

ИНСУЛИНОПОДОБНЫЕ ФАКТОРЫ РОСТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

О.И. Костылева, кандидат медицинских наук, **А.В. Масляев**, **В.Д. Ермилова**, кандидат медицинских наук, **И.В. Высоцкая**, доктор медицинских наук, профессор, **М.В. Грицкевич**, **Л.К. Овчинникова**, кандидат медицинских наук, **С.М. Портной**, доктор медицинских наук

*Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН,
Российская Федерация, 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24*

E-mail: esgershtein@gmail.com

Введение. Патогенез РМЖ связан с нарушениями функционирования сложной системы регулирования эффектов ИФР и активизацией ИФР-сигнального пути. Исследования последнего 10-летия выявили прямую взаимосвязь между высоким уровнем ИФР-1 в крови и риском развития злокачественных опухолей предстательной и молочной желез, толстой кишки, яичников, легкого, шейки матки.

Цель исследования. Оценка содержания ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови больных РМЖ и практически здоровых женщин, а также анализ взаимосвязи изученных показателей с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания.

Материал и методы. Обследовали 79 больных РМЖ и 16 практически здоровых женщин в возрасте от 27 до 76 лет. Концентрацию ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови определяли наборами для прямого иммуноферментного анализа «IGF-I ELISA», «IGF-II ELISA» (Mediagnost GmbH, Германия). Рецепторы Her-2/неи эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП) в ткани РМЖ исследовали стандартными иммуногистохимическими методами.

Результаты. Не выявлено взаимосвязи исходного содержания ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке с показателями системы TNM. Достоверная связь уровней ИФР выявлена только со статусом репродуктивной функции, а также с (РЭ)(РП)Her-2/неи-статусом РМЖ

Заключение. Полученные в исследовании данные подтверждают гипотезу об участии ИФР-сигнального пути в регуляции функционирования рецептор-негативных РМЖ.

Ключевые слова: ИФР-1, ИФР-2, рак молочной железы

INCULIN-LIKE GROWTH FACTORS IN THE SERUM OF BREAST CANCER PATIENTS

O.I. Kostyleva, A.V. Maslyaev, V.D. Ermilova, I.V. Vysotskaya, M.V. Gritskevich, L.K. Ovchinnikova, S.M. Portnoy
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoe shosse, 24

Introduction. Breast cancer pathogenesis is associated with alterations in processes of regulating of IGF effects and also in IGF-signaling pathway activation. The direct correlation between high IGF blood serum levels and the rescue of malignancies in prostate, breast, ovarium, colon, lung and cervix.

The aim of the study. Evaluation of IGF-I and IGF-II blood serum levels in breast cancer patients and in practically healthy women, and also analysis of links between obtained data and basic clinico-morphological characteristics of breast cancer.

Methods. Insulin-like growth factors 1 and 2 (IGF 1 and IGF 2) were measured in blood serum of 79 patients with primary breast cancer and 16 control practically healthy women aged 27–76 using standard ELISA kits («IGF-I ELISA», «IGF-II ELISA» (Mediagnost GmbH, Germany). HER2/neu, ER and PR receptor status of breast cancer tissues was evaluated by standart immunohistochemical methods.

Results. No correlation was found between basic IGF-I and IGF-II serum levels and TNM rates. The IGF serum levels correlated reliably only with menopausal status and with (ER)(PR)Her-2/neu status of breast cancer.

Conclusions. Obtained data confirm hypothesis about involvement of IGF-signaling pathway in regulation of receptor-negative breast cancer growth.

Key words: IGF 1, IGF 2, breast cancer

Связанный с инсулиноподобными факторами роста (ИФР) сигнальный путь регуляции канцерогенеза включает ИФР-лиганды, а также их рецепторы и связывающие белки, которые образуют сложно регулирующую сеть взаимодействий не только между собой, но и с другими биологическими модуляторами роста и выживаемости клеток [1–6]. Воздействие ИФР на клетки опосредуется 2 типами специфических ИФР-рецепторов – рецепторами инсулина и гибридным

рецептором, связывающим как инсулин, так и ИФР-1 [2, 5, 6]. ИФР-рецептор 1-го типа (ИФР-Р1) является медиатором первичного ответа всех ИФР, экспрессируется во всех типах клеток, кроме гепатоцитов и Т-лимфоцитов, и служит важным элементом обеспечения нормального развития организма. У эмбрионов мышей, лишенных ИФР-Р1, выявляются дефекты развития легких, кожи, костей, неврологические нарушения [7]. Связывание лигандов с ИФР-Р1 при-

водит к его олигомеризации, аутофосфорилированию и активации внутренней тирозинкиназы. Далее тирозинкиназа ИФР-Р1 прямо фосфорилирует различные клеточные субстраты и сигнальные молекулы, участвующие в регуляции апоптоза, построении цитоскелета и процессах клеточной адгезии, а также во множестве других физиологических процессов в клетках [4]. Рецептор ИФР 2-го типа (ИФР-Р2) представляет собой катионнезависимый маннозо-6-фосфатный рецептор, и его роль в реализации эффектов ИФР пока неясна [2]. Известно, что ИФР-Р2 не связывает инсулин. О механизмах реализации эффектов ИФР через ИФР-Р2 известно, что он работает прежде всего как рецептор-поглотитель (scavenger receptor), регулируя интернализацию и деградацию экстраклеточного ИФР-2 и, соответственно, уровень циркулирующего ИФР-2 [2].

В отличие от инсулина, циркулирующие ИФР взаимодействуют с высокоаффинными связывающими белками (ИФРСБ). В настоящее время известно 6 ИФРСБ, а также семейство гомологичных связывающих белков, которые обладают значительно меньшим сродством к ИФР-лигандам. ИФРСБ модулируют биологические эффекты ИФР по крайней мере следующими способами: они переносят ИФР по кровеносному руслу к тканям-мишеням (ИФРСБ-1, -2, -3 и -4), поддерживают резервный уровень ИФР в крови (это преимущественно функция ИФРСБ-3), потенцируют или ингибируют эффекты ИФР, а также опосредуют ИФР-независимые биологические эффекты [5].

ИФР-1 синтезируется гепатоцитами под влиянием гормона роста. Клетки стромы опухолей и собственно опухолевые клетки также синтезируют ИФР, которые ауто/паракринным путем опосредуют рост, метастазирование и антиапоптотический ответ злокачественных клеток [1–3]. ИФР-1 экспрессируется стромальными клетками как в доброкачественных, так и в злокачественных новообразованиях молочной железы, в то время как ИФР-2 обнаруживается в строме большинства аденокарцином молочной железы и в небольшом количестве – в злокачественном эпителии [10–11]. В результате активных исследований системы ИФР в последние 10 лет установлена прямая зависимость между высоким уровнем ИФР-1 в крови и риском развития злокачественных опухолей. У человека ИФР-1 играет существенную роль в развитии рака предстательной и молочной (РМЖ) желез, толстой кишки, яичников, легкого, шейки матки [2, 13–16].

Целью настоящего исследования были оценка содержания ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови больных РМЖ и практически здоровых женщин, а также анализ взаимосвязи изученных показателей с основными клинико-морфологическими особенностями заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 79 больных РМЖ и 16 практически здоровых женщин в возрасте от 27 по 76 лет. Распределение больных РМЖ с учетом

основных показателей распространенности процесса представлено в табл. 1. Средний возраст составил $54,0 \pm 1,3$ года. 30 больных РМЖ находились в репродуктивном периоде, большинство (49) – в менопаузе длительностью от 1 года до 25 лет. По гистологическому строению большинство опухолей относилось к инфильтративно-протоковому раку (56), остальные были представлены единичными наблюдениями (инфильтративно-дольковый – 6 случаев, смешанный – 7, тубулярный – 6 и слизистый тип – 4), в связи с чем данные о сывороточном уровне ИФР-1 и ИФР-2 с учетом гистологического строения РМЖ не приводятся.

Концентрацию ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли с помощью наборов для прямого иммуноферментного анализа «IGF-I ELISA», «IGF-II ELISA», (Mediagnost GmbH, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом универсальном ридере для микропланшет ELx800 (Bio-Tek Instruments Inc., США). Исследование рецепторов Her-2/neu, рецепторов эстрогенов и прогестерона в ткани РМЖ проводили стандартными иммуногистохимическими методами. Данные обрабатывали с помощью программы «Statistica 7.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Патогенез РМЖ связан с нарушениями функционирования сложной системы регулирования эффектов ИФР. В активации ИФР-сигнального пути принимают участие по крайней мере несколько механизмов:

- экспрессия стромальными клетками опухоли ИФР-2;
- мутации маннозо-6-фосфат/ИФР-2 рецептора, ведущие к снижению деградации ИФР-2;
- гиперэкспрессия ИФР-1Р клетками злокачественного эпителия молочной железы;
- комплексные нарушения экспрессии ИФР-связывающих белков, модулирующих сывороточные уровни ИФР [17].

Можно предположить, что в крови пациентов РМЖ должен обнаруживаться повышенный уровень ИФР, однако опубликованные по этому вопросу данные противоречивы. На первом этапе нашего исследования были определены уровни ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови у 16 практически здоровых женщин (контрольная группа) и 79 больных РМЖ до лечения (табл. 1). Содержание ИФР-1 в сыворотке крови в контрольной группе было достоверно выше, чем у пациенток основной группы. Уровень ИФР-2, напротив, был достоверно выше при РМЖ, чем в контроле. На основании этого можно предположить, что ИФР-2 также вносит существенный вклад в развитие суммарного ответа на ИФР клетками стромы и эпителия молочной железы.

Установлено, что высокий сывороточный уровень ИФР-1 является маркером повышенного риска РМЖ у женщин в постменопаузе, однако взаимосвязь сыво-

вороточных ИФР-1 и ИФР-2 с менопаузальным статусом в целом, РЭ-статусом и основными клинико-морфологическими характеристиками РМЖ пока установить не удалось [17].

Обнаружены достоверно более высокие уровни ИФР-1 в сыворотке крови у больных РМЖ репродуктивного возраста, чем в постменопаузе (табл. 2), а содержание ИФР-2, напротив, было достоверно выше у пациенток в постменопаузе.

Не найдено связи между исходным уровнем ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови и показателями

системы TNM ($p=0,22$; табл. 3). Таким образом, содержание ИФР-1 в сыворотке крови больных РМЖ до лечения достоверно не отражало стадию заболевания. Многофакторный анализ показал, что достоверная связь уровней ИФР выявлена только со статусом репродуктивной функции.

Известно, что эстрогены и ИФР оказывают синергетические эффекты на пролиферацию РЭ⁺-клеток РМЖ. Функциональная активность ИФР-сигнального пути в РЭ⁻-клетках РМЖ активно исследуется в последние 3 года, однако ясности пока

Таблица 1

СОДЕРЖАНИЕ ИФР-1 И ИФР-2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
У ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РМЖ

Группа	Число больных	ИФР-1, нг/мл		ИФР-2, мкг/мл	
		М±m	Медиана (квартили)	М±m	Медиана (квартили)
1-я (контроль)	16	181,0±16,9	173,0 (132–246)	1,5±0,1	1,5 (1,3–1,8)
2-я (РМЖ)	79	100,0±3,8	93,8 (76,1–120)	2,5±0,1	2,5 (2,0–2,8)
p		<0,0001		<0,0001	

Таблица 2

СОДЕРЖАНИЕ ИФР-1 И ИФР-2 В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РМЖ
С УЧЕТОМ СОСТОЯНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ПАЦИЕНТОК

Репродуктивная функция	Число больных	ИФР-1, нг/мл		ИФР-2, мкг/мл	
		М±m	Медиана (квартили)	М±m	Медиана (квартили)
Сохранена	30	116,0±6,5	111,0 (88,9–136)	2,3±0,09	2,4 (1,8–2,6)
Менопауза	49	91,1±4,2	88,0 (69,9–107)	2,6±0,1	2,5 (2,0–3,1)
p		0,0014		0,049	

Таблица 3

ИСХОДНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ИФР-1 И ИФР-2 С УЧЕТОМ КРИТЕРИЕВ TNM

Критерий	Число больных	ИФР-1, нг/мл		ИФР-2, мкг/мл	
		М±m	Медиана (квартили)	М±m	Медиана (квартили)
Размер опухоли					
T1	37	97,2±5,6	95,2 (69,6–111)	2,4±0,1	2,5 (2,0–2,7)
T2	36	103,0±5,6	94,8 (79,4–127)	2,5±0,1	2,5 (2,1–2,9)
T3	4	102,0±18,5	92,3 (79,6–124)		
Tis	2	75,7 и 110*			
Регионарные метастазы					
N0	40	95,7±5,2	92,8 (69,8–111)	2,48±0,1	2,5 (2,0–2,9)
N1	31	108,0±6,2	99,4 (81,4–136)	2,5±0,1	2,5 (2,1–2,8)
N2	3	67,2±7,4	68,0 (54–79,7)	2,5±0,06	–
N3	5	106,0±9,9	107,0 (93,7–127)	2,2±0,2	2,5 (1,8–2,5)
Отдаленные метастазы					
M0	42	98,5±5,4	94,1 (69,9–118)	2,5±0,1	2,5 (2,0–2,9)
M1	37	100,0±8,9	88,0 (79,4–106)	2,6±0,2	2,5 (2,3–2,9)

Примечание. Во всех случаях $p>0,22$.

СОДЕРЖАНИЕ ИФР-1 И ИФР-2 И РЕЦЕПТОРНЫЙ СТАТУС РМЖ

Рецепторный статус РМЖ	Число больных	ИФР-1, нг/мл		ИФР-2, мкг/мл	
		М±m	Медиана (квартили)	М±m	Медиана (квартили)
РЭ ⁺ (1)	44	98,8±5,7	93,3 (69–121)	2,7±0,1	2,6 (2,2–3,2)
РЭ ⁻ (2)	35	100,6±7,6	96,4 (76,1–118)	2,3±0,1	2,3 (2,0–2,5)
РП ⁺ (3)	39	106±5,9	102,0 (76–132)	2,6±0,1	2,5 (2,1–2,9)
РП ⁻ (4)	40	91,2±6,1	86,2 (72,1–118)	2,4±0,1	2,5 (2,0–2,9)
Her-2/neu ⁺ (5)	17	73,9±4,0	76,1 (63,3–80)	2,3±0,08	2,4 (2,1–2,5)
Her-2/neu ⁻ (6)	62	114,4±7,8	116,0 (76–157)	2,5±0,2	2,6 (2,1–2,9)

Примечание: $p_{1-2} < 0,01$; $p_{3-4} < 0,05$; $p_{5-6} < 0,04$.

нет [17]. В исследованиях на трипленегативных линиях клеток РМЖ (с фенотипом РЭ⁻РП⁻Her-2/neu⁻), характеризующихся резистентностью к антиэстрогенам и блокаторам тирозинкиназной активности рецептора эпидермального фактора роста Her-2/neu [17], было показано, что эти клеточные линии тем не менее экспрессируют рецепторы ИФР-1 на уровне, сопоставимом с экспрессией в эстроген- и ИФР-чувствительных клеточных линиях. Несмотря на противоречивость полученных результатов, продолжаются активные клинические исследования антагонистов ИФР-гуманизированных антител к ИФР-Р1 и ингибиторов тирозинкиназы при РМЖ [17].

Полученные нами данные о сывороточных уровнях ИФР-1 и ИФР-2 с учетом рецепторного статуса РМЖ (табл. 4) подтверждают гипотезу об участии ИФР-сигнального пути в регуляции функционирования рецепторнегативных РМЖ. Нами обнару-

жены достоверные отличия в группах с различным статусом Her-2/neu: достоверно больше ИФР-1 содержалось у пациенток с Her-2/neu-негативными опухолями, чем с Her-2/neu-позитивными ($p < 0,01$) и в РП-позитивных опухолях (по сравнению с РП-негативными); достоверные отличия выявлены также между уровнем ИФР-2 в РЭ⁺- и РЭ⁻-опухолях.

ВЫВОДЫ

1. Не выявлено связи исходного содержания ИФР-1 и ИФР-2 в сыворотке крови больных РМЖ с показателями системы TNM.

2. Многофакторный анализ показал, что достоверная связь исходного содержания сывороточного ИФР выявлена только с репродуктивным статусом больных РМЖ.

3. Обнаружены достоверные отличия в уровнях ИФР-1 и ИФР-2 в зависимости от рецепторного РЭ, РП, Her-2/neu статуса РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Gershstein E.S., Kushlinskiy N.E. Современные представления о механизмах передачи сигналов факторов роста как основа эффективной молекулярно-направленной противоопухолевой терапии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2007; 1: 4–9. (Gershtein E.S., Kushlinskiy N.E. Modern concepts of transmitting mechanisms of growth factors signals as a base for effective molecular targeting antitumor therapy. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii. 2007; 1: 4–9 (in Russian))
- Frasca F., Pandini G., Sciacca L. et al. The role of insulin receptors and IGF-1 receptors in cancer and other diseases. Arch. Physiol. Biochem. 2008; 114 (1): 23–37.
- Grimberg A. Mechanisms by which IGF-I may promote cancer. Cancer Biol. Ther. 2003; 2 (6): 630–35.
- Hartog H., Wesseling J., Boezen H. et al. The insulin-like growth factor 1 receptor in cancer: old focus, new future. Eur. J. Cancer. 2007; 43 (13): 1895–1904.
- Laviola L., Natalicchio A., Giorgino F. The IGF-1 signaling pathway. Curr. Pharm. Des. 2007; 13 (7): 663–9.
- Pavlic J., Matijević T., Knezević J. Biological & physiological aspects of action of insulin-like growth factor peptide family. Indian J. Med. Res. 2007; 125 (4): 511–22.
- Pollak M., Schernhammer E., Hankinson S. Insulin-like growth factors and neoplasia. Nat. Rev. Cancer. 2004; 4: 505–18.
- Yakar S., Leroith D., Brodt P. The role of the growth hormone/insulin-like growth factor axis in tumor growth and progression: Lessons from animal models. Cytokine Growth Factor Rev. 2005; 16: 407–20.
- Chen C., Lewis S., Voigt L. et al. Prostate carcinoma incidence in relation to pre-diagnostic circulating levels of insulin-like growth factor I, insulin-like growth factor binding protein-3, and insulin. Cancer. 2004; 103 (1): 76–84.
- Schernhammer E., Holly J., Hunter D. et al. Insulin-like growth factor-I, its binding proteins (IGFBP-1 and IGFBP-3), and growth hormone and breast cancer risk in The Nurses Health Study II. Endocr. Relat. Cancer. 2006; 13 (2): 583–92.
- Eppler E., Zapf J., Bailer N. et al. IGF-I in human breast cancer: low differentiation stage is associated with decreased IGF-I content. Eur. J. Endocrinol. 2002; 146: 813–21.
- Belfiore A., Frasca F. IGF and insulin receptor signaling in breast cancer. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 2008; 13 (4): 381–406.
- Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, Key T.J., Appleby P.N., Reeves G.K., Roddam A.W. et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies. Lancet Oncol. 2010; 11 (6): 530–42.
- Moschos S., Mantzoros C. The role of the IGF system in cancer: from basic to clinical studies and clinical applications. Oncology. 2002; 64: 317–32.
- Platz E., Pollak M., Leitzmann M. et al. Plasma insulin-like growth factor-1 and binding protein-3 and subsequent risk of prostate cancer in the PSA era. Cancer Causes Control. 2005; 16 (3): 255–62.
- Samani A., Yakar S., Leroith D. et al. The role of the IGF system in cancer growth and metastasis: overview and recent insights. Endocr. Rev. 2007; 28 (1): 20–47.
- Davison Z., de Blacquièrre G., Westley B., May F. Insulin-like growth factor-dependent proliferation and survival of triple-negative breast cancer cells: implications for therapy. Neoplasia. 2011; 13 (6): 504–15.