

ВЗАИМОСВЯЗЬ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ ИНФИЛЬТРИРУЮЩЕГО ПРОТОКОВОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

**В.М. Перельмутер, М.В. Завьялова, С.В. Вторушин, Е.М. Слонимская,
О.В. Савенкова**

ГУ «НИИ онкологии Томского научного центра СО РАМН»

Изучены варианты сочетания разных типов инфильтративного компонента при инфильтрирующем протоковом раке молочной железы NOS (not otherwise specified). Оказалось, что вариант сочетания разных типов инфильтративного компонента не связан ни с величиной опухоли, ни с вероятностью лимфогенного и гематогенного метастазирования. Определенная связь с разными вариантами прогрессирования ИПР NOS отмечена только относительно количества типов структур инфильтративного компонента. С увеличением их числа все рассматриваемые варианты опухолевой прогрессии (размер опухоли, частота лимфогенного и гематогенного метастазирования) были более выраженными. Обсуждается механизм и значение обнаруженной закономерности.

Ключевые слова: рак молочной железы, инфильтративный компонент, размер опухоли, метастазирование, эпителиально-мезенхимальный переход.

INTERACTION BETWEEN MORPHOLOGIC HETEROGENEITY OF INFILTRATING DUCTAL BREAST CARCINOMA AND VARIOUS FORMS OF TUMOR PROGRESSION

V.M. Perelmuter, M.V. Zavjalova, S.V. Vtorushin, E.M. Slonimskaya,

O.V. Savenkova

Cancer Research Center, Tomsk Scientific Center, SB RAMS

Combinations of various types of infiltrating component in infiltrating ductal breast (not otherwise specified NOS) carcinomas were studied. Combination of various types of infiltrating component had appeared to relate neither to tumor size nor to lymphogenous and hematogenous metastases. Definite relation to progression of infiltrating ductal NOS breast carcinoma was observed only with respect to the number of types of infiltrating component structures: the more the number of types, the greater the tumor extent. The mechanism and importance of the observed relationship were discussed.

Key words: breast cancer, infiltrating component, tumor size, metastases, epithelial-mesenchymatous change.

Инфильтрирующий протоковый рак молочной железы (ИПР) NOS (not otherwise specified) характеризуется широкой вариабельностью представительства протоковых и инфильтративных структур и их сочетаний. Известно прогностическое значение наличия тубулярных структур в инфильтративном компоненте опухоли: оценка этого признака используется при определении степени злокачественности ИПР [1, 2, 6].

К важнейшим вариантам прогрессии рака молочной железы относятся темп роста опухолевого узла, лимфогенное и гематогенное метастазирование. Величина опухолевого узла опосредованно отражает не только длитель-

ность развития опухоли, потенцию опухолевых элементов к пролиферации, но и наличие определенных биологических свойств клеток, связанных с разными формами опухолевой прогрессии. Известно, что размер первичного опухолевого узла в определенной мере коррелирует со степенью злокачественности, с количеством лимфоузлов, пораженных метастазами, а кроме этого, является независимым прогностическим критерием в отношении риска развития отдаленных метастазов [7].

Ранее нами была показана прогностическая значимость гетерогенности морфологического строения инфильтративного компонента ИПР в отношении двух форм опухолевой прогрессии:

лимфогенного и гематогенного метастазирования. Значительное преобладание в инфильтративном компоненте микроальвеолярных структур оказалось связанным с высокой вероятностью лимфогенного метастазирования [3], а значение коэффициента, отражающего отношение трабекулярных структур к тубулярным структурам, равное 2, – с высоким риском развития гематогенных метастазов в костях и печени [4]. В доступной литературе практически отсутствуют сведения о соотношении между вариантами сочетания разных типов инфильтративного компонента ИПР и величиной опухоли, а также ее способностью к лимфогенному и гематогенному метастазированию.

Материал и методы

В исследование были включены 104 больные с уницентрическим инфильтрирующим протоковым раком молочной железы $T_{1-3}N_{0-3}M_0$, в возрасте от 21 года до 80 лет (средний возраст $56,1 \pm 12,6$ года), не получавших предоперационного лечения. Всем больным выполнялась операция в объеме радикальной мастэктомии или секторальной резекции молочной железы. В послеоперационном периоде больным проводилось 4–6 курсов адъювантной химиотерапии по стандартным схемам CMF или FAC. По показаниям 28 пациенток получали дистанционную гамма-терапию на зоны регионарного лимфооттока в стандартном режиме. Больным в постменопаузе (40 пациенток) назначалась антиэстрогенная терапия тамоксифеном. 31 больная послеоперационного лечения не получала. Срок наблюдения за больными составил 5–10 лет.

При морфологическом исследовании операционного материала оценивались центр, периферия опухоли, материал из четырех квадрантов молочной железы и все удаленные аксиллярные лимфоузлы. В соответствии с гистологической классификацией рака молочной железы (2003) все случаи соответствовали смешанной форме инфильтрирующего протокового рака NOS. При исследовании ткани опухоли изучалось строение инфильтративного компонента, в котором выделяли микроальвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные структуры и дискретно расположенные группы клеток. Оценива-

лось наличие или отсутствие этих структур. Определение рецепторов половых гормонов в опухолевой ткани проводили иммуногистохимическим методом. Исследование проводили по стандартной методике. Использовали систему визуализации фирмы «Dako» LSAB2 System – HRP. Срезы докрашивали гематоксилином и эозином и заключали в бальзам. При исследовании применяли антитела фирмы «Dako» к рецепторам эстрогена (клон 1D5¹, готовые к применению, мышиные), к рецепторам прогестерона (клон PgR631¹, готовые к применению, мышиные). Экспрессию рецепторов к половым гормонам оценивали по 3-балльной шкале (слабая, средняя и выраженная степени). Для оценки выраженности экспрессии рецепторов к эстрогену и прогестерону определяли процент клеток, имеющих рецепторы, и «показатель экспрессии» [5].

Статистическая обработка проводилась с использованием пакета программ «Statistica 6.0 for Windows». После проверки выборок на нормальность распределения применялся дисперсионный, корреляционный анализ по Спирмену, критерий χ^2 .

Результаты и обсуждение

В исследуемой группе больных встречались следующие варианты рецепторного статуса по отношению к эстрогенам и прогестерону – RE+RP+ (52 %); RE+RP- (15 %); RE-RP- (31 %) и RE-RP+ (2 %). Изучение инфильтративного компонента опухоли показало, что всего наблюдалось 24 варианта сочетания различных типов структур, при этом наиболее часто встречались 8 из них.

Не удалось обнаружить какой-либо связи между рецепторным статусом, с одной стороны, вариантами и количеством разных типов структур инфильтративного компонента ИПР – с другой (соответственно $\chi^2=24,9$; $p=0,25$ и $\chi^2=6,46$; $p=0,69$). Анализ зависимости величины опухолевого узла от сочетания разных морфологических типов строения инфильтративного компонента в этих группах выявил, что она достаточно выражена ($F=4,1$; $p=0,0008$) (табл. 1).

Таблица 1

Зависимость размера первичного опухолевого узла от морфологического строения инфильтративного компонента

№ группы	Структуры инфильтративного компонента	Кол-во структур в инфильтративном компоненте	Кол-во больных	Размер опухоли (М ± S.D.) (см)
1	Трабекулярные и микроальвеолярные	2	9	1,3 ± 0,4
2	Трабекулярные и группы клеток	2	15	2,2 ± 1,6
3	Трабекулярные и солидные	2	5	1,9 ± 0,8
4	Трабекулярные, тубулярные и микроальвеолярные	3	6	2,5 ± 0,8
5	Трабекулярные, микроальвеолярные и группы клеток	3	8	2,5 ± 0,9
6	Трабекулярные, микроальвеолярные и солидные	3	11	2,8 ± 0,7
7	Трабекулярные, тубулярные, микроальвеолярные, группы клеток,	4	6	3,6 ± 2,7
8	Трабекулярные, микроальвеолярные, группы клеток, солидные	4	10	4,4 ± 1,8

Таблица 2

Зависимость размера опухолевого узла от количества структур в инфильтративном компоненте ИПР

Количество структур в инфильтративном компоненте	Размер опухоли (М ± S.D.) (см)
Одна (n=12)	2,5 ± 1,4
Две (n=35)	2,0 ± 1,3
Три (n=34)	2,5 ± 0,8
Четыре (n=23)	3,5 ± 2,1

С целью исключения влияния на размер опухоли различных сочетаний типов структур инфильтративного компонента была изучена зависимость величины новообразования от морфологического строения опухоли отдельно среди больных с двумя (1–3-я группы), тремя (4–6-я группы) и четырьмя (7–8-я группы) структурами (табл. 1). Ни в одном из этих случаев подобного рода зависимости не было выявлено (соответственно $F=1,5$; $p=0,2$; $F=0,4$; $p=0,7$ и $F=0,5$; $p=0,5$). Оказалось, что зависимость морфологического строения инфильтративного компонента и величины опухоли обусловлена не столько сочетанием разных морфологических вариантов, сколько их количеством. Размер опухолевого узла был достоверно большим при

наличии максимального количества структур в инфильтративном компоненте ($F=5,8$; $p=0,001$) (табл. 2).

В целом этот вывод был подтвержден и анализом корреляционной связи между частотой встречаемости каждого из типов инфильтративного компонента и величиной первичного опухолевого узла. Показано, что по мере увеличения размера опухоли возрастала частота встречаемости всех типов структур инфильтративного компонента за исключением дискретно расположенных групп клеток (табл. 3).

Изучение зависимости лимфогенного метастазирования от размера новообразования показало, что она практически отсутствует, поскольку у больных как с наличием пораженных

Таблица 3

Корреляция размера опухоли и частоты встречаемости различных типов структур инфильтративного компонента

Размер опухоли (см)	Структуры инфильтративного компонента (частота встречаемости, %)				
	Трабекулярные	Тубулярные	Микроальвеолярные	Группы клеток	Солидные
До 1 (n=13)	75	25	50	0	25
1,1–2 (n=48)	82	27	59	59	34
2,1–3 (n=30)	77	27	62	38	58
3,1–4 (n=11)	80	30	70	70	50
4,1–5 (n=8)	100	29	71	57	71
Коэффициент корреляции*	0,7 p = 0,18	0,8 p = 0,05	1,0	0,5 p = 0,39	0,9 p = 0,037

Примечание: * – коэффициент корреляции Спирмена между величиной опухолевого узла и частотой встречаемости соответствующего типа структур инфильтративного компонента.

Таблица 4

Зависимость частоты лимфогенного метастазирования от количества типов морфологических структур в инфильтративном компоненте опухоли

Количество структур в инфильтративном компоненте	Лимфогенные метастазы	
	Нет Абс. (%)	Есть Абс. (%)
Одна	11/13 (84,6)	2/13 (15,4)
Две	27/37 (73)	10/37 (27)
Три	17/36 (47,2)	19/36 (52,8)
Четыре	9/23 (39,1)	14/23 (60,9)

лимфоузлов, так и без таковых средние значения размера опухоли были почти одинаковыми (соответственно: $2,7 \pm 1,6$ см и $2,5 \pm 1,4$ см; $F=0,5$; $p=0,47$). Частота лимфогенного метастазирования возрастала при увеличении числа типов морфологических структур в инфильтративном компоненте ($\chi^2=12,3$; $p=0,006$) (табл. 4). Однако связи между вариантами сочетания типов инфильтративного компонента ИПР при их одинаковом числе в подгруппах (по 2, или 3, или 4 типа структур) и частотой лимфогенного метастазирования не было обнаружено (соответственно: $\chi^2=0,6$; $p=0,7$; $\chi^2=1,6$; $p=0,4$ и $\chi^2=0,4$; $p=0,5$).

При изучении отдаленных результатов было показано, что частота появления гематогенных метастазов не зависела от послеоперационной химиотерапии ($\chi^2=0,0009$; $p=0,97$) и лучевой терапии ($\chi^2=0,001$; $p=0,97$). Вместе с тем об-

наружена зависимость метастазирования как от величины опухоли, так и от разнообразия типов структур в инфильтративном компоненте. У больных с отдаленными метастазами размер первичной опухоли был достоверно больше, чем у пациенток без них (соответственно: $3,5 \pm 2,4$ см и $2,5 \pm 1,2$ см; $F=8,9$; $p=0,003$). Кроме этого, при большем количестве типов структур в инфильтративном компоненте отмечена тенденция к более частому выявлению гематогенных метастазов ($\chi^2=6,4$; $p=0,09$) (табл. 5). В то же время сочетание разных типов структур инфильтративного компонента отдельно в группах с наличием в опухоли двух, трех и четырех структур не влияло на частоту гематогенного метастазирования (соответственно: $\chi^2=1,7$; $p=0,4$; $\chi^2=1,7$; $p=0,4$ и $\chi^2=0,4$; $p=0,5$).

Таким образом, с увеличением размера опухоли при ИПР NOS возрастает ее морфо-

Таблица 5

Зависимость частоты гематогенного метастазирования от количества типов морфологических структур в инфильтративном компоненте опухоли

Количество структур в инфильтративном компоненте	Гематогенные метастазы	
	Нет Абс. (%)	Есть Абс. (%)
Одна	13/13 (100)	0/13 (0)
Две	32/37 (86,5)	5/37 (13,5)
Три	31/36 (86,1)	5/36 (13,9)
Четыре	16/23 (70)	7/23 (30)

логическая гетерогенность за счет большего количества разных типов структур инфильтративного компонента. Вероятно, максимальная морфологическая гетерогенность опухолей большой величины отражает разнообразие их биологических потенциалов, в том числе и способности к лимфогенному и гематогенному метастазированию.

Полученные данные позволяют полагать, что различные варианты сочетания отдельных типов структур инфильтративного компонента не связаны ни с величиной опухоли, ни с вероятностью лимфогенного и гематогенного метастазирования. Определенная связь с вариантами прогрессии ИПР NOS отмечена только в отношении количества типов структур. С увеличением их числа все рассматриваемые варианты опухолевой прогрессии (размер опухоли, частота лимфогенного и гематогенного метастазирования) были более выраженными. При этом вероятность гематогенного метастазирования, в отличие от лимфогенного, зависела еще и от величины опухоли.

Способность к построению разных пространственных клеточных структур отражает фенотипическое разнообразие ИПР NOS и, по-видимому, обусловлена составом и свойствами молекул адгезии, обеспечивающих взаимодействие клеток между собой и с межклеточным матриксом. Увеличение количества разных типов структур инфильтративного компонента, судя по полученным результатам, происходит преимущественно за счет микроальвеолярного, солидного, тубулярного и трабекулярного компонентов. Если с определенными оговорками принять, что величина опухоли отражает время ее существования, то возможно допустить, что

этот феномен не имеет жесткой генетической детерминированности, а в большей степени связан с изменениями, возникающими в процессе роста новообразования. Результаты исследования позволяют предположить, что изначально возникает минимальное число типов структур инфильтративного компонента и далее благодаря изменению способности к экспрессии, прежде всего адгезивных молекул, возникают новые варианты структур. Изменения такого рода находятся в русле представлений об эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП), своеобразной «мезенхимизации» клеток опухоли в процессе ее опухолевой трансформации и приобретения способности к инвазивному росту и метастазированию. Характерными признаками эпителиально-мезенхимального перехода, кроме определенных генетических изменений, является потеря Е-кадгерина, утрата свойственных эпителиальным клеткам промежуточных филаментов и появление признаков мезенхимных клеток, например экспрессия виментина [8, 9]. С позиций представлений об ЭМП тубулярные структуры следует рассматривать как производное наиболее «полноценных» эпителиальных клеток, а дискретно расположенные клетки – как конечную «мезенхимную» фазу такой трансформации. Возрастание в динамике развития опухоли частоты выявления микроальвеолярных, трабекулярных и солидных структур, обнаруженное нами, можно было бы рассматривать как отражение определенных этапов ЭМП, то есть определенной катаплазии эпителиальных клеток. Однако с этих позиций трудно объяснимым фактом является такое же увеличение частоты обнаружения тубулярных структур, поскольку это предположение допу-

скает ситуацию, когда тубулярные структуры могли бы формироваться из клеточных элементов менее дифференцированных вариантов инфильтративного компонента.

Особый интерес представляет отсутствие зависимости частоты встречаемости дискретных групп клеточных элементов от величины опухоли. Этот факт позволяет предположить, что появление «наиболее мезенхимного» варианта ИПР не зависит от времени развития опухоли, то есть он может возникать как в узле малого размера на фоне наличия минимального количества более дифференцированных структур, так и в крупных узлах с максимальным разнообразием инфильтративного компонента. Если допустить, что появление дискретных групп клеток прямо или косвенно отражает не только финальный этап мезенхимизации, но и локомоторный фенотип, способность к метастазированию, то последнее предположение подтверждается общеизвестными данными о возможности метастазирования при минимальных размерах первичного опухолевого узла.

Полученные результаты об отсутствии какой-либо связи между вариантами сочетания разных типов структур инфильтративного компонента, величиной первичного опухолевого узла и метастазированием подтверждают полученные нами ранее данные о прогностическом значении микроальвеолярных структур для лимфогенного метастазирования, а соотношения трабекулярных и тубулярных структур – для гематогенного. По-видимому, приобретение опухолевыми клетками биологического фенотипа, обеспечивающего им способность к лимфогенному или гематогенному метастазированию, действительно зависит лишь от наличия

определенных структур инфильтративного компонента, а не от их сочетания.

Полученные результаты свидетельствуют о морфологической неоднородности смешанной формы ИПР NOS. Появляется все больше морфологических признаков, которые позволят в ближайшей перспективе разделять эту самую многочисленную форму рака молочной железы (до 80 %) на подгруппы, соответствующие высокому риску развития разных форм прогрессирования (темпа роста основного опухолевого узла, лимфогенного и гематогенного метастазирования). Выявленные закономерности требуют изучения дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волченко Н.Н. Морфологические факторы прогноза при раке молочной железы // Российский онкологический журнал. 2000. № 3. С. 49–53.
2. Ермилова В.Д. Роль современной патоморфологии в характеристике рака молочной железы // Практическая онкология. 2002. Т. 3, №1. С. 15–20.
3. Завьялова М.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М. и др. Сопряженность лимфогенного метастазирования и гистологического строения инфильтративного компонента протокового рака молочной железы // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 1 (17). С. 32–35.
4. Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Слонимская Е.М. и др. Особенности гематогенного метастазирования при раке молочной железы в зависимости от гистологического строения опухоли // Сибирский онкологический журнал. 2006. № 3 (19). С. 29–33.
5. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань: Титул, 2004. С. 110–117.
6. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Избранные лекции по клинической онкологии. М., 2000. 736 с.
7. Grille S.J., Bellacosa A., Upton J. et al. The protein kinase Akt induces epithelial mesenchymal transition and promotes enhanced motility and invasiveness of squamous cell carcinoma lines // Cancer Res. 2003. Vol. 1, № 63 (9). P. 2172–2178.
8. Kang Y., Massague J. Epithelial-mesenchymal transitions: twist in development and metastasis // Cell. 2004. Vol. 6, № 118 (3). P. 277–279.
9. Weigelt B., Peterse J.L., Van't Veer L.J. Breast cancer metastasis: markers and models // Nature reviews cancer. 2005. Vol. 5. P. 591–602.

Поступила 13.04.07