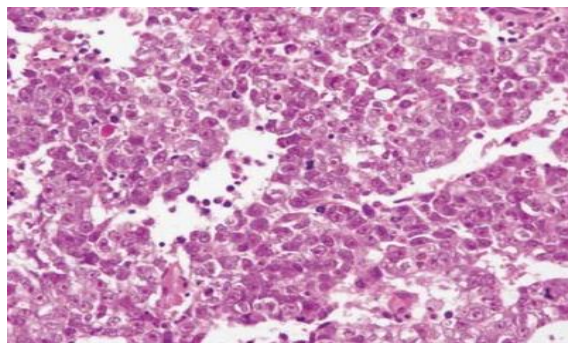


Рис. 8. Эмбриональный рак (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 400$)

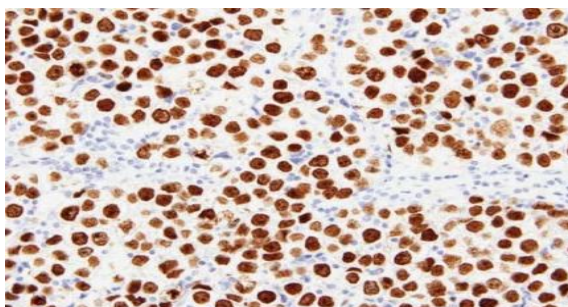


Рис. 9. Семинома (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$). Экспрессия ядерного типа SALL 4 в опухолевых клетках

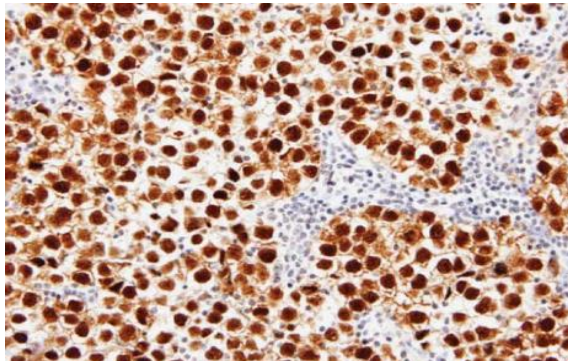


Рис. 10. Семинома (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$). Экспрессия ядерного типа Oct 3/4 в опухолевых клетках

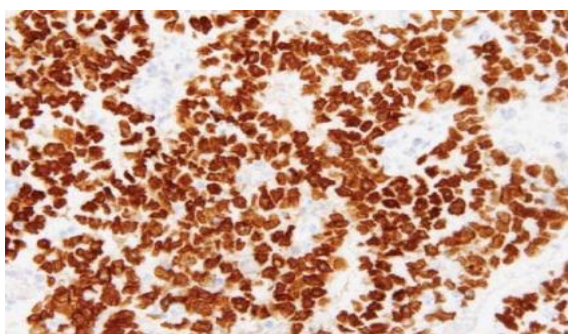


Рис. 11. Эмбриональный рак (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$). Экспрессия ядерного типа SALL 4 в опухолевых клетках

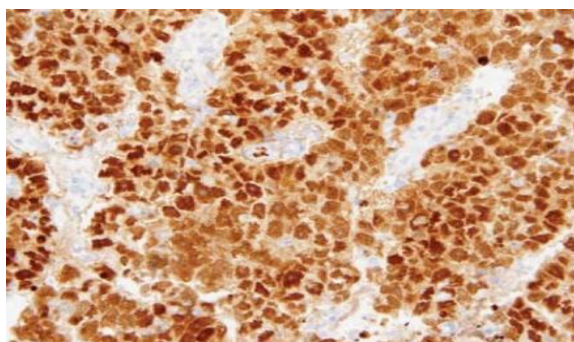


Рис. 12. Эмбриональный рак (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$). Экспрессия ядерного типа Oct 3/4 в опухолевых клетках

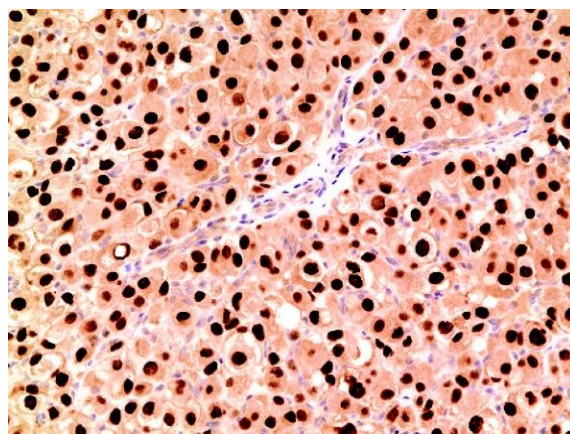


Рис. 15. Alveolar soft part sarcoma (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$). Экспрессия ядерного типа TFE 3 в опухолевых клетках

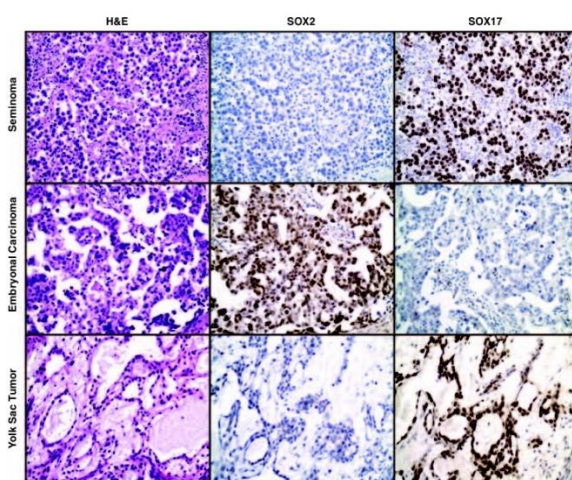


Рис. 13. Сравнительная характеристика экспрессии SOX 2 и SOX 17 (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 200$) в различных герминогенных семинозных и несеминозных опухолях

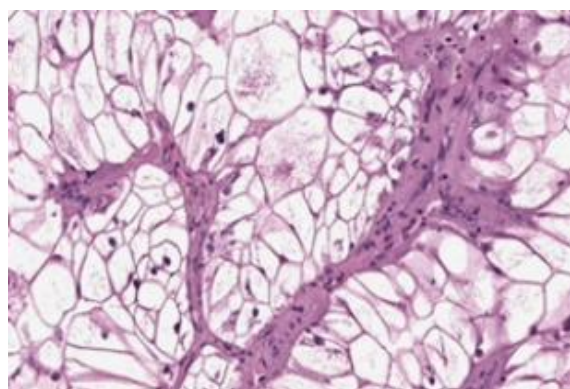


Рис. 16. Светлоклеточный почечно-клеточный рак – Xp11.2 renal cell carcinoma (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 400$)

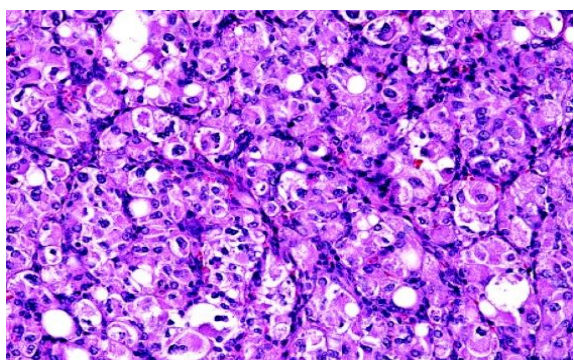


Рис. 14. Alveolar soft part sarcoma (окраска гематоксилином-эозином, ув. $\times 400$)

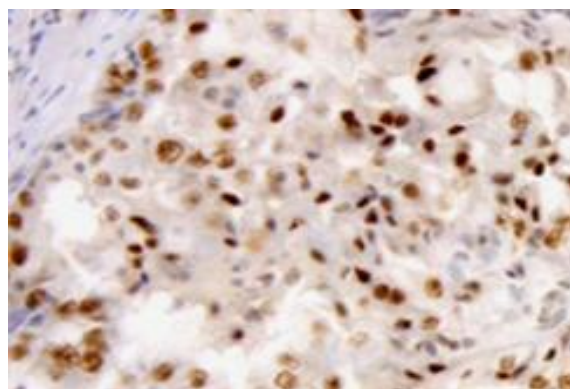


Рис. 17. Светлоклеточный почечно-клеточный рак – Xp11.2 renal cell carcinoma. Экспрессия ядерного типа TFE 3 в опухолевых клетках (иммуногистохимическая реакция, ув. $\times 400$)

органоидного типа строения, представленная альвеолярными и ячеистыми структурами, разделенными фибро-васкулярными септами с наличием нередко в межклеточной строме воспалительного лимфоидного инфильтрата, также обнаруживаются признаки сосудистой инвазии (рис. 14). Опухолевые клетки с эозинофильной цитоплазмой, эпителиоидного типа с умеренно плеоморфными базофильными ядрами, в которых

определяются крупные ядрышки, при использовании специальных методов окрашивания (periodic acid-Schiff-diastase) в цитоплазме опухолевых клеток выявляются кристаллические структуры. К сожалению, диагностика «alveolar soft part sarcoma» крайне трудна ввиду малоспецифичного иммунофенотипа, обуслов-

ленного абберантной коэкспрессией опухолевыми клетками самых разнообразных иммуногистохимических маркеров, включая нейрон-специфическую энлазу, виментин, альфа-гладкомышечный актин и в части случаев десмин. Таким образом, в целом иммунофенотип опухолевых клеток «alveolar soft part sarcoma» характеризуется нейрогенно-мышечным типом дифференцировки [7].

Молекулярно-биологические исследования данной саркомы позволили установить наличие в ней несбалансированной транслокации $der(17)t(X;17)(p11.2;q25)$, коррелируемой с экспрессией ядерно-транскрипционного фактора TFE 3 в опухолевых клетках, ввиду чего использование иммуногистохимического метода с целью морфологической верификации данной саркомы должно включать в иммуногистохимическую диагностическую панель линейно-ограниченное антитело (ядерно-транскрипционный фактор) – TFE 3 (рис. 15).

Наряду с чем, согласно литературным данным, несбалансированный тип транслокации $der(17)t(X;17)(p11.2;q25)$, выявляемый в части светлоклеточных вариантов почечно-клеточной карциномы у взрослых (рис. 16–17), характеризуется худшим клиническим течением заболевания и неблагоприятным прогнозом. Все вышеуказанное также может являться условием включения в иммуногистохимическую диагностическую панель ядерно-транскрипционного фактора TFE 3 как дополнительного, прогностически значимого маркера при морфологическом исследовании светлоклеточных почечно-клеточных карцином [8].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы все большее внимание уделяется различным молекулярно-генетическим и клеточным маркерам, характеризующим фундаментальные биологические свойства опухоли. Открытие и активное использование новых маркеров (ядерно-транскрипционных факторов), определяющих линейноспецифичные и прогностически значимые биологические свойства опухолевой клетки, позволяют патологу на современ-

ном этапе, оптимизируя имеющиеся иммуногистохимические алгоритмы, осуществлять точную морфологическую диагностику в ряду низкодифференцированных и недифференцированных опухолей различного гистогенеза.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hornick J.L.* Novel uses of immunohistochemistry in the diagnosis and classification of soft tissue tumors // *Mod. Pathol.* 2014. V. 27. № 1. P. 47-63.
2. *Terry J., Saito T., Subramanian S., Ruttan C., Antonescu C.R., Goldblum J.R., Downs-Kelly E., Corless C.L., Rubin B.P., van de Rijn M., Ladanyi M., Nielsen T.O.* TLE 1 as a diagnostic immunohistochemical marker for synovial sarcoma emerging from gene expression profiling studies // *Am. J. Surg. Pathol.* 2007. V. 31. № 2. P. 240-246.
3. *Knösel T., Heretsch S., Altendorf-Hofmann A., Richter P., Katenkamp K., Katenkamp D., Berndt A., Petersen I.* TLE 1 is a robust diagnostic biomarker for synovial sarcomas and correlates with $t(X;18)$: analysis of 319 cases // *Eur. J. Cancer.* 2010. V. 46. № 6. P. 1170-1176.
4. *Ordóñez N.G.* Value of SOX 10 immunostaining in tumor diagnosis // *Adv. Anat. Pathol.* 2013. V. 20. № 4. P. 2750-283.
5. *Adachi K., Suemori H., Yasuda S.Y., Nakatsuji N., Kawase E.* Role of SOX 2 in maintaining pluripotency of human embryonic stem cells // *Genes Cells.* 2010. V. 15. № 5. P. 455-470.
6. *Nonaka D.* Differential expression of SOX 2 and SOX 17 in testicular germ cell tumors // *Am. J. Clin. Pathol.* 2009. V. 131 (5). P. 731-736.
7. *Folpe A.L., Deyrup A.T.* Alveolar soft part sarcoma: a review and update // *J. Clin. Pathol.* 2006. V. 59 (11). P. 1127-1132.
8. *Meyer P.N., Clark J.I., Flanigan R.C., Picken M.M.* Xp11.2 translocation renal cell carcinoma with very aggressive course in five adults // *Am. J. Clin. Pathol.* 2007. V. 128. № 1. P. 70-79.

Поступила в редакцию 30 сентября 2014 г.

Bulanov D.V. NUCLEAR TRANSCRIPTION FACTORS: NEW OPPORTUNITIES IN IMMUNOHISTOCHEMICAL DIAGNOSTICS OF MALIGNANT TUMORS

The use of new markers (nuclear transcription factors) that define linearly-specific and prognostically important biological properties of the tumor cells allow a pathologist at the present stage optimizing the available immunohistochemical algorithms and perform accurate morphological diagnosis.

Key words: immunohistochemistry; nuclear transcription factors; molecular biology.

Буланов Дмитрий Владимирович, Европейский медицинский центр, г. Москва, Российская Федерация, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом гистологической лаборатории, e-mail: patros-ru@yandex.ru

Bulanov Dmitriy Vladimirovich, European Medical Center, Moscow, Russian Federation, Candidate of Medicine, Pathologist of Histological Laboratory, e-mail: patros-ru@yandex.ru