

[Перейти в содержание Вестника РНЦРР МЗ РФ N10.](#)

Текущий раздел: **Обзоры**

Возможности оценки экспрессии маммаглобина при различной патологии молочной железы. Литературный обзор.

Боженко В.К., Васкевич Е.Ф., Кудинова Е.А., Чазова Н.Л., Берщанская А.М., Мельникова Н.В., Тащян А.А., Слонов А.В.
ФГУ «Российский Научный центр рентгенорадиологии Минздравсоцразвития России», г.Москва

Адрес документа для ссылки: http://vestnik.ncrr.ru/vestnik/v10/papers/bozhe_v10.htm

Статья опубликована 12 апреля 2010 года.

Идентификационный номер статьи в ФГУП НТЦ “ИНФОРМРЕГИСТР”:

Контактная информация: 117997, ГСП-7, Москва, ул. Профсоюзная 86, Российский Научный Центр рентгенорадиологии Минздрава России.

Боженко Владимир Константинович (раб.телефон: +7(495) 333-94-39); Васкевич Е.Ф., Кудинова Е.А., Чазова Нина Львовна (раб.телефон: +7 (495) 333-30-69); Берщанская Александра Мироновна (раб.телефон: +7(495) 333-91-30); Мельникова Надежда Васильевна, Тащян А.А., Слонов А.В. (раб.телефон: +7(495) 333-91-30).

Резюме

В работе проанализированы возможности оценки экспрессии мРНК и белка маммаглобина при раке молочной железы.

Ключевые слова: маммаглобин, рак молочной железы, экспрессия мРНК маммаглобина, иммуногистохимическое исследование

The potential of mammaglobin expression analysis in various breast diseases. Literature survey.

Bozhenko V.K., Vaskevich E.F., Kudinova E.A., Chazova N.L., Bershanskaya A.M., Melnikova N.V., Tashan A.A., Slonov A.V.

Federal State Establishment “Russian Scientific Center of Roentgenoradiology of Rosmedtechnology Department”, Moscow

The authors have investigated the potential of analysis of mammaglobin expression (of mRNA and the protein) in breast cancer.

Key words: mammaglobin, breast cancer, expression of mammaglobin mRNA, immunohistochemical examination.

Оглавление:

<u>Введение</u>	
<u>Структура маммаглобина</u>	
<u>Способы исследования маммаглобина</u>	
<u>Способы исследования маммаглобина</u>	
<u>Иммуноферментный анализ</u>	
<u>Иммуногистохимическое исследование</u>	
<u>Полимеразная цепная реакция</u>	
<u>Заключение</u>	
<u>Список литературы</u>	

Введение

В 2006 году в структуре онкологической заболеваемости женского населения Российской Федерации рак молочной железы занимал первое место (19,8%) (Давыдов М.И., Аксель Е.М. 2008). Он также лидировал в причине смертности от злокачественных новообразований у женщин и составил 17,1%. Рак молочной железы обуславливал главную долю онкологической летальности в возрастных группах 40—69 лет, 85 лет и старше (Давыдов М.И., Аксель Е.М. 2008). При этом среди больных с впервые установленным диагнозом рака молочной железы уже у 37,2% пациенток была III-IV стадия (Аксель Е.М. 2008).

Отмечается рост заболеваемости и гиперпластическими процессами молочной железы, в т.ч. среди возрастной группы до 30 лет (Высоцкая И.В. 2009).

Создание современной рентгеновской и ультразвуковой техники дало возможность разработать новые инвазивные технологии, в частности, пункции и дрельбиопсии молочной железы, позволяющие получать высокоинформативный материал для цитологических, гистологических и молекулярно-генетических исследований, что в большинстве случаев исключает необходимость проведения секторальных резекций с диагностической целью и дает возможность устанавливать точный диагноз до операции (Харченко В.П., Рожкова Н.И. 2006)

Однако, морфологическая дифференциальная диагностика гиперпластических, предраковых процессов и рака молочной железы на дооперационном этапе нередко затруднительна.

Вот почему продолжается разработка новых методов диагностики, как первичного рака молочной железы, так и выявление его метастазов. Установлено, что этапы малигнизации ткани молочной железы сопровождаются качественными и количественными изменениями в экспрессии генов, кодирующих факторы роста и их рецепторы, структурные белки, белки вторичных мессенджеров, и факторы транскрипции. Изучение изменений в экспрессии генов могут помочь найти именно те, которые могли бы послужить надежными маркерами рака молочной железы, хотя точная роль этих генетических изменений в патогенезе рака молочной железы до конца не выяснена.

В настоящее время особое внимание уделяется изучению органо- и тканеспецифических профилей РНК микро- и матричной РНК. Изменения в экспрессии матричной РНК (мРНК) всегда были в центре внимания исследователей (Bustin S.A. и др. 2002). Возникновение технологий, позволяющих быстро и надежно определять концентрацию определенных молекул РНК, привело к появлению и внедрению этих методов для диагностики в медицине.

В современной литературе обсуждается диагностическая информативность определения мРНК гена, кодирующего белок маммаглобин, как нового, специфического маркера рака молочной железы.

Сообщения об исследовании мРНК маммаглобина в плазме крови в качестве прогностического и диагностического маркера при раке молочной железы довольно противоречивы (Span P.N. и др. 2005, Zehentner B. K. и др. 2004, Marques A.R. и др. 2009).

Следовательно, разработка диагностических и прогностических критериев доброкачественных и злокачественных новообразований молочной железы на основе молекулярно-генетического анализа мРНК маммаглобина является актуальной проблемой.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Структура маммаглобина

Маммаглобин – гликопротеин, состоящий из 93 аминокислот, гомологичный другим членам семьи секретоглобина-утероглобина – белок клеток Клара (CC10), липофилин В, липофилин С, маммаглобин В, лакриглобин (Ni J, 2000). Гены, кодирующие эти белки, сгруппированы в кластере длинного плеча 11 хромосомы(11q12.3-13.1). Ген маммаглобина состоит из 3 экзонов (119 н.п., 188 н.п., 199 н.п.) и 2 интронов (603 н.п. и 1888 н.п.). Общая его длина составляет 4206 нуклеотидов. Ген маммаглобина был открыт Watson M. A. и Fleming T. P. в 1996 году. В 1998 году для него была составлена генетическая карта. Показано, что мРНК маммаглобина имеет длину 502 нуклеотида.

Маммаглобин впервые был определен в эпителиальных клетках молочной железы и его гиперэкспрессия обнаружена при раке молочной железы (Watson M.A. и др. 1996). Leugue и др. 1999 так же обнаружил экспрессию маммаглобина в опухолевых эпителиальных клетках молочной железы, в клетках стромы экспрессия мРНК маммаглобина обнаружена не была. Ряд авторов показали, что незначительную экспрессию мРНК маммаглобина можно обнаружить и в ткани яичников, эндометрии и потовых железах. (Watson M.A., Fleming T.P. 1996; Grünewald K. и др. 2002; Sjodin A. и др. 2003).

Becker R.M. и др. 1998 идентифицировали новый ген, относящийся к этому семейству и обладающий схожей с маммаглобином последовательностью нуклеотидов

В литературе маммаглобин, впервые выделенный Watson M. A. и Fleming T. P., получил название маммаглобин А (далее маммаглобин). Ген, идентифицированный Becker R.M. и др. 1998, получил название маммаглобина В. При этом мРНК маммаглобина В имеет длину 517 нуклеотидов.

Минимальное содержание маммаглобина В было обнаружено его первооткрывателями в эпителии молочной железы. Он также выявлен в матке (Muller-Schottle F. 2000), в слезных железах (Stoeckelhuber M. ,2006), эпителии предстательной железы (Xiao F., 2005) и клетках гипофиза (Sjodin A., 2005). Повышенный уровень маммаглобина В был обнаружен в клетках аденокарциномы яичников (Tassi R.A., 2009), раке молочной железы (Ouellette R.J. , 2004), раке легкого (Sjodin A., 2003) и желчевыводящих путей (Okami J., 2000).

Члены семейства утероглобина могут быть гомо- и гетеродимерами и состоять из двух утероглобин- или маммаглобинподобных молекул, связанных с липофилином В. Через дисульфидные мостики маммаглобин формирует ковалентный комплекс с липофилином В и может существовать в растворе в виде димера или ковалентного гетеродимера. Существует два N-связывающих участка гликозилирования, которые могут связывать цепи углеводов массой 3000 Дальтон каждая и составлять треть массы общего комплекса. Используя спектрометрический анализ, установлено, что масса гликозилированного комплекса составляет 23400 Дальтон, а дегликозилированного - 16200 Дальтон. При этом массы белка маммаглобина 8480,3 Дальтон, а липофилина В – 7688,1 Дальтон.

Белки, как правило, состоят из одного или нескольких функциональных регионов и областей. Выявление этих функциональных областей, которые находятся внутри или на поверхности белковой молекулы, может облегчить изучение их функций. Установлено, что N-конец цистеина белка маммаглобина ковалентно связан с С-концом цистеина липофилина В. В свою очередь, каждый белок формирует четыре альфа-спирали, и, соединяясь друг с другом, при помощи трех дисульфидных мостиков формирует гидрофобный центр, который способен к связыванию стероидных молекул, что характерно и для других представителей семейства утероглобинов. Участки для связывания гидрокарбонатных (углеводных) цепей находятся на противоположных

концах комплекса в гибких областях петли между альфа спиралями. Среди этих областей фрагмент на N-конце белка маммаглобина (9-18 аминокислотных остатков), отличается от фрагментов у липофилина В и других белков семейства утероглобинов. Данный фрагмент преимущественно состоит из гидрофобных аминокислот и представляет собой трансмембранную спираль. Zuo L. и др. 2009 предположили, что белок маммаглобина связан с клеточной мембраной.

Это подтверждает данные Span P.N. и др. 2004 установивших, что белок связан с мембраной клетки, а N-конец белка может служить в качестве потенциального трансмембранного домена. Обнаружение этих свойств белковой молекулы маммаглобина может быть использовано для таргетной терапии (Fanger G.R. и др. 2002).

[Перейти в оглавление статьи >>>>](#)

Способы исследования маммаглобина

Существует несколько способов определения маммаглобина. Каждый из них имеет как достоинства, так и недостатки. Выбор того или иного метода зависит от целей и задач проводимого исследования. Можно определять как конечный этап экспрессии – белок, так и промежуточный продукт – мРНК.

[Перейти в оглавление статьи >>>>](#)

Иммуноферментный анализ

Иммуноферментный анализ, или ELISA позволяет определять белок в плазме или сыворотке крови пациентов. Сущность метода заключается в специфическом взаимодействии антитела и антигена с последующим присоединением к полученному

комплексу конъюгата - антивидового иммуноглобулина меченого ферментом. Фермент вызывает разложение хромогенного субстрата с образованием окрашенного продукта, который выявляется либо визуально, либо фотометрически. Этим методом можно определить не только наличие белка маммаглобина в сыворотке пациентов, но и определить его количество, что, несомненно, повышает его диагностическую значимость. В исследовании Bernstein J.L. и др. 2005 установлено, что в группе здоровых женщин определялся низкий, базовый уровень маммаглобина в крови - 7,5 нг/мл, который не зависел от возраста, индекса массы тела, менструального статуса, расы, истории курения или семейной онкологической наследственности. Zehentner B. K. и др. 2004 также исследовали уровень концентрации белка маммаглобина в сыворотке крови здоровых женщин. Этот уровень был менее 1,71 мкг/л, среднее значение 0,37 мкг/л.

При этом для пациенток раком молочной железы уровень белка превышал 1,71 мкг/л, в среднем составляя 18,5 мкг/л. Также установлено, что чем больше размер опухоли или стадия заболевания, тем более высокие концентрации белка в крови определяются и тем выше процент обнаружения этих изменений. Так, при первой клинической стадии обнаружить белок данным методом автором не удалось, при второй он присутствовал в 25% случаев, при третьей - в 34% случаев, а при четвертой стадии - в 48% случаев (Zehentner B.K. и др. 2004). По данным Bernstein J.L. и др. 2005 уровень маммаглобина при раке молочной железы превышал 9 нг/мл. Чувствительность метода при этом составила 68,8%, а специфичность 88%.

Таким образом, иммуноферментный анализ для обнаружения белка маммаглобина является перспективным как для диагностики, так и мониторинга заболевания, но низкая чувствительность метода снижает его эффективность.

[Перейти в оглавление статьи >>>>](#)

Иммуногистохимическое исследование

Иммуногистохимическое исследование позволяет определять конечный этап экспрессии гена – белок. Подобный подход основан на определении локализации антигенов при помощи специфических антител.

К настоящему времени идентифицированы различные антигены, характерные для эпителия молочной железы – лактальбумин, казеин, белок жировых капель женского молока, а также ряд других, относительно специфичных для молочной железы – CA 15-3, GCDFP-15.

В практике иммуногистохимического исследования впервые детально изучили экспрессию маммаглобина при раке молочной железы Watson M.A. и др. 1999. Авторами идентифицирована его цитоплазматическая локализация. В последующем Bhargava R. и др. 2007 детально проанализировали особенности окрашивания маммаглобина при раке молочной железы. Авторами установлено, что клеточное окрашивание с маммаглобином в большей степени характерно для долькового, чем протокового рака. Средний процент клеточного окрашивания с маммаглобином составил 55% исследованных случаев рака молочной железы. При этом в 71% случаев окрашивание колебалось от умеренного до интенсивного. Bhargava R. и др. 2007 показали, что специфичность маммаглобина в дифференциальной диагностике рака молочной железы составила 92%. Среди группы других злокачественных новообразований 40% исследованных случаев рака эндометрия также выявило значимое окрашивание с антителами к маммаглобину. В этой связи важно идентифицировать, что маммаглобин тесно связан с утероглобином, секреторным белком эндометрия, индуцирующимся прогестероном. Установлено, что при помощи оценки экспрессии маммаглобина не представляется возможным дифференцировать рак молочной железы и рак потовых желез. Интересно, что антитела к маммаглобину могут изредка окрашивать меланомы, что таит потенциальную опасность при выборе

оптимальной панели иммуногистохимических маркеров в случае наличия метастазов без первичного выявленного очага. Авторы полагают, что антитела к маммаглобину являются чувствительным маркером рака молочной железы. Также установлено, что экспрессия маммаглобина не изменяется и при метастатической локализации в лимфатическом узле.

Целью Raica M. и др. 2009 было изучение чувствительности экспрессии маммаглобина при раке молочной железы и определение возможных взаимосвязей со стандартными прогностическими параметрами. Было установлено, что во всех 47 проанализированных образцах рака молочной железы в примыкающей неизменной ткани молочной железы выявлена позитивная реакция на маммаглобин. Он экспрессировался в 78,72% случаях первичного рака молочной железы и 58,06% случаев метастазов в лимфатических узлах. Авторы выявили значимую корреляционную зависимость между экспрессией маммаглобина в первичной опухоли, степенью дифференцировки, наличием метастазирования в региональных лимфатических узлах, но не с возрастом пациентов, патогистологическим вариантом рака, стадией опухоли.

Raica M. и др. 2009 делают вывод о том, что, будучи чувствительным маркером рака молочной железы, маммаглобин также очерчивает группу пациентов с благоприятным прогнозом, является удобным способом выявления метастазов рака молочной железы в лимфатических узлах.

Wang Z. и др. 2009 докладывают, что в 31 из 41 (76%) случаев рака молочной железы с метастазами в аксиллярных лимфатических узлах выявлено позитивное окрашивание с антителами к маммаглобину. Специфичность при этом составила 90%. Исследователи признают иммуногистохимическое исследование с антителами к маммаглобину ценным диагностическим маркером метастатического рака молочной железы, предлагая включить его в панель диагностики рака без первичного выявленного очага. Фрагментарное позитивное окрашивание протокового эпителия молочной железы было также

несомненным и отмечено авторами по периферии 12 (29%) образцов рака молочной железы.

Takeda Y. и др., 2008 сообщают, что для антител к маммаглобину при раке молочной железы с метастазами в легкие выявлена 50% чувствительность, а специфичность при этом достигала 98,9%.

Sasaki E. и др., 2007 проанализировали 238 случаев рака молочной железы. При этом позитивная экспрессия установлена в 48% случаев изученных инфильтрирующих (дольковых или протоковых) раков молочной железы. Экспрессия маммаглобина была связана с позитивным эстрогеновым рецепторным статусом, отсутствием экспрессии цитокератина 5, но не со стадией рака молочной железы, амплификацией гена HER2 или реактивностью онкобелка p53. Статистический анализ показал, что у пациентов с установленной экспрессией маммаглобина длительность безрецидивного периода была больше, однако статистический анализ не позволил выделить его как независимый фактор прогноза.

Таким образом, при раке молочной железы маммаглобин может помочь, в сочетании с другими маркерами, установить правильный диагноз метастатического рака молочной железы. Гиперэкспрессия маммаглобина при раке эндометрия открывает новые возможности в практике оценки его экспрессии при гинекологическом раке. Однако к настоящему времени не детализированы особенности экспрессии маммаглобина в гиперпластических, предраковых процессах и доброкачественных опухолях молочной железы.

[Перейти в оглавление статьи >>>>](#)

Полимеразная цепная реакция

Наиболее перспективным и многообещающим методом исследования экспрессии маммаглобина является молекулярно-генетический метод исследования, основанный на полимеразной цепной реакции. Анализ мРНК позволяет подобрать тканеспецифичные последовательности, что повышает эффективность исследования. (Kopreski M.S. и др., 1999; Wong S.C. и др., 2004). Однако получение мРНК сопряжено с методическими сложностями вследствие низкой стабильности РНК, обусловленной ее разрушением РНКазами, содержащимися в исходном материале.

Grünewald K. и др. 2000 экспериментально показали, что при помощи исследования мРНК маммаглобина методом ПЦР можно обнаружить одну опухолевую клетку среди миллиона моноядерных клеток крови в биопсийном или операционном материале

Определение количества копий мРНК может иметь диагностическое значение. Так, в патогенезе онкологических заболеваний происходят изменения не только в составе экспрессирующихся генов, но и в количестве копий соответствующих мРНК. Поэтому методы, позволяющие количественно определять уровень экспрессии мРНК всегда были в центре внимания исследователей (Bustin S.A. и др., 2002). Они позволяют оценивать РНК-маркеры метаболизма лекарств в опухолевых клетках (Ramachandran C. и др. 1999), следить за ответом организма на химиотерапию (Desiardin L.E. и др., 1999), определять уровень экспрессии «терапевтических» генов (Fairman J. и др., 1999), выявлять циркулирующие опухолевые клетки (Ghossein A. и др., 1996), обеспечивать возможность молекулярной оценки состояния опухоли (Bustin S.A. и др., 1998).

Для количественной оценки содержания мРНК в образце используется метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (РВ-ПЦР). Данный метод использует общие принципы ПЦР, однако основное отличие состоит в том, что измеряется количество амплифицированной ДНК в реальном времени после каждого

цикла амплификации. Для количественного определения используют два метода — флуоресцентные красители, интеркалирующие в двуцепочечные молекулы ДНК и модифицированные дезоксинуклеотиды, которые флуоресцируют после гибридизации с комплиментарными участками ДНК.

Также для определения мРНК применяется метод ПЦР, сопряженный с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). В отличие от обычной ПЦР, здесь включен этап, при котором происходит перевод выделенной из образца мРНК в комплиментарную ДНК (кДНК). Это широко используется для дифференциальной оценки экспрессии генов на уровне транскрипции, а также для измерения малых количеств мРНК. Благодаря методу РВ-ПЦР можно получить количественную информацию о содержании данной мРНК в клетке и, соответственно, позволяет судить об уровне экспрессии данного гена в отдельной клетке или ткани (Higuchi R. и др. 1993).

Для постановки ПЦР в реальном времени необходим специальный амплификатор, отличительной особенностью которого является возможность возбуждать и детектировать флуоресценцию, отражающую накопление ампликонов, на каждом цикле амплификации.

Одним из способов повысить чувствительность реакции является применение метода «гнездной» (“nested”) амплификации. Суть его заключается в последовательном использовании двух пар праймеров – внешней и внутренней. После использования первой пары праймеров продукт амплификации переносят в другую пробирку с внутренней парой праймеров.

Чувствительность метода РВ-ПЦР в обнаружении опухолевых клеток достигает 95-100% (Mitas M. и др., 2001), а специфичность зависит от того, насколько удачно подобран объект исследования, в данном случае - специфичная мРНК. Так, Roncella S.

и др. 2006 сообщают, что мРНК маммаглобина была обнаружена в 95% случаев исследованной ткани рака молочной железы.

По данным ряда авторов мРНК маммаглобина обнаруживается не во всех новообразованиях молочной железы (Watson M.A. и др. 1996, Min C.J. и др. 1998, Zehentner B.K. и др. 2002, Watson M.A. и др. 1998, Watson M.A. и др. 1999, O'Brien N. и др. 2002, Leygue E. и др. 1999). Так, результаты Reinholz M. и др. 2005 свидетельствуют, что у 20 % пациентов раком молочной железы не было обнаружено значимых уровней маммаглобина. При этом Watson M.A. и др. 1996 подчеркивают, что мРНК маммаглобина в 10 раз интенсивнее экспрессируется при злокачественном новообразовании, чем при доброкачественном процессе молочной железы. Экспрессию маммаглобина можно наблюдать и в неизменной ткани молочной железы (Becker R.M. и др. 1998, Watson M.A. и др. 1999, O'Brien N. и др. 2002).

O'Brien N. и др. 2002 показали, что мРНК маммаглобина, можно обнаружить в 59% случаев фиброаденом молочной железы и 61% случаев рака молочной железы. Nunez-Villar M. J. и др. 2003 сообщают, что из 45 проанализированных образцов неизмененного эпителия молочной железы в 29 (64.4 %) случаях, уровень экспрессии мРНК маммаглобина был ниже, чем в раке молочной железы, но в 16 (35,5%) случаях получено обратное соотношение.

Обнаружено, что повышение уровня мРНК маммаглобина связано с наличием в опухоли высокого содержания рецепторов эстрогена. X-F Guan и др. 2003 установили, что экспрессия мРНК маммаглобина была достоверно выше в эстроген-позитивных случаях рака молочной железы.

Sasaki E. и др. 2007 подтверждают наличие зависимости между уровнем экспрессии мРНК маммаглобина и экспрессией рецепторов эстрогена. Авторы отмечают более высокую безрецидивную выживаемость пациентов, которую определяли при помощи анализа

выживаемости Каплана-Майера, экспрессирующих в опухоли более высокий уровень мРНК маммаглобина.

Span P. T. и др. 2004 сообщают, что чем выше уровень экспрессии мРНК маммаглобина в опухоли, тем более благоприятный прогноз и низкий риск рецидивов для пациентов получающих адъювантную химиотерапию тамоксифеном. При этом уровень экспрессии мРНК маммаглобина при высоко - и умереннодифференцированных раках молочной железы (G1 и G2) значительно выше, чем уровень экспрессии в низкодифференцированных опухолях (G3).

Причины, по которым маммаглобин отсутствует при низкодифференцированных опухолях (G3) пока не известны, но есть несколько предположений:

- во время злокачественной трансформации в клетке нарушаются процессы дифференцировки. Область, кодирующая маммаглобин, находится в длинном плече 11 хромосомы (11q12.3-13.1) и в этом районе, при многих опухолевых заболеваниях, в том числе, и при раке молочной железы встречаются генетические повреждения в виде транслокаций и делеций некоторых фрагментов. Результатом изменений в этом участке может быть отсутствие экспрессии мРНК маммаглобина (Roncella S. и др. 2006);
- члены семейства утероглобинов, к числу которых относится маммаглобин, регулируются стероидными гормонами. Возможно, что экспрессия мРНК маммаглобина гормональнозависима. Подтверждением этого служит существование зависимости между уровнем экспрессии мРНК маммаглобина и экспрессией рецепторов эстрогена и прогестерона (O'Brien N. и др. 2002, Roncella S. и др. 2006).

В современной литературе множество работ посвящено определению мРНК маммаглобина в лимфатических узлах для обнаружения скрытых метастазов рака молочной железы. При этом обнаружить экспрессию маммаглобина в неизмененных лимфатических узлах не удастся, о чем свидетельствуют результаты Watson M.A. и др. 1999, Min C.J. и др. 1998 сообщили о 100% специфичности мРНК маммаглобина,

определявшегося методом РТ-ПЦР для неизмененных лимфатических узлов, что позволило сделать автором вывод о возможности использования данного маркера в многокомпонентной панели для оценки состояния сторожевых лимфатических узлов при раке молочной железы. При этом в материале клеточных линий рака молочной железы транскрипты определялись в 100% случаев. Leugue E. и др. 1999 также отмечали роль маммаглобина как возможного маркера метастазов в лимфатических узлах.

В работе Zehentner B.K. и соавт. 2002 было проанализировано 50 лимфатических узлов с наличием регионарных метастазов при раке молочной железы. Экспрессия мРНК маммаглобина была обнаружена во всех 50 (100%) образцах. При этом в 27 образцах лимфатических узлов без метастазов экспрессия мРНК маммаглобина отсутствовала.

Viale G. и др. 2008 установили, что обнаружить метастазы в регионарных лимфатических узлах в случае рака молочной железы при исследовании мРНК маммаглобина удастся с чувствительностью 98,1%, если размер метастаза превышает 2 мм, и 94,7% для метастазов размером свыше 1 мм, 77,8% для метастазов более 0,2 мм.

Для определения мРНК маммаглобина в образцах периферической крови пациенток раком молочной железы применяется метод двухступенчатой ПЦР (Nested-PCR) в режиме реального времени. В качестве матрицы используется полученная ранее кДНК.

Cerveira N. и др. 2004 показали, что существует зависимость между размером опухоли и уровнем мРНК в крови пациенток раком молочной железы. Авторам удалось обнаружить мРНК маммаглобина в 3/13 (23%) случаев при I стадии, в 6/17 (35%) случаев для II стадии, в 5/10 (50%) случаев для III стадии, в 8/11 (73%) случаев для IV стадии ($p = 0.003$) рака молочной железы.

Lin Y.C. и др. 2003 сравнивали мРНК маммаглобина у больных раком молочной железы в периферической крови и уровень раковоэмбрионального антигена (РЭА), СА 15-3 в

сыворотке крови 33 пациентов метастатическим раком молочной железы. Исследование мРНК маммаглобина проводилось при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР), а РЭА и СА 15-3 методом радиоиммуноанализа. Уровень РЭА и СА 15,3 в сыворотке был повышен у 17 (51%) и 23 (69%) пациентов соответственно. Сочетание РЭА и СА 15-3, увеличило уровень чувствительности до 78% случаев. При этом мРНК маммаглобина была обнаружена в 18 из 33 (54%) случаев. А сочетание мРНК маммаглобина с РЭА или СА 15-3 увеличивало чувствительность до 81% и 90% соответственно ($p = 0,045$).

Mukhitarian K. и др. 2008 . установили, что у 136 из 215 (63%) пациенток раком молочной железы с T1-T3 стадией опухолевого процесса определялся мРНК маммаглобина. При этом чаще мРНК маммаглобина обнаруживался у пациенток с высокой степенью злокачественности опухоли и отрицательным рецепторном статусе опухоли, что позволяет считать обнаружение маммаглобина в крови плохим прогностическим признаком.

Напротив, Suchy B. и др. 2000 не считают исследование мРНК маммаглобина в крови перспективным маркером вследствие его низкой чувствительности и специфичности. Так, при анализе крови 98 пациенток рака молочной железы маммаглобин присутствовал в 11% случаев.

Marques A.R. и др. 2009 на протяжении 5 лет анализировали мРНК маммаглобина в крови 321 пациенток, получавших адъювантную и неоадъювантную терапию по поводу рака молочной железы без выявленного регионарного метастазирования. Сопоставимый уровень его экспрессии выявлен как до начала химиотерапии, так и при возникновении рецидива, в случае продолжавшегося безрецидивного периода. Многопараметрический анализ выживаемости также не указал на существование достоверных различий в возникновении рецидива в зависимости от выявления мРНК человеческого маммаглобина до или после неоадъювантной, адъювантной терапии рака молочной железы. Авторы утверждают, что ни на этапе диагностики, ни в период

последующего наблюдения за пациентками нет оснований предполагать, что выявление мРНК маммаглобина может предсказать возникновение рецидива рака молочной железы.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Заключение

Таким образом, выявление экспрессии маммаглобина иммуногистохимическим методом, определение мРНК маммаглобина в ткани рака молочной железы в качестве потенциального маркера благоприятного прогноза требует детального изучения. К настоящему времени детально не проанализированы особенности экспрессии мРНК маммаглобина в гиперпластических, предраковых процессах молочной железы. Детекция мРНК маммаглобина методом РТ-ПЦР, иммуногистохимическое определение экспрессии маммаглобина должно включаться в панель для дифференциальной диагностики метастатического рака молочной железы. Выявление мРНК маммаглобина может быть рекомендовано как маркер диагностики метастазов рака молочной железы в случаях метастазов без первичного выявленного очага. Определение мРНК маммаглобина может служить дополнительным маркером метастазов рака молочной железы в сторожевых лимфатических узлах. Оценка уровня мРНК маммаглобина в периферической крови является перспективным онкомаркером рака молочной железы и требует дальнейшего изучения.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

Список литературы:

1. Высоцкая И.В. Современные возможности терапии фиброзно-кистозной болезни. // Опухоли женской репродуктивной системы. 2009 N1-2с.44-46
2. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Смертность населения России и стран СНГ от злокачественных образований в 2006 г. // Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН, т. 19, №2 (прил. 1), 2008 с.91-119
3. Харченко В.П., Рожкова Н.И., Меских Е.В. «Скрининг и возможности совершенствования ранней диагностики рака молочной железы», доклад. // Вестник Московского Онкологического Общества, №11, ноябрь 2006
4. Becker R.M., Darrow C., Zimonjic D.B., Popescu N.C., Watson M.A., Fleming T.P. Identification of mammaglobin B, a novel member of the uteroglobin gene family. // Genomics 1998; 54:70-78.
5. Bernstein J.L., Godbold J.H., Raptis G, et al. Identification of mammaglobin as a novel serum marker for breast cancer. // Clinical Cancer Research 2005;11:6528-35.
6. Bhargava R., Beriwal S., Dabbs D.J. Mammaglobin vs GCDFP-15 An Immunohistologic Validation Survey for Sensitivity and Specificity. // Am. J. Clinical Pathology. 2007 v.127 p.103-113.
7. Bustin S.A. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems // J. Molecular Endocrinology, 2002,29:23-39
8. Bustin S.A., Dorudi S. Molecular assessment of tumor stage and disease recurrence using PCR-based assays // Molecular Med. Today., 1998, 4:389-396
9. Cerveira N, Torres L, Rocha P, Bizarro S, Pereira D, Abreu J, Henrique R, Teixeira MR, Castedo S. Highly sensitive detection of the MGB1 transcript (mammaglobin) in the peripheral blood of breast cancer patients. Int J Cancer. 2004 Feb 10;108(4):592-5
10. Desiardin L.E., Perkins M.D., Wolski K., Haun S. and all, Measurement of sputum Mycobacterium tuberculosis messenger RNA as a surrogate for responds to chemotherapy// Am J Respir Crit Care Med., 1999, 160: 203-210.
11. Fairman J., Riche L., Pieslak I., Lay M., Corson S., Fox E. at all. Quantitative RT-PCR to evaluate in vivo expression of multiple transgenes using a common intron// Biotechniques, 1999, 27:566-570, 572-574

12. Fanger G.R., Houghton R.L., Retter M.W., Hendrickson R.C., Babcook J., Dillon D.C., Durham M.D, Reynolds L.D., Johnson J.C., Carter D., Fleming T.P., Roche P.C., Persing D.H., Reed S.G. Detection of mammaglobin in the sera of patients with breast cancer. // *Tumour Biol.* 2002 Jul-Aug;23(4):212-21
13. Ghossein A., Rosai J., Polymerase chain reaction in the detection of micrometastases and circulating tumor cells. // *Cancer*, 1996, 78:10-16
14. Grunewald K, Haun M, Fiegl M, Urbanek M, Muller-Holzner E, Massoner A, Riha K, Propst A, Marth C, Gastl G. Mammaglobin expression in gynecologic malignancies and malignant effusions detected by nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction. // *Lab Invest.* 2002;82:1147–1153
15. Grünewald K, Haun M, Urbanek M, Fiegl M, Müller-Holzner E, Gunsilius E, Dünser M, Marth C, Gastl G: Mammaglobin gene expression: a superior marker of breast cancer cells in peripheral blood in comparison to epidermal-growth-factor receptor and cytokeratin-19.// *Lab Invest* 2000, 80:1071-1077.
16. Higuchi R. Kinetic PCR Analysis: Real-time monitoring of DNA amplification reactions// *Biotechnology.*-1993.-№ 11.- 1026-1030.
17. Kopreski M.S., Benko F.A., Kwak L.W., Gocke C.D. Detection of tumor messenger RNA in serum of patients with malignant melanoma. // *Clinical Cancer Research* 1999, 5:1961-1965
18. Leygue E., Snell L., Dotzlaw H., et al. Mammaglobin, a potential marker of breast cancer nodal metastasis.// *J Pathology* 1999;189:28–33
19. Lin Y.C., Chow-Wu Y.H., Liao C., Cheng A.J. The expression of mammaglobin mRNA in peripheral blood of metastatic breast cancer patients as an adjunct to serum tumor markers. // *Cancer Letters* 2003 v.191, №1 p.93-99
20. Marques A.R., Teixeira E., Diamond J., Correia H., Santos S., Neto L., Ribeiro M., Miranda A., Passos-Coelho J.L. Detection of human mammaglobin mRNA in serial peripheral blood samples from patients with non-metastatic breast cancer is not predictive of disease recurrence. // *Breast Cancer Res. Treat.* 2009 v.114 №2 p.223-32

21. Min CJ, Tafral L, Verbanac KM. Identification of superior markers for polymerase chain reaction detection of breast cancer metastases in sentinel lymph nodes. // Cancer Research. 1998; 58: 4581–4.
22. Mikhitarian K, Detection of mammaglobin mRNA in peripheral blood is associated with high grade breast cancer: interim results of a prospective cohort study. //BMC Cancer.2008 Feb 20;8 (1):55
23. Mitas M, Mikhitarian K, Walters C, et al. Quantitative real-time RT-PCR detection of breast cancer micrometastasis using a multigene marker panel.// Int J Cancer 2001;93:162–71.
24. Muller-Schottle F., Classen-Linker I., Beier-Hellwig K., Sterzik K., Beier H.M. Uteroglobin expression and release in the human endometrium. // Ann. NY Acad. Sci. 2000; 923 p.332–335.
25. Nunez-Villar M.J., Martinez-Arribas F., Pollan M. et al. Elevated mammaglobin (h-MAM) expression in breast cancer is associated with clinical and biological features defining a less aggressive tumour phenotype. // Breast Cancer Resypkcp. 2003 v.5 p.R65- R70
26. O'Brien N.A., Teresa M. Maguire, Norma O'Donovan⁴, Niamh Lynch **et al.** Mammaglobin A: A Promising Marker for Breast Cancer.// Clinical Chemistry 48: 1362-1364, 2002;
27. Okami J, Dohno K, Sakon M, Iwao K, Yamada T, Yamamoto H, Fujiwara Y, Nagano H, Umeshita K, Matsuura N, Nakamori S, Monden M. Genetic detection for micrometastasis in lymph node of biliary tract carcinoma.// Clinical Cancer Research. 2000; v.6 p.2326–2332.
28. Ouellette R.J., Richard D., Maicas E. RT-PCR for mammaglobin genes, MGB1 and MGB2, identifies breast cancer micrometastases in sentinel lymph nodes. Am J Clin Pathol. 2004 v.121p.637–643
29. Raica M., Cîmpean A.M., Meche A., Alexa A., Suciu C., Mureşan A. Analysis of the immunohistochemical expression of mammaglobin A in primary breast carcinoma and lymph node metastasis. Rom. J. Morphol. Embryology. 2009 v.50 №3 p.341-7.
30. Ramachandran C.,Melnick S.J. Multidrug resistance in human tumors- molecular diagnosis and clinical significance. // Mol Diagn., 1999, 4:81-94

31. Roncella S, Ferro P, Bacigalupo B, Dessanti P, Giannico A et al. Relationship between human mammaglobin mRNA expression in breast cancer tissue and clinico-pathologic features of the tumors. // *J.Exp Clin Cancer Res*. 2006 Mar; 25(1):65-72.
32. Sasaki E., Tsunoda N., Hatanaka Y., Mori N., Iwata H., Yatabe Y. Breast-specific expression of MGB1/mammaglobin: an examination of 480 tumors from various organs and clinicopathological analysis of MGB1-positive breast cancers. // *Mod. Pathol*. 2007 v.20 №2 p.208-14
33. Sjodin A, Guo D, Hofer PA, Henriksson R, Hedman H. Mammaglobin in normal human sweat glands and human sweat gland tumors. // *J Invest Dermatol*. 2003;121:428–429
34. Sjodin A, Guo D, Sorhaug S, Bjerner L, Henriksson R, Hedman H. Dysregulated secretoglobulin expression in human lung cancers. // *Lung Cancer*. 2003; 41:49–56.
35. Sjodin A., Guo D., Lund-Johansen M., Krossnes B.K., Lilleng P., Henriksson R., Hedman H. Secretoglobins in the human pituitary: high expression of lipophilin B and its down-regulation in pituitary adenomas. // *Acta Neuropathol (Berl)*. 2005 v.109 p.381–386
36. Span P.N., Grebenchtchikov N.I., Geurts-Moespot A., Sweep C. G. J. Concerns about mammaglobin assays. // *Clinical Chemistry* 2005 v.51 №2 p.474-75
37. Span P.N., Waanders E., Manders P. et al. Mammaglobin is associated with low-grade, steroid receptor–positive breast tumors from postmenopausal patients, and has independent prognostic value for relapse-free survival time. // *J. Clinical Oncology*. 2004 v.22 p.691-698
38. Stoeckelhuber M., Messmer E.M., Schmidt C., Xiao F., Schubert C., Klug J. Immunohistochemical analysis of secretoglobulin SCGB 2A1 expression in human ocular glands and tissues. // *Histochem Cell Biology*. 2006; v.126 p.103–109.
39. Suchy B, Austrup F, Driesel G, et al: Detection of mammaglobin expressing cells in blood of breast cancer patients. // *Cancer Letters* 158:171–178, 2000
40. Takeda Y., Tsuta K., Shibuki Y., Hoshino T., Tochigi N., Maeshima A.M., Asamura H., Sasajima Y., Ito T., Matsuno Y. Analysis of expression patterns of breast cancer-specific markers (mammaglobin and gross cystic disease fluid protein 15) in lung and pleural tumors. // *Arch. Pathol. Lab. Med*. 2008 v.132 №2 p.239-43
41. Tassi R.A., Calza S., Ravaggi A., Bignotti E., Odicino F.E. Mammaglobin B is an independent prognostic marker in epithelial ovarian cancer and its expression is associated with reduced risk of disease recurrence. // *BMC Cancer*. 2009 v.9 p.253

42. Viale G., Dell'Orto P., Biasi M.O., Stufano V., De Brito Lima L.N., Paganelli G., Maisonneuve P., Vargo J.M., Green G., Cao W., Swijter A., Mazzarol G. Comparative evaluation of an extensive histopathologic examination and a real-time reverse-transcription-polymerase chain reaction assay for mammaglobin and cytokeratin 19 on axillary sentinel lymph nodes of breast carcinoma patients //Ann. Surg. 2008 v. 247 №1 p.136-42
43. Wang Z., Spaulding B., Sienko A., Liang Y., Li H., Nielsen G., Gong G. Y, Ro J. Y., Zha Q.J. Mammaglobin, a valuable diagnostic marker for metastatic breast carcinoma // Int. J. Clin. Exp. Pathol. 2009 v.2 №4 p.384–389.
44. Watson M.A., Dintzis S., Darrow C.M., Voss L.E., DiPersio J., Jensen R., Fleming T.P.: Mammaglobin expression in primary, metastatic, and occult breast cancer.// Cancer Research 1999, 59 : 3028-3031.
45. Watson M.A., Fleming T.P. Mammaglobin, a mammary-specific member of the uteroglobin gene family, is overexpressed in human breast cancer. // Cancer Research 1996;56:860-865
46. Wong S.C., Lo S.F., Cheung M.T. at all.: Quantification of plasma beta-catenin mRNA in colorectal cancer and adenoma patients. // Clinical Cancer Research 2004, 10:1613-1617
47. X-F Guan, Mohammad K. Hamedani,1 Adewale Adeyinka, Christina Walker, Angela Kemp, Leigh C. Murphy, Peter H. Watson, and Etienne Leygue Relationship between mammaglobin expression and estrogen receptor status in breast tumors.// Endocrine, vol. 21, no. 3, 245–250, August 2003
48. Xiao F., Mirwald A., Papaioannou M., Baniahmad A., Klug J. Secretoglobin 2A1 is under selective androgen control mediated by a peculiar binding site for Sp family transcription factors. //Mol. Endocrinol. 2005 v.19 p.2964–2978
49. Zehentner B.K., Persing D.H., Deme A., Toure P., Hawes S.E., Brooks L., Feng Q., Hayes D.C., Critchlow C.W., Houghton R.L., Kiviat N.B. Expression of Mammaglobin, B305D, GABA π and B726P and elevation of mammaglobin protein in the peripheral blood of women with untreated breast cancers. // Clinical Chemistry. 2004 November; 50(11): 2069–2076.
50. Zuo L., Li L., Wang Q., Fleming T. P., You S. Mammaglobin as a potential molecular target for breast cancer drug delivery. // Cancer Cell Int. 2009 v.9 p.8.

[Перейти в оглавление статьи >>>](#)

ISSN 1999-7264

[© Вестник РНЦРР Минздрава России](#)

[© Российский научный центр рентгенорадиологии Минздрава России](#)