

9. Akyama H. et al. // Jap. J. cancer clin. — 1989. — Suppl. — P. 195—202.
10. Akyama H., Tsurumaru M. et al. // Ann. Surg. — 1991. — Vol. 199. — P. 438—442.
11. Computed tomography of esophageal carcinoma. Preoperative classification compared to the new (1987) TNM system. // Gastroenterology. — 1989. — Vol. 96, N 6. — P. 1478—1486.
12. Coulomb M., Lebos J. F. et al. // J. Radiol. — 1981. — N 62. — P. 475—478.
13. Doyle G. J., Simpson W. // Clin. Radiol. — 1994. — Vol. 49, N 3. — P. 209—210.
14. Kobayashi S., Watanabe H. // Am. J. Gastroent. — 1976. — Vol. 65, N 5. — P. 416—421.
15. Markland C. G., Manhire A. et al. // Eur. J. Cardiothorac. Surg. — 1989. — Vol. 3, N 1. — P. 33—36.

© Коллектив авторов, 1999
УДК 618.19-006.6-07

И. Н. Крюкова, П. Б. Махов, Т. Ф. Маливанова,
В. А. Юрченко

О ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ВОЗМОЖНОСТЯХ ТЕСТА НА ЭКСПРЕССИЮ ENV MMTV-ГОМО- ЛОГИЧНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ЛИМФОЦИТАХ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ ЧЕЛОВЕКА

НИИ канцерогенеза

Стратегия борьбы с такой наиболее частой опухолью у женщин, как рак молочной железы (РМЖ), направлена в первую очередь на улучшение ранней диагностики и снижение заболеваемости путем применения тех или иных превентивных мер. Пока не найдено надежного высокоспецифичного маркера, позволяющего диагностировать самые ранние, пре-клинические стадии заболевания. Выявление таких стадий сразу намного повысило бы успех хирургического или терапевтического вмешательства.

По существу, обычно применяемые методы ранней диагностики — самообследование, пальпаторное обследование, маммо- и термография выявляют узелки, состоящие уже из миллионов клеток, к тому же инструментальные методы дороги и при периодическом применении небезопасны. Понятно, что поиски надежного маркера, специфичного для РМЖ, не теряют актуальности.

Идеальный маркер должен обладать чувствительностью, позволяющей выявлять клинически не выявляемые и не обнаруживаемые другими методами опухоли у всех пациенток, высокой специфичностью — обнаруживаться только у пациенток с данной опухолью, технически и экономически быть доступными для широкого применения в клинической практике.

16. Shurbaji Muhammed S., Erozan Yener S. // Acta. Cytol. — 1989. — Vol. 33, N 5. — P. 713—714.
17. Shurma O. P., Subnani S. // Semin. Surg. oncol. — 1989. — Vol. 5, N 5. — P. 355—358.
18. Tomito Masao, Ayabe H., Kawahara K. // Acta med. Nagassak. — 1990. — Vol. 35, N 1—4. — P. 237—240.

Поступила 07.12.98 / Submitted 07.12.98

I.N.Kryukova, P.B.Makhov, T.F.Malivanova,
V.A.Yurchenko

ON POTENTIAL OF LYMPHOCYTE EXPRES- SION OF AN MMTV ENV-HOMOLOGICAL SEQUENCE IN DIAGNOSIS OF BREAST CANCER IN HUMANS

Institute of Carcinogenesis

Breast cancer (BC) control strategies imply improvement of early diagnosis and reduction of incidence of this most common female malignancy. There are no reliable high-specificity markers to detect the earliest preclinical disease so far. The detection of early BC would improve considerably the outcome of surgical or therapeutical treatment.

The conventional methods of the early diagnosis such as self-examination, palpation, mammography and thermography detect nodes containing millions cancer cells, besides, the instrumental techniques are costly and rather dangerous if applied regularly. Therefore, the search for a reliable specific BC marker is an urgent problem of oncology.

The ideal marker should have high sensitivity to discover all the tumors undetectable by other tests, high specificity to detect the tumor in question, as well as to be technically and economically acceptable for wide clinical application.

Diagnosis of early BC uses differentiation markers (increased blood casein, lactalbumin), cystic fluid release in blood, milk fat granule protein, MAC-1, seromucoid fraction protein, etc [7,8,11]. Not all of them are strictly specific for BC and found in 100% of BC cases though their elevation in BC is statistically sig-

Для раннего распознавания РМЖ используют маркеры дифференцировки (повышение уровня в крови казеина, лактальбумина), выход в кровь жидкости кист, белок жировых гранул молока, МАС-1, белок серомукоидных фракций и др. [7, 8, 11]. Не все они обладают строгой специфичностью по отношению к РМЖ и не выявляются у 100% пациентов с РМЖ, хотя повышение их уровня в кровотоке статистически достоверно. В будущем, вероятно, будет иметь практическое применение использование молекулярно-биологических маркеров: выявление мутаций в локусах BRCA-1 и BRCA-2 — аутосомальных доминантных генах, мутации в которых достоверно повышают частоту возникновения РМЖ и рака яичника [5].

Большое внимание привлекают эндогенные ДНК-локусы в геноме человека с большой степенью гомологии ретровирусам животных. Многие из них родственны вирусу РМЖ мышей (MMTV) и, как было показано [6, 9, 10], транскрипционно активны.

Сообщений о наличии в тканях РМЖ и сыворотках больных белков — иммунологических аналогов продуктов генов MMTV — множество [12]. Процент обнаружения антител к структурным белкам MMTV в сыворотках больных примерно в 15–20 раз превышает таковой в норме [3].

Ранее, изучая корреляцию между наличием РМЖ у человека и экспрессией белков-аналогов MMTV с использованием высокоспецифичных поликлональных сывороток к продуктам генов gag и env MMTV, мы получили следующие принципиально важные, не описанные ранее данные.

1. Экспрессия белка, родственного продукту гена env MMTV gp52, более специфична для наличия РМЖ, чем продукты гена gag.

2. Антиген, родственный gp52 (обозначенный нами ЧАгРМЖ), обнаруживается не только в тканях опухолей и стабильных клеточных линиях РМЖ, но также и в сыворотках больных и в лимфоцитах периферической крови [1, 2]. При этом выявилась четкая закономерность: у пациенток с РМЖ и их здоровых сестер и дочерей он выявляется как в В-, так и в Т-клетках с частотой, близкой к 100%, тогда как в контрольных группах — у здоровых доноров и больных с опухолями гинекологической сферы и гемобластомами — только в 25–28% случаев и только в В-клетках. Два случая слабой реакции в иммуноблоттинге Т-клеток у больных не с РМЖ — у пациентки с опухолью шейки матки (имела 28 беременностей, из них 24 аборта) и у пациентки с генерализованной лимфосаркомой с поражением печени, почек и легких — только подтверждают наблюдаемую закономерность.

3. Экспрессия белка-аналога gp52 MMTV совпадает с результатами по гибридизации ДНК и мРНК из лимфоцитов больных РМЖ с фрагментом гена env MMTV. Анализ продуктов трансляции *in vitro* на поли (А) РНК из лимфоцитов больных показал, что синтезированный белок соответствует по антигенности и молекулярной массе продукту гена env MMTV [4].

Мутации в аутосомальных доминантных генах BRCA-1 и BRCA-2 показаны, чтобы значительно увеличить частоту возникновения РМЖ и рака яичника [5] и могут быть использованы в будущем как молекулярно-биологические маркеры.

Очень интересны человеческие геномы эндогенных ДНК-локусов с хорошей гомологией к животным ретровирусам. Многие из них родственны вирусной опухоли молочной железы (MMTV) и демонстрируют транскрипционную активность [6, 9, 10].

Существует обширная литература о присутствии белков иммунологически подобных продуктам MMTV в ткани и сыворотке у больных РМЖ [12]. Процент сывороток с антителами к продуктам MMTV у больных РМЖ в 15–20 раз выше, чем у здоровых людей [3].

Мы изучили связь между РМЖ и экспрессией MMTV-подобных белков с помощью высокоспецифичных поликлональных сывороток к продуктам gag и env генов MMTV, чтобы получить следующие новые важные данные.

1. Экспрессия белка, родственного продукту гена env MMTV gp52, более специфична для РМЖ, чем продукты gag.

2. Антиген, родственный gp52, обнаруживается не только в опухолевой ткани и в стабильных клеточных линиях РМЖ, но также и в сыворотках больных и в лимфоцитах периферической крови [1, 2]. При этом выявилась четкая закономерность: у пациенток с РМЖ и их здоровых сестер и дочерей он выявляется как в В-, так и в Т-клетках с частотой, близкой к 100%, тогда как в контрольных группах — у здоровых доноров и больных с опухолями гинекологической сферы и гемобластомами — только в 25–28% случаев и только в В-клетках. Два случая слабой реакции в иммуноблоттинге Т-клеток у больных не с РМЖ — у пациентки с опухолью шейки матки (имела 28 беременностей, из них 24 аборта) и у пациентки с генерализованной лимфосаркомой с поражением печени, почек и легких — только подтверждают наблюдаемую закономерность.

3. Экспрессия белка-аналога gp52 MMTV совпадает с результатами по гибридизации ДНК и мРНК из лимфоцитов больных РМЖ с фрагментом гена env MMTV. Анализ продуктов трансляции *in vitro* на поли (А) РНК из лимфоцитов больных показал, что синтезированный белок соответствует по антигенности и молекулярной массе продукту гена env MMTV [4].

Мы проанализировали 140 лимфоцитов из разных доноров. Это исследование было выполнено совместно с Е.В.Полываевой, ведущим исследователем из Отдела опухолей молочной железы, Института клинической онкологии, ЦРБ. Контрольные образцы крови были получены из других клинических отделов. Результаты исследования обобщены в таблице 1.

Поскольку эти находки необычны и пока нет разумного объяснения, мы до сих пор не можем объяснить их, поэтому, как считают ученые Института канцерогенеза, необходимо было провести контрольный тест для антигена, о котором идет речь, в 10 кодированных лимфоцитах, чтобы исключить артефакты.

Кровь была взята у наших коллег из отдела, возглавляемого профессором Д.Г.Заридзе, директором Института канцерогенеза. Образцы фиксированных Т-лимфоцитов, поглощенных антителами к человеческим иммуноглобулинам после удаления В-клеток, были

Таблица 1

Table 1

Экспрессия env MMTV-гомологических последовательностей в лимфоцитах периферической крови (интенсивность реакции оценивалась числом плюсов (+++))

Expression of MMTV env homological sequences on peripheral lymphocytes

Диагноз	ДНК-ДНК-гибридизация, х	ДНК-РНК-гибридизация, х	Иммуноблоттинг с продуктами <i>in vitro</i> трансляции, х		Иммунофлуоресценция			Иммуноблоттинг		
					х	Т-клетки	В-клетки	х	Т-клетки	В-клетки
РМЖ BC	21/23	21/23	3/3	+++	12/12	+++	+++	18/19 ^a	+++	+++
Фиброаденома Fibrous adenoma	н. д.	н. д.	н. д.			н. д.		1/1	++	+++
Предполагаемый РМЖ (позднее подтвержденный) Suspected BC (confirmed later)	3/3	3/3	н. д.		3/3	+++	+++	н. д.		
Здоровые родственники пациенток с РМЖ Healthy relatives of BC patients	н. д.	н. д.	4/4	От ± до +	6/6	++	++	6/6	++	+++
Гинекологические опухоли Gynecological tumors	3/9	2/9	н. д.			н. д.		1/16 ^b	±	—
Гематологические опухоли взрослых Adulthood hematology malignancies	н. д.	н. д.	н. д.			н. д.		1/10 ^c	+	—
Гематологические опухоли детей Childhood hematology malignancies	н. д.	н. д.	н. д.		1/3	—	+	4/6	—	+
Здоровые доноры Healthy donors	6/11	3/11	1/2 ^d	+	4/15	—	от ± до +	6/17	—	от + до ++
Diagnosis	DNA-DNA hybridization	DNA-RNA hybridization	Immunoblotting with <i>in vitro</i> translation products		х	Т-cells	В-cells	х	Т-cells	В-cells
					Immunofluorescence			Immunoblotting		

Примечания. В числителе — число положительных образцов; в знаменателе — число исследованных образцов; н. д. — нет данных.

a) Отрицательная реакция была показана в образце от пациентки после хирургического удаления опухоли.

b) 42-летняя пациентка, имевшая 28 беременностей, из них 24 аборта.

c) Пациентка с генерализованной лимфосаркомой, с поражениями печени, почек и легких, приведших к ее гибели.

d) Из двух здоровых доноров — положительного и отрицательного по экспрессии ЧАгРМЖ, только образец от положительного донора был позитивным в тесте *in vitro* трансляции.

Note. Numerals in the numerator are numbers of positive samples, numerals in the denominator are numbers of tested samples. N.D., no data available.

a) A sample from a patient after surgical removal of the tumor was negative.

b) The 42-year old patient with a history of 28 pregnancies including 24 abortions.

c) The patient with generalized lymphosarcoma and involvement of the liver, kidneys and lungs causing the patient's death.

d) Of the two donors with a positive and a negative tests for MMTV gp52 analog antigen expression only the specimen from the positive case was also positive in the *in vitro* translation test.

Всего, таким образом, было исследовано 140 образцов лимфоцитов разных групп доноров. Работа проводилась совместно с ведущим научным сотрудником отделения опухолей молочных желез НИИ клинической онкологии РОНЦ Е. Б. Полевой, контрольные образцы крови получали из других отделений. Данные суммированы в табл. 1.

Ввиду того что описываемые нами результаты необычны и пока не находят реальных объяснений, по

studied for reactivity by indirect immunofluorescence using the same antiserum to MMTV gp52 (table 2).

There were 7 positive specimens including 5 from BC patients and 2 from control cases free from breast cancer. One of these two patients later presented with a cyst and the other with diffuse mastopathy tending to nodal disease. Both were advised to undergo regular mammologist's examinations. The remaining three negative cases had no breast pathology.

предложению Ученого совета НИИ канцерогенеза была проведена проверка на наличие ЧАгРМЖ MMTV 10 шифрованных образцов лимфоцитов для исключения возможных артефактов.

Образцы крови были собраны по предложению директора НИИ канцерогенеза акад. РАЕН проф. Д. Г. Заридзе сотрудниками его отдела. Применяли ту же, ранее проверенную антисыворотку к gp52 MMTV в непрямом иммунофлюоресцентном тесте на фиксированных препаратах Т-лимфоцитов, собранных после удаления В-клеток путем абсорбции на слое антител к иммуноглобулину М человека (табл. 2).

7 образцов оказались положительными: 5 от больных с установленным диагнозом РМЖ и 2 — от женщин из контрольной группы без отмеченной ранее онкологической патологии молочных желез. При проверке у одной из последних выявлена киста и диффузная мастопатия, у другой — диффузная мастопатия, переходящая в узелковую. Обе постоянно наблюдаются у маммолога. У остальных трех женщин контрольной группы с отрицательными результатами никаких патологических отклонений в молочной железе не отмечалось.

Таким образом, нами впервые описан антигенный маркер, высокоспецифично экспрессирующийся в Т-клетках периферической крови не только у больных РМЖ, но и при повышенной опасности его развития. Матрицей для синтеза этого белка, по-видимому, являются эндогенные ДНК-последовательности, гомологичные гену env РМЖ.

По нашему мнению, экспрессия env MMTV-гомологических последовательностей специфически в Т-лимфоцитах может быть еще одним информативным тестом на некое неблагополучие в молочной железе, сопровождающееся пролиферативным процессом.

Изложенные данные имеют принципиальное значение в 2 аспектах.

Прикладное значение. Тест-система, основанная на высокой специфичности обнаружения ЧАгРМЖ в Т-клетках не только у больных РМЖ, но и у их здоровых родственниц и при разных формах мастопатии, может быть использована в лабораторно-клинической практике для обнаружения преклинических стадий заболевания, для скрининга групп высокого риска и для уточнения диагноза при метастазах при отсутствии ясности в отношении первичного очага.

Фундаментальный аспект. Пока неясно, какую роль в канцерогенезе в эпителии молочных желез человека играет экспрессия эндогенных последовательностей, гомологичных гену env РМЖ в лимфоцитах: является ли этот процесс причиной или следствием многоэтапных изменений в клетках эпителия молочной железы. Подходы к выяснению этих закономерностей имеют также принципиальное значение для изучения причин и этапов канцерогенеза.

Приносим глубокую благодарность ведущему научному сотруднику отделения опухолей молочных желез доктору мед. наук Е. Б. Полевой и заведующему

Таблица 2

Table 2

Результаты шифрованной проверки образцов крови на экспрессию антигена-аналога gp52 MMTV
Results of testing coded sample for MMTV gp52 analog antigen expression

№ п/п	Результат	Диагноз
1	+	РМЖ BC
2	+	То же The same
3	±*	«
4	±*	«
5	+	«
6	+	Диффузная мастопатия + киста молочной железы Breast diffuse mastopathy + cyst
7	—	Без патологии No pathology
8	+	Фиброзно- кистозная мастопатия с тенденцией к узлообразованию Fibrous cystic mastopathy tending to nodal disease
10	—	Без патологии No pathology То же The same
No.	Result	Diagnosis

* Отчетливое свечение групп клеток. Результат положительный.

*, Clear cell fluorescence. Positive test.

Thus we are the first to describe an antigen marker which is expressed with a high specificity on peripheral T-cells from both BC patients and women at high risk of BC. Endogenous DNA sequences homological to MMTV env gene seem to be a matrix for the protein synthesis.

We think the specific expression of MMTV homological sequences on T-lymphocytes may be an informative test for proliferative disease of the breast.

These findings are of both theoretical and practical importance.

Practical aspect. The test system based on highly specific expression of the antigen marker on T-lymphocytes both in BC patients, their healthy relatives and in cases with various breast pathologies is a useful tool to detect preclinical breast disease, to screen groups at high risk of BC and to make a more accurate diagnosis in cases with metastases of unknown origin.

Theoretical aspect. The role of expression of endogenous sequences homological to MMTV env gene on lymphocytes in human breast epithelial carcinogenesis is unclear. Is this expression a cause or a result of many-step changes in breast epithelial cells? Study of these regularities is of much importance for understanding of carcinogenesis causes and course.

отделением общей онкологии проф. К. П. Лактионо-ву за предоставление образцов крови от пациентов.

Работа поддержана грантами: РФФИ № 98-04-48495 и ГКНТ «Приоритетные направления в меди-цине и здравоохранении» № 02.05.04.12.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Крюкова И. Н., Маливанова Т. Ф., Кондрашова О. М. и др. // Бюл. exper. биол. — 1955. — Т. 120, № 11. — С. 554—556.
2. Крюкова И. Н., Маливанова Т. Ф., Полевая Е. Б. // J. exp. Oncol. (Київ). — 1997. — Vol. 19, № 2. — С. 134—137.
3. Литвинов С. В., Ременник Л. В., Крюкова И. Н. // Бюл. exper. биол. — 1994. — Т. 97, № 5. — С. 600—603.
4. Лушикова А. А., Крюкова И. Н., Маливанова Т. Ф. и др. // Мол. генет. — 1998. — № 3. — С. 33—36.
5. Holt J. T. // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1997. — Vol. 833. — P. 34—41.
6. May F. E., Westley B. R. // Cancer Res. — 1989. — Vol. 49, N 14. — P. 3879—3883.

© М. П. Карпович, 1999
УДК 618.19-006.6

М. П. Карпович

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КЛИНИЧЕСКИХ, МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ «СЕМЕЙНОГО» И СПОРАДИЧЕСКОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (предварительные результаты)

НИИ клинической онкологии

В настоящее время рак молочной железы продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем в современной клинической онкологии. В структуре заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований женского населения России рак молочной железы занял в 1996 г. первое место, а абсолютное число заболевших увеличилось до 39 тыс., умерших — до 19,6 тыс. [1].

По статистическим данным разных авторов [3, 4], считается, что примерно 5—10% всех случаев рака молочной железы является результатом наследственной предрасположенности. Тип наследования такого рака аутосомно-доминантный. Первый ген (BRCA-1), ассоциированный с высоким риском развития наследственных вариантов рака яичников и рака молочной железы, был картирован в 1990 г. на участке 17q21. Мутации этого гена обнаруживаются в 60—80% семейных случаев в группе больных раком яичников/молочной железы и в 40% — среди пациенток с наследственными формами рака молочной железы. Женщины с мутацией этого гена имеют риск развития рака

This study was supported by grants No.98-04-48495 of the Russian Foundation for Fundamental Research and No.02.05.04.12 of the State Committee for Science and Technology «Top-Priority Medical and Health Service Studies».

7. Nagel G. A., Nagel E., Weber W. // Ther. Umsch. — 1976. — Bd 33, N 12. — S. 815—819.
8. Patel P. S., Patel M. M., Raval G. N. et al. // Am. J. clin. Oncol. — 1998. — Vol. 21, N 3. — P. 258—262.
9. Wang Y., Holland J. F., Bleiweiss J. et al. // Cancer Res. — 1995. — Vol. 55, N 22. — P. 5171—5179.
10. Westley B., May F. // Gene. — 1984. — Vol. 28. — P. 221—227.
11. Woods K. L., Cove D. H., Hovell A., Heath D. A. // Br. J. Cancer. — 1977. — Vol. 36, N 3. — P. 404—408.
12. Zoller St., Kemmer Ch., Muller M. // Mammary tumor virus. Investigation in mouse a men. Jena, 1981. Suppl. 6. — P. 11—125.

Поступила 27.11.98 / Submitted 27.11.98

M. P. Karpovich

COMPARATIVE ANALYSIS OF CLINICAL, MORPHOLOGICAL AND PROGNOSTIC FEATURES OF FAMILIAL AND SPORADIC BREAST CANCERS (interim results)

Institute of Clinical Oncology

Breast cancer is a most urgent problem of clinical oncology to-day. Breast cancer demonstrated the highest morbidity and mortality among female malignancies in Russia in 1996, the number of cases increasing to 39,000 and the number of death reaching 19,600 [1].

Basing on the statistics many investigators [3,4] consider 5% to 10% of all breast cancer cases to be due to autosomal dominant inheritance. In 1990 the first gene (BRCA-1) associated with high risk of inherent ovarian and breast cancer was mapped in 17q21. Mutations of this gene are found in 60% to 80% of familial ovarian and breast cancers and in 40% of patients with inherent breast cancer. Women with this mutation have a 85% lifetime risk of breast cancer and more than half of them develop breast cancer under 50 years of age.

35% of patients with inherited breast cancer have BRCA-2 mutations in 13q12-13 which are most specific for breast cancer and are encountered in 40% of sporadic breast cancer.

There are more than 100 different mutations of these genes and most of them lead to reading frameshift.