

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 1992 УДК 618.19-006-092.18-078.33

В.И.Гельштейн, Т.А.Чипышева, В.Д.Ермилова,
А.В.Любимов

Экспрессия кератина 17 в злокачественных опухолях
молочной железы человека

НИИ канцерогенеза

В основу гистологической классификации опухолей молочной железы положены согласованные группой экспертов ВОЗ морфологические признаки, позволяющие достигнуть определенного единства терминологии и взаимопонимания между патологами [8].

Подавляющее большинство карцином молочной железы по классификации ВОЗ относятся к протоковым и дольковым формам, основываясь на сходстве с нормальными структурами. При этом значительную часть карцином, характеризующихся беспорядочным хаотическим ростом раковых пластов и тяжей, также относят в группу инфильтрирующих протоковых раков, обозначая их как "рак без других указаний". Объединение определенных форм опухолей в одну классификационную рубрику не рассматривается авторами как указание на их общий гистогенез.

Между тем уточнение классификационной принадлежности той или иной опухоли молочных желез имеет значение не только в теоретическом плане для представления об их гистогенезе, но и в чисто практическом плане для предсказания клинического течения и прогноза заболевания.

Внедрение в онкоморфологическую практику дополнительных молекулярно-маркерных методов значительно расширяет возможности диагностики. Существенное значение имеет применение иммуноморфологических методов с помощью моноклональных антител (МКА) к белкам промежуточных филаментов цитоскелета [1].

Маркирование клеток злокачественных опухолей молочных желез с помощью МКА к индивидуальным белкам промежуточных филаментов эпителия — кератинов [20] показало, что клетки подавляющего большинства карцином молочной железы содержат кератины простых эпителиев, характерные в норме для выстилающего эпителия железистых структур молочного дерева, — кератины 8, 18, 7 и 19 [10, 12, 14, 15, 17, 21]. Кератины, составляющие набор миоэпителиальных кле-

ORIGINAL PAPERS

EXPERIMENTAL INVESTIGATIONS

V.I.Guelstein, T.A.Tchypysheva, V.D.Ermilova,
A.V.Ljubimov

Keratin 17 Expression in Human Malignant Breast Tumors
Research Institute of Carcinogenesis

The histological classification of breast tumors proposed by WHO experts [8] is based on histological appearances rather than on histogenesis to ensure terminologic uniformity and better understanding between pathologists.

According to the WHO typing the great majority of invasive carcinomas are referred to as "infiltrating duct carcinoma not otherwise specified (NOS)". The growth pattern of these tumors varies widely. Tumor cells are arranged as sheets, nests, cords and so on. These tumors belong to the group of "invasive ductal carcinoma" because they do not fall into any of the other categories of invasive mammary carcinoma. More accurate classification of breast tumors is of both theoretical and practical importance since it has been proven useful in comprehension of the tumor histogenesis and evaluation of the disease prognosis.

The application of additional molecular markers in the oncomorphological practice enlarges considerably the diagnostic potentials. Immunohistochemical methods using monoclonal antibodies (Mab) to intermediate filament proteins are particularly of great value [1]. Among these proteins the epithelial subgroup, i.e. keratins (or cytokeratins — CK) comprises a system of especially potent differentiation markers. It has been shown that a vast majority of breast carcinomas express simple keratins, i.e. CK 8, 18, 7, 19 [20]. In the normal breast simple CKs are expressed exclusively in cells of inner (luminal) layer throughout the whole mammary branching system of ducts and lobules. CKs of myoepithelial cells (so called basal CKs 5, 14, 17) are found in 5—12% of breast carcinomas only [10, 14, 15, 21]. It is not clear so far whether these tumors have any morphological, clinical or prognostic peculiarities.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ток (так называемые базальные кератины — 5, 14, 17), обнаружены лишь в 5—12% карцином молочной железы [10, 14, 15, 21]. До сих пор неясно, присущи ли таким опухолям какие-либо морфоструктурные или клинико-прогностические особенности.

Задачей настоящей работы был иммуногистологический анализ инфильтрирующих злокачественных опухолей молочной железы, принадлежащих к разным классификационным рубрикам (в том числе к так называемым редким формам), с помощью оригинальных МКА, специфических для выстилающего эпителия (Н1 к кератину 8) и миоэпителия (Е3 к кератину 17). В ряде случаев применялось сочетанное с антикератинами иммуноокрашивание на белок базальной мембраны — ламинин. Целью работы была попытка уточнения классификации опухолей молочных желез, экспрессирующих базальный кератин 17.

Материалы и методика. Исследовано 100 образцов инфильтрирующих форм рака молочной железы, полученных в течение 2—3 ч после мастэктомии в клиниках ОНЦ РАМН.

В 73 случаях опухоли имели метастазы в региональные лимфоузлы. В исследование включены также случаи, диагностированные как "редкие формы рака". В основу гистологической диагностики положена классификация опухолей молочной железы, предложенная экспертами ВОЗ [8]. Гистологическое исследование проводилось до постановки иммуногистохимического анализа независимо на замороженных и парафиновых срезах. В случае выявления положительного иммуноокрашивания на кератин 17 применяли дополнительные методы исследования (электронная микроскопия, окраска на мукоид) с целью уточнения классификационной принадлежности данной опухоли.

Иммуногистохимический анализ. Кусочки опухоли заливали в 7% желатин на фосфатно-буферном растворе (ФБР) и подвергали быстрому замораживанию в жидком азоте. Криостатные срезы 5—7 мм² и блоки хранили при температуре -50°C. Перед употреблением срезы высушивали на воздухе 1—2 мин. Фиксация холодным ацетоном (-20°C в течение 20—30 с или 4% формальдегидом на ФБР в течение 30 с давала совпадающие результаты.

Применяли реакции ПАП и непрямой иммунофлюоресценции с использованием двойной метки по методикам, описанным ранее [3, 15].

Антитела. Использовали следующие МКА: 1) клон Н1 к кератину 8 [15]; 2) клон Е3 к кератину 17 [22]; 3) клон NT 30 к виментину [9]; 4) аффино-очищенную кроличью антисыворотку против мышинного ламинина А-и В1+В2-цепей [19].

Результаты. Исследованные 100 образцов инфильтрирующих карцином, классифицированные на основании гистологической картины согласно рекомендации ВОЗ [8], включали в себя следующие варианты: инфильтрирующий протоковый рак (51), инфильтрирующий дольковый рак (31), тубулярный рак (5), папиллярный рак (3), медулярный рак (2), слизистый рак (3), рак с метаплазией: веретенноклеточного типа (1), хондроидного и остеоидного типа (2), аденокистозный рак (1), болезнь Педжета соска (1).

In this study the immunohistochemical analysis of infiltrative malignant breast tumors belonging to different types (including so called rare forms) was performed by means of original Mab's specific of lining epithelium (clone H1 to CK 8) and myoepithelium (clone E3 to CK 17). In several of the cases we used staining for the basement membrane protein laminin alongside with antikeratins. The breast tumors expressing basal CK 17 were classified in a great greater detail.

Materials and Methods. Samples of 100 invasive breast cancer were obtained from the Unit of Pathological Anatomy of the CRC within 2—3 h after mastectomy. In 73 cases tumors produced metastases to regional lymph node. Cases of uncommon, so called "rare" cancer types were also included in the study. The histological diagnosis was based on the WHO Histological Typing of Breast Tumors [8]. The histological investigation was carried out before the immunohistochemical analysis independently on frozen and paraffin sections. Some samples with positive CK 17 immunostaining were further examined (by electron microscopy and mucoid staining) to specify the tumor more accurately.

Immunohistochemical assay. Tumor samples were immersed in 7% gelatin in phosphate buffered saline (PBS) and snap-frozen in liquid nitrogen, as described in [3, 15]. The cryostat sections of 5—7 mm² and blocks were stored at -50°C. The sections were air dried before use for 1—2 min. Fixation in cold acetone (-20°C) for 20—30 s or in 4% formaldehyde in PBS for 30 s gave similar results. We used the PAP reaction and double indirect immunofluorescence as described elsewhere [3, 15].

Antibodies. The following Mab's were used: 1) Mouse Mab clone H1 to CK 8 [15]; 2) Mouse Mab clone E3 to CK 17 [22]; 3) Mab clone NT30 to vimentin [9]; 4) Affinity purified monospecific rabbit antiserum to mouse laminin A and B1+B2 chains [19].

Results. The 100 infiltrative carcinoma samples were classified by routine histological procedure into several groups, as follows: invasive ductal carcinoma (51), invasive lobular carcinoma (31), tubular carcinoma (5), papillary carcinoma (3), medullary carcinoma (2), mucinous carcinoma (3), carcinoma with metaplasia, including spindle-cell type (1), cartilaginous and osseous type (2); adenoid cystic carcinoma (1), Paget's disease of the nipple (1). CK 8 immunostaining was diffuse and intense in the overwhelming majority of the cases.

CK 17 immunostaining was diffuse or focal in 7 out of 8 carcinomas, i.e. 2 of 3 mucinous carcinomas, all 3 of the metaplastic carcinomas, 1 adenoid cystic carcinoma, 1 Paget's disease of the nipple. In 9 of 51 cases classified as ductal carcinoma and in 1 of 31 lobular carcinomas the CK 17 immunostaining varied from sporadic foci to diffuse intense fluorescence of cancer cells. Let us first consider CK 17-positive rare forms of carcinoma. In mucinous carcinomas the CK 17 localization correlated with intracellular contents of mucin; signet-ring cells were stained intensely (fig. 1a). In the CK 17-negative case mucin was found in the stroma only. The expression of CK 8 was diffuse. The cases with spindle-cell, cartilaginous and osseous metaplastic foci (3) were characterized by focal distribution of CKs correlating with the cellstructural organization, as was previously described for pleomorphic adenoma of the salivary

Иммуноокрашивание на кератин 8 в подавляющем большинстве случаев было диффузным и интенсивным (исключения будут описаны ниже).

Диффузное или крупноочаговое окрашивание на кератин 17 выявлено в 7 из 8 случаев, относящихся к редким формам карцином: 2 из 3 случаев слизистого рака, метастатическим ракам (3), аденокистозному раку (1), болезни Педжета соска (1). В 9 из 51 случая инфильтрирующего протокового рака и в 1 из 31 долькового рака иммуноокрашивание на кератин 17 варьировало от спорадических фокусов до диффузного интенсивного окрашивания раковых клеток. Опишем сначала редкие формы, положительные на кератин 17.

В слизистых раках локализация кератина 17 коррелировала с внутриклеточным содержанием муцина: интенсивно были окрашены перстневидные клетки (рис. 1а). В случае, отрицательном на кератин 17, муцин обнаружен только в строме. Реакция на кератин 8 была диффузной.

Для случаев очагами веретенклеточной, хондронидной и остеонидной метаплазии (3) характерно очаговое распределение кератинов, коррелирующее со структурной организацией клеток, как это было ранее описано в плеоморфной аденоме слюнной железы [2]. Так, в мезенхимоподобном компоненте очаги кератин 8- и кератин 17-положительных клеток нерегулярны и не совпадают между собой, в солидноофолярном компоненте экспрессия кератина 8 и кератина 17 более закономерна; в тубулярном компоненте преобладает экспрессия кератина 8, реже кератина 17. Наряду с экспрессией кератинов характерна экспрессия виментина.

В аденокистозном раке кератин 17 локализовался очагово, в то время как реакция на кератин 8 была диффузной. Характерно наличие базальной мембраны, очерчивающей кривозные структуры, что является дифференциально-диагностическим признаком между аденокистозным раком и кривозными структурами протокового рака (рис. 2, а, б).

В раке Педжета наблюдалось диффузное интенсивное окрашивание светлых педжетоидных клеток на кератин 17 и кератин 8, резко отличающих раковые клетки от окружающего эпидермиса.

Выявленная иммуноморфологическая характеристика редких форм рака молочной железы послужила основой для более пристального анализа кератин 17-положительных случаев, отнесенных по гистологической картине в группу протоковых (и дольковых) раков, особенно имеющих структуру типа "без других указаний" (БДУ).

В итоге 5 из 10 случаев, первоначально отнесенных к вариантам инфильтрирующих протоковых (4) или дольковых (1) раков, были классифицированы как "редкие формы рака".

gland [2]. In the spindle-cell component the foci of CK 8- and CK 17-positive cells were not regular and did not coincide; in the solid alveolar component the expression of CK 8 and CK 17 was more regular; in the tubular component the immunostaining for CK 8 was more regular than that for CK 17. Vimentin expression was also characteristic of this group.

In adenoid cystic carcinoma CK 17 was localized focally, while the CK 8 expression was diffuse. The basement membrane outlined the cribrous structures inside the tumor foci (fig. 2 a, b). This feature is of differential diagnostic value between adenoid cystic and ductal carcinoma, where the cribrous structures inside the tumor ducts are never surrounded by their own basement membrane.

In Paget's disease pale pagetoid cells presented intense diffuse staining for CK 17 and CK 8 that clearly distinguished cancer cells from the surrounding epidermis.

The discovered immunohistochemical characteristic of rare breast cancers was a basis of more precise analysis of CK 17-positive cases belonging by histology to the group of ductal and lobular carcinomas, especially of NOS type.

As a result in 5 out of 10 cases previously included in the invasive ductal (4) or lobular (1) carcinoma groups the histological diagnosis was revised. Let us consider these cases.

1. In a case morphologically diagnosed as ductal cancer (NOS type) the tubular structures were predominant. Due to intense diffuse CK 17 immunostaining in combination with positive CK 8 immunoreactivity the mucus production was suspected and confirmed by positive mucin reactivity. The tumor was related to mucinous carcinoma (fig. 1 b).

2. In a tumor previously diagnosed as invasive lobular carcinoma of alveolar type the morphological pattern was uncommon. Namely, many alveolar structures looked cribrous with fusiform cells forming rosettes around the holes (fig. 2 c). The sharply positive CK 17 immunostaining of these cells and their irregular framing with basement membrane suggested the relation of this case to adenoid cystic carcinoma.

3. In a sample of a tumor first diagnosed as invasive ductal carcinoma of NOS type there were foci of CK 17-positive spindle-cells simultaneously expressing CK 8 and vimentin. This immunomorphological characteristic allowed this case to be related to as invasive carcinoma with foci of spindle-cell metaplasia.

4, 5. Finally, two invasive ductal carcinomas of NOS type were re-diagnosed as squamous cell carcinomas. These tumors were morphologically characterized by abundant areas of solid sheets with some anisotropic

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Приводим их описание.

1. В случае, морфологически соответствующем протоковому раку с преобладанием железистых структур на основании диффузного интенсивного иммуноокрашивания на кератин 17 в сочетании с положительной реакцией на кератин 8, было заподозрено наличие продукции слизи, что было подтверждено положительной реакцией на муцин. Опухоль была отнесена в группу слизистых раков (рис. 1, б).

2. В опухолях, первоначально диагностированных как инфильтрирующий дольковый рак альвеолярного типа, сомнения в правильности диагноза вызвала необычная для этой формы рака морфологическая картина: многие альвеолярные образования имели криброзный вид и вокруг дырчатых структур клетки имели вытянутую форму, складываясь в своеобразные "розетки" (рис. 2, с). Резко положительная реакция этих клеток на кератин 17 и нерегулярное их обрамление базальной мембраной позволили отнести этот случай к аденокистозному раку.

3. В случае, первоначально диагностированном как инфильтрирующий протоковый рак типа БДУ, выявлены фокусы кератин 17-положительных клеток веретенообразной формы, окрашиваемые одновременно на кератин 8 и на виментин. Данная иммуноморфологическая характеристика позволила отнести этот случай в группу инфильтрирующего рака с очагами веретенклеточной метаплазии.

4,5. Наконец, в двух опухолях типа БДУ диагноз был изменен на плоскоклеточный рак. Морфологически эти опухоли характеризовались ростом в виде сплошных тяжей с некоторым намеком на анизоморфную стратификацию. Иммуноокрашивание на кератин 17 часто совпадало с реакцией на кератин 8, было диффузным и интенсивным (рис. 3, а, б). Электронно-микроскопически выявлены тонофиламенты, характерные для плоскоклеточного рака.

Таким образом, всего 13 из 100 исследованных случаев представлены редкими формами карцином. Метастазы в региональные лимфоузлы отмечены в 1 случае (инфильтрирующий рак с очагами веретенклеточной метаплазии).

После пересмотра диагнозов с учетом данных иммуноокрашивания на кератин 17 (см. таблицу) оказалось, что среди протоковых инфильтрирующих раков экспрессия кератина 17 имела место лишь в 5 случаях из 47. Фокусы иммунореактивных клеток носили спорадический характер. Сочетание экспрессии кератина 17 с кератином 8 и полное отсутствие базальной мембраны свидетельствовало об инвазивной раковой природе этих фокусов и отличало их от остатков нормальных, диспластических или неинвазивных (типа рака *in situ*) структур, присутствовавших в срезах большинства образцов. В 3 из 5 кератин 17-положительных случаев были метастазы в региональные лимфоузлы.

stratification features. CK 17-positive immunostaining was diffuse and coincided with the expression of CK 8 (fig. 3 a, b). Electron microscopy discovered tonofilaments characteristic of squamous cell carcinoma.

Thus, 13 CK 17-positive tumors out of the 100 breast carcinomas studied belonged to uncommon, rare tumor types.

5 out of 47 ductal invasive carcinomas presented small sporadic foci of CK 17-positive cells. There were no CK 17-positive samples among lobular, papillary, tubular and medullary carcinomas (see the table).

Discussion. The data presented show that in ductal and lobular carcinoma, as well as in tubular, papillary and medullary carcinoma the overwhelming majority of cells have luminal phenotype reacting with CK 8-specific Mab of clone H1. These data are in full agreement with numerous data obtained by using other Mab's also specific for luminal CKs 18, 19, 7 [10, 12, 14, 17, 21].

It should be noted when comparing our findings with the data of other authors [10, 12, 14, 17, 21] that Ck 8-specific Mab clone H1 reacts practically with all cancer cells in ductal, lobular, tubular, papillary and medullary carcinomas which distinguishes them from other Mab's for luminal keratins 18, 19, 7 characterized by somewhat more heterogeneous immunofluorescence.

CK 17 expression in these cancer forms is an exception rather than a rule. Of 87 cases in this group sporadic CK 17-positive foci were observed in 5 cases (5.7%) of invasive ductal carcinoma only. The cells of these foci also contained CK 8 and did not differ morphologically from neighboring cancer elements. The nature of this phenomenon remains unclear. The coexpression of CK 17 and CK 8 in the complete absence of basement membrane was evidence of relation of these foci to invasive elements and distinguished them from remnants of normal, dysplastic or non-invasive *in situ* structures observed in most sample sections. These findings are in agreement with data of other authors estimating the percentage of invasive breast cancers positive to CK 5, 14, 17 as varying from 5 to 12 [10, 14, 15, 21].

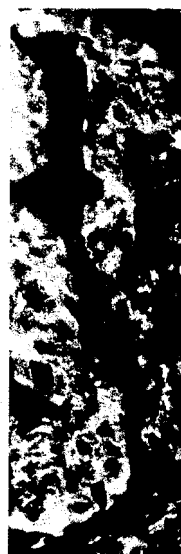
By R. Wetzels et al. [24] CK 17-positive carcinomas are 31% of invasive cancers. It seems that the authors included in this group cases of basal CK 17 localization in duct-like structures difficult of distinguishing between cancerous and remnant myoepithelial nature of these cells by objective criteria.

Our data show that CK 17 expression in malignant breast tumors correlates strongly with the tumor histology.

Most tumors expressing CK 17 (12 of 13) belong to uncommon rare cancer forms by the WHO typing (see the table).



1a



1b

Рис. 1. Слизистый рак.

Иммунофлюоресцентное окрашивание на кератин 17: а — перстневидных клеток, б — железистоподобных структур.
а — $\times 200$; б — $\times 120$.

Fig. 1. Mucinous carcinoma. CK 17 immunofluorescence of:

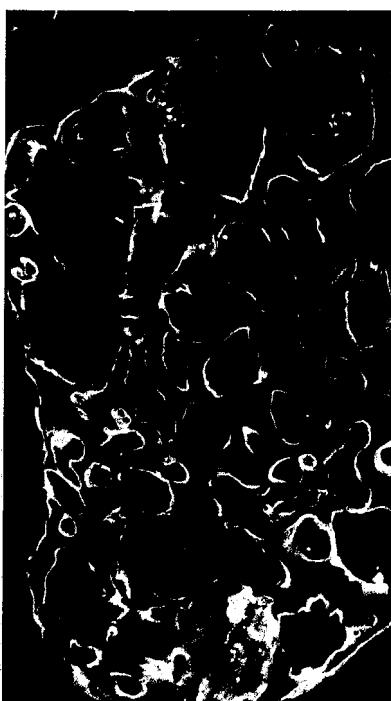
а — signet-ring cells; б — gland-like structures.

а — $\times 200$; б — $\times 120$.

2a



2b



2c



Рис. 2. Аденокистозный рак.

Двойное иммунофлюоресцентное окрашивание на кератин 17 (а) и ламинин (б)

с — ПАП-реакция на кератин 17. Интенсивное окрашивание клеток, окружающих внутриальвеоларные просветы. Срез докрашен гематоксилином. а-с — $\times 120$.

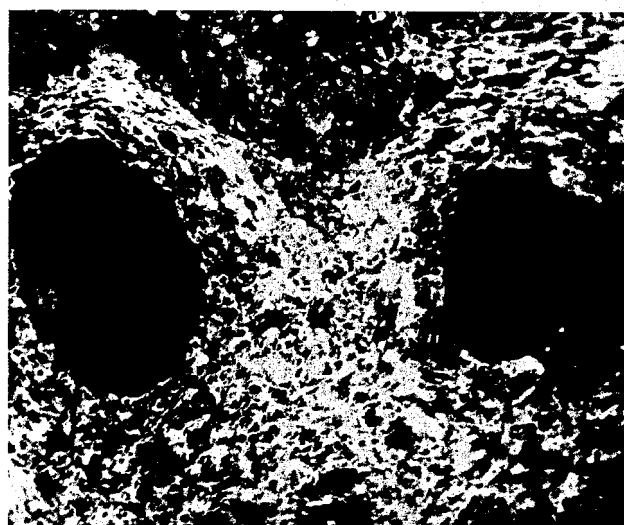
Fig. 2. Adenoid cystic carcinoma. Double immunofluorescent staining for CK 17 (a) and laminin (b).

с — PAP reaction for CK 17. Intense staining of cells surrounding the intraalveolar lumens. The section is additionally stained with hematoxylin.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ



3a



3b

Рис. 3. Плоскоклеточный рак.

Иммунофлюоресцентное окрашивание на кератин 17 (а) и кератин 8 (b).
а, b — x 120.

Fig. 3. Squamous cell carcinoma.

Immunofluorescent staining for CK 17 (a) and CK 8 (b). a, b — x120.

Экспрессия кератина 17 в опухолях молочных желез CK 17 expression in breast tumors

Гистологическая форма по классификации ВОЗ	Число случаев, положительных на кератин 17 / Общее число случаев
Инфильтрирующий протоковый рак \ Invasive ductal carcinoma	5/47
Инфильтрирующий дольковый рак \ Invasive lobular carcinoma	0/30
Тубулярный рак \ Tubular carcinoma	0/5
Папиллярный рак \ Papillary carcinoma	0/3
Медуллярный рак \ Medullary carcinoma	0/2
Слизистый рак \ Mucinous carcinoma	3/4
Инфильтрирующий рак с метаплазией: \ Invasive carcinoma with metaplasia:	
веретенноклеточного типа \ spindle-cell type	2/2
остеоиднохондроидного \ cartilaginous and ossous type	2/2
плоскоклеточного \ squamous-cell type	2/2
Аденокистозный рак \ Adenoid cystic carcinoma	2/2
Рак Педжета соска \ Paget's disease of the nipple	1/1
Histological form by WHO typing	No of CK 17-positive cases/ total no of cases

В раковых клетках инфильтрирующего долькового рака (30 случаев), а также таких редких форм, как тубулярный, папиллярный и медулярный рак (10 случаев), кератин 17 отсутствовал.

Обсуждение. Представленные в настоящей работе данные показали, что в протоковых и дольковых раках, так же как и в таких формах карцином, как тубулярный, папиллярный и медулярный рак, подавляющее большинство раковых клеток имеет люминальный фенотип, выявляемый антителом клона H1, специфичным для кератина 8. Эти результаты соответствуют многочисленным литературным данным, полученным при применении МКА, специфичных и для других люминальных кератинов: 18, 19, 7.

Сопоставляя наши данные с данными других авторов [10, 12, 14, 17, 21], следует подчеркнуть, что МКА H1, специфичные для кератина 8, реагируют практически со всеми раковыми клетками в протоково-дольковых, тубулярных, папиллярных и медулярных карциномах, чем отличаются от других МКА, направленных к люминальным кератинам 18, 19, 7, в иммуноокрашивании которых наблюдалась некоторая гетерогенность.

Экспрессия кератина 17 в этих формах рака является скорее исключением, чем правилом. Среди 87 случаев этой группы спорадические фокусы кератин 17-положительных клеток выявлены только в 5 инфильтрирующих протоковых карциномах (5, 7%). Одновременно клетки этих фокусов содержали кератин 8 и морфологически ничем не отличались от остальных раковых элементов. Значение этого факта остается неясным. Эти данные соответствуют данным литературы, по которым процент инвазивных раков молочной железы, положительных на базальные кератины 5, 14, 17, колеблется от 5 до 12 [10, 14, 15, 21].

По данным R. Wetzels и соавт. [24], кератин 17-положительные карциномы составили 31% инвазивных форм. По-видимому, авторы включили в эту группу случаи с "базальной" локализацией кератина 17 в протокоподобных структурах, в которых объективные критерии, позволяющие отличить раковую природу клеток от миоэпителиальной, представляют значительные трудности.

Результаты нашего исследования показали, что экспрессия кератина 17 в злокачественных опухолях молочной железы четко коррелирует с гистологическим вариантом опухоли.

Большинство случаев с экспрессией кератина 17 (12 из 13) выявлено среди опухолей, которые по классификации ВОЗ попадают в группу некоторых редких форм рака (см. таблицу).

Так, по данным В.Д.Ермиловой и М.О.Крыловой [4—7], с 1973 по 1986 г. в клиниках ОНЦ авторы наблюдали 6 плоскоклеточных раков, 4 рака со смешан-

By V.D.Ermilova and M.O.Krylova [4—7] there were 6 squamous cell carcinomas, 4 cancers with mixed metaplasia, 2 adenoid cystic cancers managed at the CRC from 1973 to 1986. These tumor types, as well as mucinous cancer were characterized by longer disease course as compared to ductal and lobular carcinomas and had a better prognosis. Among the 12 CK 17-positive rare cancer cases one tumor only gave metastases. A relatively better prognosis for mucinous cancer is commonly recognized 16.

The data presented in this paper show the great value of immunohistochemical assay for CK 17 in diagnosis of rare breast cancers as compared with purely routine morphological study. The diagnosis of squamous cell carcinoma is the most demonstrative. The CK 17 expression in solid NOS cancers may be more indicative of squamous cell metaplasia than the tumor histology. Cancer forms rare for the breast, such as carcinoma with metaplasia of squamous-cell, spindle-cell, cartilaginous and osseous types, adenoid cystic carcinoma occur frequently in other organs, e.g. in the salivary gland [11]. We suppose that the rate of occurrence of these tumor types in different organs (e.g. breast and salivary gland) is associated with differences in their histomorphologic structures and the site of the tumor origin.

According to the most widely recognized hypothesis of S.R.Wellings and H.M.Jensen [23] most malignancies of the breast arise at the boundary of ducts and lobules in the so called terminal ductallobular unit from the stem cells that have dual potentials to differentiation in luminal or myoepithelium pathways. It is probable that the advantage in the malignant growth is gained by poorer differentiated and labile lining cells of luminal phenotype containing simple rather than basal keratins.

In the distant sections of the lactiferous arbor occurrence of malignant tumors is a rare event. This portion of the breast arbor is lined with stratified epithelium, and its basal cells coexpress CK 8 and CK 17 [22]. These basal cells may be considered precursors if the malignant tumor does arise in this area. In this case CK 17 may be considered a marker of the basal layer of the complex epithelium rather than a myoepithelium marker.

By many authors [13, 18] myoepithelium in the salivary gland is localized in secretory segments only, while the external cells of a considerable part of the salivary arbor do not contain actin and are considered true basal rather than myoepithelial. The most common tumors of the salivary gland, such as pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma arise in these segments of the salivary arbor and contain a complex CK

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ной метаплазией, 2 аденокистозных рака. Эти варианты опухолей, а также слизистый рак отличались более длительным течением по сравнению с протоково-дольковыми раками и имели более благоприятный прогноз. Из описываемых в настоящей работе кератин 17-положительных редких раков метастазы отмечены лишь в 1 случае. Сравнительно благоприятный прогноз слизистого рака считается общепризнанным [16].

Таким образом, представленные данные показали большое значение иммуногистохимического анализа на кератин 17 в выявлении редких форм рака молочной железы по сравнению с чисто морфологическими методами. Особенно показательна диагностика плоскоклеточного рака. По-видимому, экспрессия кератина 17 в солидном раке типа БДУ может оказаться более демонстративным признаком плоскоклеточной метаплазии, чем гистологическое строение опухоли.

Формы рака, которые для молочной железы являются редкими, такие как рак с плоскоклеточной метаплазией, рак с хондронидной, остеонидной и веретенчатой метаплазией, аденокистозный рак и др., встречаются часто в других органах, например в слюнной железе [11].

Можно предположить, что частота или редкость данных форм опухолей в разных органах (например, в молочной и слюнной железе) связана с различиями в гистоморфологической структуре и разных точках развития опухолей в этих органах.

Согласно наиболее распространенной гипотезе S.R.Wellings и H.M.Jensen [23], протоково-дольковые раки молочной железы возникают на границе протоков и долек в так называемой конечной протоково-дольковой единице из стволовых клеток, дифференцирующихся как в люминальный эпителий, так и в миоэпителий. Возможно, при злокачественном росте наибольшее преимущество получают менее дифференцированные и лабильные выстилающие клетки с люминальным фенотипом, содержащие простые, но не базальные кератины.

В отрезках, высланных многослойным эпителием, озлокачествление — событие более редкое. Предшественниками опухолей могут быть базальные клетки многослойного пласта, коэкспрессирующие кератины простых и сложных эпителиев (в данном случае кератины 8 и 17 [22]). В редких опухолях, возникающих в этих отрезках молочного дерева, кератин 17 выступает уже не как маркер миоэпителия, а как маркер базального слоя сложного эпителия.

В слюнной железе, как считают многие авторы [13,18], миоэпителий локализуется только в секреторных отделах, а на значительном протяжении слюнного дерева наружные клетки не содержат актина и рассматриваются как истинно базальные. Наиболее распространенные опухоли слюнных желез, такие как

pattern including CK 17. However, this supposition fails to explain expression of CK 17 by signet-ring cells of mucinous cancer.

In conclusion we should like to note the practical significance of our findings. Positive immunoreactivity for CK 17 of breast tumors is an objective criterion that distinguishes rare tumor types with a slow course and better prognosis among carcinomas difficult of identification.

Acknowledgments. The authors thank Associated Member of the RAS Professor Yu.M.Vasiliev for his permanent interest to and fruitful discussion of the investigation; I.S.Tint and A.A.Neufach for provision with Mab to vimentin; V.V.Delektorskaya for performance of the electron microscopy assay; N.V.Chertakova for valuable technical assistance.

Submitted 31.03.92. / Поступила 31.03.92.

Литература / References

1. Гельштейн В.И. // *Вопр. мед. химии.* — 1991. — Т. 37, № 6. — С. 4—11.
2. Гельштейн В.И., Чипышева Т.А., Ермилова В.Д. и др. // *Арх. пат.* — 1989. — Т. 51, вып. 10. — С. 28—34.
3. Гельштейн В.И., Чипышева Т.А., Ермилова В.Д. // *Там же.* — 1990. — Т. 52, вып. 9. — С. 12—18.
4. Ермилова В.Д., Крылова М.О. // *Там же.* — 1989. — Т. 51, вып. 6. — С. 72—74.
5. Ермилова В.Д., Крылова М.О. // *Там же.* — 1989. — Т. 51, вып. 7. — С. 38—44.
6. Ермилова В.Д., Крылова М.О. // *Вопр. онкол.* — 1989. — Т. 35, № 8. — С. 928—931.
7. Ермилова В.Д., Крылова М.О. // *Там же.* — 1989. — Т. 35, № 9. — С. 1040—1044.
8. Международная гистологическая классификация опухолей молочных желез. № 2. ВОЗ. — 2-е изд. — Женева, 1981.
9. Трояновский С.М., Банников Г.А., Бершадский А.Д. и др. // *Иммунология.* — 1985. — № 6. — С. 71—74.
10. Altmannberger M., Dirk T., Droese M. et al. // *Virch. Arch. Abt. B. Zellpath.* — 1986. — Bd. 51. — S. 265—275.
11. Azzopardi J.G. Problems in breast pathology. Saunders. — Philadelphia, 1979.
12. Bartek J., Kovarcik J., Burchell J. et al. // *Molecular biology and differentiation of cancer cell.* — Budapest, 1987. — P. 123—130.
13. Caselitz J., Walther B., Wustrow J. et al. // *Virch. Arch.* — 1986. — Bd. 409. — S. 725—738.

ют в этих участках слюнного дерева и имеют сложный набор кератинов, включая кератин 17. Вместе с тем экспрессию кератина 17 перстневидными клетками слизистого рака трудно объяснить с позиции выдвигаемой гипотезы.

В заключение отметим практическое значение представленных данных. Положительное иммуноокрашивание опухолей молочной железы на кератин 17 явилось объективным критерием, позволившим выявить среди трудно идентифицируемых карцином варианты редких опухолей, характеризующихся медленным течением и имеющих благоприятный прогноз.

Авторы выражают благодарность члену-корр. РАН проф. Ю.М.Васильеву за постоянный интерес и полезное обсуждение работы; И.С.Тинт и А.А.Нейфаху за предоставление МКА к виментину; В.В.Делекторской за проведение электронно-микроскопического исследования; Н.В.Чертаковой за квалифицированную техническую помощь.

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 1992

УДК 616-006.04-085.322

Н.И.Сюткина, В.И.Купин, В.П.Летягин

Применение элеутерококка в онкологии

НИИ экспериментальной диагностики и
терапии опухолей, НИИ клинической
онкологии

На современном этапе онкологической науки все большее внимание уделяется изысканию средств, патогенетически влияющих на опухолевый процесс и увеличивающих эффективность современного противоопухолевого лечения. Перспективными в этом отношении являются вещества природного происхождения, обладающие адаптогенными свойствами, т.е. выраженным регулирующим влиянием на гомеостаз, поскольку именно тяжелые и все усугубляющиеся нарушения гомеостаза признаются одной из основных причин многих случаев неудач в лечении онкологических больных.

Известно, что основным организующим элементом защитно-адаптационной деятельности организма является стресс. Стрессорная реакция в условиях нормы направлена на развитие долговременной фенотипической адаптации. В тех же случаях, когда стрессорное воздействие чрезмерно длительно или реализуется в безвыходной конфликтной ситуации, стресс может стать патогенетической основой рака [3] и других тяжелых недугов.

В работах ряда авторов показано [1—3, 9, 39, 40, 46, 47], что опухолевый процесс и его лечение (хирурги-

14. Dairkee S.H., Puett J., Hackett A.J. // J. nat. Cancer Inst. — 1988. — Vol. 80. — P. 691—695.
15. Guelstein V.I., Tchipsysheva T.A., Ermilova V.D. et al. // Int.J.Cancer. — 1988. — Vol. 42. — P. 147—153.
16. Geschickter C.F. Diseases of the breast Lippincot comp., Phil., Z. Monreal Sec. Ed., 1948.
17. Jarasch E.D., Nagle R.B. et al. // Hum.Path. — 1988. — Vol. 19. — P. 276—289.
18. Krepler R., Denk H., Artlieb U.H. // Differentiation. — 1982. — Vol. 21. — P. 191—199.
19. Ljubimov A.V., Afanasjeva A.V., Litvinova L. // Exp. Cell Res. — 1986. — Vol. 165. — P. 530—540.
20. Moll R., Franke W.W., Shiller D.Z. et al. // Cell. — 1982. — Vol. 31. — P. 11—24.
21. Nagle R.B., Bocker W., Davis J.R. et al. // Histochem. Cytochem. — 1986. — Vol. 34. — P. 869—881.
22. Troyanovsky S.M., Guelstein V.I., Tchipsysheva T.A. et al. // J.Cell Science. — 1989. — Vol. 93. — P. 419—426.
23. Wellings S.R., Jensen H.M., Marcum R.G. et al. // J. nat. Cancer Inst. — 1975. — Vol. 55. — P. 231—241.
24. Wetzels R.H.W., Kuipers H.J.H., Lane E.B. et al. // Amer. J. Path. — 1991. — Vol. 138. — P. 751—763.

CLINICAL INVESTIGATIONS

N.I.Syutkina, V.I.Kupin, V.P.Letyagin

Use of Eleutherococcus in Oncology

Research Institute of Experimental Diagnostics
and Therapy of Tumors

Increasing interest of modern oncology is attached to drugs that produce a pathogenic effect on tumor disease and improve antitumor treatment results. Natural substances are promising in this respect as they possess adaptogenic properties, i.e. pronounced regulatory influence on homeostasis, while severe, progressing disorder in homeostasis is mainly thought to account for many failures in treatment of cancer patients.

Stress is known to be the main organizing element of the body defence and adaptation. The normal stress reaction promotes long lasting phenotypic adaptation. However, abnormally long stress effect, as well as stress reaction in hopeless situations may become a pathogenetic cause of cancer [3].

Some authors think [1—3, 9, 39, 40, 46, 47] that tumor disease and its treatment (surgical tumor removal, emotional and pain stress, administration of toxic antitumor drugs, radiation therapy) are a heavy stress burden and sharply enhance metastasizing especially when act in combination [38, 45, 52].

Use of adaptogens is of great interest as for correction of stress damage restriction and prevention mechanisms with a view of prophylaxis of metastasizing, more so because adaptogens produce both pronounced