

УДК 616-006; 616-091

ЭКСПРЕССИЯ КЛАУДИНОВ В КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ И ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ ПОРАЖЕНИЯХ ТОЛСТОЙ КИШКИ**Нефедова Н.А.***МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, e-mail: ale_x_05@mail.ru*

Клаудины – семейство трансмембранных белков с молекулярным весом 20–27 кДа. Они четыре раза пронизывают мембрану и формируют две экстрацеллюлярные петли, одну внутрицеллюлярную петлю, C- и N-концевые цитоплазматические домены. Экстрацеллюлярные петли регулируют парацеллюлярную проницаемость и участвуют в формировании плотных контактов, которые играют важную роль в поддержании целостности эпителиального пласта. Функция плотных контактов заключается в сохранении клеточной полярности за счет осуществления диффузии молекул сквозь эпителиальный барьер и обеспечении адгезии клеток. Семейство клаудинов насчитывает как минимум 24 члена, семь из которых вовлечены в туморогенез. Белки плотных контактов играют ключевую роль в неопластических процессах, поскольку они участвуют в формировании единого сигнального пути между внеклеточным матриксом и внутриклеточным цитоскелетом. В плотных контактах злокачественных клеток часто наблюдаются структурные и функциональные аномалии, проявляющиеся в изменении уровня экспрессии различных типов клаудинов. Для некоторых типов рака, например, рака предстательной железы, поджелудочной железы и яичника, характерно увеличение экспрессии белков клаудин-3 и клаудин-4. Для гепатоцеллюлярной карциномы и почечной карциномы, напротив, характерно снижение уровня клаудина-4 и клаудина-5.

Ключевые слова: клаудины, рак толстой кишки, полипы толстой кишки**EXPRESSION OF CLAUDINS IN COLORECTAL CANCER AND PRECURSOR LESION OF COLON****Nefedova N.A.***Lomonosov Moscow State University, Moscow, e-mail: ale_x_05@mail.ru*

Claudins – family of transmembrane proteins with a molecular weight of 20–27 kDa. These four times permeate the membrane and form two extracellular loops, one loop intracellular, C- and N-terminal cytoplasmic domains. Extracellular loops regulate paracellular permeability and are involved in the formation of tight junctions, which play an important role in maintaining the integrity of the epithelial layer. The function of tight junctions is to maintain cell polarity at the expense of the diffusion of molecules through the epithelial barrier and ensure cell adhesion. Claudine family has at least 24 members, seven of whom are involved in tumorigenesis. The proteins of tight junctions play a key role in neoplastic processes, as they are involved in the formation of a common signaling pathway between extracellular matrix and the intracellular cytoskeleton. The close contact of cancer cells often have structural and functional abnormalities, manifested in changes in the level of expression of various types of Claudine. For some types of cancer, such as prostate cancer, pancreatic cancer and ovarian cancer, characterized by an increase in protein expression and claudin-3, claudin 4. For hepatocellular carcinoma and renal cell carcinoma, in contrast, typical reduction claudin 4, and claudin-5.

Keywords: claudin, colorectal cancer, polyps of colon

Экспрессия клаудинов в колоректальном раке. Маркером рака толстой кишки считается клаудин-1, исследования экспрессии клаудинов других типов немногочисленны.

Экспрессия клаудина-1 в колоректальном раке. Относительно уровня экспрессии клаудина-1 получены противоречивые данные.

В большом количестве исследований отмечается снижение экспрессии клаудина-1 в колоректальном раке. Авторы также отмечают корреляцию между низким уровнем клаудина-1 и размером опухолевого узла, глубиной опухолевой инвазии, вовлечением лимфатических узлов, стадией, наличием отдаленных метастазов и снижением общей и безрецидивной выживаемости [1, 6, 10, 14, 16, 17, 19, 24]. В исследовании Shibutani M. посредством мультивариатного анализа было показано,

что низкая экспрессия клаудина-1 является самостоятельным фактором возникновения рецидива [17]. Авторы предполагают, что потеря клаудина-1, фактора ассоциированного с межклеточной адгезией, приводит к «репрессии» плотных контактов, нарушению избирательной парацеллюлярной проницаемости, потери полярности, подвижности, инвазии и дезорганизации опухолевых клеток [17, 19]. Также предполагается, что клаудин-1 может играть роль в извращении иммунного ответа против опухоли [8].

В ряде других работ отмечается увеличение экспрессии клаудина-1 в опухоли толстой кишки по сравнению с прилегающей интактной слизистой оболочкой, ассоциированное с неблагоприятным прогнозом [7, 9, 13, 21]. Увеличение экспрессии белка клаудина-1 связывают с повышенным уровнем мРНК. В работе Huo Q. клет-

ки раковой линии Т84 со встроенным геном *CL-1* имели тенденцию к скоплению в клеточные агрегаты по сравнению с немодифицированными Т84-клетками, формирующими монослой. После обработки трипсином *CL-1*-экспрессирующие клетки вновь собирались в агрегаты и были плотнее соединены друг с другом, чем клетки чистой линии. При этом пролиферативная активность Т84 клеток не возрастала после встраивания *CL-1* [7]. Парадоксально, но повышенная экспрессия клаудинов в клеточных линиях не связана со способностью клеток формировать плотные контакты, а наоборот приводит к клеточной дезорганизации, отсутствию полярности клеток, что в свою очередь способствует развитию инвазивного фенотипа и формированию метастазов [2]. Авторы предполагают, что повышенная экспрессия клаудина-1 инициирует опухолевый рост за счет активации матриксных металлопротеиназ, что было доказано *in vitro* [20]. Однако инактивация миРНК клаудинов не приводила к полному ингибированию MMP-2, что свидетельствует о наличии альтернативного пути активации MMP [2]. Ранее были опубликованы данные о том, что заболевания толстой кишки сопровождаются увеличением проницаемости плотных контактов. De Olivera S.S. связывает увеличение регуляции (upregulation) клаудинов с достоверной дезорганизацией цепей плотных контактов и повышением парацеллюлярной проницаемости [4]. Именно нарушение проницаемости плотных контактов может являться критическим для инициации канцерогенеза толстой кишки [18].

Matsuoka T. et al. в работе, посвященной кластерному анализу экспрессии клаудинов в колоректальном раке, отмечает снижение экспрессии клаудина-1 и клаудина-4 в опухолевых клетках как в центре опухоли, так и в инвазивном крае. Однако также автор указывает на аномальное увеличение реакции в маленьких зонах опухоли по сравнению с окружающей слизистой оболочкой, что может являться одним из объяснений разногласий по поводу интенсивности реакции клаудинов в колоректальном раке, но не коррелировала с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками и прогнозом [10].

Некоторые авторы сходятся во мнении, что в мутинозных аденокарциномах экспрессия клаудина-1 отсутствует или очень слабая, в связи с чем иногда она является критерием исключения [6, 19, 21, 22].

Системы оценки экспрессии клаудина-1 в колоректальном раке. В интакт-

ной слизистой оболочке толстой кишки иммуногистохимическая реакция с клаудином-1 должна быть яркой, мембранной, в 100% эпителиальных клеток. В связи с тем, что разные исследователи нацелены увидеть разный характер реакции клаудина-1 существует две, принципиально отличающиеся, системы оценки его иммуногистохимической экспрессии. Первая является полуколичественной системой оценки с градацией от 0 до 3 в зависимости от количества прореагировавших клеток (0–0%; 3–100%) [17, 22]. Вторая также является полуколичественной, однако за точку отсчета принимается 100% прореагировавших клеток (то есть интактная слизистая оболочка), а реакция в опухолевой ткани оценивается по количеству непрореагировавших клеток («1» – < 1/3 клеток не прореагировали; «2» – 1/3–2/3 клеток; «3» – более 2/3 клеток) [10, 19].

Интересная система оценки представлена в работе Abdelzaher E. et al. Оценивалась интенсивность окрашивания (по шкале от 1 до 3) и количество окрашенных прореагировавших клеток (по шкале от 1 до 3), а затем высчитывался общий балл. Общий балл опухоли сравнивался с общим баллом окружающей слизистой оболочки. В случае, если эти баллы совпадали, выставлялась суммарная оценка «0», что интерпретировалось как экспрессия, схожая с нормальной. В случае, если балл опухоли оказывался ниже – то суммарная оценка выставлялась «< 0», что интерпретировалось как снижение экспрессии. В случае, если балл опухоли оказывался выше – то суммарная оценка выставлялась «> 0», что интерпретировалось как повышенная экспрессия. Было посчитано пороговое значение суммарной оценки (– 5), ниже которого экспрессия клаудина-1 достоверно коррелировала с III–IV стадией и наличием метастазов в лимфатических узлах, а выше – с I–II-стадией и отсутствием метастазов [1].

В исследовании Victoria H. et al. было обнаружено снижение уровня клаудина-1 в колоректальном раке, и в большинстве (17 из 26) случаев наблюдалось наличие полиморфизма во втором экзоне (rs9869263). Однако корреляции с характером края опухоли, степень дифференцировки и стадией выявлено не было [22].

Экспрессия клаудинов других типов в колоректальном раке. Большой консенсус достигнут относительно экспрессии клаудинов-3 и клаудина-4 в колоректальном раке, хотя количество работ, посвященных этим маркерам, существенно меньше. Подавляющее большинство

авторов отмечает снижение экспрессии этих маркеров и отмечает корреляцию со стадией, низкой степенью дифференцировки, лимфоваскулярной инвазией, метастатическим поражением лимфатических узлов, наличием отдаленных метастазов и плохим прогнозом [10, 19, 21]. Некоторые авторы обнаруживают корреляцию только между снижением экспрессии клаудина-4, и вовлечением лимфатических узлов [6], другие не отмечают никаких корреляций [16]. В единичных работах приводятся данные об увеличении экспрессии клаудина-4 в колоректальном раке и об активации им матриксных металлопротеиназ [20].

Показано, что экспрессия клаудина-1, клаудина-3 и клаудина-4 увеличивается в раке толстой кишки, возникающем у пациентов на фоне длительно текущего язвенного колита, осложненного панколитом [11]. Авторы предполагают, что гиперэкспрессия белков плотных контактов может свидетельствовать о поздней стадии канцерогенеза, что согласуется с данными о повышенной экспрессии клаудинов в спорадическом колоректальном раке. С другой стороны, повышенная экспрессия клаудина-1 и клаудина-2 наблюдается и при воспалительных заболеваниях кишечника и, более того, коррелирует со степенью активности воспалительного процесса [23]. В исследовании [11] ни у одного из пациентов не наблюдалось активного воспаления, что затрудняет объяснение данного феномена. Возможно, патогенез спорадического рака толстой кишки и рака, возникающего на фоне язвенного колита различен.

Несмотря на то, что не существует единого мнения об уровне экспрессии клаудинов в раке толстой кишки, не ясна роль клаудинов в канцерогенезе, большинство исследователей считают, что клаудины могут являться потенциальными маркерами опухоли и мишенью для таргетных препаратов в терапии рака [12, 15].

Экспрессия клаудинов в предопухольевых поражениях толстой кишки. Единичные исследования посвящены оценке экспрессии клаудинов разных типов в аденомах толстой кишки и зубчатых образованиях. Роль клаудина в прогрессии SSA/P (зубчатой аденомы на широком основании) до карциномы не ясна. Эволюция зубчатых образований до колоректального рака по сравнению с традиционными аденомами происходит значительно быстрее и может быть связана с устойчивостью к апоптозу и клеточной дизрегуляцией. Предполагается, что клаудин-1

участвует в обоих процессах. Зубчатые полипы с гиперэкспрессией клаудина-1 имеют повышенный потенциал к развитию опухолей с более высокой степенью злокачественности по сравнению с неоплазиями, развившимися по зубчатому пути [5]. Caruso M., основываясь только на морфологических признаках, выявил, что экспрессия клаудина-1 достоверно выше (в 9,5 раз) в SSA/P по сравнению с гиперпластическими полипами. Одновременно с этим было показано, что в полипах, несущих соматическую мутацию BRAF V600E наблюдается гиперрегуляция клаудина-1 (как уровня белка по данным иммуногистохимии, так и уровня генов по данным ПЦР) независимо от типа полипа [3].

Есть данные, что в аденоматозных полипах экспрессия клаудина-1 статистически выше, чем в карциноме, в то время как экспрессия клаудина-4 не отличается [6].

Список литературы

1. Abdelzaher E., Rizk A.M., Bessa S.S., et al. Predictive value of immunohistochemical expression of claudin-1 in colonic carcinoma // *J Egypt Natl Canc Inst.* – 2011. 23(4). – P. 123–31.
2. Agarwal R., D'Souza T., and Morin P.J. Claudin-3 and claudin-4 expression in ovarian epithelial cells enhances invasion and is associated with increased matrix metalloproteinase-2 activity // *Cancer Res.* – 2005. 65(16). P. 7378–85.
3. Caruso M., Fung K.Y., Moore J., et al. Claudin-1 Expression Is Elevated in Colorectal Cancer Precursor Lesions Harboring the BRAF V600E Mutation // *Transl Oncol.* – 2014. 7(4). P. 456–63.
4. de Oliveira S.S., de Oliveira I.M., De Souza W., et al. Claudins upregulation in human colorectal cancer // *FEBS Lett.* – 2005. 579(27). P. 6179–85.
5. Endo A., Koizumi H., Takahashi M., et al. A significant imbalance in mitosis versus apoptosis accelerates the growth rate of sessile serrated adenoma/polyps // *Virchows Arch.* – 2013. 462(2). P. 131–9.
6. Ersoz S., Mungan S., Cobanoglu U., et al. Prognostic importance of Claudin-1 and Claudin-4 expression in colon carcinomas // *Pathol Res Pract.* – 2011. 207(5). P. 285–9.
7. 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. 29(3). P. 851–7.
8. Kinugasa T., Sakaguchi T., Gu X., et al. Claudins regulate the intestinal barrier in response to immune mediators // *Gastroenterology.* – 2000. 118(6). P. 1001–11.
9. Kominsky S.L., Vali M., Korz D., et al. Clostridium perfringens enterotoxin elicits rapid and specific cytolysis of breast carcinoma cells mediated through tight junction proteins claudin 3 and 4 // *Am J Pathol.* – 2004. 164(5). P. 1627–33.
10. Matsuoka T., Mitomi H., Fukui N., et al. Cluster analysis of claudin-1 and -4, E-cadherin, and beta-catenin expression in colorectal cancers // *J Surg Oncol.* – 2011. 103(7). P. 674–86.
11. Mees S.T., Mennigen R., Spieker T., et al. Expression of tight and adherens junction proteins in ulcerative colitis associated colorectal carcinoma: upregulation of claudin-1, claudin-3, claudin-4, and beta-catenin // *Int J Colorectal Dis.* – 2009. 24(4). P. 361–8.
12. Michl P., Barth C., Buchholz M., et al. Claudin-4 expression decreases invasiveness and metastatic potential of pancreatic cancer // *Cancer Res.* – 2003. 63(19). P. 6265–71.

13. 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 // *Oncol Res.* – 2001. 12(11-12). P. 469–76.
14. Nakagawa S., Miyoshi N., Ishii H., et al. Expression of CLDN1 in colorectal cancer: a novel marker for prognosis // *Int J Oncol.* – 2011. 39(4). P. 791–6.
15. Rangel L.B., Agarwal R., D'Souza T., et al. Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas // *Clin Cancer Res.* – 2003. 9(7). P. 2567–75.
16. Resnick M.B., Konkin T., Routhier J., et al. Claudin-1 is a strong prognostic indicator in stage II colonic cancer: a tissue microarray study // *Mod Pathol.* – 2005. 18(4). P. 511–8.
17. Shibutani M., Noda E., Maeda K., et al. Low expression of claudin-1 and presence of poorly-differentiated tumor clusters correlate with poor prognosis in colorectal cancer // *Anticancer Res.* – 2013. 33(8). P. 3301–6.
18. Soler A.P., Miller R.D., Laughlin K.V., et al. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer // *Carcinogenesis.* – 1999. 20(8). P. 1425–31.
19. Suren D., Yildirim M., Kaya V., et al. Loss of tight junction proteins (Claudin 1, 4, and 7) correlates with aggressive behavior in colorectal carcinoma // *Med Sci Monit.* – 2014. 20. P. 1255–62.
20. Takehara M., Nishimura T., Mima S., et al. Effect of claudin expression on paracellular permeability, migration and invasion of colonic cancer cells // *Biol Pharm Bull.* – 2009. 32(5). P. 825–31.
21. Tang W., Dou T., Zhong M., et al. Dysregulation of Claudin family genes in colorectal cancer in a Chinese population // *Biofactors.* – 2011. 37(1). P. 65–73.
22. Victoria H.S., Henrik E., Lennart B., et al. Claudin 1 and Claudin 7 Gene Polymorphisms and Protein Derangement are Unrelated to the Growth Pattern and Tumor Volume of Colon Carcinoma // *Int J Biomed Sci.* – 2010. 6(2). P. 96–102.
23. Weber C.R., Nalle S.C., Tretiakova M., et al. Claudin-1 and claudin-2 expression is elevated in inflammatory bowel disease and may contribute to early neoplastic transformation // *Lab Invest.* – 2008. 88(10). P. 1110–20.
24. Yoshida T., Kinugasa T., Akagi Y., et al. Decreased expression of claudin-1 in rectal cancer: a factor for recurrence and poor prognosis // *Anticancer Res.* – 2011. 31(7). P. 2517–25.