

Р. Ф. Зибиров, С. А. Мозеров

Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии», Калужская область, Обнинск

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПРЕССИИ СИНДЕКАНА-1 (CD138) В КЛЕТКАХ ОПУХОЛИ И ФИБРОБЛАСТАХ СТРОМЫ ПЛОСКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЯЗЫКА

УДК 616-006.61

Была проведена оценка экспрессии синдекана-1 (CD138) в клетках опухоли и фибробластах стромы плоскоклеточного рака языка.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что изменение дифференцировки плоскоклеточного рака языка сопровождается изменением экспрессии опухолевыми клетками синдекана-1, а при изучении экспрессии данного белка необходимо обращать внимание, как на количество экспрессирующих синдекан-1 опухолевых клеток, так и на качество экспрессии (слабая, умеренная, сильная), ее гетерогенность. Экспрессия синдекана-1 в фибробластах стромы плоскоклеточного рака языка определяется редко и является очаговой и слабой.

Ключевые слова: рак языка, дифференцировка, синдекан-1.

R. F. Zibirov, S. A. Mozerov

CHARACTERIZATION OF SYNDECAN-1 (CD138) EXPRESSION IN THE TUMOR CELLS AND STROMAL FIBROBLASTS OF TONGUE SQUAMOUS CELL CARCINOMA

To evaluate the expression of syndecan-1 (CD138) in parenchymal cells and stromal fibroblasts of tongue squamous cell carcinoma.

Obtained results indicate that change of differentiation of squamous cell cancer of the tongue is accompanied by a change in the expression of syndecan-1 by tumor cells, and during investigation of syndecan-1 expression, it is necessary to pay attention to both the number of tumor cells with expression, and the quality (weak, moderate, strong) of expression, its heterogeneity. Expression of syndecan-1 in the stromal fibroblasts of the tongue squamous cell carcinoma is rarely detected and it is focal and weak.

Key word: squamous tongue carcinoma, differentiation, syndecan-1.

Ежегодно в мире диагностируется около 300 тыс. новых случаев рака ротовой полости, при этом 145 тыс. больных умирают [1]. Плоскоклеточный рак языка – наиболее часто встречающийся рак ротовой полости, на который приходится 25–40 % наблюдений [2].

Синдекан-1 (CD138) – трансмембранный белок, экспрессирующийся преимущественно в эпителиальных и мезенхимальных клетках и ответственный за организацию цитоскелета, межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия. Экспрессия синдекана-1 представляет интерес в связи с возможной прогностической ролью, а также в качестве мишени для противоопухолевой анти-CD138 терапии [7]. При раке наблюдается нарушение экспрессии синдекана-1 в эпителиальных клетках, что сопровождается повышением метастатического потенциала опухоли и неблагоприятным прогнозом заболевания [4]. В то же время некоторые исследователи полагают, что повышение экспрессии синдекана-1

фибробластами стромы сопровождается прогрессированием опухоли [12].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить экспрессию синдекана-1 в клетках паренхимы и фибробластах стромы плоскоклеточного рака языка.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучали 82 наблюдения плоскоклеточного рака языка без предшествующей противоопухолевой терапии, полученных в радиологическом отделении Медицинского радиологического научного центра им. А. Ф. Цыба, в период с 1990 по 2019 г. Материал 55 наблюдений (67 %) принадлежал лицам мужского пола и 27 наблюдений (33 %) женщинам. Средний возраст мужчин составил $57,7 \pm 9,3$, средний возраст женщин – $59,4 \pm 13,4$. В соответствии с критериями классификации ВОЗ [14] наблюдения были разделены на высокодифференцированные (G1), умеренно-

дифференцированные (G2) и низкодифференцированные (G3) плоскоклеточные раки. Операционно-биопсийный материал фиксировали и подвергали гистологической проводке согласно общепринятым методикам.

С помощью иммуногистохимического метода в клетках паренхимы опухоли и фибробластах стромы проведена оценка экспрессии синдекана-1 (CD138, клон MI 15, «Dako», готовые к применению антитела). В зависимости от интенсивности экспрессии синдекана-1 в клетках опухоли и фибробластах использовалась балльная оценка: 0 баллов – отсутствие экспрессии; 1 балл – слабая экспрессия; 2 балла – умеренная экспрессия; 3 балла – сильная экспрессия. В зависимости от количества опухолевых клеток и фибробластов, экспрессирующих синдекан-1, наблюдениям присвоены следующие баллы: <10 % клеток с экспрессией синдекана-1 – 1 балл, 10–50 % – 2 балла, >50 % – 3 балла. [8]. В связи с тем, что в клетках опухоли и фибробластах определялась разная по интенсивности и распространенности (очаговая и диффузная) экспрессия синдекана-1, было принято решение оценивать два наиболее преобладающих по количеству вовлеченных клеток типа экспрессии которые были обозначены следующим образом: 0 + 1 – очаговая слабая экспрессия синдекана-1 в изучаемых клетках, преобладают клетки с отсутствием экспрессии над клетками со слабой экспрессией; 1 + 0 – очаговая слабая экспрессия синдекана-1, преобладают клетки со слабой экспрессией над клетками с ее отсутствием; 1 + 2 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток со слабой экспрессией над клетками с умеренной экспрессией; 2 + 1 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток с умеренной экспрессией над клетками со слабой экспрессией; 1 + 3 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток со слабой экспрессией

над клетками с сильной экспрессией; 3 + 1 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток с сильной экспрессией над клетками со слабой экспрессией; 2 + 3 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток с умеренной экспрессией над клетками с сильной экспрессией; 3 + 2 – преимущественно диффузная экспрессия синдекана-1 с преобладанием клеток с сильной экспрессией над клетками с умеренной экспрессией. Оценка экспрессии белков в клетках опухоли происходила на микроскопе Nikon optiphot-2 при увеличении x100 (окуляр x10 и объектив x10) во всех полях зрения опухоли. Для оценки частоты встречаемости разных по баллам и силе экспрессии синдекана-1 наблюдений при разных степенях дифференцировки опухоли использовали критерий Фишера. Уровень значимости α для всех вычислений принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках высокодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 1. Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы высокодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 2. Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках умереннодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 3. Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы умереннодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 4. Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках низкодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 5. Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы низкодифференцированного плоскоклеточного рака языка представлена в табл. 6.

Таблица 1

Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках высокодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 31)

№ п/п	Количество опухолевых клеток с экспрессией CD138 выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 0)	0 + 1 (n = 1)
2	1 (n = 3)	1 + 0 (n = 3)
3	2 (n = 0)	1 + 2 (n = 3)
4	3 (n = 28)	2 + 1 (n = 8)
5		1 + 3 (n = 0)
6		3 + 1 (n = 1)
7		2 + 3 (n = 2)
8		3 + 2 (n = 13)

Таблица 2

Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы высокодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 31)

№ п/п	Количество фибробластов с экспрессией CD138, выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 26)	0 + 1 (n = 5)
2	1 (n = 5)	1 + 0 (n = 0)
3	2 (n = 0)	1 + 2 (n = 0)
4	3 (n = 0)	2 + 1 (n = 0)
5		1 + 3 (n = 0)
6		3 + 1 (n = 0)
7		2 + 3 (n = 0)
8		3 + 2 (n = 0)

Таблица 3

Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках умереннодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 39)

№ п/п	Количество опухолевых клеток с экспрессией CD138, выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 0)	0 + 1 (n = 3)
2	1 (n = 3)	1 + 0 (n = 1)
3	2 (n = 6)	1 + 2 (n = 8)
4	3 (n = 30)	2 + 1 (n = 16)
5		1 + 3 (n = 0)
6		3 + 1 (n = 0)
7		2 + 3 (n = 3)
8		3 + 2 (n = 8)

Таблица 4

Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы умереннодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 39)

№ п/п	Количество фибробластов с экспрессией CD138, выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 36)	0 + 1 (n = 3)
2	1 (n = 3)	1 + 0 (n = 0)
3	2 (n = 0)	1 + 2 (n = 0)
4	3 (n = 0)	2 + 1 (n = 0)
5		1 + 3 (n = 0)
6		3 + 1 (n = 0)
7		2 + 3 (n = 0)
8		3 + 2 (n = 0)

Таблица 5

Характеристика экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках низкокодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 12)

№ п/п	Количество опухолевых клеток с экспрессией CD138, выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 0)	0 + 1 (n = 3)
2	1 (n = 3)	1 + 0 (n = 4)
3	2 (n = 3)	1 + 2 (n = 0)
4	3 (n = 6)	2 + 1 (n = 2)
5		1 + 3 (n = 1)
6		3 + 1 (n = 1)
7		2 + 3 (n = 0)
8		3 + 2 (n = 1)

Характеристика экспрессии синдекана-1 в фибробластах стромы низкодифференцированного плоскоклеточного рака языка (n = 12)

№п/п	Количество фибробластов с экспрессией CD138, выраженное в баллах	Два наиболее преобладающих по силе экспрессии образца
1	0 (n = 10)	0 + 1 (n = 2)
2	1 (n = 2)	1 + 0 (n = 0)
3	2 (n = 0)	1 + 2 (n = 0)
4	3 (n = 0)	2 + 1 (n = 0)
5		1 + 3 (n = 0)
6		3 + 1 (n = 0)
7		2 + 3 (n = 0)
8		3 + 2 (n = 0)

Из 82 наблюдений в 9 (11 %) количество опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 было менее 10 %, в 9 наблюдениях (11 %) количество опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 было равным 10–50 % и в 64 наблюдениях (82 %) количество опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 было равным 51–100 %.

Таким образом, во всех 100 % наблюдений плоскоклеточного рака языка в опухолевых клетках наблюдалась экспрессия синдекана-1. По данным исследователей, экспрессия синдекана-1 варьирует в различных плоскоклеточных раках и определяется от 23 [13] до 89 % [3] при плоскоклеточном раке легких, от 50,5 % [5] до 87 % [13] при плоскоклеточном раке пищевода.

Во всех 82 наблюдениях определялось сочетание разных по силе экспрессий. В 15 (18,2 %) из 82 наблюдений экспрессия была слабой (0 + 1 и 1 + 0, рис. 1), в 40 (49 %) из 82 наблюдений наряду с умеренной (рис. 2) и сильной (рис. 3) экспрессией определялись группы опухолевых клеток со слабой экспрессией (1 + 2; 2 + 1; 1 + 3, 3 + 1) и в 27 наблюдениях (33 %) экспрессия синдекана-1 в опухолевых клетках была умеренной и сильной (2 + 3, 3 + 2). Общее количество наблюдений со слабой экспрессией синдекана-1 в опухолевых клетках определялось в 67,2 % (18,2 + 49 %). В работах исследователей показано, что около 84 % наблюдений плоскоклеточного рака полости рта характеризовалось слабой экспрессией синдекана-1 [11].

При всех степенях дифференцировки плоскоклеточного рака языка количество опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 преобладало над количеством фибробластов стромы с аналогичной экспрессией. Экспрессия синдекана-1 в фибробластах определялась в 12 % от общего числа наблюдений и была очаговая и слабая. Из 31 наблюдения высокодифференци-

рованного плоскоклеточного рака языка она определялась в 16 % наблюдений; из 39 наблюдений умереннодифференцированного плоскоклеточного рака – в 7 %, из 12 наблюдений низкодифференцированного рака – в 16 %.

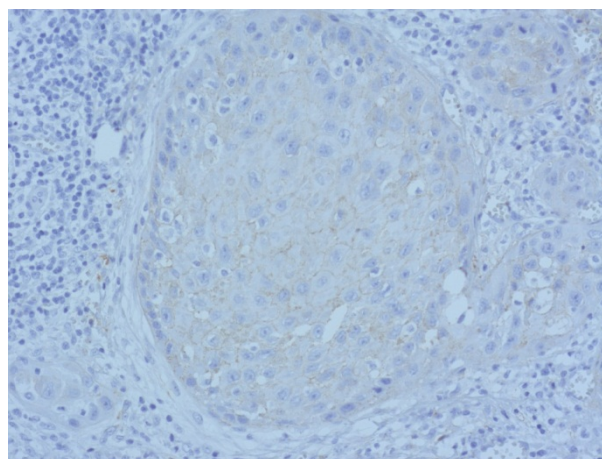


Рис. 1. Слабая экспрессия синдекана-1 опухолевыми клетками плоскоклеточного рака языка. Ув. x200 (окуляр x10, объектив x 20)

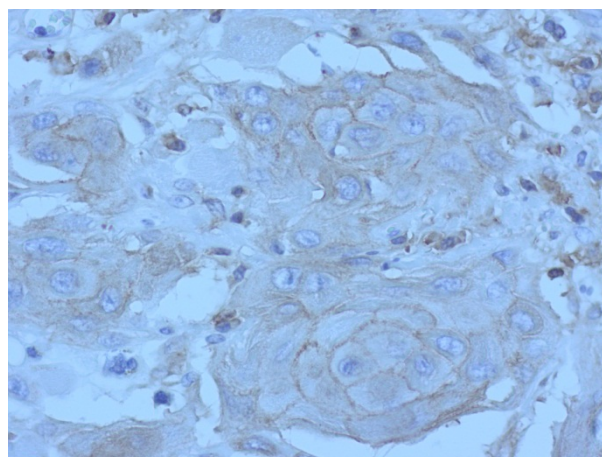


Рис. 2. Умеренная экспрессия синдекана-1 опухолевыми клетками плоскоклеточного рака языка. Ув. x400 (окуляр x10, объектив x 40)

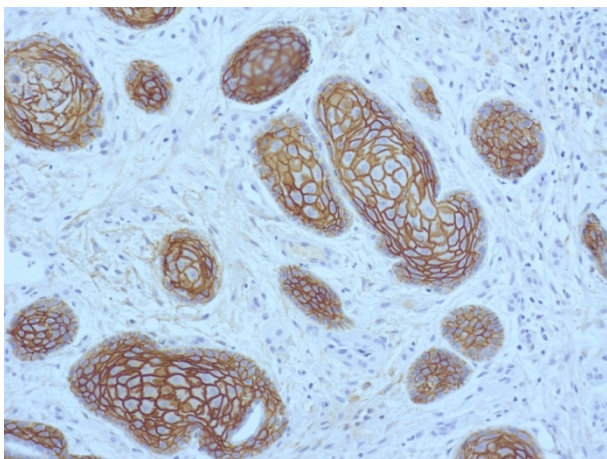


Рис. 3. Сильная экспрессия синдекана-1 опухолевыми клетками плоскоклеточного рака языка. Ув. x200 (окуляр x10, объектив x 20)

В доступной литературе мы не встретили данных о количественной оценке синдекана-1 в фибробластах стромы плоскоклеточного рака языка, хотя исследователи полагают, что повышение экспрессии синдекана-1 фибробластами стромы способствует прогрессии опухоли через активацию ангиогенеза [6]. При сравнении наблюдений рака языка разной степени дифференцировки с помощью критерия Фишера обнаружено, что количество наблюдений с баллом 3 (>50 % опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1) при высокодифференцированном (90 % наблюдений, $p < 0,05$) и умеренно дифференцированном (77 % наблюдений, $p < 0,05$) встречается значительно чаще, чем количество наблюдений с аналогичным баллом при низкодифференцированном плоскоклеточном раке языка (50 % наблюдений) и в тоже время значительно не различается между собой ($p > 0,05$). В результатах других исследователей не показано значимого различия в экспрессии синдекана-1 опухолевыми клетками разной степени дифференцировки при плоскоклеточном раке полости рта [9]. При сравнении наблюдений разной степени дифференцировки с малым количеством (<10 %, балл 1), экспрессирующих синдекан-1 опухолевых клеток значимой разницы между количеством наблюдений в изучаемых группах не получено ($p > 0,05$), что согласуется с результатами исследователей [9]. В связи с тем, что именно снижение экспрессии синдекана-1 в клетках рака сопровождается снижением их адгезии к компонентам межклеточного вещества и повышает их подвижность и инвазию, [12] при сравнении количества наблюдений по интенсивности экспрессии синдекана-1 из каждой степени дифференцировки опухоли выбирали наблюдения с минимальной по интенсивности экспрессии

(0 + 1 и 1 + 0). Было выявлено, что количество наблюдений с минимальной по интенсивности экспрессией при низкодифференцированном плоскоклеточном раке (58 % наблюдений) было больше, чем количество наблюдений с аналогичной экспрессией при высокодифференцированном (12 % наблюдений) и умеренно дифференцированном (10 % наблюдений) плоскоклеточном раке ($p < 0,05$). В тоже время количество наблюдений с аналогичной экспрессией при высокодифференцированном и умеренно дифференцированном плоскоклеточном раке значительно не различалось между собой ($p > 0,05$). По данным исследователей, ослабление экспрессии синдекана-1 в опухолевых клетках плоскоклеточного рака полости рта сопровождается неблагоприятным прогнозом заболевания по сравнению с наблюдениями с умеренной и сильной экспрессией [10].

Таким образом, количество опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 при плоскоклеточном раке языка преобладает над количеством фибробластов с аналогичной экспрессией. В 100 % наблюдений плоскоклеточного рака языка в опухолевых клетках определяется экспрессия синдекана-1, хотя в 67,2 % в клетках опухоли она ослаблена. Экспрессия синдекана-1 в фибробластах определяется в 12 % наблюдений и является очаговой и слабой. При высокодифференцированном и умеренно дифференцированном плоскоклеточном раке наблюдения с высоким содержанием опухолевых клеток с экспрессией синдекана-1 преобладают над аналогичными наблюдениями низкодифференцированного плоскоклеточного рака языка. Количество наблюдений со слабой экспрессией синдекана-1 при низкодифференцированном плоскоклеточном раке больше, чем количество наблюдений с аналогичной экспрессией при высокодифференцированном и умеренно дифференцированном плоскоклеточном раке языка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Global cancer statistics, 2012. – Direkt text / L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel [et al.] // CA: A cancer journal for clinicians. – 2015. – Vol. 65, № 2. – P. 87 – 108.
2. Bello, I. O. Prognostic evaluation of oral tongue cancer: means, markers and perspectives (I). – Direkt text / I. O. Bello, Y. Soini, T. Salo // Oral Oncol. 2010. – Vol. 46, № 9. – P. 630 – 635.
3. Expression of syndecan-1 and expression of epidermal growth factor receptor are associated with survival in patients with nonsmall cell lung carcinoma. – Direkt text / L. Shah, K. L. Walter, A. C. Borczuk [et al.]. // Cancer. – 2004. – Vol. 101, № 7. – P. 1632 – 1638.

4. Heparanase enhances syndecan-1 shedding: a novel mechanism for stimulation of tumor growth and metastasis. – Direkt text / Y. Yang, V. Macleod, H. Q. Miao [et al.]. // *J Biol Chem*. 2007. – Vol. 282, № 18. – P. 13326 – 13333.
5. Loss of syndecan-1 and increased expression of heparanase in invasive esophageal carcinomas. – Direkt text / S. Mikami, K. Ohashi, Y. Usui [et al.] // *Jpn J Cancer Res*. – 2001. – Vol. 92, № 10. – P. 1062 – 1073.
6. *Maeda, T.* Syndecan-1 expression by stromal fibroblasts promotes breast carcinoma growth in vivo and stimulates tumor angiogenesis. – Direkt text / T. Maeda, J. Desouky, A. Friedl // *Oncogene*. 2006. – Vol. 25, № 9. – P. 1408 – 1412.
7. Prevalence of syndecan-1 (CD138) expression in different kinds of human tumors and normal tissues. – Direkt text / S. Kind, C. Merenkow, F. Büscheck [et al.] // *Dis Markers*. – 2019. – P. 1 – 11.
8. Prognostics of Cyclin-D1 expression with chemoradiation response in patients of locally advanced oral squamous cell carcinoma. – Direkt text / H. Khan, S. Gupta, N. Husain [et al.] // *J Cancer Res Ther*. 2014. – Vol. 10, № 2. – P. 258 – 264.
9. Quantitative analysis of syndecan-1 expression in dysplasia and squamous cell carcinoma of the oral cavity. – Direkt text / L. L. Jackson, Z. Wade, R. B. Hessler [et al.]. – *Laryngoscope*, 2007. – Vol. 117, № 5. – P. 868 – 871.
10. Reduced syndecan-1 expression is correlated with the histological grade of malignancy at the deep invasive front in oral squamous cell carcinoma. – Direkt text / H. Kurokawa, M. Zhang, S. Matsumoto [et al.] // *J Oral Pathol Med*. – 2006. – Vol. 35, № 5. – P. 301 – 306.
11. Stromal syndecan-1 expression is an adverse prognostic factor in oral carcinomas. – Direkt text / M. Máthé, Z. Suba, Z. Németh [et al.]. // *Oral Oncol*. 2006. – Vol. 42, № 5. – P. 493–500.
12. *Teng, Y. H.* Molecular functions of syndecan-1 in disease. – Direkt text / Y. H. Teng, R. S. Aquino, P. W. Park // *Matrix Biol*. – 2012. – Vol. 31, № 1. – P. 3 – 16.
13. Utility of syndecan-1 (CD138) expression in the diagnosis of undifferentiated malignant neoplasms: a tissue microarray study of 1,754 cases. – Direkt text / N. Kambham, C. Kong, T. A. Longacre [et al.] // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. – 2005. – Vol. 13, № 4. – P. 304 – 310.
14. WHO classification of tumors of the head and neck, 4th ed. / eds. A. K. El-Naggar, J. K. C. Chan, J. R. Grandis [et al.]. – Lyon: IARC, 2017. – Direkt text.