

ИССЛЕДОВАНИЕ ОПУХОЛЕ- АССОЦИИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В ТКАНЯХ И СЫВОРОТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ КАРЦИНОМАМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Боброва Т.С., Чуев Ю.В.

Государственное учреждение Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина РАМН, Москва

Резюме. Проводилось исследование распределения p34 в тканях и сыворотках крови больных раком молочной железы (РМЖ) иммуноблоттингом с помощью моноклональных антител 1F3-2D4 и антисывороток, которые выявили p34 в образцах тканей РМЖ, в метастазах, а в сыворотках крови – p51-53, p150-250. Белки могут быть ассоциированы либо с предшественником катепсина В, либо с муцинами, либо с кадгеринами, либо с CD22 – молекулой адгезии.

Ключевые слова: моноклональные антитела, антисыворотки, рак молочной железы, иммуноблоттинг.

Bobrova T.S., Chuev Yu.V.

A STUDY OF TUMOR-ASSOCIATED PROTEINS IN TISSUES AND BLOOD SERA FROM BREAST CANCER PATIENTS

Abstract. The study deals with p34 distribution in tissue and sera from the patients with breast cancer, using Western-blotting with MKA 1F3-2D4 monoclonals and antisera that identified p34 in breast cancer tissue samples, in metastases. In blood sera, p51-53, p150-p250 were assayed. The proteins may be associated either with cathepsin D precursors, or mucins, or cadherins, or CD22 adhesion molecule. (*Med. Immunol.*, 2006, vol.8, № 5-6, pp 645-652)

Ранее нами получены по стандартной методике моноклональные антитела (МКА 1,1F3-2D4, IgG1 класса) к белкам перевиваемой клеточной линии НЕР-2. МКА1 выявляют p25-75, 135 -250 кДа, главными из которых по частоте и интенсивности выявления - являются белки p34-36 и p55. При иммунологическом исследовании лизатов опухолей различной локализации и их метастазов обнаружено, что МКА дают интенсивную реакцию на p34-38 преимущественно с тканями рака яичника – 6/7 (83%). Позитивная реакция обнаружена также в лизатах других опухолевых тканей, но в меньшем проценте случаев. В прилежащих к опухолям неизмененных тканях p34-38 выявлялся слабо или отсутствовал. Позитивная реакция по p34 отмечена также в некоторых образцах кожи, мозга и в плаценте [2,3].

Цель работы: исследовать с помощью МКА 1 и антисывороток распределение белков семейства и

особенности их экспрессии в клетках тканей рака молочной железы (РМЖ), их метастазах, в лизатах прилежащих к опухоли тканей, а также в сыворотках больных этой патологией и у здоровых доноров с целью возможного использования полученных данных для характеристики опухоли и/или дополнительной иммунологической диагностики.

Материалы и методы

Образцы опухолевых тканей и ткани, взятые на расстоянии 5 см от опухоли, получены из отдела патологической анатомии, сыворотки больных и здоровых доноров – из лаборатории биохимии НИИ клинической онкологии ГУ Российского онкологического научного центра РАМН им. Н.Н.Блохина. Данные по гистологическим диагнозам, данные по стадиям опухоли и проведенному лечению больных получены из архива патологоанатомического отдела и из архива НИИ Клинической онкологии соответственно.

Получение лизатов клеток. Лизаты клеток опухолей, метастазов и нормальных тканей приготавливали по методу, описанному ранее [2, 3].

Сыворотки крови больных и здоровых доноров. С целью поиска мембранных белков сыворотки крови подвергали ультрацентрифугированию при 125

Адрес для переписки:

Боброва Татьяна Сергеевна, 115478, Москва,
Каширское шоссе, дом 24, ГУ Российский
онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина
РАМН, Москва. Тел.: (495) 111-82-88, (495) 324-78-17,
факс (495) 324-12-05 (495) 324-78-17.
E-mail: kraun1979@mail.ru

тыс. г в течение одного часа. Осадок растворяли в буфере для нанесения образцов с 2% 2-β-меркаптанолом (2-МЕ) и подвергали электрофорезу в 8% ПААГ по U.K.Laemmli [12].

Обработка сывороток крови нейраминидазой. 40 мкл буфера «Г» (100 мМ Na-ацетатного буфера рН5,5, 0,3 М HCl, 0,2% CaCl₂) и 1 мкл раствора нейраминидазы (100 ЕД/мл, Sigma Chemical Co, США) добавляли к 10 мкл образца сыворотки крови и оставляли на 16 часов при 37°С с последующим центрифугированием при 14000 г в течение 10 мин. Затем белки сывороток крови осаждали 25% раствором трихлоруксусной кислоты (ТХУ) с последующим центрифугированием и повторной отмывкой охлажденным ацетоном. Осадки ресуспендировали в диссоциирующем буфере для последующего электрофореза [4].

Моноклональные антитела. МКА 1 (IgG1 класса) получены нами ранее к 3М KCl экстракту клеток НЕР-2 по стандартной методике. Иммуноглобулиновую фракцию, выделенную из асцита, очищали с помощью ионнообменной хроматографии и использовали в дальнейшей работе для иммуноблоттинга [2, 3].

Антисыворотки. Кроличья сыворотка 1 (Ас 1) получена ранее к мембранным белкам клеток НЕР 2, кроличья сыворотка 3 (Ас 3) получена к мембранным белкам клеток Е16В [1, 2, 6, 7]. Кроличья Ас р40-46 получена к отдельному белку клеток НЕР-2 с молекулярной массой (MW) 40-46 кДа, перенесенного на нитроцеллюлозу, после полупрепаративного электрофореза (Ас р40-46).

Меченные пероксидазой антисыворотки к иммуноглобулинам кролика, мыши получены из института эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи.

Электрофорез и иммуноблоттинг. Для проведения иммуноблоттинга 10-20 мкл лизата, содержащего 50-70 мкг белка и 2-10 мкг сыворотки крови из разведения 1:50, 1:100, в буфере, содержащем 2% 2β-МЕ и 2% ДСН, подвергали электрофорезу в 8% ПААГ по U.K. Laemmli [11]. Белки переносили на нитроцеллюлозный фильтр "Hybond-C-Extra" (Amersham, Великобритания) в электрическом поле напряжением в 2 В/см в течение 20 ч. Фильтры с белками обрабатывали по общепринятой методике. Ас 1 и Ас 3 использовали при разведении 1:500, Ас р40-46 - при разведении 1:1000, МКА 1 - при разведении 1:2000. Выявление реакции МКА 1 с белками и в лизатах тканей, и сыворотках крови больных и здоровых доноров проведено в соответствии с протоколом с помощью реактивов AURORA-TM (ICN, США) с последующей экспозицией фильтра на пленку ORWO. В ряде случаев выявление реакции Ас с белками в образцах тканей проведено с использованием вторых биотинилированных антител или по методике ECL+ в соответствии с протоколом Amersham Pharmacia Biotech (Швеция) [2, 3]. Мы благодарны В.А.Морозову, сотруднику института Роберта Коха (Берлин, Германия) за предоставление реактивов ECL+ (Amersham Pharmacia Biotech, Швеция), маркеров молекулярной массы, нитроцеллюлозного фильтра "Hybond-C-Extra" (Amersham, Великобритания).

Табл. 1. ВЫЯВЛЕНИЕ Р34-38 В ОБРАЗЦАХ ТКАНЕЙ И В СЫВОРОТКАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ФОРМЫ, СТАДИИ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ПРОВЕДЕННОГО ЛЕЧЕНИЯ

РМЖ, гистологические формы, стадии	Количество выявленных позитивных случаев (%)
Инфильтративно-дольковый рак	15/30 (50%)
Инфильтративно-протоковый рак	5/13 (38%)
Другие гистологические формы	1/4 (25%)
Метастазы	20/30 (67%)
РМЖ, пхт или пхлт	7/14 (50%)
Стадии (Т N M)	
T1	1/3 (33%)
T2	13/27 (~50%)
T3	2/8 (25%)
T4	4/7 (57%)
Доброкачественные опухоли молочной железы	0/4
Выявление других эпителиев: (р30-32-33.8, р36):	
в образцах тканей РМЖ	2/47 (4%)
в метастазах	7/30 (23%)
в прилежащих к опухоли тканях	3/31 (10%)
Выявление р34-38 в прилежащих к опухоли тканях	5/31 (16%)
Всего исследовано образцов тканей РМЖ	22/47 (47%)

Примечание. В таблице приняты следующие сокращения: в числителе представлено число положительно реагирующих образцов; в знаменателе – общее количество образцов; пхт – после химиотерапии; пхлт – после химио-лучевой терапии.

Результаты

Выявление р34-38 в образцах тканей РМЖ в зависимости от стадии заболевания

Интенсивная и умеренная реакция по р34-38 обнаружена в 22 (47%) из 47 образцов тканей РМЖ, в 20 (67%) из 30 образцов метастазов этой локализации опухоли, в 4 (13%) из 31 образца тканей, прилежащих к опухоли. Реактивность МКА 1 с белком и в опухоли, и в метастазах чаще всего совпадала по интенсивности, однако в 3 случаях - в метастазе - реакция превосходила таковую в опухоли, а еще в 3 случаях - реакция по р34-38 в опухоли была отрицательной, а в метастазе - положительной (хотя и слабо положительной). В некоторых образцах карцином и прилежащих к опухоли тканях, выявлены, по-видимому, изоформы р34 (или протеолитичес-

ки расщепленные продукты) - р33,8; р33,5; р33,2 кД; а также белки - р25-28, р30, р32, р36. Изоформы чаще всего выявлялись в образцах опухолевой ткани и метастазах больных РМЖ. В ряде случаев полоса р34 на блоте в лизате опухоли после иммуноблоттинга была длиннее, чем в образце прилежащих тканей или в доброкачественной опухоли (табл.1, рис. 1 А).

Позитивная реакция по р34-38 обнаружена в половине случаев у больных инфильтративно-протоковым раком (в 15 из 30 образцов), в 5 из 13 образцов больных инфильтративно-дольковым раком, а также в образце тканей больной медуллярным раком (и в опухоли, и в метастазе этой опухоли). Реакция МКА 1 с р34 сохранялась в 5 из 7 образцах опухолей с солидно-альвеолярными структурами. При этом из исследованных опухолей умеренная и

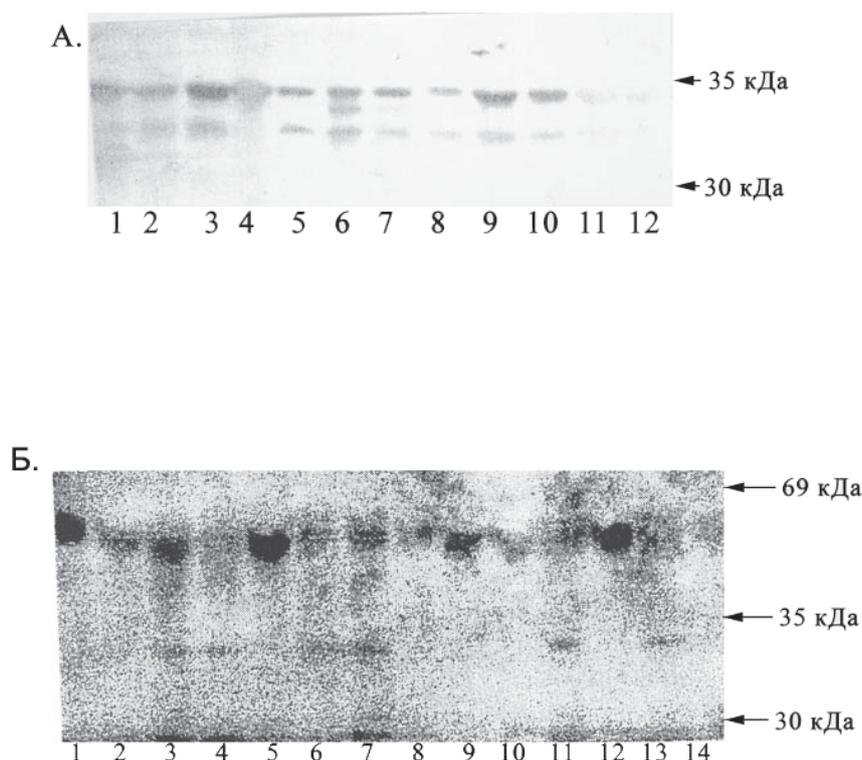


Рис 1. Выявление белков в лизатах тканей методом Вестерн блоттинга с помощью МКА 1. А. Лизаты тканей: 1, 2 – рак легких и ткани, прилежащие к опухоли, соответственно; 3 – рак яичника; 4, 5 – ткани, прилежащие к опухоли, и метастаз РМЖ, соответственно; 6, 7, 8 – метастаз? Лимфоузел без метастаза, прилежащие к опухоли ткани, соответственно; 9, 10 – рак шейки матки; 11, 12 – рак почки и прилежащая к опухоли ткань, соответственно.

Б. Лизаты тканей: 1, 2 – РМЖ и ткани, прилежащие к опухоли, соответственно; 3, 4, 5 – РМЖ, лимфоузел без метастаза, ткани, прилежащие к опухоли, соответственно; 6, 7 – полип эндометрия, карцинома эндометрия, соответственно; 8, 9 – фиброаденома молочной железы, ткани, прилежащие к опухоли, соответственно; 10, 11, 12 – РМЖ (после химио-лучевой терапии), метастаз, ткани, прилежащие к опухоли, соответственно; 13, 14 – метастаз РМЖ, ткани, прилежащие к опухоли, соответственно.

интенсивная реакция обнаружена у больных: Т1 стадией – в 1 из 3 образцов (еще в 2 отрицательных случаях у больных с Т1 стадией положительная реакция обнаружена в метастазах этих опухолей), Т2 стадией – в половине случаев – в 13 из 27 образцов РМЖ; Т3 стадией – в 2 из 8 образцов (2 из 6 отрицательных случаев, возможно, связаны с проведенной лучевой терапией); Т4 стадией – в 4 из 7 образцов опухоли, при этом в 3 из них – реакция МКА 1 с р34 обнаружена даже после проведенной химиотерапии. Всего было исследовано опухолей после проведенной химиотерапии и/или химио-лучевого лечения – 14, в 7 (50%) из них реакция МКА с р34 оставалась умеренной или интенсивной. В прилежащих к опухоли тканях р34-38 обнаружен в 5 из 31 образцов (16%) (табл.1).

Выявление с помощью МКА 1 эпитопов р34-38 на белках с другой молекулярной массой

Положительная реакция обнаружена также в некоторых случаях по белкам: р140-150 – в 5 образцах тканей РМЖ и их метастазов соответственно, а слабая – в одном случае – в прилежащих тканях; по р72-73 (преимущественно р72) – по 4 случая и в опухоли, и в метастазах соответственно, и два случая в прилежащих тканях. Позитивная реакция по белкам – р30, р32, р33 и 36 кДа обнаружена в 2 (4%) из 47 образцов РМЖ, в 7 (23%) из 30 образцов метастазов этой локализации опухоли, в 3 (10%) из 31 образца прилегающих тканей. Белки р25-28 обнаружены с помощью МКА 1 только в 2 случаях РМЖ, однако в одном из них появление р25 сопровождалось одновременным появлением и изофор-

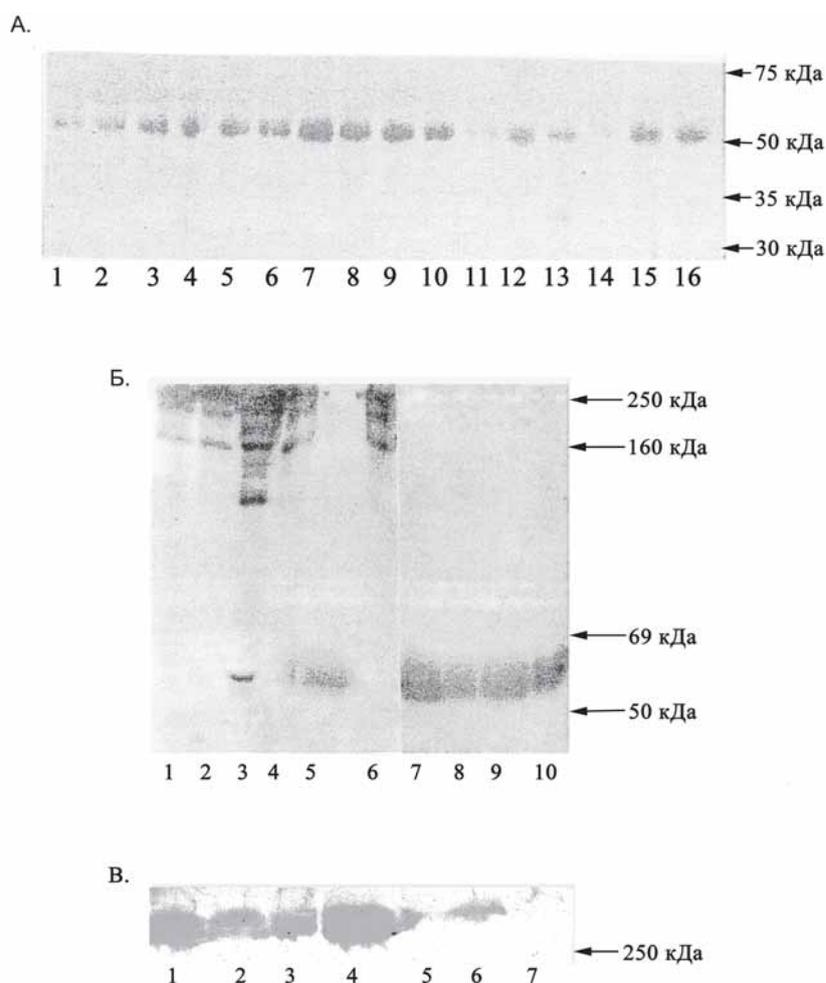


Рис. 2. Выявление белков в сыворотках крови онкологических больных методом Вестерн блоттинга с помощью Ас 3 (А) и Ас 1 (Б). А. Белки сывороток крови онкологических больных предварительно обработаны нейраминидазой и затем преципитированы 25% раствором ТХУ. Сыворотки крови больных: 1 – рак легкого; 2 – меланома; 3, 5 – рак мочевого пузыря; 4, 14 – рак толстого кишечника; 6 – Саркома Юинга; 7 – рак тела матки; 8 – РМЖ; 9, 10 – рак яичника; 11, 12 – лейкемии; 13, 15, 16 – рак печени. Б. Сыворотки крови больных: 1, 2 – рак мочевого пузыря, рак гортани, соответственно; 3 – РМЖ; 4, 5, 6 – больные с терапевтическими заболеваниями; 7-10 – рак яичника. Рис 2 В. Выявление белков в ультраосадках сывороток крови онкологических больных методом иммуноблоттинга с помощью Ас р40-46. В. Сыворотки крови больных: 1-4 – РМЖ; 5 – меланома; 6 – рак толстого кишечника; 7 – рак легкого. Маркеры молекулярной массы указаны справа.

мы р34 – р33,8. Вторым по частоте обнаружения является р53-55. Умеренная и интенсивные реакции по р53-55 выявлены примерно в половине случаев в образцах тканей больных РМЖ и в прилежащих тканях (в 13/29 и в 13/24 соответственно); в образцах метастазов белки обнаружены значительно реже – в 6 (20%) из 30 случаев. В прилежащих тканях интенсивность реакции часто превосходила таковую в опухоли. Четко двойным этот белок чаще всего был в образцах доброкачественных опухолей молочной железы – фиброаденомах и прилежащих к ним тканях, однако, выявлен и в других тканях и опухолях – например – в образце тканей рака тела матки и полипе у той же больной. Реакция МКА 1 с образцами других тканей в районе белка носила диффузный характер. Возможно, в последнем случае он мигрирует с одинаковой скоростью с еще другими белками и/или гликопротеидами. Основные белки – р34, р53-55 не обнаружены в 4 образцах тканей доброкачественных опухолей. В некоторых случаях позитивная реакция обнаружена также по редко встречаемым белкам: р60-65, р98-100, р41-43.

Положительная реакция с р180, 240 и р>250 – отмечена в 4 из 108 всех образцов тканей и в опухоли, и в метастазах; при этом в двух случаях – эти белки выявлены у больных с прогрессирующей стадией заболевания (табл., рис. 1 Б).

Выявление белков в сыворотках крови онкологических больных с помощью Ас 3

Ранее нами получены данные, согласно которым Ас 1, полученная к мембранным белкам клеток Нер-2 в дот-блоттинге с сыворотками больных с различной локализацией опухоли, выявляла позитивную реакцию только с сыворотками крови больных РМЖ [1]. С целью частичной очистки белков сывороток крови больных и выяснения вопроса о наличии или отсутствии сиаловых кислот в молекулах реагирующих белков, образцы сывороток крови обрабатывали раствором нейраминидазы, затем белки осаждали 25% раствором ТХУ с последующим электрофорезом в денатурирующих условиях и Вестерн блоттингом. Положительная реакция с Ас 3 выявлена в 26 из 28 образцов (96%) сывороток крови больных различной локализацией опухоли (ранее нами показано иммунодиффузионным методом, что иммунологическая реактивность Ас 3 с образцами тканей и сывороток крови онкологических больных аналогична реактивности Ас 1) [1]. Наиболее интенсивная реакция выявлена с сыворотками крови больных раком яичника, раком тела матки. Позитивная реакция выявлена также с сыворотками крови больных РМЖ (рис.2А).

Выявление белков в сыворотках крови онкологических больных с помощью Ас 1

При исследовании ультраосадков сывороток крови больных раком яичника, РМЖ, рака желудка, кишечника и плазмоцитомой с помощью Ас 1 выявлена положительная реакция различной степени интенсивности с р55-60-65 в 21 из 34 (62%) образцов, при этом с ультраосадком больных раком яичника, раком желудка и кишечника обнаружена диффузная реакция, а с 5 образцами ультраосадков сывороток крови РМЖ и образцом больного плазмоцитомой – реакция была четкой, а не диффузной. В ультраосадке больных РМЖ выявлена умеренная реакция с р51-53 во всех пяти образцах, а у больной с плазмоцитомой выявлена очень интенсивная реакция с белком менее подвижным, чем в случае РМЖ – с р53-55 кДа (рис.2Б)

Выявление белков в сыворотках крови онкологических больных с помощью Ас р40-46 и МКА 1

При исследовании 17 образцов сывороток крови больных с различной локализацией опухоли с помощью Ас р40-46 выявлена положительная диффузная реакция с р>250 у 5 больных РМЖ, 3 больных раком кишечника, но площадь реакции (за исключением одного случая) превосходила таковую у больных РМЖ по сравнению с больными раком кишечника. У больных раком яичника и гортани выявлена лишь слабая позитивная реакция. Обнаружена позитивная реакция МКА 1 с р150-200, р250 и р>250 в сыворотках крови у 31 (63%) из 49 больных после ультраскоростного центрифугирования. В 3 из 5 сывороток больных РМЖ выявлены белки – р200-240 и р>250 кДа. Гистологически это были – эпителиальные опухоли – инфильтративно-протоковый и инфильтративно-дольковый рак 1, 2, и 4 стадии, а в сыворотке больной РМЖ с преобладанием солидно-альвеолярных структур – высокомолекулярные белки не были обнаружены, также как и в сыворотках крови здоровых доноров. У больных раком яичника помимо белков с р>250 кДа, обнаружены – р105-110 кДа – в 3 из 6 случаев, а у 2-х больных раком пищевода IV стадией выявлены еще и р30-75 (рис. 2 В).

Обсуждение

Рак молочной железы – одна из наиболее важных и главных болезней, поражающих женщин. Поскольку карцинома молочной железы проявляет вариабельность в биологическом и клиническом поведении, полагают, что существует необходимость в надежных прогностических параметрах. Классические прогностические

кие маркеры для РМЖ включают – статус лимфатических узлов, размер опухоли и стадию клинической оценки. Много других потенциальных прогностических маркеров идентифицировано, включая стероидные рецепторы, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), p53, c-erbB2, VcL-2, SEQ, CA15.3, CA 27.29, каликреины (hK5, hK13, hK14), cathepsin D, polyadeylate polymerase. Однако только статус гормональных рецепторов и РЭА используются для рутинного исследования. Полагают, что ни один из оставшихся маркеров не имеет значительной прогностически-предсказательной ценности. Некоторые маркеры могут применяться в частных случаях [9, 16].

Природа р34-38 не известна. Ранее нами был проведен сиквенс р34-38, р55 из опухолевых тканей рака шейки матки, который показал, что белки являются, по предварительным данным, δ -областью β -цепи Т-клеточного рецептора [2, 3].

Учитывая редкое появление в опухолевой ткани р30-33, р36, можно предположить, что эти белки свойственны, в основном неизменным или малоизменным тканям, но наряду с р34 одними из первых появляются в метастазах и, возможно, характеризуют начальный этап метастазирования.

По молекулярной массе р72-74, выявленный в образцах тканей РМЖ, похож на человеческий эндогенный ретровирус К10 (HERV-K10), который кодирует полноразмерный gag белок с MW 73 кДа, процессинг которого с помощью протеазы приводит к появлению белков р22/26, р30 и р15/16. HERV-K10 обнаружен и в HeLa клетках (HEp-2 клетки – HeLa подобные) [14, 17, 18].

Р150, также выявленный нами в образцах тканей РМЖ, по MW похож на фосфорилированный 150 кДа CD22, который обнаружен в sIgM-BCR (поверхностный IgM-B-клеточно-рецепторный комплекс) комплексе совместно с Ig- α /mb1, Ig- β /B29 и 75 кДа полипептидом [11, 13].

По м.м. р51-53, выявленный в сыворотках крови онкологических больных и больных РМЖ, похож на предшественник катепсина Д – аспартил протеазу лизосом (р52), которая выявляется преимущественно в клетках тканей РМЖ и метастазах. Предполагается, что катепсин Д инициирует протеолитический каскад, приводящий к деградации экстрацеллюлярного матрикса и высвобождению из него ростовых факторов [8].

Таким образом, показано, что Ас 1 в ультраосадках сывороток крови онкологических больных выявили диффузную реакцию с р55-60-65, в то время как с сывороткой крови больной плазмцитомой выявлена позитивная реакция с р53-55, а у больных РМЖ – с р51-53. Мы предполагаем, что различия в MW выявляемых белков у

больных РМЖ и с другой локализацией опухоли могут быть использованы в дальнейшем для диагностики.

Обнаружено, что Ас 3 выявляет позитивную реакцию с р51-53 сывороток крови онкологических больных (в том числе и больных РМЖ), предварительно обработанных нейраминидазой и преципитированных 25% раствором ТХУ. При этом обнаружена различная степень интенсивности и площади реакции. Поскольку сыворотки крови больных РМЖ были в основном от больных 3-4 стадии заболевания, мы предполагаем, что эти данные могут быть в дальнейшем использованы для дифференциальной диагностики ранних и поздних стадий заболевания.

Показано, что Ас р40-46 выявляет диффузную позитивную реакцию с р>250 преимущественно с сыворотками крови больных РМЖ, раком кишечника, и что площадь реакции у больных РМЖ в 4 из 5 случаев была больше чем у больных раком кишечника. Ас р40-46, возможно, выявляет актин, ассоциированный через α -актинин с высокомолекулярными комплексами на поверхности клеток – с sIgM/BCR комплексом, который в свою очередь ассоциирован с CD22-молекулой адгезии, белки которой при обработке клеток лизирующим буфером, преципитируются и выявляются двумя полипептидами - р150 и р130, совместно с Ig α /mb1, Ig β /B29 и р75. Или Ас р40-46, возможно, выявляет кадгерин (Е-кадгерин, Т-кадгерин, или Р-кадгерин-плацентарный) в комплексе с другими белками, например, с α -катенином (р95-110) и актин-связывающими белками - р34, р65-70 [4]. Или Ас р40-46, возможно, выявляет муцин-подобные белки кишечного типа и эти данные, возможно, в дальнейшем могут быть использованы для классификации опухолей РМЖ, и для диагностики.

Некоторым подтверждением этого является обнаружение реакции МКА 1 с р150-250, р>250 в ультраосадках сывороток онкологических больных. Как полагают авторы, исследовавшие реакцию МКА к муцину 2 (МИС 2), выявляющую положительную реакцию с белками рака яичника, РМЖ, рака желудка и кишечника - «перинуклеарное гранулярное свечение, возможно, отражает выявление белкового ядра в эндоплазматическом ретикулуме или аппарате Гольджи до завершения гликозилирования. Наблюдение, что не все клетки данного типа выявляют похожую экспрессию этого типа, предполагает другой фенотип или стадию зависимости от различного созревания, которая может существовать в продуцирующих муцин образцах морфологически сходных клеток». Показано, что МИС1 может выступать как маркер не только в мониторинге больных с РМЖ и раком яичника, но и при опухолях других лока-

лизаций, поскольку повышение его коррелирует с распространенностью опухолевого процесса и рецидивом болезни. MUC2 - является главным компонентом муцинов при раке кишечника и легкого [10, 15].

Предполагается также, что наличие муцин-подобных белков того или иного типа в будущем может быть положено в основу разделения РМЖ на подтипы и будет способствовать оптимальному выбору лечения в зависимости от обнаружения типа муцин-подобных белков.

Учитывая полученные данные о различии реакции МКА 1 в доброкачественных и злокачественных тканях молочной железы, а также различия в MW белков в сыворотках крови больных РМЖ, выявленных иммунными сыворотками (Ac1, Ac3, p40-46), представляется вероятным, что необходимо провести дальнейшие сравнительные исследования с целью уточнения различий и возможного использования полученных данных для диагностики.

Работа проводилась при финансовой поддержке РФФИ -99-04-365. Мы благодарны сотрудникам лаборатории методов скрининга канцерогенов - Р.А. Сидорову и Гасановой В.К. за помощь в приготовлении фотографий.

Список литературы

1. Боброва Т.С., Крюкова И.Н., Чуев Ю. В., Роттенберг В.И., Головкина Т.В. Изучение антигена стабильных клеточных линий, иммунологически родственного антигену нормальной слизистой оболочки желудка человека // Эксп.Онкол. – 1988. – Т.10. – №6. – С.35-39.
2. Боброва Т.С., Чуев Ю.В., Морозов В.А. Мышинные моноклональные антитела к HeLa ассоциированному антигену: распределение антигена в лизатах нормальных и опухолевых тканей // Эксп. Онкол. – 2000. – Т. 22. – С.118-125.
3. Боброва Т.С., Чуев Ю.В., Морозов В.А. Иммунологические и биохимические характеристики семейства белков, ассоциированных с некоторыми карциномами человека // Вестник РОНЦ. – 2001. – Т.3. – С. 25-31.
4. Дейвис А., Браун М. Анализ биохимических свойств антигенов лимфоцитарной поверхности. В кн: Лимфоциты. Методы / Под ред. Дж. Клауса, перев. с англ. – М. Мир, 1990. – 339-373.
5. Иванов Д.Б., Филиппова М.П., Ткачук В.А. Структура и функции классических кадеринов // БИОХИМИЯ. – 2001. – Т. 66. - №10. – С.1450-1464.
6. Bobrova T.S., Kryukova I.N., Chuev Yu.V., Rottenberg V.I. Antigen shared by HeLa-like human cell line and gastric mucosa // Neoplasma. – 1991. – Vol. 33. – P.313-322.
7. Bobrova T.S., Smirnov A.V. HeLa-associated antigen-2. I. Identification and properties // Exp Oncol. – 1997. – Vol.19. – P.124-128.
8. Baldwin E.T., Bhat T.N., Gulnic S., Hosur M.V., Sowder R.C., Cachau R.E., Collins J., Silva A.M., Erickson J.W. Crystal structures of native and inhibited forms of human cathepsin D: Implications for lysosomal targeting and drug design // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. - Vol. 90. - P.6796-6800.
9. Chang A., Yousef G.M., Scorilas A., Grass L., Sismondi P., Ponzzone R., and Diamandis EP. Human kallikrein gene (KLK13) expression by quantitative RT-PCR and independent indicator of favourable prognosis in breast cancer // Br.J. Cancer . – 2000. – Vol. 86. – P.1457-1464.
10. Devine P.L., Mc Guckin M.A., Birrell G.W., Whetehead R.H., Sachdev G.P., Shield P., Ward B.G. // Monoclonal antibodies reacting with the MUC 2 mucin core protein. Brit. J. Cancer. – 1993. – Vol.67. – P.1182-1188.
11. Draverova L and Draver P. Thy-1 glycoprotein and src-like protein-tyrosine kinase p53/p56 lyn are associated in large detergent-resistant complexes in rat basophilic leukemia cells // Proc Natl Acad Sci USA. – 1993. – 90. - P.3611-3619.
12. Leammly U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T-4 // Nature. – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
13. Leprince C., Draves K.E., Geahlen R.L., et al. CD22 associates with the human surface IgM-B-cell antigen receptor complex // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1993. – Vol.90. – P.3236-3240.
14. Mueller-Lantzsch N., Sauter M., Weiskircher A., Kramer K., Best B., Buck M., Grasser F. // Human endogenous retroviral element K10 (HERV-K10) encodes a full-length gag homologous 73-kDs protein and functional protease. AIDS Res. Hum. Retroviruses. – 1993. – Vol.9. – P.343-350.
15. Reis C.A., David N., Nielsen P.A., Clausen H., Mirgorodskaya K., Roepstorff P., Sobrinho-Simoes M. // Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody. Int.J. Cancer. – 1997. – Vol.74. – P.112-121.
16. Scorilas A., Talieri M., Ardavanis A., Curtis N., Dimitriadis E., Yotis J., Tsiapalis CM., Trangas T. Polyadenylate polymerase enzymatic activity in mammary tumor cytosols: A new independent prognostic marker in primary breast cancer // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60. – P. 5427-5433.
17. Simon M., Haltmeier M., Papakonstantinou G., Werner T., Hehlman R., Leib-Mosch C. // Transcription of HERV-K-related LTRs in human placenta and leukemic cells. Leukemia. – 1994. – Vol. 8. – P.812-817.
18. Vogetseder W., Feng J, Haibach O., Mayerl W., Dierich M.P. // Detection of a 67-kD glycoprotein in

human tumor cell lines by a monoclonal antibody established against a human endogenous retrovirus-K

envelope-gene-encoded protein Exp. Clin. Immunogenet. – 1995. – Vol.12. – P.96-102.

*поступила в редакцию 03.05.2006
принята к печати 30.06.2006*