

---

## РОЛЬ МОЛЕКУЛ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ В РАЗВИТИИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭНДОМЕТРИЯ

Е.Е. Щелокова, В.А. Ковязин, И.И. Бабиченко

Кафедра патологической анатомии  
Российский университет дружбы народов  
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

В статье рассматриваются процессы межклеточной адгезии в неизменном пролиферирующем эндометрии при гиперпластических процессах и аденокарциноме. С помощью иммуногистохимического метода была оценена экспрессия E-кадгерина,  $\beta$ -катенина и клаудина-1 на разных стадиях неопластической трансформации эпителия эндометрия. Установлена роль ключевых белков Wnt-сигнального пути и клаудина-1 в развитии злокачественной трансформации железистых клеток эндометрия.

**Ключевые слова:** эндометрий, молекулы межклеточной адгезии, E-кадгерин,  $\beta$ -катенин, клаудин-1.

Развитие гиперпластических процессов в эндометрии и их малигнизация является актуальной проблемой современной гинекологии [1]. Особенности патогенеза и ранней диагностики патологических состояний эндометрия в настоящее время активно изучаются и довольно широко освещены в литературе последних лет [2, 3]. Однако многие вопросы, касающиеся механизмов развития и способов своевременного выявления гиперпластических процессов эндометрия, все еще остаются недостаточно изученными.

Поиск ключевых мутаций на переходных стадиях злокачественной опухолевой трансформации в эндометрии и их влияния на процессы пролиферативной активности и апоптоза, клеточного цикла, ангиогенеза, клеточной адгезии необходимо для понимания биологического поведения опухоли, для оценки прогноза и адекватного лечения [4].

В последнее время особенно активно изучаются молекулы межклеточного взаимодействия и их роль в развитии онкологических заболеваний, формируются новые взгляды на механизмы опухолевого роста и метастазирования опухолей.

В эпителиальных клетках основным белком, ответственным за адгезивные свойства, служит E-кадгерин, он относится к суперсемейству трансмембранных гликопротеинов, обеспечивающих кальций-зависимое гомофильное соединение клеток в тканях. Прикрепление цитоплазматического домена E-кадгерина к активному цитоскелету клетки осуществляется белком  $\beta$ -катенином через белок  $\alpha$ -катенин.  $\beta$ -катенин, кроме адгезионной, выполняет в клетке еще и важную сигнальную функцию, участвуя в процессах пролиферации, дифференцировки, миграции клеток и является ключевым белком Wnt-сигнального пути. Wnt-путь — это цепь сигнальных механизмов, которая состоит из взаимодействия лигандов Wnt с рецепторами, последующей инактивации киназы GSK3 и активации транскрипции в ядре. Этот сигнальный путь участвует во многих процессах эмбрионального развития, определяя направления клеточной дифференцировки. В опухолевых клетках нарушается регуляция Wnt-пути. Функция, которую выполняет белок  $\beta$ -ка-

тенин, являясь, как уже упоминалось выше, ключевым белком Wnt-сигнального пути, зависит от взаимодействующих с ним протеинов; вместе с кадгеринами  $\beta$ -катенин участвует в образовании межклеточных контактов, в комплексе с факторами семейства LEF/TCF является коактиватором транскрипции генов в ядре, в составе цитоплазматических комплексов с белками GSK3, APC и Axin  $\beta$ -катенин фосфорилируется для последующей деградации. Адгезионная и сигнальная функция  $\beta$ -катенина строго скоординированы, и нарушение баланса в пользу второй может приводить к появлению злокачественного фенотипа клетки [5].

Кроме кадгеринов и катенинов существенную роль в межклеточном взаимодействии клеток эпителия эндометрия играют плотные контакты. Эти соединения образованы белками клаудинами. В области плотных контактов мембранные пространства отсутствуют, а билипидные слои соседних плазмолемм сливаются в одну общую билипидную мембрану, что обеспечивает прочную механическую связь клеток, препятствует транспорту веществ по межклеточным пространствам, уменьшает подвижность клеток. Исследования клаудина-1 в клетках аденокарциномы толстого кишечника показали, что экспрессия данного белка коррелировала со степенью анаплазии опухолевых клеток [6]. В эндометрии эта взаимосвязь недостаточно изучена, данные литературы малочисленны и противоречивы.

Таким образом, целью данной работы явилось изучение экспрессии E-кадгерина,  $\beta$ -катенина и клаудина-1 в неизмененном пролиферирующем эндометрии, при гиперпластических процессах и аденокарциноме эндометрия.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали архивный материал соскобов из полости матки. Из 115 образцов 36 представляли неизмененный пролиферативный эндометрий, 32 — простую гиперплазию, 13 — атипичную гиперплазию, 34 — аденокарциному. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине. Определение антигенов в ткани эндометрия проводили иммуногистохимическим методом на парафиновых срезах. В качестве первичных сывороток использовали кроличьи поликлональные антитела к  $\beta$ -катенину (Thermoscientific, 1 : 100) и клаудину-1 (Thermoscientific, 1 : 200), моноклональные антитела к E-кадгерину (SPM471, Thermoscientific, 1 : 50). Выявление иммунных комплексов проводили при помощи безбиотиновой системы детекции на основе пероксидазы хрена (BioGenex, США), срезы докрашивали гематоксилином Майера.

Оценку интенсивности иммуногистохимической реакции с данным маркером осуществляли качественно по локализации продуктов иммуногистохимической реакции в железистых клетках эндометрия.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Проведенное иммуногистохимическое исследование выявило 3 типа экспрессии молекул межклеточных контактов в клетках гиперпластического и неопластического эпителия эндометрия. Мембранный тип наблюдался в неизмененном пролиферирующем эпителии и типичной гиперплазии. Патологическая экспрессия была выявлена в цитоплазме (цитоплазматический тип) и ядре (ядерный тип) клеток при атипичной гиперплазии и аденокарциноме.

Суммарные данные экспрессии белков E-кадгерина,  $\beta$ -катенина и клаудина-1 представлены в табл. 1.

**Тип экспрессии молекул межклеточного взаимодействия в пролиферативном эндометрии, при гиперпластических процессах и аденокарциноме**

Антитела	НПЭ (n = 36)	ТГЭ (n = 32)	АГЭ (n = 13)	АК (n = 34)
Е-кадгерин	мембрана	мембрана	мембрана	мембрана
$\beta$ -катенин	мембрана	мембрана	мембрана цитоплазма	мембрана цитоплазма ядро
Клаудин-1	мембрана	мембрана	мембрана цитоплазма	мембрана цитоплазма

Примечание: n — число случаев.

Выраженная реакция Е-кадгерина была обнаружена практически во всех клетках неизмененного пролиферативного эндометрия и типичной гиперплазии. Реакция имела вид мембранного окрашивания. В группе атипичной гиперплазии и 22 случаях аденокарциномы количество клеток с мембранной экспрессией Е-кадгерина уменьшалось. В оставшихся 12 аденокарциномах преимущественно наблюдалась слабopоложительная или отрицательная иммуногистохимическая реакция на мембранах анапластических клеток.

Реакции с антителами к  $\beta$ -катенину и Е-кадгерину имели сходные локализации, в случаях неизмененного пролиферирующего эпителия и при типичной гиперплазии: выраженная мембранная реакция наблюдалась в большинстве клеток эпителия эндометрия. При появлении клеточной анаплазии отмечалось снижение мембранной экспрессии  $\beta$ -катенина и наблюдалось значительное число клеток с цитоплазматическим типом окраски. Во всех аденокарциномах выявлялось диффузное цитоплазматическое окрашивание. В двух случаях аденокарциномы наблюдался ядерный тип окраски клеток железистого анапластического эпителия.

Е-кадгерин и  $\beta$ -катенин, являясь молекулами, обеспечивающими клеточную адгезию, входят в состав единой системы, создавая, таким образом, стабильность ткани. Белки клеточной адгезии присутствуют в норме на мембране железистых клеток эндометрия в течение всего менструального цикла, а их потеря при малигнизации сопровождается приобретением клетками инвазивных свойств. G. Mogeno-Vueno и соавт. [7] отметили, что при атипичной гиперплазии и аденокарциноме эндометрия экспрессия Е-кадгерина снижается. По другим сведениям, иммуноокрашивание неопластического эпителия с антителами на Е-кадгерин не отличается от такового в неизмененном эндометрии и при типичной гиперплазии [8]. В нашей работе отсутствие Е-кадгерина на мембранах опухолевых клеток наблюдалось в 12 аденокарциномах. По всей видимости, изменения гена, отвечающего за Е-кадгерин (мутации, делеции, метилирование), проявляются потерей экспрессии Е-кадгерина и приводят к нарушению межклеточных контактов, появлению способности анапластических клеток отделяться от первичной опухолевой структуры, мигрировать и проникать в окружающие ткани, что может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе.

В настоящей работе мембранный тип экспрессии наблюдался в гиперпластическом эндометрии, а при развитии неопластической трансформации появлялся патологический тип экспрессии в цитоплазме и ядрах клеток. Различная локализация белков при патологическом типе экспрессии объясняется мутациями,

которые приводят к повреждению Wnt-пути и накоплению в клетке  $\beta$ -катенина. В литературе имеются данные о том, что гиперэкспрессия  $\beta$ -катенина в цитоплазме приводит к последующей транслокации его в ядро опухолевой клетки, где данный белок взаимодействует с активаторами c-Myc и циклином D1, и в результате происходит усиление пролиферации клеток [9]. Наши исследования подтверждают это предположение и свидетельствуют о том, что появление положительной реакции с  $\beta$ -катенином в цитоплазме и ядрах опухолевых клеток характерно для атипичной гиперплазии и аденокарциномы, характеризуя важную роль Wnt-сигнального пути в злокачественной трансформации эпителия эндометрия.

Результаты экспрессии клаудина-1 в неизменном пролиферативном эндометрии показали мембранное окрашивание клеток. В клетках эпителия при типичной гиперплазии без атипичии преобладало мембранное окрашивание. При гиперплазии с атипичией эпителия мембранное и цитоплазматическое окрашивания были обнаружены в равных соотношениях. В аденокарциноме эндометрия цитоплазматическое окрашивание преобладало над мембранным, последнее было слабо выражено или отсутствовало.

Развитие анапластических процессов в клетках эндометрия сопровождается уменьшением экспрессии клаудина-1 на поверхности плазматической мембраны, что ведет к снижению межклеточной адгезии, к снижению обмена сигнальными субстанциями, которые могли бы тормозить деление и миграцию клеток. В свою очередь, приобретение злокачественными клетками свойства отделяться от исходной клеточной массы за счет ослабления межклеточных контактов ведет к опухолевой прогрессии. Возможно существует другой механизм, способный приводить к анапластической трансформации клетки, который может быть связан с накоплением в цитоплазме клаудина-1 и, подобно молекуле  $\beta$ -катенина, последующим его влиянием на определенные сигнальные пути клетки. В литературе есть сведения о том, что клаудин-1 может являться мишенью для генов  $\beta$ -катенина [10] и, таким образом, передача Wnt-сигнала выступает в роли регулятора барьерной функции, осуществляемой плотными контактами. Сбой в работе Wnt-сигнального пути, по всей видимости, может приводить к нарушению мембранной локализации клаудина-1 и гиперэкспрессии его в цитоплазме железистых клеток эндометрия на ранней стадии злокачественной трансформации. Дальнейшие исследования роли белка клаудина-1 в канцерогенезе помогут подтвердить вышеперечисленные гипотезы.

**Заключение.** Проведенное исследование экспрессии молекул межклеточной адгезии в неизменном пролиферирующем, гиперпластическом эндометрии и аденокарциноме выявило нарушения адгезивных свойств анапластических клеток. Полученные нами результаты подтверждают данные о том, что приобретение клетками эндометрия фенотипических свойств злокачественной опухоли связано с патологическими изменениями качественных и количественных характеристик молекул межклеточной адгезии. Обнаруживается прямая связь между нарушениями адгезивных свойств клеток и степенью неопластической трансформации. На эту связь указывает появление  $\beta$ -катенина в ядрах опухолевых клеток аденокарциномы, что может приводить к изменению транскрипционной активности ряда генов.

Белок плотных контактов клаудин-1 также участвует в механизмах формирования злокачественных опухолей эндометрия и может служить критерием для ранней дифференциальной диагностики гиперпластического и неопластического эндометрия.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Савельева Г.М., Бреусенко В.Г. Гинекология — М.: Гэотар Медицина, 2005. — 432 с.
- [2] Чернышова А.Л., Коломиец Л.А., Бочкарева Н.В., Крицкая Н.Г. Иммуногистохимические критерии прогноза при раке эндометрия // Сибирский онкологический журнал. — 2010. — № 1. — С. 79—84.
- [3] Samarnthai N., Hall K., Yeh I.T. Molecular profiling of endometrial malignancies // *Obstet Gynecol Int.* — 2010. — P. 1—16.
- [4] Бабиченко И.И., Ковязин В.А. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста. — М.: Изд-во РУДН, 2008. — 109 с.
- [5] Scholten A.N., Creutzberg C.L., van den Broek L. et al. Nuclear  $\beta$ -catenin is a molecular feature of type I endometrial carcinoma // *J Pathol.* — 2003. — V. 201. — P. 460—465.
- [6] Huo Q., Kinugasa T., Wang L. et al. Claudin-1 protein is a major factor involved in the tumorigenesis of colorectal cancer // *Anticancer Res.* — 2009. — V. 29. — P. 851—857.
- [7] Moreno-Bueno G., Hardisson D., Sarrió D. et al. Abnormalities of E- and P-cadherin and catenin (beta-, gamma-catenin, and p120ctn) expression in endometrial cancer and endometrial atypical hyperplasia // *J Pathol.* — 2003. — V. 199. — P. 471—478.
- [8] Carico E., Atlante M., Giarnieri E. E-cadherin and alpha-catenin expression in normal, hyperplastic and neoplastic endometrium // *Anticancer Res.* — 2010. — V. 30. — P. 4993—4997.
- [9] Li H., Pamukcu R., Thompson W.J.  $\beta$ -catenin signaling // *Cancer Biol Ther.* — 2002. — V. 1. — P. 621—625.
- [10] Miwa N., Furuse M., Tsukita S. et al. Involvement of claudin-1 in the  $\beta$ -catenin/Tcf signaling pathway and its frequent upregulation in human colorectal cancers // *Oncology Research.* — 2000. — V. 12. — P. 469—476.

### ROLE OF INTERCELLULAR ADHESION MOLECULES IN THE DEVELOPMENT OF THE ENDOMETRIAL NEOPLASIAS

E.E. Shelokova, V.A. Kovyazin,  
I.I. Babichenko

Department of pathological anatomy  
People's Friendship University of Russia  
Miklukho-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

In article the processes of intercellular adhesion in unchanged proliferating endometrium, hyperplasia and adenocarcinoma are surveyed. Expression E-cadherin,  $\beta$ -catenin and claudin-1 at different stages of epithelial neoplastic transformation of endometrium by immunohistochemical method had been estimated. The role of key proteins Wnt-signaling pathway and Claudine-1 in the development of malignant transformation of glandular cells of endometrium was established.

**Key words:** endometrium, molecules of intercellular adhesion, E-cadherin,  $\beta$ -catenin, claudin-1.