

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРА ТРАНСФЕРРИНА (CD 71) КЛЕТКАМИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Артамонова Е.В., Кадагидзе З.Г., Летягин В.П.,
Ермилова В.Д., Огнерубов Н.А.* , Тупицын Н.Н.

НИИ КО РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, г. Москва;

*Воронежская Государственная Медицинская Академия, г. Воронеж

Резюме. С помощью иммуногистохимии на криостатных срезах опухолей 150 больных раком молочной железы изучили экспрессию рецептора трансферрина (CD71) злокачественными клетками. Оценили его взаимосвязь с другими маркерами, а также клиническим течением заболевания. Установили, что CD71 является важным показателем биологической активности опухоли, так как его отсутствие достоверно коррелирует с меньшей частотой выявления метастазов в регионарные лимфоузлы и более высокой общей и безрецидивной выживаемостью больных после радикальной операции.

Ключевые слова: CD71, рак молочной железы, иммуногистохимия.

Artamonova E.V., Kadagidze Z.G., Letyagin V.P., Ermilova V.D., Ognerubov N.A., Tupitsyn N.N.

TRANSFERRIN RECEPTOR EXPRESSION ON BREAST CANCER CELLS

Abstract. The expression of transferrin receptor by tumor cells, TFR (CD71) was studied in 150 patients with breast cancer. The relationship between TFR and other membrane markers of tumor cells has been estimated. It was noted that TFR is an important parameter of tumor cell biologic activity. The absence of TFR on tumor cells significantly correlated with the lower frequency of lymph node metastases in breast cancer patients, as the CD71-negative group of breast cancer patients had significantly higher overall and recurrence-free survival rate after radical surgical operations on breast cancer. (*Med.Immunol.*, 2003, vol.5, N1-2, pp 143-148)

Введение

Известно, что атомы железа играют важную роль в различных клеточных биохимических реакциях, обеспечивая транспорт кислорода, энергетическую функцию митохондрий, транспорт электронов, синтез дезоксирибонуклеотидов и т.д., а быстро делящимся клеткам требуется большее количество железа для их роста и метаболизма по сравнению с клетками, находящимися в фазе покоя.

Трансферрин и его рецепторы обеспечивают транспорт железа через клеточную мембрану и, соответственно, опухолевые клетки, отличающиеся высокой пролиферативной активностью, имеют на своей мембране повышенное число трансферриновых рецепторов, приобретая, таким образом, определенные ростовые преимущества.

Способность клеток рака молочных желез крыс расти в присутствии трансферрина послужила основой для селекции высокометастатических вариантов [3]. Экспрессия CD71 коррелировала с метастатическим потенциалом рака молочных желез у мышей: более агрессивные опухоли с повышенным пролиферативным индексом экспрессировали более высокие его уровни [4]. Высокометастатические линии клеток аденокарциномы молочных желез крыс давали более сильный пролиферативный ответ на трансферрин и имели максимальное количество CD71 на мембране клеток по сравнению с низкометастатическими линиями [5]. Вместе с тем, CD71 обнаруживался на эпителиальных клетках молочной железы и при ряде доброкачественных процессов, а также в период беременности [6]. В ряде случаев экспрессия CD71 не имела прямого отношения к пролиферативной активности опухоли, так как клетки, переходящие в фазу покоя, могли некоторое время сохранять CD71 на своей мембране [2].

Адрес для переписки:

115478, г. Москва, Каширское ш., д. 24,
НИИ КО РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН,
Тел.: (095) 324-43-83, факс (095) 324-43-83.

Исследование образцов опухолей 42 больных раком молочной железы показало, что низкодифференцированные опухоли отличаются более высокими уровнями экспрессии CD71 [7]. Добавление блокатора CD71 приводило к специфическому ингибированию роста опухолевых клеток трех морфологически различных линий рака молочной железы. При этом значительно больший уровень снижения синтеза ДНК был отмечен в культурах опухолевых линий по сравнению с контрольной линией нормальных клеток молочной железы [8].

В нашей работе представлены результаты иммуногистохимического изучения экспрессии CD71 злокачественными клетками 150 больных раком молочной железы, а также проведена оценка клинического значения обнаружения этого маркера.

Материалы и методы

Исследование проведено на криостатных срезах первичных опухолей, полученных в результате оперативного вмешательства или трепанобиопсии опухоли у 150 больных раком молочной железы в возрасте от 30 до 82 лет (медиана – 51 год). Все пациентки получали стандартное лечение (хирургическое ± химиотерапия ± лучевая терапия) соответственно степени распространенности опухолевого процесса. Радикальные операции выполнены у 140/150 (93,3%) больных, не оперированы 10 (6 – из-за наличия отдаленных метастазов и 4 – из-за местной распространенности процесса).

Величина первичной опухоли соответствовала индексу T по международной классификации TNM у 17,3% больных, T₂ – у 62,0%, T₃ – у 7,3% и T₄ – у 13,3% больных. Метастазы в регионарные лимфоузлы выявлены у 48,6% пациенток (в том числе индекс N₁ установлен в 33,3% случаев и индекс N₂ – в 15,3% случаев), метастазы в регионарные лимфоузлы отсутствовали у 51,3% пациенток. У 6 больных обнаружены отдаленные метастазы, у остальных 144 (94,8%) отдаленные метастазы отсутствовали (M₀).

У 87 пациенток, прослеженных более 5 лет после выполнения радикальной операции, проведен анализ общей выживаемости (OS – overall survival) и безрецидивной выживаемости (DFS – disease-free survival).

Экспрессия CD71 изучена с помощью моноклональных антител (МКА) ИКО-88 [1] методом непрямой иммунофлуоресценции (РИФ) на криостатных срезах [2]. Специфические реакции учитывали на микроскопе Leitz Orthoplan (Германия). Результаты реакции оценивали количественным (% антиген-положительных опухолевых клеток) и полуколичественным методом. Для полуколичественного выделяли 3 типа реакции: 1 – отрицательная, 2 – мозаичная, 3 – мономорфная. При дальнейшем анализе счи-

тали 1-й тип реакции как отрицательный, 2-й и 3-й – как положительные.

Статистическая обработка результатов исследований проведена с использованием программы SPSS: корреляционный анализ, сравнение средних, анализ по таблицам сопряженности признаков с применением критерия χ^2 -квадрат, построение кривых выживаемости по Каплан-Майеру и оценка достоверности различий в выживаемости по тестам Лог-Ранк, Бреслоу, Тарон-Уоре.

Результаты и обсуждение

Мономорфная экспрессия CD71 на клетках рака молочной железы наблюдалась нами в 53,3% (80/150) случаев. Еще 22,0% (33/150) опухолей характеризовались мозаичным типом реакции с присутствием антигена на вариабельной части злокачественных клеток. 24,7% (37/150) наблюдений были полностью антигеннегативными. Таким образом, большинство случаев рака молочной железы (75,3% – 113/150) были CD71-положительными. В целом рак молочной железы отличался гетерогенной экспрессией трансферринового рецептора с преобладанием мономорфного типа реакции.

CD71 не был взаимосвязан с выявлением других маркеров (MUC1, CD29, HLA-II) на клетках рака молочной железы. Исключение составили лишь антигены главного комплекса гистосовместимости I класса, экспрессия которых положительно коррелировала с CD71 ($p=0,004$). Если в целом частота обнаружения HLA-I при раке молочной железы составила 56,4% (из них 38,3% – мономорфных и 18,0% мозаичных реакций), то в CD71-положительной группе HLA-I класса выявлялись почти в 2 раза чаще, чем в CD71-отрицательной (63,6 и 36,4% соответственно). Соответственно, 84% HLA-I+ опухолей были CD71-позитивными (в HLA-I-отрицательной группе этот показатель снижался до 62,1%).

Характер реакции МКА к CD71 и HLA-I был также взаимосвязан между собой. Так, мономорфная экспрессия CD71 положительно коррелировала с мономорфной экспрессией антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса. Напротив, полное отсутствие CD71 чаще соответствовало HLA-I-негативному фенотипу ($p=0,028$). В случае CD71-мозаичных опухолей частота обнаружения HLA-I-положительного, мозаичного и отрицательного фенотипов соответствовала таковой во всей выборочной совокупности. Аналогичная тенденция отмечена и для HLA-I-мозаичных случаев. Таким образом, мозаичные опухоли проявляют свойства как положительных, так и отрицательных фенотипов. Несмотря на то, что антигены главного комплекса гистосовместимости I и II классов были, в свою очередь, взаимосвязаны меж-

ду собой, корреляции между выявлением CD71 и HLA-II нами не отмечено ($p=0,208$).

Мы проанализировали также роль экспрессии рецепторов трансферрина в клиническом течении рака молочной железы по таким общепринятым показателям, как величина первичной опухоли, вовлечение в процесс регионарных лимфоузлов, общая и безрецидивная выживаемость больных после радикальной операции.

CD71 не был взаимосвязан с величиной первичной опухоли ($p=0,416$), частота встречаемости различных фенотипов в группах T_1 , T_2 , T_3 , T_4 и во всей выборочной совокупности практически не различалась.

Экспрессия трансферринового рецептора отрицательно влияла на вовлечение в процесс регионарных лимфоузлов (табл.1). Метастазы в регионарные лимфоузлы достоверно чаще обнаруживались при наличии рецепторов трансферрина на клеточной мембране (в 55% CD71-положительных, 54,5% CD71-мозаичных и в 29,7% CD71-отрицательных опухолей), $p=0,029$. Соответственно, при отсутствии рецепторов трансферрина на опухолевых клетках регионарные лимфоузлы достоверно чаще были интактными (индекс N зарегистрирован в 70,3% CD71-отрицательных, 45,5% мо-

заичных и 45,0% мономорфных случаев рака молочной железы).

Можно также отметить, что мозаичные опухоли не отличались от мономорфных по частоте обнаружения метастазов в регионарные лимфоузлы. Очевидно, в случае мозаичной реакции уже имеется клон клеток, по своим биологическим особенностям резко отличающийся от отрицательных фенотипов наличием более высокого метастатического потенциала. Клиническое течение мозаичных опухолей определяется именно таким CD71-положительным клоном и соответствует клиническому течению опухолей, мономорфно экспрессирующих рецептор трансферрина.

Это предположение нашло свое подтверждение при изучении общей (OS) и безрецидивной (DFS) выживаемости больных раком молочной железы при наблюдении более 5 лет после выполнения радикальной операции.

Безрецидивная выживаемость в зависимости от экспрессии CD71 оценена нами у 87 пациенток. Распределение по типам реакции было следующим: 16 – отрицательная, 21 – мозаичная и 50 – мономорфная. Показатель DFS был достоверно выше при отсутствии CD71 на клеточной мембране и составил 93,75, 47,62 и 58% соответственно

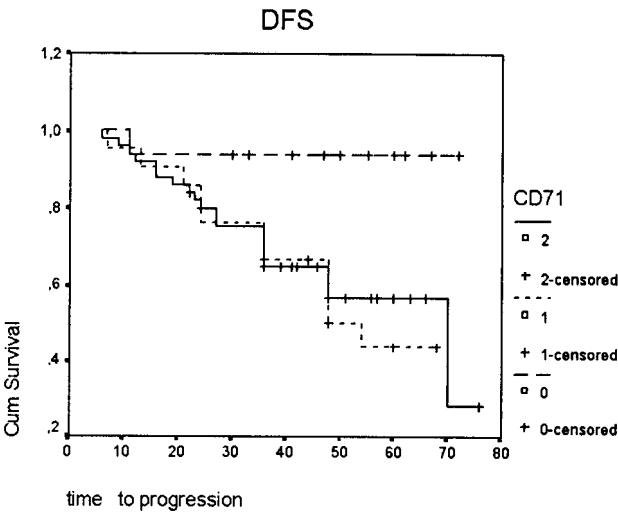


Рис.1. Сравнительная оценка безрецидивной выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от экспрессии антигенов CD71 на опухолевых клетках. (Обозначения: censored - цензурирован, т.е. без признаков рецидива или метастазов на указанный на кривой срок наблюдения; 2 – мономорфная реакция; 1 – мозаичная реакция, 0 –отрицательная реакция; cum survival – кумулятивная выживаемость; time to progression – время до прогрессирования в мес.).

Табл.1. СВЯЗЬ ЭКСПРЕССИИ CD71 С РЕГИОНАРНЫМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЕМ

Метастазы В л/у	Фенотип опухоли по CD71 (число случаев - %)			Всего
	Мономорф.	Мозаичн.	Отрицат.	
есть	44 – 55,0%	18 – 54,5%	11 – 29,7%	73
нет	36 – 45,0%	15 – 45,5%	26 – 70,3%	77
Всего	80	33	37	150

($p=0,0270$ по Лог-Ранк, $p=0,0435$ по Тарон-Уоре тестам). Медиана DFS при сроках наблюдения 72 мес. для антигеннегативной группы не достигнута, для двух других составила 48 мес. и 70 мес. соответственно (рис. 1).

Изучение кривых DFS показало их схожесть для случаев с мозаичной и мономорфной реакцией. Мы объединили их в одну положительную группу ($n=71$) и сравнили с отрицательной ($n=16$), рис. 2.

Более 5 лет без признаков возврата заболевания были живы 54,93 и 93,75% больных соответственно (различия статистически достоверны, $p=0,0087$ по Лог-Ранк, $p=0,0136$ по Тарон-Уоре и $p=0,0198$ по Бреслоу тестам). Медиана DFS достигнута только в первой группе (70 мес.).

Общая выживаемость в зависимости от экспрессии CD71 оценена нами у 86 пациенток. Все случаи смерти были зарегистрированы от прогрессирования злокачественного процесса, одна пациентка, умершая через 4 года после операции в возрасте 85 лет без признаков рецидива и метастазов, из анализа исключена (количество CD71-отрицательных наблюдений уменьшилось до 15), рис. 3.

Показатель общей 5-летней выживаемости был выше при отсутствии CD71 на клеточной мембране и составил 93,33% по сравнению с 61,9 и 70,0% для мозаичного и мономорфного типов реакции (различия статистически не достоверны). Медиана OS установлена только для двух последних групп (66,0 мес. и 72 мес. соответственно), в CD71-отрицатель-

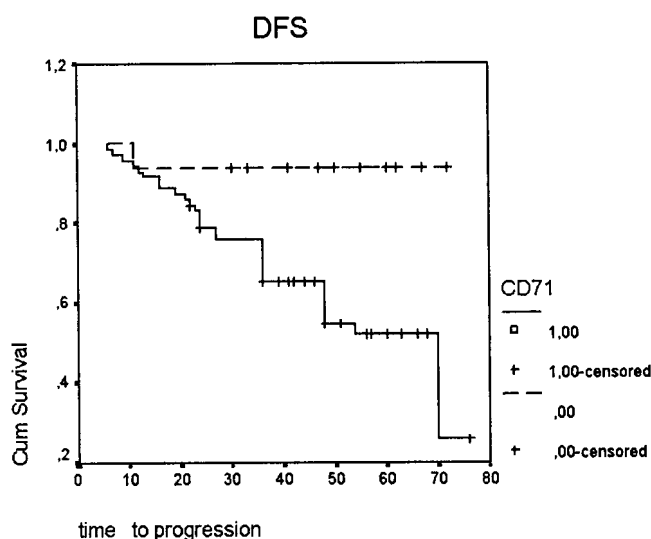


Рис. 2. Сравнительная оценка безрецидивной выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от экспрессии антигенов CD71 на опухолевых клетках. (Обозначения: censored - цензурирован, т.е. без признаков рецидива или метастазов на указанный на кривой срок наблюдения; 1 - положительная (мозаичная и мономорфная) реакция; 0 - отрицательная реакция; cum survival - кумулятивная выживаемость; time to progression - время до прогрессирования в мес.)

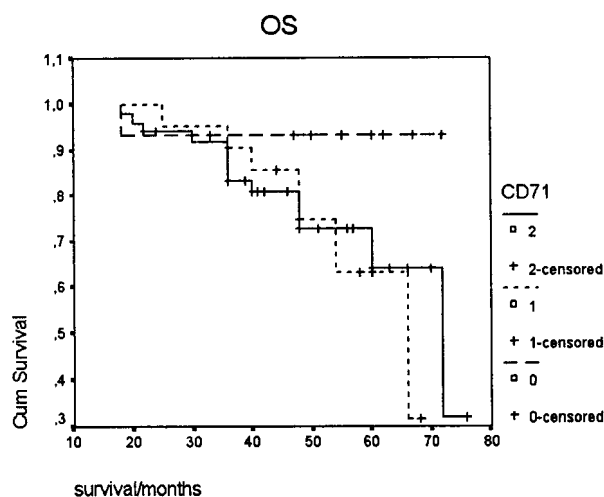


Рис.3. Сравнительная оценка общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от экспрессии антигенов CD71 на опухолевых клетках. (Обозначения: censored - цензурирован, т.е. без признаков рецидива или метастазов на указанный на кривой срок наблюдения; 2 - мономорфная реакция; 1 - мозаичная реакция, 0 - отрицательная реакция; cum survival - кумулятивная выживаемость; survival/months - выживаемость в мес.).

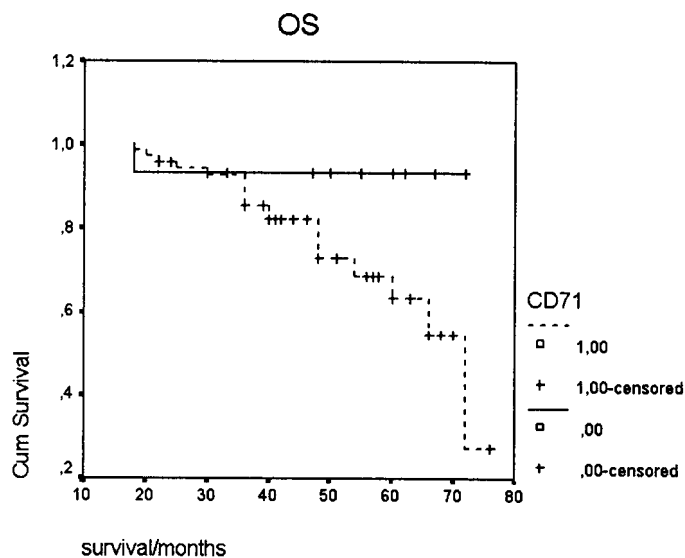


Рис.4. Сравнительная оценка общей выживаемости больных раком молочной железы в зависимости от экспрессии антигенов CD71 на опухолевых клетках. (Обозначения: censored - цензурирован, т.е. без признаков рецидива или метастазов на указанный на кривой срок наблюдения; 1 – положительная (мозаичная и мономорфная) реакция; 0 – отрицательная реакция; cum survival – кумулятивная выживаемость; survival/months – выживаемость в мес.).

ной группе при сроке наблюдения за больными 72 мес. медиана OS не достигнута.

Изучение кривых общей выживаемости показало их близость для случаев с мономорфным и мозаичным типами реакции, поэтому мы объединили этих пациентов в одну CD71-позитивную группу и сравнили их с антигеннегативной (рис. 4).

Общая 5-летняя выживаемость составила 67,61 и 93,75% соответственно и была достоверно выше в CD71-отрицательной группе ($p=0,05$ по Лог-Ранк тесту). Из 15 больных с отрицательным фенотипом погибла лишь одна, при этом у нее зафиксирована исходно большая степень распространенности опухолевого процесса ($T_2N_2M_0$) и прогрессирование наступило уже через 11 мес. после выполнения радикальной операции.

Таким образом, проведенное нами исследование убедительно продемонстрировало важную прогностическую роль определения трансферринового рецептора на клетках рака молочной железы. Отсутствие его достоверно коррелирует с меньшей частотой выявления метастазов в регионарные лимфоузлы и более высокой общей и безрецидивной выживаемостью больных. Наличие CD71 на злокачественных клетках обеспечивает преимущества для их роста, и, следовательно, создает условия для более активного рецидивирования и метастазирования, при этом клиническое течение заболевания определяется существованием даже небольшого в количественном отношении CD71-положительного клона. Установленная нами благоприятная роль отсутствия рецепторов трансферрина на опухолевых клетках – это новый показатель биологической активности опухоли, который позволяет более адекватно планировать

лечебные мероприятия в CD71-положительной группе и обеспечивать более активное динамическое наблюдение за этими пациентками.

Список литературы

1. Барышников А.Ю., Тоневицкий А.Г. Моноклональные антитела в лаборатории и клинике. - М.: типография ВНИТЦ., 1997. - С.99-105.
2. Тупицын Н.Н., Кадагидзе З.Г., Блохина Н.Г., Барышников А.Ю., Ермилова В.Д., Артамонова Е.В., Молденхауэр Г., Бернард А. Экспрессия лейкоцитарных и родственных им антигенов на клетках рака молочной железы человека // Экспериментальная онкология. - 1990. - том12. - С.54-58.
3. Cavanaugh P.G., Nicolson G.L. Selection of highly metastatic rat MTLn2 mammary adenocarcinoma cell variant using in vitro growth response to transferrin. // J. Cell. Physiol. - 1998. - Vol. 174. - P. 48-57.
4. Elliott R.L., Elliott M.C., Wang F., Head J.F. Breast carcinoma and the role of iron metabolism. // Ann. N.Y. Acad. Sci. - 1993. - Vol.698 - P.159-166.
5. Inoue T., Cavanaugh P.G., Steek P.A. Differences in transferrin response and numbers of transferrin receptors in rat and human mammary carcinoma lines of different metastatic potentials. // J. Cell. Physiol. - 1993. - Vol.156. - P.212-217.
6. Walker R.A., Day S.J. Transferrin receptor expression in non-malignant and malignant human breast tissue. // J. Pathol. - 1986. - Vol.148. - P.217-224.

7. Yang D.C., Wang F., Elliott R.L., Head J.F. Expression of transferrin receptor and ferritin H-chain mRNA are associated with clinical and histopathological prognostic indicators in breast cancer. // Anticancer-Res.- 2001 Jan-Feb.- 21(1B).- P.541-549.

8. Yang D.C., Jiang X.P., Elliott R.L., Head J.F. Inhibition of growth of human breast carcinoma cells by an antisense oligonucleotide targeted to the transferrin receptor gene. // Anticancer-Res.- 2001 May-Jun.- 21(3B).- P.1777-1787.

*поступила в редакцию 19.02.2003
принята к печати 17.03.2003*