

Молекулы адгезии CD44H в базальноклеточном раке кожи

А.Н.Хлебникова, Л.Е.Гуревич, Н.А.Корсакова, Е.В.Устинова

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.Владимирского

Molecules of adhesion CD44H in the skin with basaliomal cancer

A.N. Chlebnikova, L.E. Gurevich, N.A. Korsakova, E.V. Ustinova

M.F. Vladimirsky of Moscow region research Clinical Institute

Аннотация

Экспрессия адгезивных молекул CD44H была изучена в 32 случаях первичного солитарного базальноклеточного рака кожи. В 40,6% базалиом экспрессия адгезивных молекул CD44H не определялась. В 59,6% случаев маркер экспрессировался преимущественно клетками мелких инвазивных комплексов базальноклеточного рака, локализованных в зоне роста опухоли и эпителиально-мезенхимальных контактов. В 27,7% случаев язвенной базалиомы выявлен аномальный тип экспрессии - цитоплазматический диффузный и мелкогранулярный.

Ключевые слова

Базальноклеточный рак, молекулы адгезии, CD44, экспрессия

Многие межклеточные взаимодействия, играющие ключевую роль в эмбриогенезе, поддержании гомеостаза сформированного организма и в развитии патологических процессов, осуществляются с помощью молекул клеточной адгезии (МКА). Адгезионные взаимодействия между клетками и внеклеточным окружением в значительной степени определяют фенотип клеток, экспрессию генов и скорость пролиферации [1]. МКА регулируют пространственную и временную диссоциацию, миграцию, агрегацию и отбор клеток и играют ключевую роль в онтогенезе, морфогенезе и гистогенезе [1,2]. Так определенные виды МКА обеспечивают эмиграцию лейкоцитов и их передвижение в межклеточном матриксе в направлении очага воспаления, включают аллергические реакции; нарушения процессов адгезии весьма существенны при воспалении, инвазии опухолевых клеток, иммунодефиците и т.п. [1].

В настоящее время охарактеризовано несколько классов МКА – поверхностных клеточных гликопротеинов, обеспечивающих много-

образные процессы взаимодействия между клетками организма:

1. Кадгеринины – обеспечивают нормальное пространственное размещение клеток в пределах одной ткани и гомофильное взаимодействие между клетками [3];
2. Интегрины – обеспечивают как межклеточную адгезию, так и взаимодействие клеток с межклеточным матриксом [2];
3. Селектины – опосредуют взаимодействие лейкоцитов с эндотелием сосудов [1];
4. Иммуноглобулины с переменным числом Ig-подобных доменов – экспрессируются на субстрате адгезии и играют важную роль в привлечении и миграции эозинофилов, нейтрофилов и макрофагов, особенно в их продвижении во внеклеточном матриксе [2];
5. Другие адгезионные молекулы - например, CD44, который является первичным медиатором адгезии лейкоцитов [1].

Будучи мембранными белками, все молекулы адгезии имеют принципиально общую схему строения. В их составе выделяют три главных домена: внеклеточный домен – немембранный

внешний участок, обеспечивающий адгезию; трансмембранный домен, пронизывающий мембрану клетки; цитоплазматический домен. Для функционирования МКА и клетки в целом критическое значение имеет цитоплазматический домен, который связывает МКА с цитоскелетом и передает на внутренние системы клетки сигналы, возникающие в результате взаимодействия внеклеточных доменов с их мишенями, влияя на форму клетки и ее поведение [4].

Трансмембранные адгезивные молекулы CD44 широко представлены на мембране многих тканей организма. Они экспрессируются в базальном слое эпителиального слоя кожи, пищевода, шейки матки, в железистом эпителии поджелудочной, предстательной, молочной, слюнной, щитовидной железы, в сальных и потовых железах, на нейтрофилах и Т-лимфоцитах [1]. Их физиологической функцией является агрегация, миграция и активация клеток, что обеспечивается адгезивными свойствами этих молекул. Сверхэкспрессия молекул CD44 наблюдается на клетках опухолей, развивающихся из выше упомянутых тканей, но они часто различаются по типу экспрессии и локализации иммунореактивности, что можно использовать для дифференциальной диагностики новообразований [5,6].

Адгезивные молекулы CD44 представляют собой семейство гликопротеидов, которое представлено стандартной изоформой (CD44s) и около 30 вариантными изоформами (CD44v) [7]. Вариабельность структуры и распределения молекул CD44 в различных тканях свидетельствует о многообразии их функций, из которых в настоящее время известны следующие: 1) обеспечение межклеточных связей (адгезии, агрегации и миграции клеток); 2) участие в разрушении экстрацеллюлярного матрикса; 3) активация лимфоцитов; 4) участие в процессах миело- и лимфопоэза; 5) стимуляция ангиогенеза; 6) активация-ингибция продукции цитокинов различными типами клеток [2,8].

Основной функцией молекул CD44 является обеспечение межклеточных взаимодействий (адгезии) в соответствующем микроокружении. Молекулы участвуют в передаче специфических сигналов через компоненты цитоскелета в клетку и между клетками, что стимулирует увеличение митотической активности клеток. В ответ на определенные экзо- и эндогенные стимулы происходят изменения в характере экспрессии молекул CD44 и силе межклеточных адгезивных связей.

Активация клеток, вызываемая молекулами адгезии CD44, подробно описана для Т-лимфоцитов [1]. На покоящихся Т-лимфоцитах CD44 присутствует в неактивной форме. Активация клеток увеличивает экспрессию CD44 и его аффинность к гиалуронату. Связывание CD44 со специфическими протеогликанами включает в лейкоците сложные процессы, приводящие к миграции клетки в направлении очага воспаления. Адгезия Т-лимфоцитов к эндотелию осуществляется при кластеризации молекул CD44 на поверхности лимфоцита, прилежащей к эндотелию. Эта кластеризация рецептора приводит к усилению экспрессии LFA-1, что способствует контакту со специфическими молекулами межклеточной адгезии, появляющимися на активированных клетках эндотелия [1]. Таким образом, CD44 наряду с IL-8, признается первичным медиатором адгезии лейкоцитов (лимфоцитов и нейтрофилов), их хемотаксиса и способности к миграции в межклеточном матриксе.

С тех пор, как в 1991 году Gunthert и соавторы показали, что интенсивность экспрессии CD44 коррелирует с метастатическим потенциалом карцином у крыс, началось изучение роли CD44 в различных опухолях человека [6].

Распространение метастазов обеспечивается длинной цепью межклеточных взаимодействий, при этом метастазирующие клетки опухоли используют некоторые механизмы, функционирующие при физиологической миграции клеток в норме [6]. Клетки опухоли, экспрессирующие CD44, с помощью лигандов к гиалуронату, сульфату хондроитина, фибронектину, ламинину и коллагенам прикрепляются к соответствующим компонентам экстрацеллюлярного матрикса. Это позволяет им вторгаться в окружающие ткани, утилизировать и разрушать гиалуронат экстрацеллюлярного матрикса [9]. С другой стороны взаимодействие между молекулами CD44 и его лигандами стимулирует выработку клетками опухоли аутокринных факторов роста и протеаз, способствующих васкуляризации опухоли. Сверхэкспрессия CD44 усиливает связывание клеток с гиалуронатом и, уменьшая их адгезивные свойства, увеличивает их подвижность.

Относительно роли молекул CD44 в канцерогенезе, инвазии и метастазировании опухолей разных типов существуют противоречивые данные. В некоторых типах злокачественных опухолей сверхэкспрессия в клетках CD44 коррелирует с повышенным потенциалом метаста-

зирования и неблагоприятным прогнозом [5, 6, 10, 11]. Сверхэкспрессия молекул CD44 часто наблюдается в клетках опухоли, локализованных в зоне роста и инвазии и в участках с высокой интенсивностью клеточного деления [12,13,14]. Так, Л.Е.Гуревич при изучении опухолей поджелудочной железы отметила, что инвазивный потенциал аденокарцином поджелудочной железы увеличивается при сверхэкспрессии адгезивных молекул CD44Н в клетках опухоли, локализованных в зоне инвазии и эпителиально-мезенхимальных контактов. Кроме того, изменяется локализация молекул CD44 в клетке: если в норме отмечается мембранная экспрессия, то в большинстве клеток инвазивных комплексов опухоли экспрессия CD44Н имела вид грубых гранул, расположенных по внешней и внутренней поверхности мембраны клеток [15]. Патологическая очаговая экспрессия CD44 в плоскоклеточном раке трахеи ассоциировалась с низкой дифференцировкой опухоли, увеличенной пролиферативной активностью и повышенной частотой метастазирования в регионарные лимфатические узлы [16]. Для аденокарциномы легких, гепатоцеллюлярного рака и карциномы внепеченочных желчных путей гиперэкспрессия CD44 связана с плохим прогнозом [17,18]. В тоже время повышение экспрессии CD44 чаще наблюдалось в нейробластомах с благоприятными прогностическими признаками и в эмбриональных рабдомиосаркомах, не сопровождающихся метастазами [19]. При раке щитовидной железы неблагоприятным признаком является отсутствие CD44 [20].

Относительно недавно появились исследования, в которых было отмечено, что молекулы CD44 могут рассматриваться как маркер плоскоклеточной дифференцировки. Так в плоскоклеточном раке легкого отмечалась интенсивная экспрессия CD44 в 72% случаев, в то время как клетки аденокарциномы экспрессировали CD44 только в 2,2% случаев [21]. Сверхэкспрессия молекул CD44 описана также в высокодифференцированном плоскоклеточном раке пищевода и шейки матки, в фокусах плоскоклеточной дифференцировки аденосквамозных карцином легкого, матки, пищевода, поджелудочной железы, в железистых компонентах этих опухолей она была минимальной или отсутствовала [22]. При снижении уровня дифференцировки плоскоклеточного компонента экспрессия молекул CD44 приобретала патологические черты или

утрачивалась [22,23]. Аналогичная закономерность отмечена и в опухолях кожи: клетки кератоантомы и высокодифференцированного плоскоклеточного рака сильно экспрессировали CD44, по мере снижения уровня дифференцировки опухоли интенсивность экспрессии уменьшалась, была она минимальна и в базальноклеточном раке [24].

Базальноклеточный рак (БКР) является наиболее распространенной злокачественной опухолью кожи, доля которого в их общей структуре оценивается в 75-90% [25,26]. Он характеризуется медленным местноинвазивным ростом и редким метастазированием.

В большинстве исследований базальноклеточного рака экспрессия молекул CD44 отсутствовала, либо была минимальной [27]. Как правило, это было слабое мембранное окрашивание отдельных участков опухоли [28]. При изучении 42 базалиом Ваум Н.Р. и соавт. отметили, что большинство солидных опухолей не экспрессировали CD44 и только единичные давали положительное окрашивание со стандартной изоформой в центре опухолевых комплексов, изоформа CD44v6 сильно экспрессировалась клетками, образующими частокол по периферии комплексов, реакция с CD44v10 была отрицательной во всех случаях БКР [29].

Значительное снижение экспрессии молекул CD44 (CD44pan, CD44v3, CD44v5, CD44v6) клетками базалиомы, по сравнению с нормальным эпидермисом, отметили Dingemans К.Р. и соавт. [30]. Кроме того, авторы установили, что различные морфологические типы опухоли отличаются друг от друга по уровню экспрессии этих молекул. Окрашивание носило мембранный характер и по интенсивности отличалось между базалиомами с различным типом роста. В нормальном эпидермисе окрашивание носило мембранный характер и интенсивность его составила 4,0. В солидных и поверхностномультцентрических типах опухоли адгезивные молекулы локализовались на мембране большинства клеток и интенсивность окрашивания была $1,55 \pm 0,97$ и $1,65 \pm 0,6$ соответственно, наиболее интенсивной она была в клетках по периферии опухолевых комплексов. Более выраженная экспрессия отмечалась в базалиомах с инфильтративным типом роста $2,22 \pm 0,94$, в морфеа-подобных $2,38 \pm 0,83$ и аденоидных $2,36 \pm 0,82$. В данных опухолях самая сильная экспрессия отмечалась в клетках локализованных в зоне роста (цугообразные, уходя-

щие в дерму опухолевые комплексы) [30]. Кроме того, установлена повышенная экспрессия CD44 в зоне эпителиально-мезенхимальных контактов цугоподобных комплексов БКР, растающих в строму, которая в 2,5 раза по интенсивности превышала экспрессию CD44 в эпителиально-мезенхимальных контактах ровных солидных комплексов БКР и на границе нормального эпидермисе и дермы [31]. На основании полученных данных авторы предположили, что имеется статистически достоверная корреляция между типом роста опухоли и экспрессией CD44, и что адгезивные молекулы CD44 играют важную роль в гистогенезе базиоиды. Экспрессируясь в клетках инфильтративных типов роста и на границе эпителиально-мезенхимальных контактов молекулы CD44 способствуют разрушению компонентов экстрацеллюлярного матрикса, росту и инвазии опухоли.

Материалы и методы

Иммуногистохимические исследования экспрессии CD44H были выполнены на биопсийном материале, полученном от 32 больных первичным базальноклеточным раком кожи.

Получение биопсийного материала:

Под местной анестезией 2% раствором новокаина проводилась биопсия кожи размером 0,5x0,5 см. Биоптаты фиксировали в 10% растворе формалина, забуфференом по Лилли при pH-7,4.

Гистологический метод:

Материал фиксировали в 10%-ном растворе формалина, забуфференом по Лилли при pH-7,4, затем заливали в парафин по обычной методике.

Серийные срезы толщиной 3-5 мкм депарфинировали по стандартной схеме, затем окрашивали гематоксилином и эозином.

Иммуногистохимический (ИГХ) метод:

ИГХ проводили в соответствии со стандартным протоколом. Были использованы моноклональные антитела к CD44H (клон F10-44-2, разведение 1:50, фирма Novocastra).

Для ИГХ исследований ткани фиксировали в 10%-ном забуфференом формалине (pH 7,2), проводили по батаре спиртов и ксилолов, заливали в парафин по стандартной методике. Использовали парафин с температурой плавления 54° С (Германия).

Затем с помощью одноразовых лезвий марки R35 готовили серийные парафиновые срезы

толщиной 3-5 мкм и наносили их на стекла с адгезивным покрытием (полилизиновые), депарфинировали по стандартному протоколу.

Далее срезы по 5 минут промывали в деионизированной дистиллированной воде и фосфатном буфере (pH 7,4). (Все использованные в ИГХ реакции растворы готовили только на деионизированной воде).

Исследование проводили в соответствии с методикой Taylor C. R., Cote R. [32] и Sternberger L.A. [33]. Применяли метод восстановления антигенных детерминант ткани по методике Shi S.R. и соавт. [34] с помощью предварительной обработки срезов, погруженных в цитратный буфер (pH 6,0) в микроволновой печи при мощности 690 Вт 2 раза по 5 минут.

Затем срезы охлаждались 20 минут при комнатной температуре, аккуратно подсушивались и на них наносились первичные антитела.

Антитела применяли в рабочих разведениях, а для усиления специфической реакции в соответствии с модификацией Л.Е.Гуревич и соавт. [35] применялась более длительная инкубация с первичными антителами: 30 минут при комнатной температуре, затем 14-18 часов при 4°С.

Использовались соответствующие позитивные и негативные контроли – иммунные и не иммунные сыворотки.

Срезы тщательно отмывались в буфере, подсушивались, затем на них наносили EnVision (anti-mouse и anti-rabbit, фирмы DAKO, Дания) или универсальный Novostain Super ABC kit (фирмы Novocastra, Великобритания).

1. При использовании одноступенчатой системы EnVision реактив наносился на срезы на 30-40 минут;
2. При использовании двухступенчатого универсального авидин-стрептовидинового ABC-комплекса на срезы на 30 минут наносились вторичные антитела, которые затем промывались забуфференным физраствором и просушивались, а затем еще на 30 минут пероксидазный комплекс.

После каждой инкубации срезы тщательно отмывали, подсушивали вокруг, затем, для визуализации реакции, на них наносили DAB+ (3, 3'-диаминобензидин), что позволяло получать специфическую коричневую окраску.

Интенсивность ИГХ реакции в каждом препарате контролировалась под микроскопом: после достижения необходимой интенсивности окрашивания срезы отмывали в дистиллированной воде, а затем в течение 2-5 минут докрашивали гематоксилином Майера.

Затем их снова промывали и погружали в проточную воду, в которую, для получения щелочной среды, добавляли несколько капель нашатырного спирта.

После того, как срезы приобретали голубой оттенок, стекла извлекались, обезвоживались в батарее спиртов и ксилолов по стандартной схеме, заключались в бальзам и исследовались под микроскопом.

Оценка экспрессии CD44Н проводилась по системе, разработанной Л.Е.Гуревич [15]:

- мембранный тип экспрессии - равномерное распределение иммунореактивности по всей клеточной мембране;
- мембранно-редуцированный тип экспрессии - распределение иммунореактивности только на отдельных участках клеточной мембраны;
- цитоплазматический диффузный тип экспрессии – равномерная цитоплазматическая экспрессия
- цитоплазматический мелкогранулярный тип экспрессии - экспрессия CD44Н в виде мелких гранул, рассеянных в цитоплазме клеток;

Интенсивность окрашивания оценивалась в баллах:

- 0 - реакция отсутствует;
- 1 – слабая экспрессия;
- 2 – реакция умеренная;
- 3 – реакция высокая;
- 4 – реакция интенсивная

Результаты исследования

В БКР кожи CD44Н экспрессировался на мембране клеток базального и шиповатого слоев эпидермиса, расположенного над опухолью, экспрессия рассматривалась как мембранная и интенсивность ее оценивалась в 4 балла. В клетках опухоли отмечались мембранный, мембранно-редуцированный, цитоплазматический диффузный, цитоплазматический мелкогранулярный типы экспрессии. Интенсивность экспрессии была снижена, по сравнению с эпидермисом, и оценивалась в интервале от 1 до 3 баллов. Кроме того, этот маркер экспрессировали лимфоидные элементы инфильтрата в дерме.

В клетках 13 базалиом (что составило 40,6% от всех опухолей) экспрессия CD44Н отсутствовала (рис.1, 2, 3). В остальных случаях наблюдалась гетерогенная экспрессия в опухоли данного маркера.

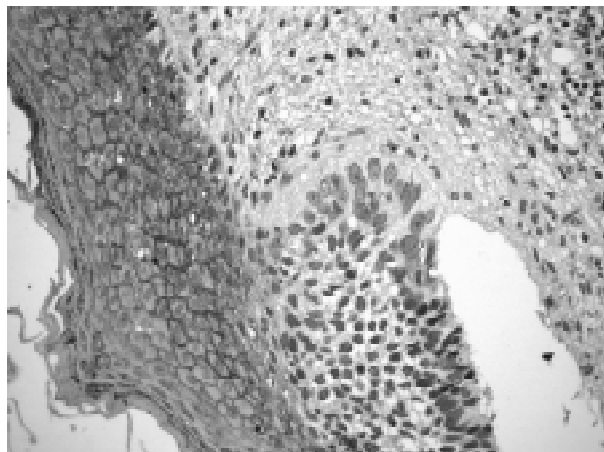


Рис. 1. Экспрессия CD44Н. Мембранный тип экспрессии в эпидермисе, отсутствие экспрессии в клетках БКР. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув.х400

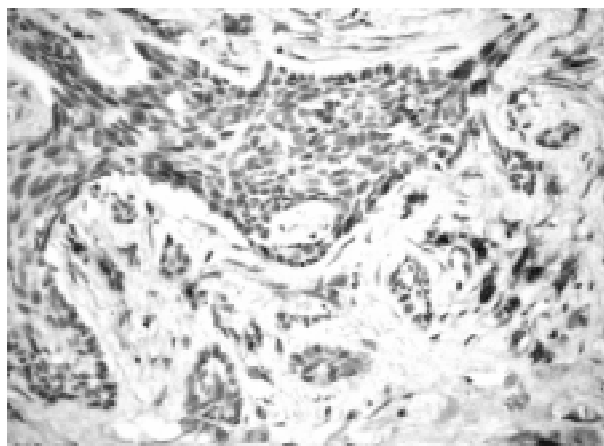


Рис. 2. Экспрессия CD44Н. Отсутствие экспрессии в клетках БКР. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув.х400

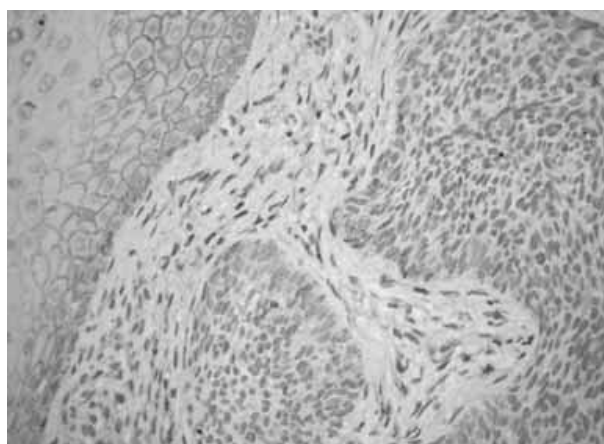


Рис. 3. Экспрессия CD44Н. Мембранный тип экспрессии в эпидермисе, отсутствие экспрессии в клетках БКР. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув.х400

В 8 базалиомах CD44H экспрессировали от 50 до 100% клеток, при этом интенсивность ее варьировала от 2 до 3 баллов (табл.1). В одном случае отмечался мембранный тип экспрессии, в 3-х – мембранно-редуцированный (рис.4), в 2-х – цитоплазматический диффузный, в одном – цитоплазматический мелкогранулярный и в одном смешанный – мембранно-редуцированный и цитоплазматический мелкогранулярный (рис.5). Более интенсивно маркер экспрессировали клетки, расположенные по периферии клеточных комплексов, а также клетки, образующие мелкие инвазивные комплексы, локализованные в зоне роста опухоли.

В 6 базалиомах CD44H экспрессировали от 10 до 40% клеток, интенсивность ее варьировала от 1 до 3 баллов (табл.1). В 4-х случаях она была мембранно-редуцированной (рис.6), в одном мембранно-редуцированной и диффузной цитоплазматической, в другом – мембранной и цитоплазматической мелкогранулярной. В 2-х базалиомах отмечалась интенсивная (3 балла) экспрессия маркера на границе опухоли с окружающей дермой (эпителиально-мезенхимальные контакты) (рис.7).

В 5 базалиомах отмечалась экспрессия CD44H в единичных клетках, расположенных в инвазивных комплексах в зоне опухолевого роста (рис.8), а также на границе этих опухолевых комплексов с дермой. Интенсивность экспрессии CD44H в эпителиально-мезенхимальных контактах всегда была достаточно высокой и оценивалась в 3 балла (табл.1).

Гистологически опухоли, экспрессировавшие CD44H, были представлены солидным (10), солидно-аденоидным (5) и поверхностно-мультицентрическим в сочетании с солидным (4) типом строения. В случаях солидно-аденоидного строения, клетки различались по экспрессии CD44. В частности, клетки, образующие аденоидные структуры всегда интенсивно экспрессировали маркер, а в солидных компонентах экспрессия отсутствовала.

Во всех случаях БКР клетки лимфоцитарного инфильтрата экспрессировали CD44H, в 7 - инфильтрат был достаточно выраженный. В 9 случаях было отмечено, что экспрессия CD44H отмечалась в клетках опухолевых комплексов, которые были окружены плотным лимфоцитарным инфильтратом, комплексы, окруженные дермой без инфильтрата, маркер не экспрессировали.

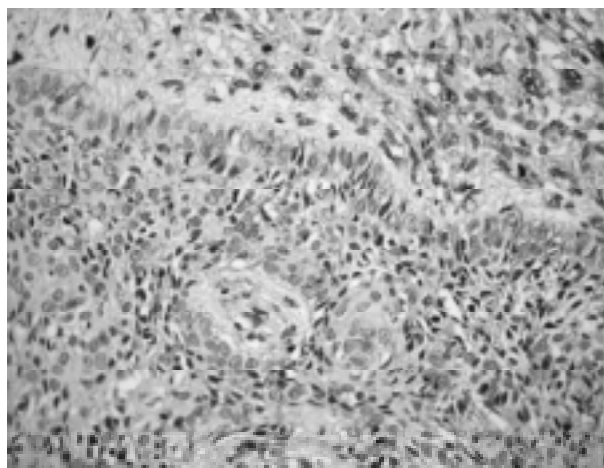


Рис. 4. Экспрессия CD44H. Мембранно-редуцированный тип экспрессии. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. X400

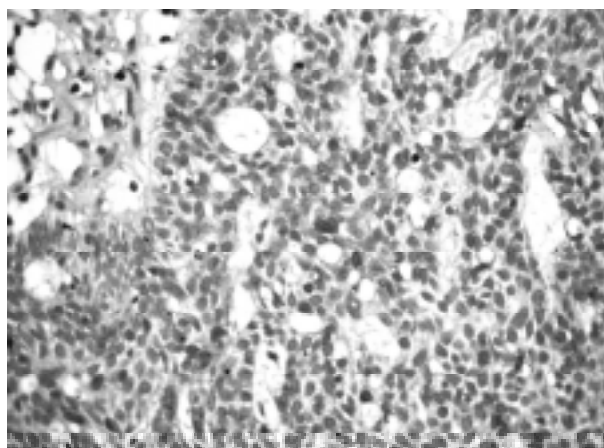


Рис. 5. Экспрессия CD44H. Мембранно-редуцированный и цитоплазматический мелкогранулярный тип экспрессии. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. x400

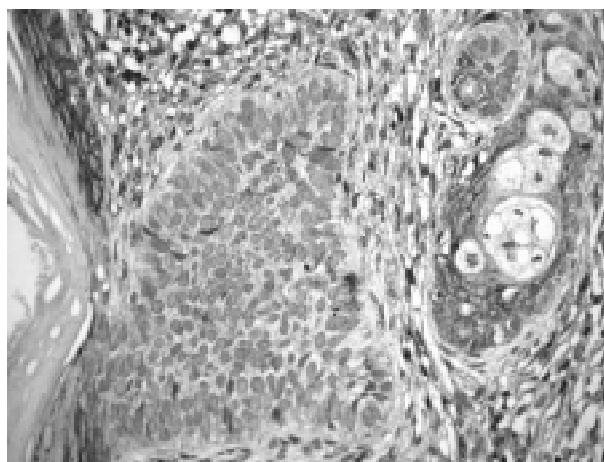


Рис. 6. Экспрессия CD44H. Мембранно-редуцированный тип экспрессии. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув. x 400

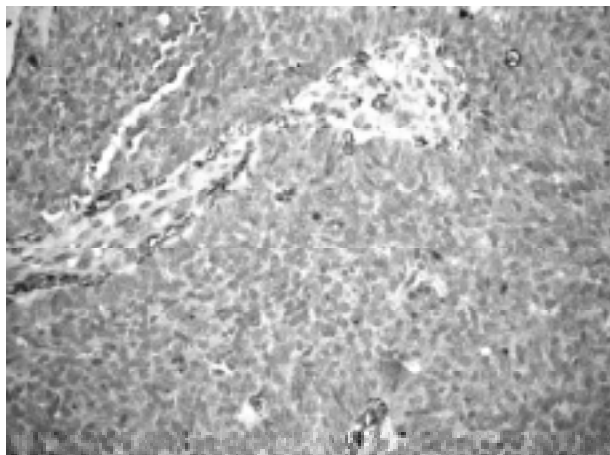


Рис. 7. Экспрессия CD44H на границе опухоли со стромой в эпителиально-мезенхимальных контактах. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув.х400

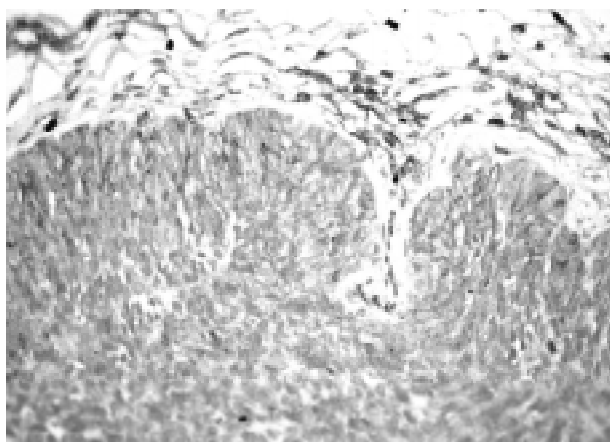


Рис. 8. Экспрессия CD44H. Мембранно-редуцированный тип экспрессии преимущественно в клетках образующих зону роста опухоли. Иммуногистохимическая реакция. ПАП-метод, докраска ядер гематоксилином Майера. Ув.х 400

Обсуждение

Важнейшими функциями CD44 в норме является обеспечение межклеточных связей, а именно агрегация и миграция клеток, и разрушение экстрацеллюлярного матрикса [2,8]. Опухолевые клетки, экспрессирующие CD44, используют данные механизмы, функционирующие при физиологической миграции клеток в норме [6]. Сверхэкспрессия CD44 позволяет клеткам прикрепляться к компонентам экст-

рацеллюлярного матрикса, вторгаться в окружающие ткани, утилизировать и разрушать гиалуронат экстрацеллюлярного матрикса, увеличивая подвижность [6]. Как правило, сверхэкспрессия молекул CD44 наблюдается в опухолевых клетках, локализованных в зоне роста и инвазии, и коррелирует с повышенным потенциалом метастазирования и неблагоприятным прогнозом [5,6,10].

БКР кожи – это местноинвазивная, медленно распространяющаяся и редко метастазирующая опухоль. Обычно она растет многие годы и долго не беспокоит пациентов, частота метастазирования составляет всего 0,03 - 0,15%, поэтому многие авторы характеризуют ее как опухоль, занимающую промежуточное положение между доброкачественными и злокачественными новообразованиями.

В большинстве исследований клетки БКР не экспрессировали CD44, либо отмечалось слабое мембранное окрашивание отдельных участков опухоли [27,28]. По нашим данным, из 32 базалиом клетки 13, что составляет 40,6%, не экспрессировали CD44H. Это свидетельствует о низкой подвижности опухолевых клеток, что приводит к относительно доброкачественному течению опухоли и отсутствию метастазов.

В подавляющем большинстве случаев экспрессия CD44H отмечалась в мелких инвазивных комплексах, локализованных в зоне опухолевого роста. В опухолях смешанного строения клетки, образующие аденоидные структуры, всегда интенсивно экспрессировали маркер, в то время как в солидных компонентах она была незначительной или полностью отсутствовала. Как правило, CD44H экспрессировался на мембране, но интенсивность экспрессии была незначительной (мембранно-редуцированной). Наиболее выраженную экспрессию CD44 в базалиомах с инфильтративным типом роста, в морфеоподобных и аденоидных, по сравнению с солидными и поверхностно-мультицентрическими, отметили Dingemans К.Р. и соавт., она носила мембранно-редуцированный характер и была максимальной в клетках составляющих зону роста [30].

В то же время в 6 опухолях мы наблюдали аномальную локализацию CD44H в клетке – маркер экспрессировался диффузно или в виде мелких гранул в цитоплазме. Клинически 5 из данных опухолей имели язвенную форму, одна – нодулярную, гистологически преобладал солидный тип строения. Известно, что инвазивный потенциал аденокарцином поджелудочной

Таблица 1
Экспрессия CD44H в базальноклеточном раке кожи

№	Клиническая форма	Гистологический тип	Тип экспрессии	Количество клеток (%)	Интенсивность экспрессии (в баллах)
1	Поверхностная	Поверхностно-мультицентрический + солидный	Мембранный	70%	2
2	Язвенная	Солидно-аденоидный	Мембранно-редуцированный	70%	2
3	Язвенная	Солидный	Мембранно-редуцированный	50%	2
4	Нодулярная	Аденоидно-солидный	Мембранно-редуцированный	50%	3
5	Язвенная	Солидный	Цитоплазматический диффузный	100%	3
6	Язвенная	Солидно-аденоидный	Цитоплазматический диффузный	70%	3
7	Нодулярная	Солидный	Цитоплазматический мелкогранулярный	80%	3
8	Язвенная	Солидный	Мембранно-редуцированный + цитоплазматический мелкогранулярный	60%	2
9	Язвенная	Солидно-аденоидный	Мембранно-редуцированный	40%	1
10	Поверхностная	Солидный + поверхностно-мультицентрический	Мембранно-редуцированный	20%	2
11	Нодулярная	Солидный	Мембранно-редуцированный	40%	1
12	Поверхностная	Поверхностно-мультицентрический + солидный	Мембранно-редуцированный	30%	2
13	Язвенная	Солидный	Мембранно-редуцированный + цитоплазматический диффузный	10%	2
14	Язвенная	Солидный	Мембранный + цитоплазматический мелкогранулярный	20%	3
15	Язвенная	Солидный	Мембранно-редуцированный	Единичные клетки	1
16	Язвенная	Солидный	Мембранно-редуцированный	Граница с экстрацеллюлярным матриксом	3
17	Нодулярная	Солидный	Мембранно-редуцированный	Единичные клетки	2
18	Поверхностная	Поверхностно-мультицентрический + солидный	Мембранно-редуцированный	Граница с экстрацеллюлярным матриксом	3
19	Язвенная	Солидно-аденоидный	Мембранно-редуцированный	Единичные клетки	1
				Граница с экстрацеллюлярным матриксом	3

железы увеличивается при сверхэкспрессии и патологической локализации в клетке в виде грубых гранул, расположенных по внешней и внутренней поверхности мембраны, адгезивных молекул CD44H [15]. Аномальная локализация CD44H в клетках преимущественно язвенного БКР подтверждает, что данная клиническая форма опухоли имеет наибольший инвазивный потенциал.

Кроме того, нами выявлена повышенная экспрессия CD44H в зоне эпителиально-мезенхимальных контактов инвазивных, растущих в строму опухолевых комплексов. Экспрессия CD44 на границе цугоподобных комплексов БКР, растущих в дерму по интенсивности в 2,5 раза превышала экспрессию маркера на границе солидных комплексов со стромой и на границе эпидермиса и дермы [31].

Молекулы адгезии CD44 играют активную роль в хемотаксисе и передвижении в межкле-

точном матриксе Т-лимфоцитов. В 9 случаях экспрессия CD44H отмечена в клетках опухолевых комплексов, которые были окружены плотным лимфоцитарным инфильтратом, также экспрессирующим CD44H. Комплексы, окруженные дермой без инфильтрата маркер не экспрессировали.

Таким образом, в 40,6% базалиом экспрессия адгезивных молекул CD44H не определялась. В остальных случаях маркер экспрессировали преимущественно клетки мелких инвазивных комплексов БКР, локализованных в зоне роста опухоли и эпителиально-мезенхимальных контактов. Преобладал мембранно-редуцированный тип экспрессии. Аномальный тип экспрессии – цитоплазматический диффузный и мелкогранулярный – встречался в клетках 27,7% случаев язвенного БКР.

Литература

1. Шубич М.Г., Авдеева М.Г., Вакуленко А.Д. Адгезивные межклеточные взаимодействия. Архив патологии 1997; №2: 3-9
2. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. Москва, Медицина. 1995
3. Matsuyoshi N. Cadherin family and adhesion in cancer cells. *Biotherapy* 1993; 7:1158-1165
4. Takeichi M. Cadherine-cell adhesion receptor as morphogenetic regulator. *Science* 1991; 251:1451-1455
5. Guthert U. CD44 in malignant disorders. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1996; 213: 271-285
6. Gunthert U., Hofmann M., Rudy W., Reber S., Zoller M., Haussman I., Matzku S., Wenzel A., Ponta H., Herrlich P. A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. *Cell* 1991; 65:13-24
7. Bajorath J. Molecular organization, structural features, and ligand binding characteristics of CD44, a highly variable cell surface glycoprotein with multiple functions. *Prot.Struct.Funct.Genet.* 2000; 39:103-111
8. Seelentag W.K., Komminoth P., Saremasland P. Et al. CD44 isoforms expression in the diffuse neuroendocrine system. 1. Normal cells and hyperplasia. *Histochem. Cell. Biol.* 1996; 106: 543-550
9. Пожариский К.М., Леенман Е.Е. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний. *Арх. Патологии* 2000; 5: 3-11
10. Akihiro K., Hisashi U., Seigi M. Et al. Cellular localization of CD44 correlates with cell proliferation and liver metastasis in colon cancer. *Int. J. Clin. Oncol.* 1999; 4:78-83
11. Wielenga V.J., van der Neut R., Offerhaus G.J., Pals S.T. CD44 glycoproteins in colorectal cancer: expression, function, and prognostic value. *Adv. Cancer Res.* 2000; 77: 169-187
12. Chaudry A., Gobi A., Eriksson B. Et al. Different splice variants of CD44 are expressed in gastrinoma but not in other subtypes of endocrine pancreatic. *Tum. Cancer Res.* 1994; 54: 981-986
13. Fox S., Fawcett J., Jackson D. Et al. Normal human tissues in addition to same tumors, express multiple different CD44 isoforms. *Cancer Res.* 1994; 54: 4539-4536
14. Sneath R.J., Mangham D.C. The normal structure and function of CD44 and its role in neoplasia. *J. Clin. Mod. Pathol.* 1998; 51: 191-200
15. Гуревич Л.Е. Иммуногистохимическое исследование фенотипа и инвазивного потенциала опухолей поджелудочной железы. Дисс. Докт. мед. наук. М., 2003
16. Hirvikoski P., Tammi R., Kumpulainen E., Virtaniemi J., Parkkinen J.J., Tammi M., Johansson R., Agren U., Karhunen J., Kosma V.M. Irregular expression of hyaluronan and its CD44 receptor is associated with metastatic phenotype in laryngeal squamous cell carcinoma. *Virchows Arch.* 1999; 434:37-44
17. Ioachim E., Goussia A., Agnantis N.S. Glicoprotein CD44 expression in colorectal neoplasms. An immunohistochemical study including correlation with cathepsin D, extracellular matrix components, p53, bcl-2, e-erb-B-2, EGFR and proliferation indices. *Virchows Arch.* 1999; 434: 45-50
18. Yokoyama Y., Hiyama E., Murakami Y. Lack of CD44 variants expression in advanced extrahepatic bile duct/ampullary carcinoma. *Ibid* 1999; 86: 1691-1699
19. Леенман Е.Е., Когурова Н.В., Белогурова М.Б., Пожариский К.М. Иммуногистохимическое исследование мелко-клеточных сарком и факторов (NM23,CD44), прогнозирующих их метастазирование у детей. *Архив патологии* 2003, №1, стр.21-27
20. Tulla H.E., Niskanen L.K., Pirinen R.T. Reduced CD44 standart expression is associated with tumor recurrence and unfavourable outcome in differentiated thyroid carcinoma. *J.Pathol.* 2000; 192:321-327
21. Tran T., Kallakury B.V.S., Sheehan C.E., Ross J.S. Expression of CD44 standart form and variant isoforms in non-small cell lung carcinomas. *Hum. Pathol.* 1997; 28: 809-814

22. Ylagan L.R., Scholes J., Demopoulos R. CD44 a marker of squamous differentiation in adenosquamous neoplasms. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000; 124: 212-215
23. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань, Титул. 2004
24. Seelentag W.K., Gunthert U., Saremaslani P., Futo E., Pfaltz M., Heitz P.U., Roth J. CD44 standart and variant isoform expression in human epidermal skin tumors not correlated with tumor aggressiveness but down-regulated during proliferation and tumor de-differentiation. *Int. J. Cancer* 1996; 69:218-224
25. Boring C.C., Squires T.S., Tong T. *Cancer statistics, 1991.* CA.
26. Coeberg J.W., Neuman H.A., Vrints L.W., van der Heijden J., Meijer W.J., Verhagen-Tenlings M.T. Trends in the incidence of non-melanoma skin cancer in the SE Netherlands 1975-1988: a registry-based study. *Br. J. Dermatol.* 1991; 125: 353-359
27. Prieto V.G., Reed J.A., McNutt N.S., Bogdany J.K., Lugo J., Shea C.R. Differential expression of CD44 in malignant cutaneous epithelial neoplasms. *Am. J. Dermatopathol.* 1995; 17:447-451
28. Karvinen S., Kosma V.M., Tammi M.I., Tammi R. Hyaluronan, CD44 and versican in epidermal keratinocyte tumours. *Br.J.Dermatol.* 2003; 148:86-94
29. Baum H.P., Schmid T., Schock G., Reichrath J. Expression of CD44 isoforms in basal cell carcinomas. *Br.J.Dermatol.* 1996; 134: 465-468
30. Dingemans K.P., Ramkema M.D., Koopman G., van der Wal A.C., Das P.K., Pals S.T. The expression of CD44 glycoprotein adhesion molecules in basal cell carcinomas is related to growth pattern and invasiveness. *Br.J.Dermatol.* 1999; 140:17-25
31. Dingemans K.P., Ramkema M.D., Pals S.T. CD44 is exposed to the extracellular matrix at invasive sites in basal cell carcinomas. *Lab. Investigation* 2002; 82: 313-322
32. Taylor C.R., Cote R.J. *Immunomicroscopy a diagnostic tool for the surgical pathologists.* 2nd ed.: W.B.Saundeus. 1994
33. Sternberger L.A. *Immunocytochemistry.* New York: Wiley. 1979
34. Shi S.R., Cote R.J., Taylor C.R. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present and future. *J. Histochem. Cytochem.* 1997; 45: 327-343
35. Гуревич Л.Е., Исаков В.А. Использование в иммуногистохимических исследованиях метода восстановления антигенной специфичности воздействием микроволн на ткани, фиксированные формалином и заключенные в парафин. *Арх. Патологии* 1999; 2:48-50