

Эпителиально-мезенхимальный переход в прогрессии колоректальной аденокарциномы

М. А. Шишкин*^{А,С-Е}, С. В. Фень^{В,С}

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

А – концепція та дизайн дослідження; В – збір даних; С – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; Е – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Ключевые слова:

колоректальный рак, E-кадгерин, CK20, альфа-SMA, виментин, эпителиально-мезенхимальный переход.

Запорожский медицинский журнал. 2020. Т. 22, № 5(122). С. 694-700

*E-mail:

Shishkin.stomat@gmail.com

Цель работы – проанализировать показатели иммуногистохимической экспрессии маркеров эпителиального и мезенхимального фенотипов в колоректальной аденокарциноме на I–IV стадиях (pTNM) ее развития.

Материалы и методы. Проведено комплексное патогистологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала 30 пациентов, прооперированных по поводу колоректальной аденокарциномы I–IV стадий.

Результаты. Колоректальная аденокарцинома характеризуется низким уровнем экспрессии E-кадгерина – 45,94 (32,04; 58,26) УЕОП. Установлено достоверное снижение уровня экспрессии маркера в последовательности от I к IV стадии. Карцинома характеризуется средним уровнем экспрессии CK-20 – 54,28 (41,55; 70,27) УЕОП. Также отмечено достоверное снижение уровня экспрессии CK-20 в изученной последовательности. Экспрессия CK-20 установлена не только в группах раковых клеток, но и в свободно лежащих в строме опухолы клетках. Колоректальная аденокарцинома характеризуется средним уровнем экспрессии виментина в строме – 95,23 (80,22; 110,21) УЕОП. Отмечено достоверное возрастание уровня экспрессии маркера в последовательности от I к IV стадии опухоли. Обнаружена тенденция к скоплению виментин-иммунопозитивных клеток вокруг групп раковых клеток. Карцинома характеризуется средним уровнем экспрессии α -SMA – 75,71 (60,22; 90,34) УЕОП. Отмечено достоверное возрастание уровня экспрессии маркера в последовательности от I к IV стадии опухоли, тенденция к скоплению α -SMA-иммунопозитивных клеток вблизи групп раковых клеток. Корреляционный анализ показал прямые связи между уровнями экспрессии E-кадгерина и CK-20 ($r = 0,74, p < 0,05$), виментина и α -SMA ($r = 0,53, p < 0,05$). Установлены обратные связи между уровнями экспрессии E-кадгерина и виментина ($r = -0,43, p < 0,05$), E-кадгерина и α -SMA ($r = -0,53, p < 0,05$), CK-20 и виментина ($r = -0,65, p < 0,05$), CK-20 и α -SMA ($r = -0,69, p < 0,05$).

Выводы. При прогрессии колоректальной аденокарциномы от I к IV стадии (pTNM) происходит параллельная утрата раковыми клетками эпителиального фенотипа и возрастание числа клеток с мезенхимальным фенотипом.

Ключові слова:

колоректальний рак, E-кадгерин, CK20, альфа-SMA, виментин, епітеліально-мезенхімальний перехід.

Запорізький медичний журнал. 2020. Т. 22, № 5(122). С. 694-700

Епітеліально-мезенхімальний перехід у прогресії колоректальної аденокарциноми

М. А. Шишкін, С. В. Фень

Мета роботи – проаналізувати показники імуногістохімічної експресії маркерів епітеліального та мезенхімального фенотипів у колоректальній аденокарциномі на I–IV стадіях (pTNM).

Матеріали та методи. Здійснили комплексне патогістологічне та імуногістохімічне дослідження операційного матеріалу 30 пацієнтів, яких прооперували з приводу колоректальної аденокарциноми I–IV стадій.

Результати. Колоректальна аденокарцинома характеризується низьким рівнем експресії E-кадгерину – 45,94 (32,04; 58,26) УООЩ. Виявили вірогідне зниження рівня експресії маркера в послідовності від I до IV стадії. Карцинома характеризується середнім рівнем експресії CK-20 – 54,28 (41,55; 70,27) УООЩ. Також встановили вірогідне зниження рівня експресії CK-20 у цій послідовності. Експресія CK-20 виявлена не тільки у групах ракових клітин, але і в окремо розташованих у пухлинній стромі клітинах. Колоректальна аденокарцинома характеризується середнім рівнем експресії виментину у стромі – 95,23 (80,22; 110,21) УООЩ. Визначили вірогідне зростання рівня експресії маркера в послідовності від I до IV стадії пухлини. Встановили тенденцію до скупчення виментин-імунопозитивних клітин навколо груп ракових клітин. Карцинома характеризується середнім рівнем експресії α -SMA – 75,71 (60,22; 90,34) УООЩ. Виявили вірогідне зростання рівня експресії маркера в послідовності від I до IV стадії пухлини, тенденцію до скупчення α -SMA-імунопозитивних клітин поблизу груп ракових клітин. Кореляційний аналіз показав прямі зв'язки між рівнями експресії E-кадгерину і CK-20 ($r = 0,74, p < 0,05$), виментину і α -SMA ($r = 0,53, p < 0,05$). Визначили зворотні зв'язки між рівнями експресії E-кадгерину і виментину ($r = -0,43, p < 0,05$), E-кадгерину і α -SMA ($r = -0,53, p < 0,05$), CK-20 і виментину ($r = -0,65, p < 0,05$), CK-20 і α -SMA ($r = -0,69, p < 0,05$).

Висновки. Під час прогресії колоректальної аденокарциноми від I до IV стадії (pTNM) відбувається паралельна втрата раковими клітинами епітеліального фенотипу та зростання кількості клітин із мезенхімальним фенотипом.

Epithelial-mesenchymal transition in colorectal adenocarcinoma progression

M. A. Shyshkin, S. V. Fen

Aim – to analyze immunohistochemical expression levels of epithelial and mesenchymal phenotype markers in colorectal adenocarcinoma on I–IV stages (pTNM).

Materials and methods. Pathohistological and immunohistochemical studies of surgical material from 30 patients that had undergone surgical treatment of colorectal adenocarcinoma (I–IV stages) were carried out.

Results. Colorectal adenocarcinoma is characterized by the low E-cadherin expression level is 45.94 (32.04; 58.26) CUOD. A statistically significant decrease in the marker expression level in sequence from stages I to IV was revealed. Carcinoma is characterized by the medium CK-20 expression level is 54.28 (41.55; 70.27) CUOD. A statistically significant decrease in the marker expression level in the studied sequence was revealed as well. Furthermore, CK-20 expression is revealed not only in cancer cells clusters, but also in cells which are located separately in tumor stroma. Colorectal adenocarcinoma is characterized by the medium vimentin expression level in the stroma is 95.23 (80.22; 110.21) CUOD. A statistically significant increase in the marker expression level in sequence from stages I to IV was revealed. Besides, there is a tendency to vimentin-immunopositive cells accumulation near cancer cells clusters. Carcinoma is characterized by the medium α -SMA expression level: the median of its expression is 75.71 (60.22; 90.34) CUOD. There is also a tendency to α -SMA-immunopositive cells accumulation near cancer cells clusters. Correlation analysis revealed direct connections between E-cadherin and CK-20 expression levels ($r = 0.74$, $P < 0.05$), vimentin and α -SMA expression levels ($r = 0.53$, $P < 0.05$). Moreover, reverse connections between E-cadherin and vimentin expression levels ($r = -0.43$, $P < 0.05$), E-cadherin and α -SMA expression levels ($r = -0.53$, $P < 0.05$), CK-20 and vimentin expression levels ($r = -0.65$, $P < 0.05$), CK-20 and α -SMA expression levels ($r = -0.69$, $P < 0.05$) were revealed.

Conclusions. Parallel loss of epithelial phenotype and an increase of mesenchymal phenotype cells number occur during colorectal adenocarcinoma progression from stages I to IV (pTNM).

Key words:

colorectal cancer, E-cadherin, cytokeratin 20, alpha-SMA protein, vimentin, epithelial-mesenchymal transition.

Zaporozhye medical journal 2020; 22 (5), 694-700

Большинство случаев колоректального рака (КРР) относят к спорадическим [1]. Спорадические карциномы развиваются, как правило, на фоне предшествующих предраковых изменений слизистой в результате накопления генетических и эпигенетических аномалий, что приводит к дисбалансу пролиферации и апоптоза, а также обеспечивает реализацию инвазивно-метастатических свойств раковых клеток [2]. Четкое понимание механизмов реализации данных свойств необходимо для разработки новых, более эффективных методов лечения КРР.

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) – процесс, в ходе которого эпителиальные клетки приобретают свойства мезенхимальных [3–5]. ЭМП считают основным механизмом реализации инвазивных и метастатических свойств раковых клеток. В результате ЭМП тесно связанные друг с другом эпителиоциты разобщаются, утрачивают полярность, обретают мезенхимальный фенотип, свойство подвижности, а также способность к синтезу и деградации компонентов внеклеточного матрикса [3].

ЭМП описан для ряда карцином, включая КРР, но точные механизмы его реализации все еще изучаются. Для изучения этого процесса в серийных срезах используют маркеры эпителиального (E-кадгерин, цитокератины, десмоплакин) и мезенхимального (виментин, α -SMA, десмин) фенотипов [4,5].

E-кадгерин – трансмембранный гликопротеин, играющий ключевую роль в обеспечении межклеточной адгезии. Молекулы E-кадгерина, локализованные преимущественно на базолатеральных поверхностях эпителиоцитов, формируют экстрацеллюлярные, трансмембранный и цитоплазматический доменами. Цитоплазматический домен E-кадгерина может связываться с рядом молекул, включая молекулы β -катенина, вовлекая его в функционирование Wnt/ β -катенинового сигнального пути. Последний, в свою очередь, относится к сигнальным каскадам, способным запускать ЭМП [6].

Цитокератины (СК) – семейство белков, формирующих промежуточные филаменты цитоскелета эпителиальных клеток. На основании молекулярной массы выделяют 54 вида молекул данного семейства. Каждая молекула состоит из центрального α -спирального

домена, а также головного и хвостового доменов. Посттрансляционные модификации последних регулируют функцию цитокератинов, которые, помимо формирования каркаса клеточки, участвуют в процессе дифференцировки эпителиоцитов и обеспечении реализации их фенотипических свойств. Каждый из представителей данного семейства обладает тканеспецифичностью [7]. СК-20 – кератин зрелых энтероцитов и бокаловидных клеток – традиционно применяют в онкоморфологии для дифференциальной диагностики [8].

Виментин – белок промежуточных филаментов клеток мезодермального происхождения. Молекула-номер виментина имеет строение, типичное для белков промежуточных филаментов: центральный α -спиральный домен, головной и хвостовой домены. Особенность заключается в том, что мономеры виментина закручиваются друг вокруг друга, образуя спиральные димеры. Формирование димеров виментина играет ключевую роль в поддержании целостности каркаса мезенхимальных клеток. Динамическая природа виментина обеспечивает способность клеток к изменению формы, а его взаимодействие с другими компонентами цитоскелета обеспечивает свойство подвижности мезенхимальных клеток. Соответствующий маркер широко применяется в качестве онкомаркера сарком. В современной научной литературе все чаще встречаются сообщения о возрастающей экспрессии виментина в ряде карцином, среди возможных причин данного феномена – ЭМП [9,10].

α -SMA – одна из изоформ актина, основного компонента клеточных микрофиламентов. Молекула α -SMA – глобулярный белок, в результате полимеризации которого формируются актиновые спиральные филаменты. В норме α -SMA обнаруживают в миофибробластах, гладкомышечных клетках; помимо каркасной функции, обеспечивает их способность к сокращению. Экспрессию α -SMA определяют в заживающих ранах, очагах фиброза, в стромальном компоненте карцином [11]. В современных исследованиях α -SMA и виментин широко применяют для выявления активных опухолеассоциированных фибробластов, что позволяет изучать вопросы, связанные с взаимодействием раковых клеток и их микроокружения, включая вопросы инициации и прогрессии ЭМП [5,10,11].

Цель работы

Проанализировать показатели иммуногистохимической экспрессии маркеров эпителиального и мезенхимального фенотипов в колоректальной аденокарциноме на I–IV стадиях (pTNM) ее развития.

Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование операционного материала колоректальной аденокарциномы (КРА) 30 пациентов. На основании результатов патоморфологического исследования, учитывая действующую классификацию pTNM [16], сформировали 4 группы наблюдения: I стадия ($T_{1-2} N_0 M_0$), II стадия ($T_{3-4} N_0 M_0$), III стадия ($T_{1-4} N_{1-3} M_0$), IV стадия ($T_{1-4} N_{1-3} M_1$). В качестве группы контроля использован секционный материал – 10 фрагментов стенки толстого кишечника (дистальные отделы) обычной гистологической структуры.

Операционный и секционный материал фиксировали в 10 % забуференном формалине и заливали в парафин. Особенности гистологического строения исследованных образцов изучали в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ-исследование проводили по стандартной методике, предусмотренной производителем антител. Использовали моноклональные антитела к Е-кадгерину (Clone NCH-38, DAKO, USA), цитokerатину-20 (Clone Ab-1, ThermoScientific, USA), виментину (Clone Ab-2, ThermoScientific, USA), гладкомышечному актину (Actin, Smooth Muscle, Clone Ab-1, ThermoScientific, USA). Результаты ИГХ-исследования оценивали в микроскопе Axioplan-2 (Carl Zeiss, Germany) при увеличении $\times 200$. В каждом случае оценивали 5 полей зрения. Уровни экспрессии ИГХ-маркеров оценивали методом фотоцифровой морфометрии, результаты выражали в условных единицах оптической плотности (УЕОП): 0–20 УЕОП – негативная реакция, 21–50 УЕОП – низкий уровень экспрессии, 51–100 УЕОП – умеренный уровень экспрессии, более 100 УЕОП – высокий уровень экспрессии.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи пакета Statistica® for Windows 13.0 (StatSoft Inc., лицензия № JPZ8041382130ARCN10-J). Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_1 , Q_3); сравнение между двумя группами наблюдений проводили при помощи критерия Манна–Уитни, между тремя и более группами наблюдений – при помощи критерия Краскела–Уоллиса; корреляционный анализ проведен с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Результаты считали статистически значимыми на уровне 95 % ($p < 0,05$).

Результаты

В результате патогистологического исследования операционного материала КРА установлено, что I стадия заболевания ($T_{1-2} N_0 M_0$) диагностирована в 16,7 % случаев, II стадия ($T_{3-4} N_0 M_0$) – в 26,7 %, III стадия ($T_{1-4} N_{1-2} M_0$) – в 33,3 %, IV стадия заболевания ($T_{1-4} N_{1-2} M_1$) – в 23,3 %. Случаи высокодифференцированной (G_1) КРА составили 16,7 % от общего числа, умеренно

дифференцированной (G_2) КРА – 16,7 %, низко дифференцированной (G_3) КРА – 66,6 %.

В результате ИГХ-исследования получены следующие данные. В 100 % изученных КРА отмечена мембранно-цитоплазматическая экспрессия Е-кадгерина в раковых клетках, формирующих железистые структуры (в G_1 и G_2 карциномах) и пласты (в G_3 карциномах). КРА характеризуется низким уровнем экспрессии Е-кадгерина – 45,94 (32,04; 58,26) УЕОП (рис. 1). Также отмечено достоверное снижение уровня экспрессии маркера в последовательности от I к IV стадии КРА: на I стадии – 90,05 (81,19; 112,04) УЕОП, на II стадии – 55,29 (47,22; 64,24) УЕОП, на III стадии – 34,39 (30,46; 50,08) УЕОП, на IV стадии – 25,30 (21,98; 40,81) УЕОП ($p < 0,05$).

Мембранно-цитоплазматическая экспрессия СК-20 обнаружена в 76,6 % КРА в раковых клетках, формирующих группы, а также в 40 % КРА в свободно лежащих в строме опухоли раковых клетках разных форм и размеров (рис. 2). КРА характеризуется средним уровнем экспрессии СК-20 – 54,28 (41,55; 70,27) УЕОП. Установлено достоверное снижение уровня экспрессии СК-20 в изученной последовательности: на I стадии КРА – 84,17 (73,17; 92,63) УЕОП, на II стадии – 62,15 (54,14; 70,27) УЕОП, на III стадии – 46,82 (41,24; 53,48) УЕОП, на IV стадии – 33,72 (24,14; 41,59) УЕОП ($p < 0,05$).

Мембранно-цитоплазматическая экспрессия виментина обнаружена в клетках стромы опухоли в 100 % изученных карцином, установлена тенденция к скоплению виментин-иммунопозитивных клеток вокруг структур, сформированных раковыми клетками (рис. 3). КРА характеризуется средним уровнем экспрессии виментина – 95,23 (80,22; 110,21) УЕОП. Отмечено достоверное возрастание уровня экспрессии маркера в последовательности от I к IV стадии КРА: на I стадии – 70,22 (61,15; 78,65) УЕОП, на II стадии – 86,65 (80,22; 97,55) УЕОП, на III стадии – 103,88 (90,31; 115,24) УЕОП, на IV стадии – 108,45 (96,33; 119,15) УЕОП ($p < 0,05$).

Мембранно-цитоплазматическая экспрессия α -SMA установлена в 100 % изученных карцином в отдельных преимущественно веретенообразных клетках стромы опухоли, отмечена тенденция к скоплению α -SMA-иммунопозитивных клеток вблизи структур, сформированных раковыми клетками (рис. 4). КРА характеризуется средним уровнем экспрессии α -SMA – 75,71 (60,22; 90,34) УЕОП. Установлено достоверное возрастание уровня экспрессии α -SMA в изученной последовательности: на I стадии – 41,15 (31,17; 48,98) УЕОП, на II стадии – 70,21 (55,47; 80,22) УЕОП, на III стадии – 88,74 (75,54; 95,14) УЕОП, на IV стадии – 90,84 (80,34; 96,35) УЕОП ($p < 0,05$).

С применением корреляционного анализа установлены взаимосвязи между уровнями экспрессии изученных маркеров в КРА: прямая сильная корреляция между экспрессией маркеров эпителиального фенотипа Е-кадгерина и СК-20 ($r = 0,74$, $p < 0,05$), прямая средней силы корреляция между экспрессией маркеров мезенхимального фенотипа виментина и α -SMA ($r = 0,53$, $p < 0,05$). Кроме того, отмечены обратные слабые и средней силы корреляции между экспрессией маркеров эпителиального и мезенхимального фенотипов клетками КРА: между Е-кадгерин и виментином ($r = -0,43$, $p < 0,05$), Е-кадгерин и α -SMA ($r = -0,53$, $p < 0,05$), СК-20 и виментином ($r = -0,65$, $p < 0,05$), СК-20 и α -SMA ($r = -0,69$, $p < 0,05$).

Обсуждение

Согласно полученным данным, КРА характеризуется низким уровнем экспрессии Е-кадгерина раковыми клетками, который снижается в последовательности от I к IV стадии опухоли по рТНМ. По данным научной литературы, снижение экспрессии Е-кадгерина в ходе кишечного канцерогенеза может быть обусловлено мутациями кодирующего гена *CDH1*, эпигенетическими аномалиями (гиперметилирование), а также активацией генов, подавляющих экспрессию *CDH1* [6]. К последним относят *SNAI1* и *SNAI2* – гены, кодирующие факторы транскрипции Snail и Slug, инициаторы ЭМП [10]. Снижение экспрессии Е-кадгерина также является одним из звеньев активации ЭМП: снижение количества молекул Е-кадгерина приводит к возрастанию количества свободных молекул β -катенина в цитоплазме, что при условии дезактивации комплекса деструкции влечет за собой транслокацию β -катенина в ядро, формирование ядерного комплекса β -катенин/TCF и активацию Wnt/ β -катенинового сигнального пути. Этот процесс в КРА чаще всего связан с мутациями гена *APC*, но может быть обусловлен и другими молекулярно-генетическими аномалиями. Среди таргетных генов Wnt/ β -катенинового сигнального пути – инициаторы ЭМП *SNAI1* и *SNAI2* [12], о которых сказано выше. Таким образом, снижение экспрессии Е-кадгерина в КРА может быть как одним из звеньев инициации ЭМП, так и одним из эффектов реализации ЭМП. В контексте реализации ЭМП именно утрата молекул Е-кадгерина приводит к разобщению адгезивных межклеточных контактов атипичных эпителиоцитов, что формирует основу их дальнейшей фенотипической трансформации [6].

Получены данные, согласно которым КРА характеризуется средним уровнем экспрессии СК-20, который также снижается в последовательности от I к IV стадии прогрессии опухоли. СК-20 широко применяют для дифференциальной диагностики КРА с раком молочной железы, печени, легких и рядом других злокачественных опухолей [8]. При этом в специализированной литературе все чаще встречаются упоминания о СК-20-негативных вариантах КРА, которые составляют 10–25 % от общего числа опухолей [8, 13, 14]. В проведенном исследовании СК-20-негативные варианты КРА составили 23,4 %, что отвечает данным современной научной литературы. По данным Jaudah Al-Maghrabi et al. (2018), СК-20-негативные карциномы составляют преимущественно опухоли с высоким уровнем микросателлитной нестабильности (MSI-H-фенотип) [8].

Установленная в работе прямая сильная корреляция между уровнями экспрессии Е-кадгерина и СК-20, которые снижаются в изученной последовательности, отражает утрату свойств эпителиального фенотипа раковыми клетками КРА при прогрессии опухоли. В отличие от Е-кадгерина, экспрессию которого отмечают исключительно в раковых клетках, формирующих железистые структуры (в G_1 и G_2 карциномах) и пласты (в G_3 карциномах), экспрессию СК-20 отмечают также в свободно лежащих в строме опухоли клетках разных форм и размеров. Последние, вероятно, являются раковыми клетками, утратившими адгезивные свойства (на основании отсутствия экспрессии Е-кадгерина), но все еще сохраняющими отдельные признаки эпителиального

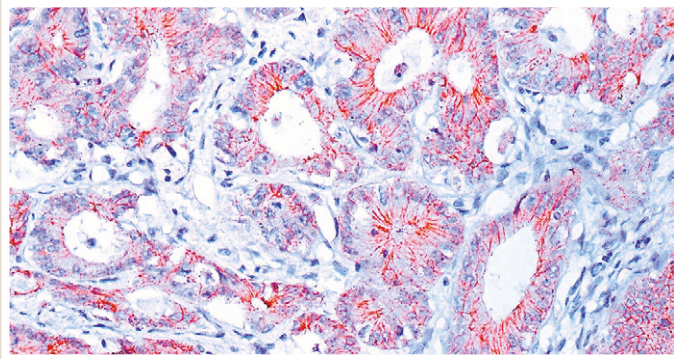


Рис. 1. Экспрессия Е-кадгерина в колоректальной аденокарциноме. Мо а-Hu E-cadherin, Clone NCH-38 (DAKO, USA). Ув. $\times 400$.

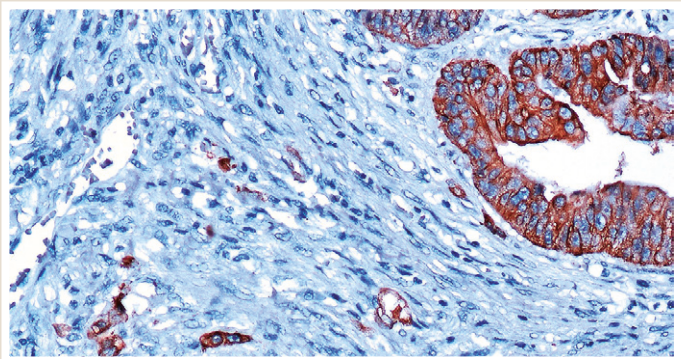


Рис. 2. Экспрессия СК-20 в колоректальной аденокарциноме. Мо а-Hu CK-20 (Clone Ab-1, ThermoScientific, USA). Ув. $\times 400$.

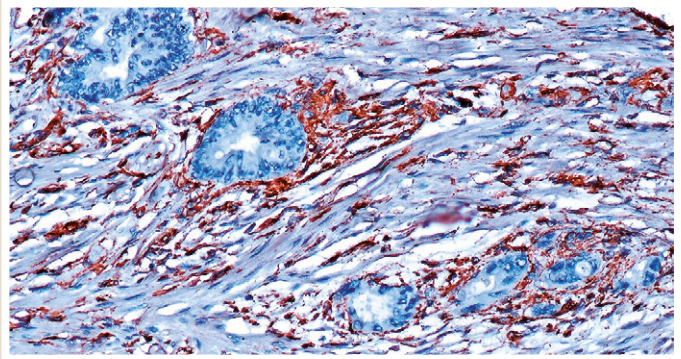


Рис. 3. Экспрессия виментина в колоректальной аденокарциноме. Мо а-Hu Vimentin (Clone Ab-2, ThermoScientific, USA). Ув. $\times 400$.

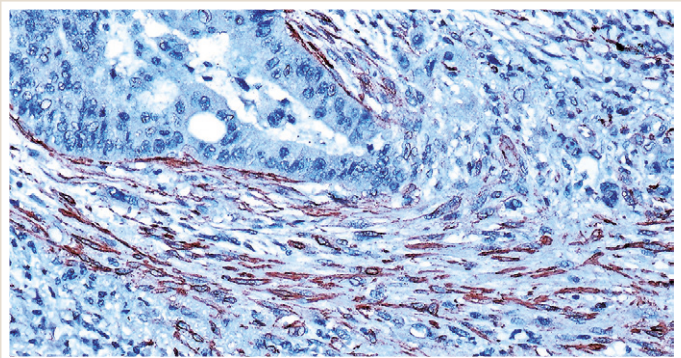


Рис. 4. Экспрессия α -SMA в колоректальной аденокарциноме. Мо а-Hu Actin, Smooth Muscle (Clone Ab-1, ThermoScientific, USA). Ув. $\times 400$.

фенотипа (на основании экспрессии СК-20). Именно такие клетки с высокой вероятностью подвергаются дальнейшему эпителиально-мезенхимальному переходу [10].

Отмечено также, что КРА характеризуется средним уровнем экспрессии виментина, возрастающим в последовательности от I к IV стадии развития опухоли. По данным научной литературы, экспрессия виментина характеризует стромальный компонент опухоли, ее отмечают в фибробластах (включая популяцию активных тумор-ассоциированных фибробластов), эндотелиоцитах, а также в инфильтрирующих опухоль лимфоцитах [15]. Установлена также экспрессия маркера в стромальном компоненте опухоли, с отчетливой тенденцией к скоплению виментин-иммунопозитивных клеток вокруг структур, сформированных раковыми клетками. Известно, что названные виментин-иммунопозитивные клетки вырабатывают цитокины, оказывающие регуляторное влияние на различные аспекты прогрессии раковых клеток их выживаемость, фенотипические свойства, ангиогенез [15]. Тенденция к скоплению виментин-позитивных клеток вокруг раковых клеток отражает задействование паракринных механизмов регуляции. С одной стороны, возрастающее число виментин-позитивных иммунцитов может обеспечивать противоопухолевый иммунный ответ, что означает подавление опухолевого роста и рассматривается в качестве прогностически благоприятного фактора [16]. С другой стороны, в ряде работ показана ассоциация между возрастающей экспрессией виментин-позитивных клеток в опухолевой строме и продвинутыми стадиями КРА, наличием отдаленных метастазов, ухудшением прогностических показателей [17, 18]. В работе Y. Toiyama et al. (2013) показана достоверная прямая корреляция между возрастанием экспрессии виментина и фактора транскрипции Slug, активация которого является одним из ключевых звеньев инициации ЭМП в КРА [17]. Точный механизм взаимодействия виментина и Slug в КРА до сих пор остается неизученным.

Получены данные, согласно которым КРА характеризуется средним уровнем экспрессии α -SMA, возрастающим в последовательности от I к IV стадии прогрессии опухоли. По данным научной литературы, экспрессия α -SMA характеризует клетки стромального компонента опухоли – миофибробласты (которые относятся к активным тумор-ассоциированным фибробластам) и гладкомышечные клетки (входят в состав стенок сосудов) [11]. Установлена также экспрессия α -SMA в веретенообразных клетках стромы опухоли, с отчетливой тенденцией к скоплению иммунопозитивных клеток вблизи структур, сформированных раковыми клетками. В работе G. M. Son et al. (2019) [19] раскрыт новый аспект значимости уплотнения опухолевой стромы как результат возрастания числа тумор-ассоциированных фибробластов. Традиционно считалось, что рыхлая (менее плотная) строма является благоприятной средой для инфильтративного роста и миграции раковых клеток. В работе [19] показано, что уплотнение опухолевой стромы приводит к возрастанию давления на кластеры раковых клеток, что, помимо механизмов ЭМП, способствует разобщению раковых клеток и их дальнейшей инвазии. В работе C. J. Hanley et al. (2016) [20] показано, что фиброзные компоненты раковой стромы форми-

руют так называемые «треки», определяя тем самым направление миграции обособившихся раковых клеток.

Отмеченная в ходе работы прямая средней силы корреляция между уровнями экспрессии виментина и α -SMA, которые возрастают в последовательности от I к IV стадии прогрессии опухоли, отражает возрастание числа клеток с мезенхимальным фенотипом, в первую очередь, активных форм тумор-ассоциированных фибробластов [5, 10, 11]. Отмечена также тенденция к скоплению виментин- и α -SMA-иммунопозитивных клеток вблизи структур, сформированных раковыми клетками, что отражает задействование паракринных механизмов регуляции. Ранее показано, что виментин-экспрессирующие клетки вырабатывают цитокины, оказывающие регуляторное влияние на различные аспекты прогрессии раковых клеток, их выживаемость, фенотипические свойства, ангиогенез [15]. Известно, что активные тумор-ассоциированные фибробласты задействованы в данных регуляторных воздействиях, при этом существует ряд до конца не изученных вопросов, включая их происхождение, роль в формировании химорезистентности карцином, а также роль в ЭМП [21]. Происхождение этих клеток вызывает вопросы, поскольку, с одной стороны, согласно современным данным, неактивные формы тумор-ассоциированных фибробластов обладают свойствами стволовых клеток взрослых [21]. С другой стороны, существует теория, что их возрастающее число в карциномах – результат ЭМП раковых клеток [10]. В научной литературе найдены данные, что активные формы тумор-ассоциированных фибробластов секретируют цитокины, опосредующие активацию ЭМП [11].

Установлены обратные слабые и средней силы корреляции между экспрессией маркеров эпителиального и мезенхимального фенотипов клетками КРА, что отражает параллельную утрату раковыми клетками свойств эпителиального фенотипа и возрастание числа клеток с мезенхимальным фенотипом при прогрессии КРА. Это согласуется с данными, полученными для каждого из изученных маркеров, а также находит обоснование в современной научной литературе [5, 6, 9, 10, 18]. Однако остается ряд до конца неизученных вопросов, требующих проведения дальнейших исследований.

Выводы

1. Колоректальная аденокарцинома характеризуется низким уровнем экспрессии E-кадгерина и средним уровнем экспрессии СК-20, которые снижаются в последовательности от I к IV стадиям (pTNM).

2. Колоректальную аденокарциному характеризуют средние уровни экспрессии виментина и α -SMA, которые возрастают в последовательности от I к IV стадиям (pTNM).

3. При прогрессии колоректальной аденокарциномы от I к IV стадии (pTNM) происходит параллельная утрата раковыми клеткам эпителиального фенотипа и возрастание числа клеток с мезенхимальным фенотипом.

Перспективы дальнейших исследований. Планируется изучение роли раковых стволовых клеток в прогрессии колоректальной аденокарциномы, включая их вовлеченность в процесс эпителиально-мезенхимального перехода.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 16.06.2020

Після доопрацювання / Revised: 30.06.2020

Прийнято до друку / Accepted: 02.07.2020

Сведения об авторах:

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Фень С. В., канд. мед. наук, ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Відомості про авторів:

Шишкин М. А., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Фень С. В., канд. мед. наук, асистент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Information about authors:

Shyshkin M. A., MD, PhD, Associate Professor, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Fen S. V., MD, PhD, Assistant, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список литературы

- [1] Rawla P., Sunkara T., Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2019. Vol. 14. Issue 2. P. 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>
- [2] Church J. Molecular genetics of colorectal cancer. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*. 2016. Vol. 27. Issue 4. P. 172-175. <https://doi.org/10.1053/j.scrcs.2016.04.013>
- [3] Epithelial Mesenchymal Transition in Cancer Progression: Prevalent Phytochemicals / S. P. Illam et al. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*. 2017. Vol. 12. Issue 3. P. 234-246. <https://doi.org/10.2174/1574892812666170424150407>
- [4] Vu T., Datta P. K. Regulation of EMT in Colorectal Cancer: A Culprit in Metastasis. *Cancers*. 2017. Vol. 9. Issue 12. P. 171. <https://doi.org/10.3390/cancers9120171>
- [5] Epithelial-mesenchymal Transition and Its Role in the Pathogenesis of Colorectal Cancer / Q. C. Zhu, R. Y. Gao, W. Wu, H. L. Qin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2013. Vol. 14. Issue 5. P. 2689-2698. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.5.2689>
- [6] E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications / S. Wong et al. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2018. Vol. 121. P. 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.11.010>
- [7] Multifaceted role of keratins in epithelial cell differentiation and transformation / C. Dmello et al. *Journal of Biosciences*. 2019. Vol. 44. Issue 2. P. 33. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9864-8>
- [8] Al-Maghrabi J., Emam E., Gomaa W. Immunohistochemical staining of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 in colorectal carcinomas: Four different immunostaining profiles. *Saudi Journal of Gastroenterology*. 2018. Vol. 24. Issue 2. P. 129-134. https://doi.org/10.4103/sjg.SJG_465_17
- [9] Vimentin on the move: new developments in cell migration / R. A. Battaglia, S. Delic, H. Herrmann, N. T. Snider. *F1000Research*. 2018. Vol. 7. Issue F1000 Faculty Rev. P. 1796. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15967.1>
- [10] Ribatti D., Tamma R., Annessi T. Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview. *Translational Oncology*. 2020. Vol. 13. Issue 6. P. 100773. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100773>
- [11] Kuzet S. E., Gaggioli C. Fibroblast activation in cancer: when seed fertilizes soil. *Cell and Tissue Research*. 2016. Vol. 365. Issue 3. P. 607-619. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2467-x>
- [12] Schatoff E. M., Leach B. I., Dow L. E. Wnt Signaling and Colorectal Cancer. *Current Colorectal Cancer Reports*. 2017. Vol. 13. Issue 2. P. 101-110. <https://doi.org/10.1007/s11888-017-0354-9>
- [13] CK7 expression associates with the location, differentiation, lymph node metastasis, and the Dukes' stage of primary colorectal cancers /

- F. Fei et al. *Journal of Cancer*. 2019. Vol. 10. Issue 11. P. 2510-2519. <https://doi.org/10.7150/jca.29397>
- [14] Diagnostic value of SATB2, CK7 and CK20 in colorectal cancer / J. Lyn et al. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*. 2015. Vol. 44. Issue 8. P. 578-581.
- [15] Vimentin Diversity in Health and Disease / F. Danielsson et al. *Cells*. 2018. Vol. 7. Issue 10. P. 147. <https://doi.org/10.3390/cells7100147>
- [16] The vimentin intermediate filament network restrains regulatory T cell suppression of graft-versus-host disease / C. McDonald-Hyman et al. *The Journal of Clinical Investigation*. 2018. Vol. 128. Issue 10. P. 4604-4621. <https://doi.org/10.1172/JCI95713>
- [17] Increased expression of Slug and Vimentin as novel predictive biomarkers for lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer / Y. Toyama et al. *Carcinogenesis*. 2013. Vol. 34. Issue 11. P. 2548-2557. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt282>
- [18] Co-expression of cytokeratin and vimentin in colorectal cancer highlights a subset of tumor buds and an atypical cancer-associated stroma / S. N. Meyer et al. *Human Pathology*. 2019. Vol. 87. P. 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.02.002>
- [19] Comparisons of cancer-associated fibroblasts in the intratumoral stroma and invasive front in colorectal cancer / G. M. Son et al. *Medicine*. 2019. Vol. 98. Issue 18. P. e15164. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015164>
- [20] A subset of myofibroblastic cancer-associated fibroblasts regulate collagen fiber elongation, which is prognostic in multiple cancers / C. J. Hanley et al. *Oncotarget*. 2016. Vol. 7. Issue 5. P. 6159-6174. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6740>
- [21] Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer*. 2016. Vol. 16. Issue 9. P. 582-598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>

References

- [1] Rawla P., Sunkara T., Barsouk A. (2019). Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*, 14(2), 89-103. <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>
- [2] Church, J. (2016). Molecular genetics of colorectal cancer. *Seminars in Colon and Rectal Surgery*, 27(4), 172-175. <https://doi.org/10.1053/j.scrcs.2016.04.013>
- [3] Illam, S. P., Narayanankutty, A., Mathew, S. E., Valsalakumari, R., Jacob, R. M., & Raghavamenon, A. C. (2017). Epithelial Mesenchymal Transition in Cancer Progression: Prevalent Phytochemicals. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 12(3), 234-246. <https://doi.org/10.2174/1574892812666170424150407>
- [4] Vu, T., & Datta, P. K. (2017). Regulation of EMT in Colorectal Cancer: A Culprit in Metastasis. *Cancers*, 9(12), Article 171. <https://doi.org/10.3390/cancers9120171>
- [5] Zhu, Q. C., Gao, R. Y., Wu, W., & Qin, H. L. (2013). Epithelial-mesenchymal Transition and Its Role in the Pathogenesis of Colorectal Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(5), 2689-2698. <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.5.2689>
- [6] Wong, S., Fang, C. M., Chuah, L. H., Leong, C. O., & Ngai, S. C. (2018). E-cadherin: Its dysregulation in carcinogenesis and clinical implications. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 121, 11-22. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.11.010>
- [7] Dmello, C., Srivastava, S. S., Tiwari, R., Chaudhari, P. R., Sawant, S., & Vaidya, M. M. (2019). Multifaceted role of keratins in epithelial cell differentiation and transformation. *Journal of Biosciences*, 44(2), Article 33. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9864-8>
- [8] Al-Maghrabi, J., Emam, E., & Gomaa, W. (2018). Immunohistochemical staining of cytokeratin 20 and cytokeratin 7 in colorectal carcinomas: Four different immunostaining profiles. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 24(2), 129-134. https://doi.org/10.4103/sjg.SJG_465_17
- [9] Battaglia, R. A., Delic, S., Herrmann, H., & Snider, N. T. (2018). Vimentin on the move: new developments in cell migration. *F1000Research*, 7(F1000 Faculty Rev), Article 1796. <https://doi.org/10.12688/f1000research.15967.1>
- [10] Ribatti, D., Tamma, R., & Annessi, T. (2020). Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: A Historical Overview. *Translational Oncology*, 13(6), Article 100773. <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2020.100773>
- [11] Kuzet, S. E., & Gaggioli, C. (2016). Fibroblast activation in cancer: when seed fertilizes soil. *Cell and Tissue Research*, 365(3), 607-619. <https://doi.org/10.1007/s00441-016-2467-x>
- [12] Schatoff, E. M., Leach, B. I., & Dow, L. E. (2017). Wnt Signaling and Colorectal Cancer. *Current Colorectal Cancer Reports*, 13(2), 101-110. <https://doi.org/10.1007/s11888-017-0354-9>
- [13] Fei, F., Li, C., Cao, Y., Liu, K., Du, J., Gu, Y., Wang, X., Li, Y., & Zhang, S. (2019). CK7 expression associates with the location, differentiation, lymph node metastasis, and the Dukes' stage of primary colorectal cancers. *Journal of Cancer*, 10(11), 2510-2519. <https://doi.org/10.7150/jca.29397>
- [14] Lyn, J., Wang, Y., Wang, F., Shen, M., & Zhou, X. (2015). Diagnostic value of SATB2, CK7 and CK20 in colorectal cancer. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi*, 44(8), 578-581.

- [15] Danielsson, F., Peterson, M. K., Caldeira Araújo, H., Lautenschläger, F., & Gad, A. (2018). Vimentin Diversity in Health and Disease. *Cells*, 7(10), Article 147. <https://doi.org/10.3390/cells7100147>
- [16] McDonald-Hyman, C., Muller, J. T., Loschi, M., Thangavelu, G., Saha, A., Kumari, S., Reichenbach, D. K., Smith, M. J., Zhang, G., Koehn, B. H., Lin, J., Mitchell, J. S., Fife, B. T., Panoskaltzis-Mortari, A., Feser, C. J., Kirchmeier, A. K., Osborn, M. J., Hippen, K. L., Kelekar, A., Serody, J. S., ... Blazar, B. R. (2018). The vimentin intermediate filament network restrains regulatory T cell suppression of graft-versus-host disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(10), 4604-4621. <https://doi.org/10.1172/JCI95713>
- [17] Toiyama, Y., Yasuda, H., Saigusa, S., Tanaka, K., Inoue, Y., Goel, A., & Kusunoki, M. (2013). Increased expression of Slug and Vimentin as novel predictive biomarkers for lymph node metastasis and poor prognosis in colorectal cancer. *Carcinogenesis*, 34(11), 2548-2557. <https://doi.org/10.1093/carcin/bqt282>
- [18] Meyer, S. N., Galván, J. A., Zahnd, S., Sokol, L., Dawson, H., Lugli, A., & Zlobec, I. (2019). Co-expression of cytokeratin and vimentin in colorectal cancer highlights a subset of tumor buds and an atypical cancer-associated stroma. *Human Pathology*, 87, 18-27. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2019.02.002>
- [19] Son, G. M., Kwon, M. S., Shin, D. H., Shin, N., Ryu, D., & Kang, C. D. (2019). Comparisons of cancer-associated fibroblasts in the intratumoral stroma and invasive front in colorectal cancer. *Medicine*, 98(18), Article e15164. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000015164>
- [20] Hanley, C. J., Noble, F., Ward, M., Bullock, M., Drifka, C., Mellone, M., Manousopoulou, A., Johnston, H. E., Hayden, A., Thirdborough, S., Liu, Y., Smith, D. M., Mellows, T., Kao, W. J., Garbis, S. D., Mirzazami, A., Underwood, T. J., Eliceiri, K. W., & Thomas, G. J. (2016). A subset of myofibroblastic cancer-associated fibroblasts regulate collagen fiber elongation, which is prognostic in multiple cancers. *Oncotarget*, 7(5), 6159-6174. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6740>
- [21] Kalluri, R. (2016). The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 16(9), 582-598. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.73>