

Иммунофенотипические особенности молекулярных подтипов рака молочной железы

С. В. Чулкова^{1,2}, Е. Н. Шолохова¹, И. В. Поддубная³, Е. В. Артамонова^{1,2}, А. В. Семьянихина⁴,
И. С. Стилиди^{1,2}, Н. Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴Институт высшего и дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова», Москва

РЕЗЮМЕ

Введение. В современной стратегии лечения рака активно и широко применяются иммунотропные препараты, при этом важное значение уделяется иммунологическим маркерам опухоли, которые ассоциированы с прогнозом заболевания и эффективностью лечения. В связи с чем изучение иммунофенотипа опухоли является одним из ведущих научных направлений. Особый интерес представляет изучение иммунофенотипических характеристик рака молочной железы в зависимости от его биологического подтипа.

Цель. Оценить частоту экспрессии молекул HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1, Pgp170 клетками рака молочной железы и определить их взаимосвязь с молекулярно-биологическим подтипом опухоли.

Материалы и методы. В данную работу включены 120 больных раком молочной железы, которые получали лечение в НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина. Преобладали II и III стадии опухоли – 56,7 и 33,4 % соответственно. Чаще отмечалась умеренная степень дифференцировки (G2). Люминальный подтип составил 58,3 % (n = 70), нелюминальный – 41,7 % (n = 50) случаев. Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено методом иммунофлуоресценции на криостатных срезах. Оценка реакции проводилась с помощью люминисцентного микроскопа Zeiss (Axioskop; Германия). Изучена частота экспрессии молекул HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1, Pgp170 в зависимости от молекулярного подтипа рака молочной железы.

Результаты. Отсутствие молекул главного комплекса гистосовместимости I и II класса на клетках рака молочной железы установлено в 89,6 % образцов. В 23,4 % случаев наблюдалась их мономорфная экспрессия. При люминальном подтипе несколько чаще экспрессировались молекулы HLA II класса: суммарно мозаичный и мономорфный типы реакции наблюдались в 30,5 % (20/65) случаев. При нелюминальном – 20,0 % (10/47) случаев. Частота экспрессии трансферринового рецептора значительно выше при люминальном подтипе, чем при нелюминальном – 85,9 % (n = 5) и 65,2 % (n = 30); p = 0,011. Клетки люминального рака молочной железы экспрессируют рецепторы трансферрина преимущественно мономорфно: 75,4 % (n = 49) против 43,5 % (n = 20) при нелюминальном подтипе; p = 0,003. Процент мономорфно экспрессирующих MUC1 опухолей выше при люминальном раке: 83,3 % (n = 35) против 65 % (n = 26) при нелюминальном подтипе. Мономорфная экспрессия Pgp170 чаще отмечается при люминальном раке молочной железы.

Заключение. Люминальный рак молочной железы характеризуется прогностически неблагоприятными иммунофенотипическими признаками. При люминальном подтипе чаще наблюдается экспрессия CD71, преимущественно мономорфная. При нелюминальном подтипе экспрессия Pgp170 наблюдается реже. Статистически значимых различий между молекулярными подтипами по уровню экспрессии молекул HLA I и II класса не выявлено.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак молочной железы, иммунофенотипирование, иммунофлуоресценция, HLA-I, HLA-DR, MUC1, CD71, Pgp170, криостатные срезы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Работа выполнена без финансовой поддержки.

Immunophenotypic features of molecular subtypes of breast cancer

S. V. Chulkova^{1,2}, E. N. Sholokhova¹, I. V. Poddubnaya³, E. V. Artamonova^{1,2}, A. V. Semyanikhina⁴,
I. S. Styliidi^{1,2}, N. N. Tupitsyn¹

¹National Medical Research Centre of Oncology n.a. N. N. Blokhin, Moscow, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N. I. Pirogov, Moscow, Russia

³Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

⁴Medical and Genetic Research Centre n.a. academician N. P. Bochkov, Moscow, Russia

SUMMARY

Introduction. Currently, immunotropic drugs are used in the modern strategy of cancer treatment. Importance is given to immunological markers of the tumor, which may be associated with the prognosis of the disease, the effectiveness of treatment. Therefore, the study of tumor immunophenotype is one of the leading scientific directions. Of particular interest is the study of the immunophenotypic characteristics of breast cancer depending on its biological subtype.

Purpose. To evaluate the frequency of expression of HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1, Pgp170 molecules by breast cancer cells and determine their relationship with the molecular biological subtype of the tumor.

Materials and methods. This study included 120 patients with breast cancer who received treatment at the National Medical Research Centre of Oncology n.a. N. N. Blokhin (Moscow, Russia). Tumor stages II and III prevailed: 56.7 % and 33.4 %, respectively. A moderate degree of differentiation (G2) was more often noted. The luminal subtype was 58.3 % (n = 70), non-luminal – in 41.7 % (n = 50). Immunophenotyping of the primary tumor

was performed by immunofluorescence on cryostat sections. The reaction was evaluated using a Zeiss luminescent microscope (Axioskop, Germany). The frequency of expression of HLA-I and class II molecules was studied depending on the clinical and morphological characteristics of breast cancer. The frequency of expression of HLA-I, HLA-II, CD71, MUC1, Pgp170 molecules depending on the molecular subtype of breast cancer was studied.

Results. The absence of molecules of the major histocompatibility complex of class I and II on breast cancer cells was found in 89.6% of the samples. The monomorphic expression was observed in 23.4% of cases. In the luminal subtype, HLA-II class molecules were expressed more often: in total, mosaic and monomorphic types of reactions were observed in 30.5% (20/65) of cases. With non-luminal – 20.0% (10/47) of cases. The frequency of expression of the transferrin receptor is significantly higher in the luminal subtype than in the non-luminal subtype: 85.9% ($n = 5$) and 65.2% ($n = 30$), $p = 0.011$. Luminal breast cancer cells express transferrin receptors predominantly monomorphically: 75.4% ($n = 49$) vs 43.5% ($n = 20$) in the non-luminal subtype, $p = 0.003$. The MUC1 expressing monomorphically tumors is higher in luminal cancer: 83.3% ($n = 35$) versus 65% ($n = 26$) in the non-luminal subtype. Monomorphic expression of Pgp170 is more often observed in luminal breast cancer.

Conclusion. Luminal breast cancer is characterized by unfavorable prognostic immunophenotypic features. In the luminal subtype, expression of CD71 is more often observed, predominantly monomorphic. In the non-luminal subtype, expression of Pgp170 is observed less frequently. No statistically significant differences between the molecular subtypes in terms of the level of expression of HLA-I and class II molecules were found.

KEYWORDS: breast cancer, immunophenotyping, HLA-I, HLA-DR, MUC1, CD71, Pgp170, immunofluorescence, cryostat sections.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Funding. This research was done without financial support.

Введение

Рак молочной железы занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости у женщин. Смертность от рака молочной железы продолжает оставаться высокой [1]. По статистическим данным, от этой болезни в мире погибает почти 700 тысяч женщин ежегодно [2]. Течение рака молочной железы разнообразно, часто наблюдаются рецидивы и отдаленные метастазирование даже спустя годы ремиссии [3,4].

В последние десятилетия исследования фундаментальных основ биологии злокачественной опухоли продвинулись далеко вперед. Выявлены биологические особенности рака молочной железы, базируясь на которых, стало возможным проводить более точную диагностику опухоли. Это позволило выделить подтипы рака молочной железы и индивидуализировать подходы к лечению больных. При этом важное значение при выборе вида терапии играют иммунологические маркеры опухоли, обладающие прогностическим и предиктивным значением:

При раке молочной железы широко изучаются такие маркеры, как молекулы главного комплекса гистосовместимости (HLA), трансферриновые рецепторы (CD71), муциновые белки (MUC1), продукт гена множественной лекарственной устойчивости (Pgp170). Молекулы HLA специализируются на распознавании и представлении собственных и чужеродных пептидов [5]. Они экспонируют на клеточной мембране пептидные фрагменты, опосредуя противоопухолевый Т-клеточный ответ [5]. Рецепторы трансферрина обеспечивают транспорт железа через клеточную мембрану, способствуя пролиферативной активности клеток [6]. Муциновые белки участвуют в процессах, которые приводят к увеличению инвазивного клеточного потенциала [7].

В настоящее время все больше появляется интересных данных в отношении клинической значимости указанных маркеров [8–12]. Так, экспрессирующие трансферриновые рецепторы опухолевые клетки обнаружены среди радиорезистентной популяции при некоторых видах злокачественных опухолей (глиома, рак шейки матки) [6, 10]. В исследовании Е. В. Артамоновой выявлена ассоциация экспрессии трансферринового рецептора клетками рака молочной железы с ухудшением показателей выживаемости [11]. Кроме того, автором описана взаимосвязь

экспрессии мономорфных HLA-детерминант с выраженностью внутритуморальных иммунных реакций. Наличие определенных клинко-морфологических взаимосвязей с экспрессией на мембране клеток рака молочной железы различных иммунологических маркеров также отмечено в работе Д. А. Рябчикова [12].

Эти и многие другие исследования демонстрируют, что иммунологическая характеристика рака молочной железы является необходимым этапом для понимания клинического поведения опухоли, особенностей ответа на специфическое лечение. Особый интерес представляет изучение иммунофенотипических характеристик рака молочной железы в зависимости от его биологического подтипа [13], которому и посвящено данное исследование.

Материалы и методы

Всего включено в работу 120 больных раком молочной железы, которые обследованы и получили лечение в условиях НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина. Материалом данного исследования послужили образцы опухолевой ткани больных раком молочной железы. Возраст больных варьировал от 27 до 77 лет, средний возраст составил $54,5 \pm 0,9$ года. Диагноз рака молочной железы установлен на основании клинических, рентгенологических и морфологических данных. Всем пациенткам выполнено хирургическое лечение: в объеме мастэктомии – 61,7% ($n = 74$), резекции молочной железы – 38,3% ($n = 46$). Лекарственную терапию в адъювантном режиме получили 69,2% пациенток ($n = 83$), в неoadъювантном – 25,8% ($n = 31$). Лучевая терапия проведена в 44,2% ($n = 53$) случаев, гормонотерапия – в 56,6% ($n = 68$).

Распространенность опухолевого процесса оценивалась по клинической классификации по международной системе TNM согласно 7-му изданию. По стадиям больные распределились следующим образом: I стадия – 10,0%, IIА стадия – 14,2%, IIВ стадия наблюдалась у 42,5% больных, IIIА выявлена в 12,5% случаев, IIIВ – в 14,2% случаев, IV – 6,7% (табл. 1).

В большинстве случаев размер первичной опухоли соответствовал категории T2 (63,3%; $n = 76$), реже отмечались показатели T1 (18,3%; $n = 22$) и T4 (15,0%; $n = 18$), а T3 стадия выявлена у 3,3% ($n = 4$) больных. Метастатическое поражение лимфоузлов (N+) наблюдалось почти

Таблица 1
Распределение больных в зависимости
от стадии рака молочной железы

Стадия	Абс. число	Процент
I	12	10,0
IIA	17	14,2
IIB	51	42,5
III A	15	12,5
III B	17	14,2
III C	8	6,7
Всего	120	100,0

Таблица 2
Распределение больных в зависимости
от рецепторного статуса рака молочной железы

Рецепторный статус	РЭ		РП	
	Абс. число	Процент	Абс. число	Процент
Положительный	57	47,5	54	45,0
Отрицательный	63	52,5	66	55,0
Всего	120	100,0	120	100,0

у всех больных, что составило 80 % ($n = 96$): N1 – 55,0 % ($n = 66$), N2 – 18,3 % ($n = 22$), N3 – 6,7 % ($n = 8$). Чаще всего степень дифференцировки опухоли соответствовала G2 (67,5 %; $n = 81$).

В соответствии с данными патоморфологического исследования в большинстве случаев диагностирован инфильтративно-протоковый рак молочной железы – 71 % ($n = 85$) больных. Инфильтративно-дольковый рак отмечен в 18 % случаев ($n = 22$), другие виды – 11 % ($n = 13$) (рис. 1).

Экспрессия опухолевыми клетками рецепторов гормонов эстрогена наблюдалась в 34 % ($n = 28$) случаев, рецепторов гормонов прогестерона – в 35 % ($n = 29$) образцов (табл. 2). Разделение на биологические подтипы рака молочной железы ввиду ретроспективного характера анализа проводилось только на основании экспрессии рецепторов стероидных гормонов. Опухоли, экспрессирующие рецепторы эстрогена и прогестерона, классифицировались как люминальный рак молочной железы. При отсутствии экспрессии таковых опухоли относились к нелюминальному подтипу соответственно.

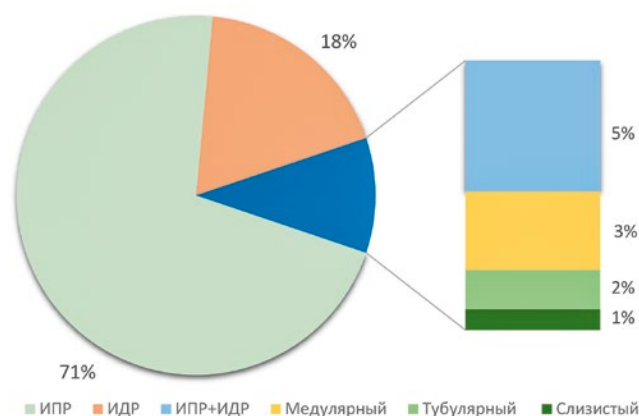


Рисунок 1. Распределение больных в зависимости от гистологического типа рака молочной железы.

Таким образом, люминальный рак молочной железы установлен в 58,3 % ($n = 70$), нелюминальный – в 41,7 % ($n = 50$) случаев.

Иммунофенотипирование опухоли выполнено на криостатных срезах в лаборатории иммунологии гемопозза НМИЦ онкологии имени Н. Н. Блохина методом иммунофлуоресценции. Криостатные срезы фиксировали ацетоном на предметных стеклах в течение 10 минут при температуре 4 °С. После фиксации срезы отмывали в среде 199 (рН: 7,2–7,4), наносили моноклональные антитела и инкубировали 30 минут. После отмывания наносили ФИТЦ-меченные F(ab)2 фрагменты антисыворотки. По окончании инкубации препараты отмывали и консервировали 50 %-ным раствором глицерина. Учет реакции выполняли на люминесцентном микроскопе Zeiss (Axioskop, Германия). Изучена экспрессия опухолевыми клетками панцитокератина, молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I, HLA-DR, трансферринового рецептора (CD71), муциноподобного антигена (MUC1), Pgp170. Оценка реакции проводилась полуквантитетным методом. Отрицательная реакция – менее 10 % антигенположительных клеток, мозаичная реакция – антиген экспрессируется частью опухолевых клеток (10–80 %). Мономорфная реакция – экспрессия анализируемого антигена наблюдается в более чем 80 % опухолевых клеток.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета SPSS Statistics 21.0. Осуществляли анализ корреляций по Пирсону или Спирмену, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и χ^2 по Пирсону). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты анализа экспрессии молекул HLA I класса, HLA-DR, клетками рака молочной железы представлены в таблице 3. В целом по группе в 40 % ($n = 48$) образцов молекулы HLA I класса не экспрессировались. В аналогичном проценте случаев выявлена мономорфная экспрессия анализируемого антигена. В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась несколько иная картина. Мономорфная экспрессия HLA-DR наблюдалась в 13 % ($n = 13$) наблюдений. Преимущественно опухоли были HLA-DR антиген-негативные: 68,3 % ($n = 82$) случаев. Мозаичная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 12,0 % ($n = 9$) образцов. Полученные результаты свидетельствуют о различной частоте экспрессии молекул HLA I и II класса.

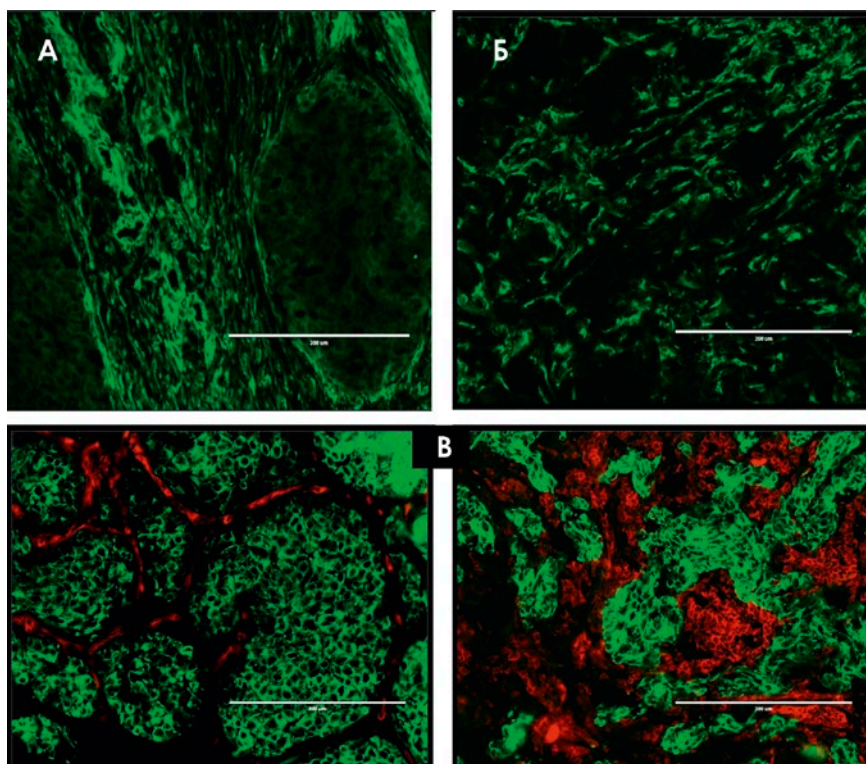
При анализе взаимосвязи экспрессии обеих HLA-детерминант отмечено следующее. Мономорфная экспрессия обеих детерминант отмечена в 23,4 % случаев. Значительно чаще в 89,6 % образцов наблюдалось отсутствие экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости I и II класса: HLA-I – негативные опухоли в небольшом проценте случаев (10,4 %) мозаично экспрессировали молекулы HLA II класса. Мозаичная экспрессия антигена HLA-I зачастую сопровождалась отсутствием экспрессии молекул HLA II класса. Среди

опухолей с мономорфной экспрессией HLA I класса 55,3% из них характеризовались отсутствием молекул HLA II класса. Полученные результаты в отношении экспрессии мономорфных детерминант I и II класса согласуются с данными литературы [11, 14, 16, 17].

Пример экспрессии HLA мономорфных детерминант представлен на *рисунке 2*.

Далее нами изучена экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости при двух подтипах рака молочной железы – люминальном и нелюминальном. Данные анализа приведены в *таблице 4*. При люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы частота экспрессии исследуемого антигена была сопоставима. Аналогичные результаты получены в отношении молекулы HLA-DR. При этом следует отметить, что при люминальном подтипе данный антиген экспрессировался несколько чаще: суммарно мозаичный и мономорфный типы реакции наблюдались в 30,5% случаев. Как видим, разница в экспрессии HLA-DR оказалось несущественной. Возможно, такое небольшое различие обусловлено некоторым преобладанием при нелюминальном подтипе менее дифференцированных опухолей. Известно, что при нарастании степени злокачественности рака молочной железы экспрессия молекул HLA-DR наблюдается реже [14–16].

Несмотря на такое видимое сходство в экспрессии молекул HLA при биологических подтипах рака молочной железы рака, тем не менее их клиническое значение может различаться [16–18]. По результатам исследования Sinn и соавт. обнаружено, что экспрессия молекул HLA класса I связана с лучшим ответом на химиотерапию гормон-позитивного рака молочной железы, тогда как при трижды негативных опухолях такой связи с ответом на лечение не получено [16]. При этом справедливо отметить, что частота экспрессии HLA I класса была выше при трижды негативном раке по сравнению с другими подтипами, а также у пациентов с поражением лимфоузлов и в опухолях с низкой степенью дифференцировки



А) отрицательная реакция: менее 10% опухолевых клеток экспрессируют антиген.
Б) мозаичная реакция: 10–80% опухолевых клеток экспрессируют антиген.
В) мономорфная реакция: более 80% опухолевых клеток экспрессируют антиген.

Рисунок 2. Виды экспрессии молекул HLA клетками рака молочной железы. Ув. 400х.

Таблица 3
Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR

			HLA-DR			Всего
			Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	
HLA-I	Отсутствует	Абс. число	43	5	0	48
		Процент	89,6	10,4	0,0	100,0
	Мозаичная	Абс. число	11	2	2	15
		Процент	73,3	13,3	13,3	100,0
	Мономорфная	Абс. число	26	10	11	47
		Процент	55,3	21,3	23,4	100,0
Всего		Абс. число	80	17	13	110
		Процент	72,7	15,5	11,8	100,0

Таблица 4
Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR в зависимости подтипа рака молочной железы

		HLA-I			
		Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	Всего
ЛРМЖ	Абс. число	29	10	27	66
	Процент	43,9	15,2	40,9	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	19	5	21	45
	Процент	42,2	11,1	46,7	100,0
		HLA-DR			
		Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	Всего
ЛРМЖ	Абс. число	45	12	8	65
	Процент	69,2	18,5	12,3	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	37	5	5	47
	Процент	78,7	10,6	10,6	100,0

Таблица 5
Взаимосвязь CD71 антигена с подтипом рака молочной железы

		CD71 ⁻	CD71 ⁺	Итого
ЛРМЖ	Абс. число	9	55	64
	Процент	14,1	85,9	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	16	30	46
	Процент	34,8	65,2	100,0
Итого	Абс. число	25	85	110
	Процент	22,	77,3	100,0

Примечание: $p = 0,011$.

Таблица 6
Выраженность экспрессии трансферринового рецептора при люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы

		CD71			
		Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	Всего
ЛРМЖ	Абс. число	10	6	49	65
	Процент	15,4	9,2	75,4	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	16	10	20	46
	Процент	34,8	21,7	43,5	100,0
Всего	Абс. число	26	16	69	111
	Процент	23,4	14,4	62,2	100,0

Примечание: $p = 0,003$.

(G3) [16]. Основываясь на этих данных, возможно предположить, что в нашей выборке доля трижды негативного рака среди группы нелюминальных опухолей была немногочисленна. Это обстоятельство может объяснить результаты схожей частоты экспрессии молекул HLA I класса.

Далее выполнен анализ экспрессии трансферринового рецептора. В целом по группе экспрессия трансферринового рецептора наблюдалась в подавляющем количестве анализируемых образцов, что составило 76,6 % ($n = 85$) от всей выборки. При этом в 62,2 % ($n = 69$) случаев опухоли характеризовались мономорфной экспрессией. Мозаичная экспрессия трансферринового рецептора установлена в 14,4 % ($n = 16$) образцов.

Изучение экспрессии трансферринового рецептора в зависимости от подтипа рака молочной железы представлено в таблице 5. Как видим, при люминальном подтипе частота экспрессии изучаемого антигена значительно выше, чем при нелюминальном: 85,9 % ($n = 55$) и 65,2 % ($n = 30$), $p = 0,011$.

При более детальном анализе мы оценили степень экспрессии CD71 при каждом из подтипов. Результаты анализа отражены в таблице 6. Так, клетки люминального рака молочной железы экспрессируют рецепторы трансферрина преимущественно мономорфно, что отмечено в 75,4 % ($n = 49$) случаев. Мозаично экспрессировали антиген CD 71 только 9,2 % образцов. При нелюминальном раке мономорфная экспрессия CD71 выявлена в 43,5 % ($n = 20$) случаев, а мозаично экспрессировался данный антиген в 21,7 % ($n = 10$) наблюдений. Различия достоверны, $p = 0,003$.

В более ранних исследованиях показано, что рецептор трансферрина обеспечивает транспорт железа через клеточную мембрану [19]. Железо необходимо для многих клеточных процессов, в том числе для синтеза ДНК и соответственно для клеточной пролиферации. Из-за высокой пролиферативной активности клеток злокачественной опухоли отмечается повышенная

экспрессия CD71 [19–22]. Результаты нашей работы подтверждают данные литературы: гиперэкспрессия CD71 отмечалась в подавляющем количестве проанализированных опухолей. При этом следует обратить внимание, что люминальный рак молочной железы характеризовался выраженной экспрессией этих рецепторов. По данным исследований, гиперэкспрессия трансферринового рецепторов при люминальном раке ассоциируется с выраженной пролиферативной активностью опухоли, более низкой экспрессией стероидных гормонов, экспрессией HER2/neu, а также с плохим прогнозом [11, 22]. Сопоставляя эти сведения с нашими результатами, нельзя исключить, что в анализируемой нами выборке немалую долю, возможно, составляет В-люминальный рак молочной железы.

Далее был выполнен анализ экспрессии муцинового белка MUC1, который экспрессировался большинством изученных опухолей. Особо следует отметить, что наблюдалась преимущественно его мономорфная экспрессия клетками рака: 74,3 % ($n = 61$). Мозаичный тип реакции установлен в 20,7 % ($n = 17$) случаев. Известно, что муциновый белок участвует в процессах, которые приводят к увеличению инвазивного потенциала клеток [7]. Кроме того, MUC1 действует в качестве регулятора экспрессии, стабильности и активности HIF-1a (фактор, индуцированный гипоксией), который, как известно, регулирует продукцию гликолитических ферментов, необходимых для пролиферирующих клеток [23]. Учитывая это, вполне закономерна выраженная экспрессия данного белка на клетках рака молочной железы, что мы и наблюдали в целом по группе. Не установлено наличие MUC1 на клетках рака лишь в 4,8 % ($n = 4$) наблюдений.

При изучении муцинового белка MUC1 в подтипах рака молочной железы получены следующие результаты. Доля мономорфно экспрессирующих молекулу MUC1 опухолей оказалась выше при люминальном раке, что составило 83,3 % ($n = 35$) против 65,0 % ($n = 26$) при нелюминальном.

Хотя статистически значимых различий не достигнуто, данный факт обращает на себя внимание и требует дальнейшего изучения по мере накопления данных.

Анализ экспрессии продукта гена множественной лекарственной резистентности Pgp170 установил следующее. В 63,0% ($n = 32$) случаев Pgp170 полностью отсутствовал на клетках рака молочной железы. У 10% больных ($n = 5$) отмечен мозаичный тип реакции. В 27,5% случаев ($n = 14$) большинство раковых клеток мономорфно экспрессировали молекулы Pgp170. При сопоставлении экспрессии изучаемого антигена при люминальном и нелюминальном подтипах рака молочной железы мы обратили внимание, что выраженность его экспрессии отличалась. Так, при люминальном раке в 41,7% опухолей отмечен мономорфный тип реакции. Напротив, при нелюминальном раке опухоли мономорфно экспрессировали Pgp170 в меньшем количестве образцов: 14,8% случаев. Различия близки к достоверным, $p = 0,06$.

Гиперэкспрессия продукта гена множественной лекарственной резистентности Pgp170 показана при многих видах злокачественных опухолей, и установлено, что он играет важную роль в ответе на химиотерапию [24]. Активность Pgp170 определяет резистентность клеток к таким противоопухолевым агентам, как антрациклины, таксаны и другим, применяемым в терапии рака молочной железы. Принимая во внимание результаты нашего исследования, можно заключить, что больные люминальным раком молочной железы с экспрессией Pgp170, получающие антрациклинсодержащие схемы, будут иметь худший прогноз. Ассоциация гиперэкспрессии Pgp170 с прогрессированием рака молочной железы установлена в работе Д. А. Енгай и соавт., а также ряда других исследователей [12, 13, 24–26].

Заключение

В результате исследования молекул главного комплекса гистосовместимости I класса установлено,

Таблица 7
Экспрессия опухолевыми клетками антигена MUC1 в зависимости подтипа рака молочной железы

		MUC1			
		Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	Всего
ЛРМЖ	Абс. число	2	5	35	42
	Процент	4,8	11,9	83,3	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	2	12	26	40
	Процент	5,0	30,0	65,0	100,0
Всего	Абс. число	4	17	61	82
	Процент	4,9	20,7	74,4	100,0

Примечание: $p = 0,11$.

Таблица 8
Экспрессия опухолевыми клетками антигена Pgp170 в зависимости подтипа рака молочной железы

		Pgp170			
		Отсутствует	Мозаичная	Мономорфная	Всего
ЛРМЖ	Абс. число	13	1	10	24
	Процент	54,2	4,2	41,7	100,0
НЛРМЖ	Абс. число	19	4	4	27
	Процент	70,4	14,8	14,8	100,0
Всего	Абс. число	32	5	14	51
	Процент	62,7	9,8	27,5	100,0

Примечание: $p = 0,11$.

что на клетках рака молочной железы довольно часто наблюдалось их отсутствие. Сохранялась экспрессия молекулы HLA I класса значительно реже: мономорфный тип реакции наблюдался в 23,4% случаев. В 27,2% случаев опухолевые клетки экспрессировали молекулы HLA II класса, при этом в половине образцов – мономорфно. Анализ иммунофенотипов рака молочной железы установил некоторые различия в зависимости от молекулярного подтипа рака молочной железы. При люминальном подтипе несколько чаще экспрессировались молекулы HLA II класса: суммарно мозаичный и мономорфный типы реакции наблюдались в 30,5% случаев. Экспрессия трансферринового рецептора аналогично наблюдалась достоверно чаще при люминальном раке, причем преимущественно мономорфная. Мономорфная экспрессия Pgp170 чаще отмечается при люминальном раке молочной железы. Таким образом, результаты нашего исследования демонстрируют, что рак молочной железы, в частности люминальный подтип, характеризуется прогностически неблагоприятными иммунофенотипическими признаками.

Список литературы / References

1. Hyuna Sung, Jacques Ferlay, Rebecca L. Siegel, Mathieu Laversanne, Isabelle Soerjomataram, Ahmedin Jemal, Freddie Bray. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin* 2021; 71: 209–249.
2. McCormack V, McKenzie F, Foerster M, Zietsman A, Galukande M, Adisa C, et al. Breast cancer survival and survival gap apportionment in sub-Saharan Africa (ABC-DO): a prospective cohort study. *The Lancet Global Health*. 2020; 8 (9): e1203–12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32827482>
3. Ginsburg O, Yip CH, Brooks A, Cabanes A, Caleffi M, Dunstan Yataco JA, et al. Breast cancer early detection: A phased approach to implementation. *Cancer*. 2020; 126. Suppl. 10: 237993. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32348566>
4. Mutebi M, Anderson BO, Duggan C, Adebamowo C, Agarwal G, Ali Z, et al. Breast cancer treatment: A phased approach to implementation. *Cancer*. 2020; 126. Suppl. 10: 236578. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32348571>

5. Blum J.S., Wearsch P.A., Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu. Rev. Immunol.* 2013; 31, 443–473.
6. Leung TH, Tang HW, Siu MK, Chan DW, Chan KK, Cheung AN, Ngan HY. CD71+ Population Enriched by HPV-E6 Protein Promotes Cancer Aggressiveness and Radioresistance in Cervical Cancer Cells. *Mol Cancer Res.* 2019; 17 (9): 1867–1880. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-19-0068. PMID: 31235657.
7. Chen JQ, Russo J. Dysregulation of glucose transport, glycolysis, TCA cycle and glutaminolysis by oncogenes and tumor suppressors in cancer cells. *Biochim Biophys Acta.* 2012; 1826 (2): 370–384. DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.06.004.
8. Shukla A, Cloutier M, Santharam A.M. et al. The MHC Class-I Transactivator NLRC5: Implications to Cancer Immunology and Potential Applications to Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 17; 22 (4): 1964. DOI: 10.3390/ijms22041964. PMID: 33671123.
9. Sabbatino F., Liguori L., Polcaro G et al. Role of Human Leukocyte Antigen System as A Predictive Biomarker for Checkpoint-Based Immunotherapy in Cancer Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 7295. DOI: 10.3390/ijms21197295.
10. Kang MK, Hur BI, Ko MH, Kim CH, Cha SH, Kang SK. Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma. *BMC Neurosci* 2008; 9: 15.
11. Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования в диагностике и прогнозе рака молочной железы. *Иммунология гемопоза.* 2009; 1 (9): 8–52. Artamonova E. V. The role of immunophenotyping in the diagnosis and prognosis of breast cancer. *Immunology of Hematopoiesis.* 2009; 1 (9): 8–52.
12. Енгай Д.А., Поддубная И.В., Тупицын Н.Н., Мечетнер Е.Б. Клинико-иммунологическое значение MDR1/PGP170 при раке молочной железы. *Опухоли репродуктивной системы.* 2008; 3: 41–43. Engai D. A., Poddubnaya I. V., Tupitsyn N. N., Mechetner E. B. Clinical and immunological significance of MDR1/PGP170 in breast cancer. *Tumors of the Reproductive System.* 2008. 3: 41–43.
13. Рябчиков Д.А. Люминальный рак молочной железы: клинические, молекулярно-биологические, генетические особенности и прогноз. *Дисс. докт. мед. наук.* М. 2017. 262 с. Ryabchikov D. A. Luminal breast cancer: clinical, molecular biological, genetic features and prognosis. *Diss. Doc. Med. Sciences.* M. 2017. 262 p.
14. Буров Д.А., Безнос О.А., Воронников И.К., Сельчук В.Ю., Тупицын Н.Н. Клиническое значение экспрессии молекулы гистосовместимости на клетках рака молочной железы. *Иммунология гемопоза.* 2016, 2 (14): 33–53. Burov D. A., Beznos O. A., Vorotnikov I. K., Selchuk V. Yu., Tupitsyn N. N. Clinical significance of the expression of histocompatibility molecules on breast cancer cells. *Immunology of Hematopoiesis.* 2016, 2 (14): 33–53.
15. Беришвили А.И., Тупицын Н.Н., Лактионов К.П. Иммунофенотипическая характеристика отчетливо инфильтративной формы рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2009. 3–4: 15–19. Berishvili A. I., Tupitsyn N. N., Laktionov K. P. Immunophenotypic characteristics of the edematous-infiltrative form of breast cancer. *Tumors of the female reproductive system.* 2009. 3–4: 15–19.
16. Sinn B. V., Weber K. E., Schmitt W. D. et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res.* 2011, 142, 2019. DOI: 10.1186/s13058-019-1231-z.
17. Martin H.P., Brian L.H., Hans Ch.B. et al. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors. *Oncol Immunology.* 2017; 6: 5, e1305531. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1305531.
18. Рябчиков Д.А., Безнос О.А., Дудина И.А., Воронников И.К., Денчик Д.А., Чулкова С.В., Талипов О.А., Тупицын Н.Н. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы. *Российский биотерапевтический журнал.* 2018; 17 (1): 53–57. Ryabchikov D. A., Beznos O. A., Dudina I. A., Vorotnikov I. K., Denchik D. A., Chulkova S. V., Talipov O. A., Tupitsyn N. N. Disseminated tumor cells in patients with luminal breast cancer. *Russian Biotherapeutic Journal.* 2018; 17 (1): 53–57 (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57.
19. Daniels TR, Delgado T, Rodriguez JA, Helguera G, Penichet ML. The transferrin receptor part I: biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer. *Clin Immunol.* (2006) 121: 144–58. DOI: 10.1016/j.clim.2006.06.010.
20. Shen Y, Li X, Dong D, Zhang B, Xue Y, Shang P. Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy. *Am J Cancer Res.* (2018) 8: 916–31.
21. Basuli D, Tesfay L, Deng Z, Paul B, Yamamoto Y, Ning G, et al. Iron addiction: a novel therapeutic target in ovarian cancer. *Oncogene.* (2017) 36: 4089–99. DOI: 10.1038/onc.2017.11.
22. Habashy H.O., Powe D.G., Staka C. M. et al. Transferrin receptor (CD71) is a marker of poor prognosis in breast cancer and can predict response to tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat* 119, 283 (2010). <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0345-x>
23. Riganti C, Gazzano E, Polimeni M, et al. The pentose phosphate pathway: an antioxidant defense and a crossroad in tumor cell fate. *Free Radic Biol Med.* 2012; 53 (3): 421–436. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.006.
24. Барышников А.А., Барышников А.Ю., Афанасьева Д.А. Молекулярные механизмы преодоления множественной лекарственной устойчивости липосомальными противоопухолевыми препаратами. *Российский биотерапевтический журнал.* 2015; 14 (1): 3–10. <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2015-14-1-3-10>
25. Anna M. Badowska-Kozakiewicz, Maria Sobol, and Janusz Patera Expression of multidrug resistance protein P-glycoprotein in correlation with markers of hypoxia (HIF-1α, EPO, EPO-R) in invasive breast cancer with metastasis to lymph nodes. *Arch Med Sci.* 13 (6): 1303–1314. DOI: 10.5114/aoms.2016.62723. PMID: PMC5701689. PMID: 29181060.
26. Yomna S. Abd El-Aziz, Andrew J. Spillane, Patric J. Jansson. Role of ABCB1 in mediating chemoresistance of triple-negative breast cancers. *Bioscience Reports* (2021) 41: 1–10. BSR20204092. <https://doi.org/10.1042/BSR20204092>

Статья поступила / Received 13.07.22
Получена после рецензирования / Revised 14.09.22
Принята в печать / Accepted 19.09.22

Сведения об авторах

Чулкова Светлана Васильевна, к.м.н., доцент, с.н.с. лаборатории иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии¹, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии². ORCID: 0000-0003-4412-5019

Шолохова Елена Николаевна, к.м.н., вед.н.с. лаборатории иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии¹

Поддубная Ирина Владимировна, д.м.н., проф., акад. РАН, проректор по лечебной работе и международному сотрудничеству, зав. кафедрой онкологии и паллиативной медицины³

Артамонова Елена Владимировна, д.м.н., зав. отделением лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) № 1¹, проф. кафедры онкологии и лучевой терапии². E-mail: artamonovae@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7728-9533

Семьянихина Александра Владимировна, к.м.н., доцент, н.с. лаборатории иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии¹, ассистент кафедры онкогенетики ИВ и ДПО⁴. ORCID: 0000-0001-8783-8874

Стилиди Иван Сократович, д.м.н., проф., акад. РАН, директор¹, зав. кафедрой онкологии и лучевой терапии². ORCID: 0000-0002-0493-1166

Тупицын Николай Николаевич, д.м.н., проф., рук. лаборатории иммунологии гемопоза НИИ клинической онкологии¹. ORCID: 0000-0003-3966-128X

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва

⁴Институт высшего и дополнительного профессионального образования ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова», Москва

Автор для переписки: Чулкова Светлана Васильевна. E-mail: chulkova@mail.ru

Для цитирования: Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Поддубная И.В., Артамонова Е.В., Семьянихина А.В., Стилиди И.С., Тупицын Н.Н. Иммунофенотипические особенности молекулярных подтипов рака молочной железы. *Медицинский алфавит.* 2022; (26): 20–26. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-26-20-26>.

About authors

Chulkova Svetlana V., PhD Med, associate professor, senior researcher at Laboratory of Haematopoiesis Immunology¹, associate professor at Dept of Oncology and Radiotherapy of Medical Faculty². ORCID: 0000-0003-4412-5019

Sholokhova Elena N., PhD Med, leading researcher at Laboratory of Haematopoiesis Immunology¹

Poddubnaya Irina V., DM Sci (habil.), professor, academician of RAS, vice-rector for Clinical Work and International Cooperation, head of Dept of Oncology and Palliative Medicine³

Artamonova Elena V., DM Sci (habil.), head of Dept of Chemotherapy No. 1¹, professor at Dept of Oncology and Radiotherapy of Medical Faculty². E-mail: artamonovae@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7728-9533

Semyanikhina Alexandra V., PhD Med, associate professor, research scientist at Laboratory of Haematopoiesis Immunology¹, assistant at Dept of Oncogenetics of Institute of Higher and Additional Professional Education⁴. ORCID: 0000-0001-8783-8874

Stilidi Ivan S., DM Sci (habil.), professor, academician of RAS, director¹, head of Dept of Oncology and Radiotherapy of Medical Faculty². ORCID: 0000-0002-0493-1166

Tupitsyn Nikolai N., DM Sci (habil.), professor, head of Laboratory of Haematopoiesis Immunology¹. ORCID: 0000-0003-3966-128X

¹National Medical Research Centre of Oncology n.a. N.N. Blokhin, Moscow, Russia

²Russian National Research Medical University n.a. N.I. Pirogov, Moscow, Russia

³Russian Medical Academy for Continuing Professional Education, Moscow, Russia

⁴Medical and Genetic Research Centre n.a. academician N.P. Bochkov, Moscow, Russia

Corresponding author: Chulkova Svetlana V. E-mail: chulkova@mail.ru

For citation: Chulkova S.V., Sholokhova E.N., Poddubnaya I.V., Artamonova E.V., Semyanikhina A.V., Stilidi I.S., Tupitsyn N.N. Immunophenotypic features of molecular subtypes of breast cancer. *Medical alphabet.* 2022; (26): 20–26. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2022-26-20-26>.

