

- Europ. resp. J.—1990.—Vol. 3.—P. 958—959.
15. Gerasin V. A., Kizela A. P., Palamarchuk G. F. // International Conference on Bronchoalveolar Lavage, 3-rd Abstracts:—Vienna, 1991.—P. 32S.
 16. Godard P., Bousquet J., Lebel B., Michel F. B. // Bull. europ. Physiopath. resp.—1987.—Vol. 23.—P. 73—83.
 17. Kay A. B., Wardlaw A. J., Mogbel R. et al. // Allergy and Inflammation / Ed A. Kay.—New York: Acad. Press. 1987.—P. 203—223.
 18. Klech H., Pohl W. et al. // Europ. resp. J.—1989.—Vol. 2.—P. 561—585.
 19. Metzger W. J., Zavala D., Richerson H. B. et al. // Amer. Rev. resp. Dis.—1987.—Vol. 131.—P. 433—440.
 20. Michel F. B., Godard Ph., Bousquet J. // Int. Arch. Allergy.—1989.—Vol. 88.—P. 101—107.
 21. Reynolds H. Y. // Amer. Rev. resp. Dis.—1987.—Vol. 135.—P. 250—263.
 22. Rossi G. A., Crimi E., Lantero S. et al. // Europ. resp. J.—1990.—Vol. 3.—P. 368—370.
 23. Van Vyve Th., Chanez P., Bouaquet J. et al. // International Conference on Bronchoalveolar Lavage, 3-rd Abstracts.—Vienna, 1991.—P. 1S.
 24. Wardlaw A. J., Dunette S., Gleich G. J. et al. // Amer. Rev. resp. Dis.—1988.—Vol. 137, N. 1.—P. 62—69.

Поступила 10.09.91

CELL REACTIONS IN LUNG IN ACUTE OF BRONCHIAL ASTHMA

L. K. Romanova, S. I. Ovcharenko, T. B., Mladkovskaja, M. S. Pokrovskaja, V. V. Philippov

Summary

The cell population in BALF of asthmatic patients and 9 subjects free of lung pathology was studied. The percentages of cells in BALF of asthmatics were: alveolar macrophages (AM) — $85,2 \pm 1,5$ % C — $92,4 \pm 1,3$ %, lymphocytes — $6,1 \pm 0,9$ % C — $5,8 \pm 1,2$ %; neutrophils — $2,9 \pm 0,8$ % C — $0,8 \pm 0,3$ %, eosinophils — $5,8 \pm 0,8$ % C — $0,5 \pm 0,1$ %, mast cells — $0,19 \pm 0,1$ % C — 0. The significant increase of absolute and relative number of eosinophils was revealed in BALF of asthmatic patients, the number of neutrophils didn't correlate with eosinophil level.

Acute stage of bronchial asthma is accompanied with AM destruction increase and functional activation of the rest AM population. Proportions of BALF cells in asthmatic patients reflect the character and degree of protective and inflammatory reactions in lung. Acute bronchial asthma is accompanied with bronchiolitis and alveolitis mainly of eosinophilic type.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1992

УДК 616.24-006.6-091.8

Г. А. Франк, Л. В. Литвинова, Н. В. Вальцев

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭКСПРЕССИИ 8 И 17 ТИПОВ КЕРАТИНА В РАЗЛИЧНЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМАХ РАКА ЛЕГКОГО

Отделение патоморфологии опухолей Московского научно-исследовательского онкологического института им. П. А. Герцена

Наличие специфических морфологических маркеров в опухолях связано с особенностью дифференцировки опухолевых клеток, заключающейся в частичной реализации программы дифференцировки гистологического источника злокачественного роста. Злокачественные опухоли эпителиальных тканей теряют многие черты, присущие нормальному тканевому аналогу, но при этом сохраняют строение цитоскелета, специфичное как для эпителия в целом, так и для конкретного специализированного эпителия, послужившего источником развития опухоли.

Семейство белков кератинов из 19 индивидуальных представителей является тем набором морфологических маркёров, который в большинстве случаев позволяет не только отличить эпителий от других тканей, но и определять конкретный вид эпителия [1—3]. Так, в многослойном плоском эпителии содержатся кератины № 1—6, 10—17; в железистом — № 7, 8, 18, 19. Для того, чтобы «узнать» многослойный плоский эпителий, не обязательно выявить все перечисленные кератины, а достаточно обнаружить экспрессию 5 и 17 или 5 и 14 кератинов, содержащихся в клетках любого много-

слойного плоского эпителия вне зависимости от органа. Причем 5 тип кератина является структурным компонентом цитоскелета многослойного плоского эпителия в широком диапазоне от клеток с выраженным ороговением до клеток волосяных луковиц. Кератин 17 типа не содержится в клетках ороговевающего эпителия, а обнаруживается в клетках неороговевающего слоя пласта многослойного плоского эпителия и базальных клетках протоков (молочная железа, слюнная железа, бронхи).

Одной из довольно частых проблем, возникающих при изучении морфогенеза малодифференцированных новообразований легких является необходимость определения плоскоэпителиальной и железистой направленности структурно-функциональной дифференцировки опухолевых клеток с оценкой выраженности обоих структурных компонентов.

Целью настоящей работы явилось выяснение частоты экспрессии 8 и 17 типов кератинов в различных гистологических формах рака легкого при помощи коммерческих моноклональных антител (мкАТ) производства ВОНЦ АМН СССР. Изучено 63 наблюдения опу-

Таблица

Распределение наблюдений рака легкого по гистологическому типу строения

Гистологическая форма опухоли	Степень тканевой анаплазии			Локализация опухоли		Всего
	I	II	III	центр- раль- ная	пери- фери- ческая	
Плоскоклеточный рак	4	19	3	20	6	26
Аденокарцинома	4	11	5	4	16	20
Бронхиолоальвеолярный рак	1	—	—	—	1	1
Карциноид	—	3	1	2	2	4
Мелкоклеточный рак	—	—	6	2	4	6
Диморфный рак	1	—	2	1	2	3
Мукоэпидермоидный рак	1	—	—	—	1	1
Крупноклеточный рак	—	—	2	—	2	2
Общее количество наблюдений	11	33	19	29	34	63

холей легких от больных, оперированных в МНИОИ им. П. А. Герцена, из них плоскоклеточный рак встретился в 26 случаях, аденокарцинома — в 20, диморфный рак — в 3, мелкоклеточный рак — в 6, карциноид — в 4, крупноклеточный рак — в 2, бронхиолоальвеолярный и мукоэпидермоидный рак — по 1 наблюдению (таблица).

Кусочки опухоли заморожены в жидком азоте, срезы толщиной 5—6 микрон получены в криостате, фиксированы 2—3 минуты в 4 % растворе формалина на забуференном физиологическом растворе (ЗФР) pH 7,3 и инкубированы с мкАТ в течение 1 часа при комнатной температуре; затем срезы промывали в 3 сменах ЗФР, по 10 минут в каждой, и наносили проявляющие антитела против глобулинов белой мыши, конъюгированные флюорохромом или пероксидазой (производство НПО «Биотехнология»). В последнем случае продукт реакции выявляли в растворе диаминобензидина с перекисью водорода. Срезы просматривались в световом или люминесцентном микроскопе в зависимости от метки проявляющих антител.

Как показали результаты исследования, в нормальной ткани легкого, окружающей опухоль, мкАТ к 8 типу кератина взаимодействуют с эпителием альвеол, с однорядным и многорядным эпителием слизистой оболочки бронхов. В цитоплазме базально расположенных клеток слизистой оболочки бронхов выявлен кератин 17 типа (рис. 1, а). При плоскоклеточной метаплазии эпителия слизистой оболочки бронхов 17 кератин появляется в клетках метаплазированного эпителия по всей толще эпителиального пласта. Кроме того, 17 кератин можно иногда видеть и в участках гиперплазии бронхиального эпителия без видимых признаков плоскоклеточной метаплазии, а нередко и в альвеолярном эпителии, непосредственно приле-

жащем к опухоли (рис. 1, б). В некоторых участках аккомодационного легкого происходит замена уплощенного эпителия альвеол на кубический с формированием многорядных сосочков, в клетках которых экспрессируется 8, а в единичных — 17 кератин.

Во всех исследованных наблюдениях умеренно дифференцированного плоскоклеточного рака легкого обнаружена экспрессия кератина 8 и 17 типов (рис. 1, в, г; 2, а). Клеточные элементы с экспрессией 8 типа кератина входят в состав почти всех опухолевых структур, хотя количество клеток, его содержащих, в различных структурах неодинаково, различна и интенсивность реакции с мкАТ к 8 кератину в самих клетках паренхимы опухоли. В высокодифференцированных пластах с выраженными признаками ороговения клетки с 8 кератином располагаются в базальных отделах и только единичные элементы можно обнаружить в центре — в «роговых жемчужинах». В веретенклеточных (малодифференцированных) и умеренно дифференцированных участках 8 кератин выявляется во всех опухолевых клетках.

17 кератин экспрессируется опухолевыми клетками во всех наблюдениях умеренно дифференцированного плоскоклеточного рака и выявляется как в высокодифференцированных структурах («роговые жемчужины»), так и в мало- и умеренно дифференцированных участках. Вместе с тем складывается впечатление, что интенсивность реакции с мкАТ к кератину 17 типа тем выше, чем выше его содержание в клетке, а наивысшая интенсивность окрашивания клеток наблюдалась в зоне «ороговения», что, вероятно, можно учитывать при оценке уровня кератинизации опухоли. При изучении серийных срезов нередко можно видеть, что клетки, образующие одни и те же опухолевые структуры (на разных срезах), содержат оба типа кератина, железистый и плоскоэпителиальный, что позволяет предполагать о возможной коэкспрессии 8 и 17 кератинов в плоскоклеточных раках легкого.

Аденокарциномы представлены неоднородной по гистологическому строению группой опухолей. К высокодифференцированным аденокарциномам отнесены опухоли ацинарного или папиллярного строения без признаков солидизации, а к малодифференцированным — новообразования солидного строения. Во всех наблюдениях аденокарциномы легкого вне зависимости от уровня тканевой дифференцировки обнаружена экспрессия опухолевыми клетками кератина 8 типа (рис. 2, в), а в трех — в части клеток и кератина 17 типа. Клетки, взаимодействующие с мкАТ к 17 кератину, принимают участие в формировании папиллярных структур (рис. 2, г) высокодифференцированной аденокарциномы, ацинарных и солидных — умеренно дифференцированной (рис. 2, б), солидных и веретено-

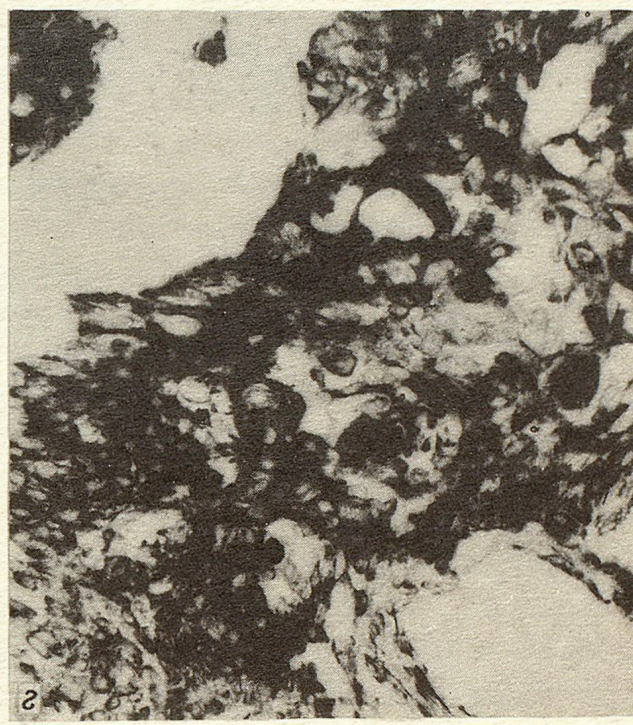
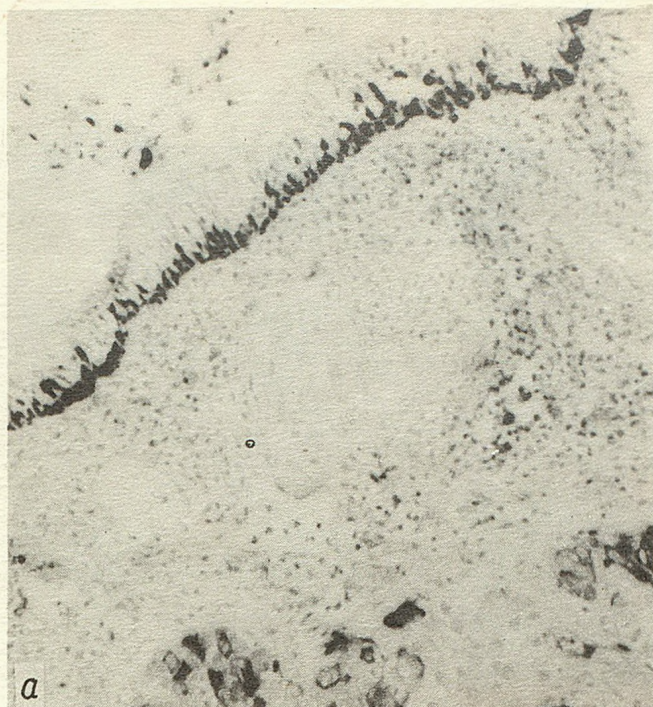


Рис. 1. Экспрессия кератина 17 типа в базальных клетках бронхиального эпителия (а) и в альвеолярном эпителии (б); в просвете альвеолы — комплекс опухолевых клеток. Ув. $\times 200$.

Экспрессия кератина 8 (в, Ув. $\times 200$) и 17 (г, Ув. $\times 250$) в высокодифференцированных структурах плоскоклеточного рака. Проявляющие антитела конъюгированы с пероксидазой хрена.

клеточных — малодифференцированной опухоли. Следует отметить, что клетки, содержащие 8 и 17 тип кератина, входят в состав одних и тех же опухолевых структур (изучены серийные срезы), что, как и в плоскоклеточных раках, может свидетельствовать в пользу предположения о возможности их коэкспрессии. При докра-

шивании срезов с иммуноморфологической реакцией с мкАТ к 17 кератину альциановым синим выявлена продукция сульфатированных гликозаминогликанов клетками, экспрессирующими 17 кератин.

В мелкоклеточном раке легкого во всех наблюдениях опухолевые клетки экспрессируют кера-

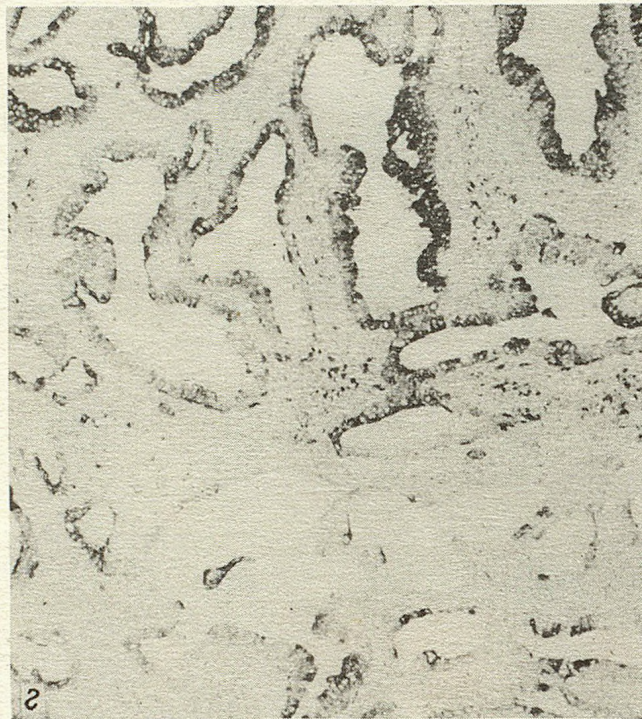
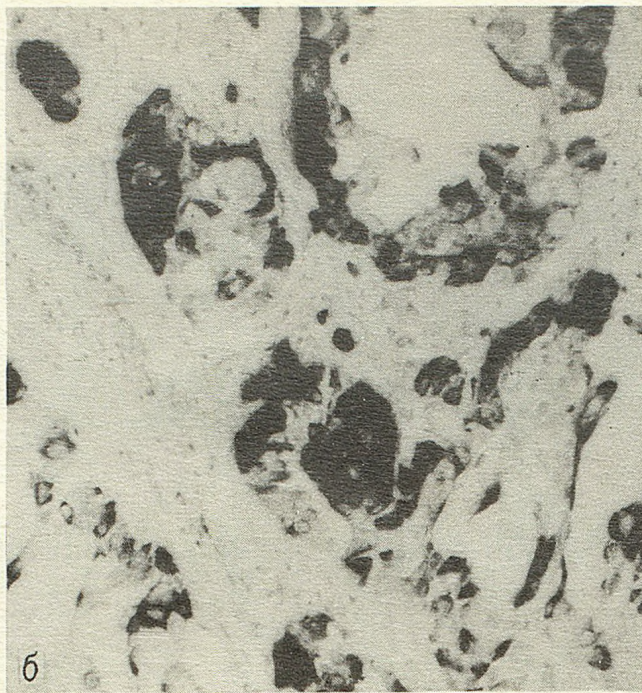


Рис. 2. Экспрессия кератина 8 типа (а, Ув. $\times 200$) в умеренно дифференцированных структурах плоскоклеточного рака.

Экспрессия кератина 17 типа в акцинарных и солидных структурах умеренно дифференцированной аденокарциномы (б, Ув. $\times 200$). Экспрессия кератина 8 (а, Ув. $\times 100$) и 17 (г, Ув. $\times 160$) типов в клетках высокодифференцированной аденокарциномы. Проявляющие антитела конъюгированы с FITC (а), пероксидазой хрена (б, в, г).

тин 8 типа, а в двух наблюдениях — небольшая часть клеток и кератин 17 типа. По нашим данным, карциноидные опухоли имеют мономорфный клеточный состав с экспрессией только кератина 8 типа, что согласуется с результатами других исследователей.

Итак, распределение кератина 8 типа на нашем материале свидетельствует о том, что в процессе морфогенеза плоскоклеточного рака легкого принимают участие клеточные элементы с железистой направленностью структурно-функциональной дифференцировки, формирующие опу-

холевые структуры с различным уровнем тканевой анаплазии (дифференцировки). Причем одни и те же комплексы имеют в своем составе и клетки с плоскоэпителиальной и клетки с железистой направленностью дифференцировки.

Среди аденокарцином преобладают опухоли с экспрессией кератина 8 типа. Вместе с тем в трех наблюдениях выявлены клеточные элементы, содержащие 17 кератин, вне зависимости от уровня тканевой дифференцировки структур, которые они формируют.

На основе экспрессии кератинов железистого и плоскоэпителиального типа предложен дифференциально-диагностический тест между недифференцированными аденокарциномами и мезотелиомами легких: в отличие от аденокарцином, мезотелиомы содержат кератин 5 типа (встречается в клетках ороговевающих плоскоклеточных раков). К сожалению, экспрессия кератина 17 типа не может быть использована в этих целях, так как он экспрессируется и клеточными элементами аденокарцином (гистологический диагноз в этих случаях не вызывал сомнений).

Иммуноморфологическое изучение опухолей легких чрезвычайно полезно при определении природы клеточных элементов в так называемых веретенчатых участках и участках опухолей с десмопластической реакцией стромы, так как обнаружение кератинов свидетельствует об эпителиальной природе клеток. Проведенное иммуноморфологическое исследование свидетельствует о том, что кератины 8 и 17 типов являются постоянными структурными белками цитоскелета клеточных элементов паренхимы различных гистологических типов рака легкого и могут осуществлять роль маркеров железистой и плоскоэпителиальной направленности дифференцировки клеток применительно к новообразованиям данной локализации. Следует подчеркнуть, что результаты иммуноморфологических работ по частоте выявления различных маркеров во многом зависят от свойств конкретных образцов моноклональных антител, в связи с чем изложенное выше относится только к информации, полученной с помощью мкАТ производства ВОИЦ АМН СССР.

Выводы

1. Плоскоклеточные раки легкого имеют гетерогенный клеточный состав. В морфогенезе

плоскоклеточных раков легкого, вне зависимости от уровня тканевой дифференцировки (степени анаплазии), принимают участие клетки с железистой и плоскоэпителиальной направленностью структурно-функциональной дифференцировки.

2. В части аденокарцином и мелкоклеточных раков легкого, наряду с клеточными элементами, содержащими железистый тип кератина, встречаются клетки с экспрессией кератина плоскоэпителиального типа.

3. Кератины 8 и 17 типа могут осуществлять роль маркерных белков железистой и плоскоэпителиальной направленности дифференцировки при различных гистологических формах рака легкого.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gooper D., Schermer A., Sun T—T. // *Lab. Invest.*—1985.— Vol. 52.— P. 243—256.
2. Moll R., Franke W. W., Schiller D. L. et al. // *Cell.*—1982.— Vol. 31.— P. 11—24.
3. Moll R., Franke W. W. // *Biochemistry and Molecular Genetics of Cancer Metastasis.*— Hague: Nijhof, 1986.— P. 101—114.

Поступила 30.08.91

PATTERNS OF EXPRESSION OF TYPE 8 AND 17 KERATINS IN DIFFERENT HISTOLOGICAL ENTITIES OF LUNG CANCER

G. A. Frank, L. V. Litvinova and N. V. Vyaltseva

Summary

Expression of type 8 and 17 keratins was assessed immunomorphologically using commercial kits produced in the Cardiology Centre. The study was done using cryostated slices of the tumors obtained from patients operated on in the Gertzen's Oncological Institute. Heterogeneity of the cell contents of squamous cell lung cancer was found. In the morphogenesis of the squamous cell lung carcinoma, despite its differentiation stage, cells with mucinoid and epidermoid differentiation patterns take part. In some adenocarcinomas and small-cell lung carcinomas, besides cell elements, containing mucinoid (8) type of keratin, cells expressing epidermoid (17) type of keratin were also present. The study prompted to conclude that 8 and 17 types of keratins can be used as marker proteins demonstrating mucinoid or epithelial trends of differentiation of the cell elements in different histological entities of lung cancer.