

# Некоторые закономерности экспрессии Estrogen, Progesterone Receptor и KI-67 на опухолевых клетках карциномы молочной железы

Сазонов С.В., д.м.н., проф., зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург Бриллиант А.А., научный сотрудник Лаборатории экспериментальной цитологии и эмбриологии ГУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий, г. Екатеринбург Дорофеев А.В., д.м.н., зам. директора по хирургии ГБУЗ СО СООД, г. Екатеринбург Демидов С.М., д.м.н., проф., зав. кафедрой онкологии ГОУ ВПО УГМА Росздрава, г. Екатеринбург

## The co expression features of Estrogen, Progesterone Receptor and KI-67 in tumor breast cells

Sazonov S.V., Brilliant A.A., Dorofeev A.V., Demidov S.M.

### Резюме

Целью исследования явилось выявление иммуногистохимическим методом наличия зависимости уровней экспрессии Estrogen Receptor, Progesterone Receptor и пролиферативной активности в карциномах молочной железы. При иммуногистохимическом исследовании карцином молочной железы в 39% случаев на опухолевых клетках наблюдается положительная экспрессия Estrogen Receptor. Положительная экспрессия Progesterone Receptor на опухолевых клетках наблюдается в 34% всех исследованных случаев. При исследовании карцином молочной железы с отрицательной экспрессией Estrogen Receptor, выявлено максимальное значение индекса пролиферации. При увеличении степени экспрессии ER, степень пролиферации в опухоли снижается. Обнаружена достоверная обратная зависимость между увеличением степени экспрессии стероидных рецепторов ER, PR и пролиферативным индексом KI-67 и сильная прямая степень корреляции экспрессии Estrogen Receptor и Progesterone Receptor на клетках карциномы молочной железы.

**Ключевые слова:** карцинома молочной железы, Эстрогеновые рецепторы, Прогестероновые рецепторы, Ki-67, пролиферация, экспрессия, коэкспрессия

### Summary

The purpose of research - to study dependence of expression levels of Estrogen Receptor, Progesterone Receptor and proliferate activity in tumor breast. In research we found that only 39 % of breast cancer cases are positively expressed Estrogen Receptors and 34% Progesterone Receptors. We have found, that in the first group of Estrogen Receptor expression, the maximal value of proliferation index, and in the second is minimal. Similarly with Progesterone Receptor. It is found authentic inverse relationship between increases of steroid receptors expression and proliferate index of breast carcinomas cells. The high degree correlation of Estrogen Receptor and Progesterone Receptor expression in tumor breast cells is found.

**Keywords:** tumor breast, Estrogen Receptor and Progesterone Receptor, KI-67, co expression

### Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенной опухолью у женщин в экономически развитых странах. В структуре онкологической заболеваемости женского населения России РМЖ занимает I место. Ежегодно регистрируется более 46 тыс. новых случа-

ев РМЖ. Рост заболеваемости и частота инвалидизации больных раком молочной железы предопределяет необходимость поиска новых прогностических маркеров, направленных, оптимизацию и индивидуализацию лечения пациенток.

На сегодняшний день известно, что для решения проблем терапии карцином молочной железы необходимо учитывать ряд прогностических и предсказывающих факторов. Маркерами таких факторов являются рецепторы стероидных гормонов на клетках опухоли – эстрогена и прогестерона, а также белка KI-67, отражающего пролиферативную активность в опухолевой ткани. По данным литературы у больных РМЖ ЭР(-) получающих неадекватную терапию чаще регистрируется полный

---

Ответственный за ведение переписки -  
Сазонов Сергей Владимирович  
620036, Екатеринбург, ул. Соболева, 25, ГУЗ СО ИМКТ  
тел.: (343) 376 98 28  
E-mail: Prof-SSazonov@yandex.ru

морфологический регресс опухоли в то время как ЭР(+) терапия не будет иметь такого результата [1,2,6]. Что же касается экспрессии KI-67, его индекс положительно коррелирует с митотической активностью, клеточностью и гистологическим типом опухоли [3,5].

**Цель исследования** – изучить зависимость уровней экспрессии Estrogen Receptor, Progesterone Receptor и пролиферативной активности в карциномах молочной железы.

## Материалы и методы

Всего исследовано 406 карцином молочной железы из ГУЗ Свердловский областной онкологический диспансер и Городской маммологический центр (МУЗ ГKB№40). Гистологические исследования проводились в патологоанатомических отделениях ГУЗ СООД и МУЗ ГKB№40, иммуногистохимические исследования на базе ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», в лаборатории экспериментальной цитологии и эмбриологии. Определение экспрессии рецепторов Estrogen и Progesterone и KI-67, осуществлялись в автостейнере «DAKO» (США) с использованием моноклональных мышиных антител (Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor, alpha Clone 1D5; Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor, Clone PgR 636; Monoclonal Mouse Anti-Human KI-67 Antigen, Clone MIB-1). Предварительно гистологические срезы обрабатывались в барокамере «Paskal DAKO Cytomation» в течении 10 мин. при давлении 22Р и температуре 127° С. Оценку реакции осуществляли на световом микроскопе «Zeiss Ymager M» (Германия). Уровень экспрессии рецепторов Estrogen и Progesterone определялся по шкале от 0 до 8+ [4]. Экспрессия белка KI-67 оценивалась по проценту маркированных клеток. Референс препаратов проводился на базе Патологоанатомического отделения ФГУ Московский научно-исследовательский институт им. П.А.Герцена Росмедтехнологий, г. Москва (зав. отделением: член-корреспондент РАМН, профессор Г.А. Франк). По результатам исследования формировались базы данных с использованием программы Microsoft Office Excel 2003. Статистические исследования выполнены с использова-

нием набора программ описательной статистики и матриц корреляций в программном пакете «Statistica 6.0.». Достоверность различия сравниваемых показателей считалась при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

По степени экспрессии рецепторов эстрогена на опухолевых клетках были сформированы четыре группы пациентов: в первую группу вошли карциномы 243 пациенток с отрицательной экспрессией (уровень экспрессии от 0 до 2). Вторая группа, включает в себя 75 случаев со слабой экспрессией рецепторов эстрогена (уровень от 3 до 4). Средний уровень экспрессии (от 5 до 6) обнаружены в 50 случаях, которые составляют третью группу. Сильная экспрессия представлена в четвертой группе (уровень от 7 до 8) в 38 исследованных случаях. Процентное соотношение между группами представлено на рисунке 1.

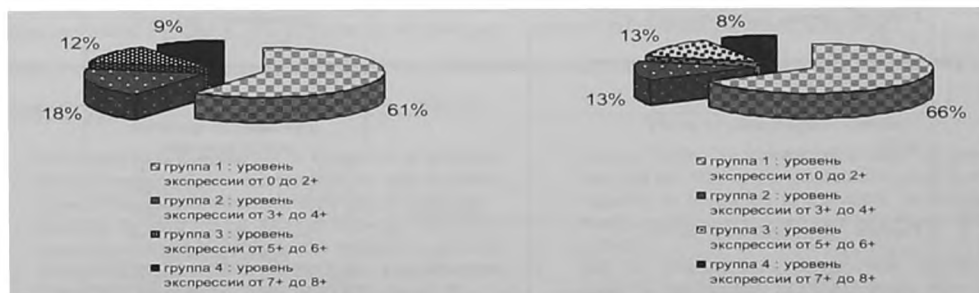
В результате анализа выяснилось, что только 39% исследованных карцином экспрессируют рецептор Estrogen, причем количество случаев в группах уменьшается по мере увеличения уровня экспрессии изученного рецептора.

При изучении уровней экспрессии Progesterone Receptor выделены 270 пациенток с уровнем экспрессии от 0 до 2+ (первая группа). Во вторую группу вошли 52 пациентки со слабой экспрессией рецепторов прогестерона (уровень экспрессии от 3 до 4), в третью группу - 53 обследованных со средней степенью экспрессии (уровень от 5 до 6) и четвертую группу - 31 пациентка с уровнем экспрессии от 7 до 8.

Процентное соотношение между группами представлено на рисунке 2.

При анализе полученных данных оказалось, что большинство исследованных карцином не экспрессируют рецепторы ПР. Положительная реакция обнаружена только в 34% случаев.

При обработке данных исследования пролиферативной активности опухоли в соответствии с экспрессией белка KI-67 на клетках карциномы были сформированы 3 группы пациенток.



**Рис. 1.** Распределение пациенток с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии рецепторов Estrogen.

**Рис. 2.** Распределение пациенток с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии Progesterone.

В первую группу были определены 248 пациенток со слабо выраженной экспрессией KI-67 в ткани опухоли (менее чем 10% клеток включительно), во второй группе - 82 случая отмечена средняя степень экспрессии KI-67 (от 10% до 30% клеток). В третьей группе (76 карцином), с сильной экспрессией, рецепторы KI-67 определяются на более чем в 30% клеток. Распределение пациентов с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии белка KI-67 представлено на рисунке 3.

Таким образом, большинство изученных карцином молочной железы имеют низкий уровень экспрессии рецепторов белка KI-67.

Были проведены дополнительные исследования, позволяющие оценить пролиферативную активность опухоли в зависимости от рецепторного статуса клеток карциномы молочной железы, наличие коэкспрессии исследованных рецепторов, а также провести корреляционный анализ между анализируемыми признаками. Группы формировались по признаку уровня экспрессии клетками карциномы Estrogen Receptor, Progesterone Receptor.

В группе экспрессии Estrogen Receptor максимальное значение маркирующего индекса пролиферативной активности опухоли выявлено в 1 группе (табл. 1), тогда как минимальное значение (в 1.5 раза ниже) отмечалось во второй группе. Это снижение пролиферации достоверно сохранялось и в 3 и 4 группах сравнения.

Подобная закономерность обнаружена и при исследовании пролиферативной активности опухолей, сформированных по уровню экспрессии Progesterone Receptor (табл.2). Максимальный уровень экспрессии белка KI-67 обнаружен в 1 группе, что в 1.5 раза превышает минимальную экспрессию во второй и 1.4 раза в третьей и четвертой группах.

Для определения зависимости между индивидуальными данными каждого пациента дополнительно ис-

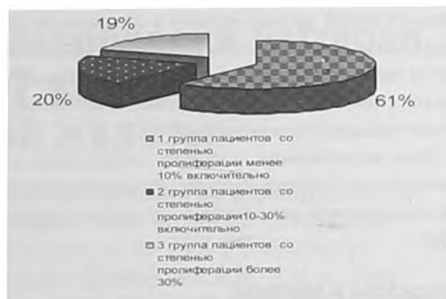


Рис. 3. Распределение пациентов с карциномой молочной железы в соответствии с уровнем экспрессии белка KI-67.

пользовалась корреляционная матрица. Так как выборка исследованных карцином включала в себя 406 случаев, можно считать, что переменные нормально распределены внутри групп, а дисперсии внутри групп не слишком различны. Из результатов анализа следует, что между переменными существует стохастическая связь, которая проявляется в том случае, когда имеются общие случайные факторы, влияющие на обе переменные. В качестве меры зависимости использовался коэффициент корреляции.

Учитывая то, что в первой группе экспрессии Estrogen Receptor значение KI-67 максимально и достоверно отличается от значений уровня пролиферативной активности карцином в остальных группах, предположили существование связи между экспрессией Estrogen Receptor и KI-67 именно в этих случаях. Поэтому корреляционный анализ был проведен для первой и отдельно для 2-4 групп экспрессии Estrogen Receptor. Аналогично, учитывая пролиферативную активность клеток карцином проанализировали первую и отдельно 2-4 группы экспрессии Progesterone Receptor.

Таблица 1. Средние значения уровня экспрессии KI-67 в ткани карциномы молочной железы у пациентов из разных групп по степени экспрессии Estrogen Receptor.

Группа экспрессии Estrogen Receptor (№ группы – уровень экспрессии/число наблюдений)	Среднее значение маркирующего индекса KI-67	
	Достоверность различий между группами	
1 группа – уровень экспрессии (от 0 до 2+) n=243	P(1-2)	<0.001
	P(1-3)	<0.001
	P(1-4)	<0.001
	21%±0.01	
2 группа – экспрессия (от 3+ до 4+) n=75	Достоверность различий между группами	
	P(2-1)	<0.001
	P(2-3)	<0.001
	P(2-4)	<0.001
14%±0.02		
3 группа – экспрессия (от 5+ до 6+) n=31	Достоверность различий между группами	
	P(3-1)	<0.001
	P(3-2)	<0.001
	P(3-4)	<0.001
15%±0.05		
4 группа – экспрессия (от 7+ до 8+) n=20	Достоверность различий между группами	
	P(4-1)	<0.001
	P(4-2)	<0.001
	P(4-3)	<0.001
16%±0.03		

Таблица 2. Средние значения уровня экспрессии KI-67 в ткани карциномы молочной железы у пациентов из разных групп по степени экспрессии Progesterone Receptor.

Группа экспрессии Progesterone Receptor (№ группы - уровень экспрессии/ число наблюдений)		Среднее значение маркирующего индекса KI-67		
1 группа уровень экспрессии (от 0 до 2+) n= 270		20%±0,01	Достоверность различий между группами	
			P(1-2)	- 0,001
			P(1-3)	- 0,001
			P(1-4)	- 0,001
2 группа экспрессия (от 3+ до 4+) n= 52		13%±0,02	Достоверность различий между группами	
			P(2-1)	- 0,001
			P(2-3)	- 0,001
			P(2-4)	- 0,001
3 группа экспрессия (от 5+ до 6+) n= 53		14%±0,02	Достоверность различий между группами	
			P(3-1)	- 0,001
			P(3-2)	- 0,001
			P(3-4)	- 0,05
4 группа - экспрессия (от 7+ до 8+) n= 31		14%±0,03	Достоверность различий между группами	
			P(4-1)	- 0,001
			P(4-2)	- 0,001
			P(4-3)	- 0,05

При проведении корреляционного анализа, внутри сформированных групп, содержащих данные экспрессии Estrogen Receptor и экспрессии белка KI-67 в первой группе, найдена слабая, обратная, статистически значимая корреляционная связь между экспрессией рецепторов Estrogen и индексом пролиферации ( $r = -0,17$   $p < 0,05$ ). При анализе остальных случаев групп Estrogen Receptor статистически значимой связи не обнаружено. При проведении корреляционного анализа между экспрессией рецепторов PR и экспрессии KI-67 в первой группе экспрессии Progesterone Receptor найдена обратная, статистически значимая корреляционная связь ( $r = -0,18$   $p < 0,05$ ). В остальных случаях связь признаков не обнаружена.

Кроме того, при проведении корреляционного анализа значений экспрессии групп Estrogen Receptor, с соответствующими группами Progesterone Receptor между ними обнаружена сильная, прямая корреляционная связь высокой степени значимости ( $r = 0,97$   $p < 0,001$ ).

## Выводы

1. При иммуногистохимическом исследовании карцином молочной железы в 39% случаев на опухолевых

клетках наблюдается положительная экспрессия Estrogen Receptor, из них только 9% имеют максимальную степень экспрессии.

2. Положительная экспрессия Progesterone Receptor на опухолевых клетках карциномы наблюдается в 34% всех исследованных случаев, в 8% случаев степень экспрессии максимальна.

4. При исследовании карцином молочной железы с отрицательной экспрессией Estrogen Receptor, выявлено максимальное значение индекса пролиферации. При увеличении степени экспрессии Estrogen Receptor, степень пролиферации в опухоли снижается.

5. В клетках карцином молочной железы с отрицательной экспрессией Progesterone Receptor обнаружена максимальная экспрессия белка KI-67.

6. Обнаружена достоверная обратная зависимость между увеличением степени экспрессии стероидных рецепторов Estrogen Receptor, Progesterone Receptor и пролиферативным индексом KI-67 клеток карцином молочной железы.

7. Выявлена сильная прямая степень корреляции экспрессии Estrogen Receptor и Progesterone Receptor на клетках карциномы молочной железы.■

## Литература:

- Семплазов ВФ, Арзуманов АС, Божок АА и др. Новый взгляд на неадъювантную химиотерапию рака молочной железы. Современная онкология, 2003, №5 (3) с.103-108.
- Bottini A, Berruti A, Brizzi MP et al. Single agent epirubicin versus the combination epirubicin plus tamoxifen as primary chemotherapy in breast cancer patients. A single institution phase III trial. Proc Am Soc Clin Oncol, 2009, N22: abstract 80.
- Bryant R.J., Banks P.M., O'Malley D.P. Ki67 staining pattern as a diagnostic tool in the evaluation of lymphoproliferative disorders. Histopathology, 2006, N48, p. 505-515.
- Elledge R.M., Green S., Pugh R., Allred D.C., Clark G.M., Hill J., et al. Estrogen receptor (ER) and Progesterone receptor (PgR), by ligand-binding assay compared with ER, PgR and pS2, by immunohistochemistry in predicting response to tamoxifen in metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group Study. Int. J. Cancer 2000, N89, p.11-17.
- Hall P.A., Richards M.A., Gregory W.M., d'Ardenne A.J., Lister T.A. and Stansfeld, A.G. The prognostic value of Ki67 immunostaining. J. Pathol., 1998, N154, p.223-35.
- Untch M, Kahlerl S, Moebus V et al. Negative steroid receptors are a good predictor for response to preoperative chemotherapy in breast cancer (BC) - results of a randomized trial. Proc Am Soc Oncol, 2010, N 22: (abstract 35).