

# Анализ взаимосвязи трансферринового рецептора 1 (TfR1) с клинико-морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками рака молочной железы

С.В. Чулкова<sup>1,2</sup>, Е.Н. Шолохова<sup>1</sup>, И.В. Поддубная<sup>3</sup>, И.С. Стилиди<sup>1,2</sup>, Н.Н. Тупицын<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия

## Аннотация

**Обоснование.** Экспрессия рецептора трансферрина 1 (TfR1) обнаружена при ряде злокачественных опухолей. Отмечается, что его гиперэкспрессия придает ростовые преимущества клеткам рака. Оценка экспрессии трансферринового рецептора при раке молочной железы (РМЖ) может стать важным компонентом в прогнозировании заболевания, выборе тактики лечения. TfR1 может оказаться привлекательной мишенью для таргетной терапии.

**Цель.** Оценить уровень экспрессии TfR1 клетками РМЖ и изучить его взаимосвязь с клинико-морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками опухоли.

**Материалы и методы.** В работу включены 82 больных РМЖ, которые получали лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Изучена экспрессия TfR1 на клетках первичной опухоли, проанализирована взаимосвязь TfR1 с клинико-морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками РМЖ. Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено иммуногистохимическим методом (иммунофлуоресцентное окрашивание) на криостатных срезах. Использованы антитела к CD71, CD95, CD54, CD29, MUC1, Pgp170. Оценку реакции проводили с помощью люминесцентного микроскопа ZEISS (AXIOSKOP, Германия). В исследовании преобладали больные с IIB (54%) и IIIB-стадиями РМЖ (21%). Инfiltrативно-протоковый РМЖ диагностирован у 67% (n=55) больных, инfiltrативно-дольковый – в 22% (n=18) случаев, другие виды – в 11,0% (n=9).

**Результаты.** Клетки РМЖ экспрессировали TfR1 в большинстве случаев (64,4%, n=61), при этом отмечено сочетание его мономорфной экспрессии с мономорфной экспрессией мембранного белка MUC1 (74,4%; n=47). CD29 был представлен как мозаично (38,7%), так и мономорфно (51,6%). Антиген Pgp170 мономорфно наблюдался в 27,5% случаев. По мере нарастания пропорции клеток, которые несут TfR1, увеличивалась частота экспрессии молекулы адгезии CD54 (с 10,5 до 33,3%), установлена положительная корреляция ( $r=0,293$ ;  $p=0,008$ ). В группе с мономорфной экспрессией TfR1 уменьшалась частота опухолей, экспрессирующих молекулу апоптоза CD95: 25,0% vs 13% ( $p=0,042$ ).

**Заключение.** Клетки РМЖ гиперэкспрессируют TfR1. Экспрессия TfR1 связана с иммунофенотипом опухоли.

**Ключевые слова:** трансферриновый рецептор 1, TfR1, CD71, иммунофенотип, рак молочной железы, иммунофлуоресценция, криостатные срезы

**Для цитирования:** Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Поддубная И.В., Стилиди И.С., Тупицын Н.Н. Анализ взаимосвязи трансферринового рецептора 1 (TfR1) с клинико-морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками рака молочной железы. Современная Онкология. 2022;24(3):355–360. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201821

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

## Информация об авторах / Information about the authors

<sup>✉</sup>Чулкова Светлана Васильевна – канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопозеза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», доц. каф. онкологии и лучевой терапии ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Шолохова Елена Николаевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопозеза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: enshell@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1456-1904

Поддубная Ирина Владимировна – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., проректор по лечебной работе и международному сотрудничеству, зав. каф. онкологии и паллиативной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN-код: 1146-9889

Стилиди Иван Сократович – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. онкологии и лучевой терапии ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова», дир. ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0002-0493-1166

Тупицын Николай Николаевич – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. иммунологии гемопозеза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0003-3966-128X

<sup>✉</sup>Svetlana V. Chulkova – Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Elena N. Sholokhova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: enshell@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1456-1904

Irina V. Poddubnaya – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN code: 1146-9889

Ivan S. Stilidi – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Pirogov Russian National Research Medical University, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0002-0493-1166

Nikolai N. Tupitsyn – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0003-3966-128X

# The analysis of the relationship between transferrin receptor 1 (TfR1) and clinical, morphological and immunophenotypic characteristics of breast cancer: retrospective cohort study

Svetlana V. Chulkova<sup>✉1,2</sup>, Elena N. Sholokhova<sup>1</sup>, Irina V. Poddubnaya<sup>3</sup>, Ivan S. Stilidi<sup>1,2</sup>, Nikolai N. Tupitsyn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

## Abstract

**Background.** Transferrin receptor 1 (TfR1) expression has been identified in a number of malignant tumors. It is noted that its overexpression gives growth advantages to cancer cells. Estimation of transferrin receptor expression in breast cancer (BC) might be an important component in disease prognosis, choice of treatment, also might be an attractive target for targeted therapy.

**Aim.** To evaluate the expression of TfR1 by BC cells and to study its relationship with the clinical, morphological and immunophenotypic characteristics of the tumor.

**Materials and methods.** This study included 82 patients with BC who received treatment at the Blokhin National Medical Research Center of Oncology (Moscow). The expression of TfR1 on primary tumor cells was studied, the relationship of TfR1 with clinical, morphological and immunophenotypic characteristics of BC was analyzed. Immunophenotyping of the primary tumor was performed by the immunohistochemical method (immunofluorescent staining) on cryostat sections. Antibodies to CD71, CD95, CD54, CD29, MUC1, Pgp170 were used. The reaction was evaluated using a luminescent microscope (AXIOSKOP, Germany). The study was dominated by patients with stage IIB – 54% and IIIB – 21%. Infiltrative ductal BC was diagnosed in 67% (n=55) of patients, infiltrative-lobular – in 22% (n=18) of cases, other types – in 11.0% (n=9).

**Results.** BC cells expressed TfR1 in most cases (64.4%; n=61). A combination of TfR1 monomorphic expression with MUC1 monomorphic expression (74.4%; n=47) was noted. CD29 is presented both mosaic (38.7%) and monomorphic (51.6%). The Pgp170 antigen was monomorphically observed in 27.5% of cases. As the proportion of TfR+ cells increased, the expression frequency of the adhesion molecule CD54 increased from 10.5 to 33.3%, a positive correlation was established ( $r=0.293$ ;  $p=0.008$ ). In the group with TfR1 monomorphic expression, the frequency of tumors expressing the CD95 apoptosis molecule decreased: 25.0% vs 13% ( $p=0.042$ ).

**Conclusion.** BC cells overexpress TfR1. TfR1 expression is associated with tumor immunophenotype.

**Keywords:** transferrin receptor 1, TfR1, CD71, immunophenotype, breast cancer, immunofluorescence, cryostat sections

**For citation:** Chulkova SV, Sholokhova EN, Poddubnaya IV, Stilidi IS, Tupitsyn NN. The analysis of the relationship between transferrin receptor 1 (TfR1) and clinical, morphological and immunophenotypic characteristics of breast cancer: retrospective cohort study. *Journal of Modern Oncology*. 2022;24(3):355–360. DOI: 10.26442/18151434.2022.3.201821

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) остается одним из самых распространенных заболеваний в мире. По данным GLOBOCAN (Global Cancer Observatory – организация, осуществляющая мониторинг РМЖ), в 2020 г. РМЖ занял 1-е место в структуре онкологической заболеваемости, опередив рак легкого [1]. В структуре смертности от злокачественных новообразований у женщин эта патология в настоящее время составляет 15,5% [2].

В последнее десятилетие в клиническую практику внедряют новые виды лекарственных средств, что существенно влияет на результаты лечения РМЖ. Такая возможность основывается на знании особенностей молекулярно-биологического портрета опухоли, что, вне всяких сомнений, требует углубленного изучения ее свойств и выявления закономерностей ее развития и прогрессирования. Именно поэтому немало исследований посвящено поиску предиктивных и прогностических маркеров, которые могут предоставить дополнительную информацию и помочь в выборе конкретного вида терапии [3–8].

Хорошо известно, что экспрессия опухоли различных антигенных детерминант во многом предопределяет ее свойства и особенности развития. Рецептор трансферрина 1 (TfR1), также известный как кластер дифференцировки 71 (CD71), представляет собой трансмембранный гликопротеин 2-го типа и обеспечивает транспорт железа через клеточную мембрану путем эндоцитоза [9, 10]. Железо необходимо для многих клеточных процессов, в том числе для синтеза ДНК и, соответственно, для клеточной пролиферации. Ввиду высокой пролиферативной активности клеток злокачественной опухоли отмечается повышенная экспрессия ими TfR1 [10–14].

Установлено, что внутриклеточное железо защищает клетки рака от воздействия естественных киллеров, а тяжелая цепь железодепонирующего белка ферритина ингибирует апоптоз [15, 16]. Также показано, что TfR1 опосредует передачу сигналов NF-κB в злокачественных клетках посредством взаимодействия с ингибитором комплекса киназы NF-κB, тем самым увеличивая выживаемость раковых клеток [17, 18].

Гиперэкспрессия трансферриновых рецепторов обнаружена при многих видах солидных опухолей, таких как рак почки, рак пищевода, холангиокарцинома, РМЖ, глиобластома [14, 18–23]. Вместе с тем некоторые исследования демонстрируют, что опухолевые клетки, слабо экспрессирующие рецепторы трансферрина или не имеющие их вовсе, также могут обладать преимуществом в развитии. Это показали M. Ohkuma и соавт. в своем исследовании на примере клеточной линии рака желудка: CD71-негативные клетки характеризовались повышенной способностью к миграции и инвазии [24]. Тем не менее существуют и другие наблюдения, в которых указывается, что экспрессия рецепторов трансферрина способствует развитию опухоли и отражает ее агрессивность. Так, экспрессирующие TfR1 клетки обнаружены среди радиорезистентной популяции при некоторых видах злокачественных опухолей (глиома, рак шейки матки) [25, 26]. При оценке отдаленных результатов лечения РМЖ выявлена ассоциация экспрессии трансферриновых рецепторов с ухудшением показателей выживаемости [27].

**Цель исследования** – проанализировать взаимосвязи TfR1 с клинико-морфологическими и иммунофенотипическими характеристиками РМЖ.

**Материалы и методы**  
**Дизайн исследования**

Проведено ретроспективное когортное исследование.

**Критерии соответствия**

*Критерии включения:*

- первично-операбельный РМЖ;
- отсутствие лекарственного лечения в анамнезе;
- стадии I–IIIС.

**Участники (объекты) исследования**

Материалом для исследования послужили образцы первичной опухоли больных РМЖ. Всего в работу включены 82 пациентки с диагнозом РМЖ, которые прошли обследование и получали лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (Москва) в период 2002–2005 гг. Возраст больных варьировал от 27 до 77 лет (средний возраст 53,7±10,3 года). У 46% (n=38) пациенток репродуктивная функция была сохранна, 48% (n=39) женщин находились в состоянии менопаузы, 4% (n=3) – перименопаузы, 2% (n=2) – постменопаузы. Диагноз РМЖ установлен на основании клинических, рентгенологических и морфологических данных. Всем пациенткам выполнено хирургическое пособие: в объеме мастэктомии – 79,3% (n=65), резекции молочной железы – 20,7% (n=17). Лекарственное лечение в неoadъювантном режиме проведено у 37,8% (n=31) пациенток, в адъювантном режиме – 62,2% (n=51) больных. Лучевая терапия назначена в 45,1% (n=37), гормонотерапия – в 50,0% (n=41) случаев.

**Методы оценки целевых показателей**

Распространенность опухолевого процесса оценивали согласно клинической классификации и международной системе TNM (7-е издание). По стадиям больные распределились следующим образом:

- ПА-стадия – 5% (n=4);
- ПВ – 54% (n=44);
- ППА – 12% (n=10);
- ППВ – 21% (n=17);
- ППС – 8% (n=7).

Распределение больных в зависимости от *клинико-морфологических характеристик* РМЖ приведено в табл. 1. Как видно из представленных данных, у большинства больных опухоли соответствовали категории Т2 (72%, n=59), реже – Т4 (22%, n=18). В 2 (2,4%) случаях установлена Т1-стадия и еще у 3 (3,6%) пациенток диагностирована стадия Т3. Метастатическое поражение лимфатических узлов (N+) наблюдали в 95% (n=78) случаев. Число пораженных лимфатических узлов варьировало от N1 до N3. Чаще отмечалась категория N1 – 65,9% (n=54) случаев, реже – N2 (20,7%, n=17), а категория N3 зарегистрирована лишь в 8,5% (n=7) случаев. Преимущественно опухоли соответствовали G2-дифференцировке (76,5%, n=52). В большинстве случаев (67%, n=55) диагностирован инфильтративно-протоковый РМЖ. Инфильтративно-дольковый рак отмечен в 22% (n=18) случаев, другие виды (медуллярный, тубулярный, слизистый, сочетание долькового и протокового компонентов) – в 11,0% (n=9).

Опухоли в 34% (n=28) случаев являлись положительными по рецепторам эстрогенов (РЭ). Практически в аналогичном числе случаев наблюдалась экспрессия рецепторов прогестерона (РП; 35%, n=29).

*Иммунофенотипирование опухолей* выполнено в лаборатории иммунологии гемопоза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» методом иммунофлуоресценции. Приготовленные криостатные срезы помещали на предметные стекла и фиксировали в течение 10 мин ацетоном при температуре 4°C. Отмывали в среде 199 (рН 7,2–7,4), затем 30 мин инкубировали с моноклональными антителами. После отмывания наносили ФИТЦ-меченные F(ab)2-фрагменты антисыворотки. По окончании инкубации препараты отмывали и консервировали 50% раствором глицерина.

**Таблица 1. Распределение больных в зависимости от клинико-морфологических характеристик РМЖ**  
**Table 1. Patient distribution depending on the clinical and morphological characteristics of breast cancer**

Признак	Абс. (%)
<b>Размер первичной опухоли (Т)</b>	
T1	2 (2,4)
T2	59 (72)
T3	3 (3,6)
T4	18 (22)
<b>Статус лимфатических узлов (N)</b>	
N0	4 (4,9)
N1	54 (65,9)
N2	17 (20,7)
N3	7 (8,5)
<b>Степень дифференцировки (G)</b>	
G1	2 (2,9)
G2	52 (76,5)
G3	14 (20,6)
<b>Гистологический тип опухоли</b>	
Инфильтративно-протоковый	55 (67)
Инфильтративно-дольковый	18 (22)
Другие	9 (11)
<b>Экспрессия рецепторов стероидных гормонов</b>	
РЭ+	28 (34,1)
РЭ-	54 (65,9)
РП+	29 (35,4)
РП-	53 (64,6)

**Таблица 2. Результаты анализа взаимосвязей экспрессии трансферринового рецептора с размером опухоли**  
**Table 2. The results of the relationship analysis between transferrin receptor expression and tumor size**

Индекс Т	Экспрессия CD71, вид реакции, абс. (%)			Итого, абс. (%)
	Отрицательная	Мозаичная	Мономорфная	
T2	17 (29,3)	9 (15,5)	32 (55,2)	58 (100)
T4	3 (16,7)	2 (11,1)	13 (72,2)	18 (100)
Итого	20 (26,3)	11 (14,5)	45 (59,2)	76 (100)

p=0,26

Экспрессию антигенов опухолевыми клетками оценивали на люминесцентном микроскопе ZEISS (AXIOSKOP, Германия). Выполнена оценка экспрессии таких молекул, как панцитокератин, трансферриновый рецептор (CD71), молекула апоптоза (CD95), молекулы адгезии (CD54), молекулы интегринов (CD29), муциноподобного антигена (MUC1). Учет реакции проводили полуколичественным методом. Выделяли 3 типа реакций:

- мономорфная экспрессия – ≥80% опухолевых клеток несут антиген;
- мозаичная экспрессия – 10–80% антигенположительных опухолевых клеток;
- отрицательная реакция – отсутствие экспрессии изучаемого антигена или <10% антигенположительных клеток.

**Соответствие принципам этики**

Протокол исследования был одобрен этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (от 09.09.2002). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Таблица 3. Взаимосвязь экспрессии трансферринового рецептора с экспрессией молекулы адгезии CD54, молекулы апоптоза CD95  
Table 3. Relationship between transferrin receptor expression and expression of adhesion molecule CD54, apoptosis molecule CD95

	Вид реакции, абс. (%)			p
	Отрицательная	Мозаичная	Мономорфная	
<b>Экспрессия CD54</b>				
CD71-	15 (78,9)	2 (10,5)	2 (10,5)	0,027
CD71+	27 (45,0)	13 (21,7)	20 (33,3)	
<b>Экспрессия CD95</b>				
CD71-	15 (75,0)	0 (0,0)	5 (25,0)	0,042
CD71+	44 (72,1)	9 (14,8)	8 (13,1)	

Таблица 4. Результаты оценки связи экспрессии трансферринового рецептора с экспрессией MUC1, Pgp170, CD29  
Table 4. The results of evaluation of the relationship between transferrin receptor expression and MUC1, Pgp170, CD29 expression

Экспрессия CD71	Тип реакции, абс. (%)			p
	Отрицательная	Мозаичная	Мономорфная	
<b>MUC1</b>				
Отрицательная	1 (5,0)	6 (30,0)	13 (65,0)	0,534
Мономорфная	3 (4,9)	11 (18,0)	47 (77,0)	
<b>Pgp170</b>				
Отрицательная	12 (75,0)	1 (6,3)	3 (18,8)	0,349
Мозаичная	5 (62,5)	2 (25,0)	1 (12,5)	
Мономорфная	15 (55,6)	2 (7,4)	10 (37,0)	
<b>CD29</b>				
Отрицательная	0 (0,0)	1 (25,0)	3 (75,0)	0,213
Мозаичная	0 (0,0)	4 (80,0)	1 (20,0)	
Мономорфная	3 (14,3)	7 (33,3)	11 (52,4)	

### Статистический анализ

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM-SPSS Statistics v.21 (США). Осуществляли анализ корреляций по Пирсону, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и  $\chi^2$  по Пирсону). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты

Экспрессия трансферриновых рецепторов наблюдалась в подавляющем числе анализируемых образцов опухолей, что составило 64,4% ( $n=61$ ) всей выборки. При этом в 58,5% ( $n=48$ ) случаев опухоли характеризовались мономорфной экспрессией. Мозаичная экспрессия трансферринового рецептора установлена в 15,9% ( $n=13$ ) образцов.

Изучение степени выраженности экспрессии TfR1 в зависимости от возраста, стадии, размера первичной опухоли, статуса лимфатических узлов не продемонстрировало значимых различий. При этом следует отметить, что при размере первичной опухоли, соответствующем Т4, мономорфная экспрессия TfR1 наблюдалась в 72,2% (13/18) образцов, тогда как при Т2 – лишь в 55,2% (32/58). Данные представлены в табл. 2.

Аналогично отмечалось нарастание пропорции клеток мономорфно-экспрессирующих TfR1 при увеличении стадии опухолевого процесса. При стадии III доля TfR1-негативных клеток уменьшалась (рис. 1), однако признаки достоверно не связаны.

Изучение взаимосвязи экспрессии TfR1 с гистологическим видом опухоли не показало различий. И при дольковом, и при протоковом раке опухолевые клетки почти одинаково часто экспрессировали данный антиген. Наблюдалась в большей степени мономорфная реакция (рис. 2).

Рис. 1. Экспрессия трансферринового рецептора в зависимости от стадии РМЖ.  
Fig. 1. Transferrin receptor expression depending on the stage of breast cancer.

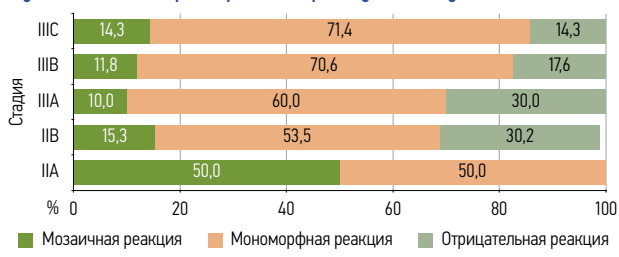


Рис. 2. Экспрессия трансферринового рецептора в зависимости от гистологического типа РМЖ.  
Fig. 2. Transferrin receptor expression depending on the histological type of breast cancer.

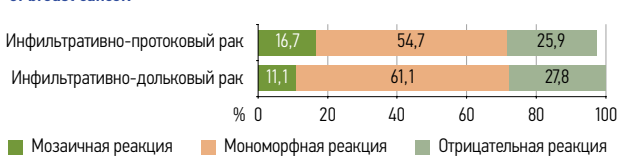
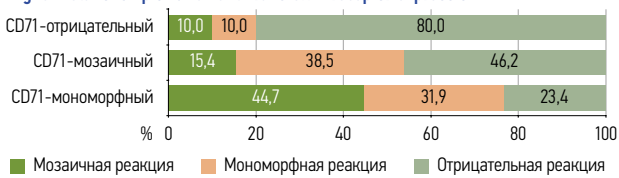


Рис. 3. Связь экспрессии CD54 и трансферринового рецептора.  
Fig. 3. Relationship of CD54 and transferrin receptor expression.



Не отмечено связи степени дифференцировки клеток РМЖ с выраженностью экспрессии TfR1. Статус рецепторов стероидных гормонов (РЭ и РП) также статистически значимо не связан с анализируемым признаком.

Изучение взаимосвязи экспрессии рецепторов трансферрина с другими иммунофенотипическими признаками позволило обнаружить несколько интересных закономерностей. Приведенные в табл. 3 данные свидетельствуют о том, что 2 маркера опухолевых клеток (CD95 и CD54) статистически значимо связаны с экспрессией TfR1. Следует отметить, что в целом по группе наблюдался низкий уровень экспрессии молекул CD95 и CD54, мономорфная реакция установлена в 26,8 и 15,9% случаев соответственно.

Итак, по мере нарастания пропорции TfR1-антигенпозитивных клеток (отсутствие экспрессии, рецептор присутствует на части клеток, мономорфная экспрессия на всех клетках) увеличивалась частота экспрессии молекулы адгезии CD54 (рис. 3). Это особенно хорошо видно при укрупненном анализе: с 10,5 до 33,3% (см. табл. 3). Установлена положительная корреляция средней силы по Пирсону ( $r=0,293$ ;  $p=0,008$ ).

Также интересны и достоверны данные, основанные на экспрессии рецептора апоптоза CD95. В группе опухолей с мономорфной экспрессией рецептора трансферрина уменьшалась частота CD95-антигенпозитивных наблюдений (с 25,0 до 13%;  $p=0,042$ ). Эти результаты свидетельствуют, что пул клеток, экспрессирующий трансферриновые рецепторы, характеризуется довольно выраженной экспрессией молекул адгезии и одновременно низким уровнем экспрессии молекул апоптоза. Наши результаты согласуются с данными литературы [27].

Статистически значимой взаимосвязи с другими иммунофенотипическими признаками нами не зафиксировано (табл. 4). Наблюдалось, что мембранный белок MUC1, который мономорфно экспрессировался на большинстве опухолевых клеток всей группы (74,4%), что вполне согласуется с данными литературы, несколько чаще представлен на CD71-антигенпозитивных клетках (см. табл. 4). Этот муци-



новый белок участвует в процессах, которые приводят к увеличению инвазивного потенциала клеток [28]. Кроме того, он действует в качестве регулятора экспрессии, стабильности и активности HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1-alpha – фактор, индуцированный гипоксией), который, как известно, регулирует продукцию гликолитических ферментов, необходимых для пролиферирующих клеток [29]. Учитывая это, вполне закономерно выражена экспрессия данного белка на клетках РМЖ и особенно в популяции клеток, гиперэкспрессирующих трансферриновый рецептор, как наиболее пролиферативно активного пула. Дополнительно хотелось бы отметить, что CD71-позитивная популяция клеток рака, по данным исследований, демонстрирует устойчивость к лучевому воздействию [30, 31]. Таким образом, хотя связь признаков и недостоверна, избыточная экспрессия этого антигена в сочетании с MUC1, вероятно, объясняет частое развитие метастазов при РМЖ.

В отношении антигена Pgp170, который в анализируемых образцах представлен лишь в 27,5% случаев мономорфно, установлены схожие с экспрессией MUC1 результаты анализа (см. табл. 4). При CD71 мономорфно экспрессирующих опухолях частота его экспрессии увеличивалась с 18,8 до 37,0%.

Что касается молекулы интегринов CD29, то частота ее мономорфной экспрессии снижалась с нарастанием интенсивности экспрессии трансферринового рецептора. В целом по группе она представлена мозаичной (38,7%) и мономорфной (51,6%) реакциями. Утрата молекул интегринов при мономорфной экспрессии трансферринового рецептора, возможно, характеризует пул менее дифференцированных клеток РМЖ. В одном из исследований установлено, что при нарастании уровней экспрессии молекулы интегринов CD29 на опухолевых клетках снижалась их чувствительность к химиотерапии [28]. А.А. Субботина и соавт. сообщают, что случаев с выраженным эффектом неoadъювантной терапии при мономорфной экспрессии CD29 ими практически не наблюдалось. По их мнению, полученные данные отражают высокую дифференцировку клеток опухоли [28].

## Заключение

По результатам анализа уровня экспрессии Tfr1 при РМЖ установлены его взаимосвязи с иммунофенотипическими особенностями опухоли. Это касается таких антигенов, как CD54 и CD95. По мере нарастания пропорции клеток, которые несут Tfr1, увеличивается частота экспрессии

молекулы адгезии CD54. При этом в группе с мономорфной экспрессией рецепторов трансферрина уменьшается частота молекулы апоптоза CD95 опухолевых клеток. Таким образом, складывается следующая картина: клетки РМЖ исследуемой группы экспрессируют Tfr1 и характеризуются довольно выраженной экспрессией молекул адгезии, а также MUC1, что одновременно сопровождается низким уровнем экспрессии молекул апоптоза.

**Раскрытие интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Disclosure of interest.** The authors declare that they have no competing interests.

**Вклад авторов.** Е.Н. Шолохова – получение и анализ данных; С.В. Чулкова – написание текста рукописи, анализ данных, перевод, оформление рукописи; Н.Н. Тупицын – дизайн исследования, анализ данных, анализ рукописи; И.В. Поддубная, И.С. Стилиди – анализ рукописи.

**Authors' contribution.** E.N. Sholokhova – data acquisition and analysis; S.V. Chulkova – manuscript writing, data analysis, translation, manuscript style; N.N. Tupitsyn – study design, data analysis, manuscript review; I.V. Poddubnaya, I.S. Stylydi – manuscript review.

**Источник финансирования.** Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

**Funding source.** The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

**Соответствие принципам этики.** Протокол исследования был одобрен этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (от 09.09.2002). Одобрение и процедура проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

**Ethics approval.** The study was approved by the Ethics Committee at the Blokhin National Medical Research Center of Oncology (dated 09.09.2002). The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

**Информированное согласие на публикацию.** Все пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

**Consent for publication.** Written consent was obtained from the all patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Global Cancer Statistics 2020. Available at: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>. Accessed: 24.08.2022.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–49. DOI:10.3322/caac.21660
- Ibrahim EM, Al-Foheidi ME, Al-Mansour MM, Kazkaz GA. The prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;148(3):467–76. DOI:10.1007/s10549-014-3185-2
- Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А., и др. Роль микро-РНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии*. 2018;18(2):5 [Ryabchikov DA, Abdullaeva EI, Dudina IA, et al. The role of micro-RNA in cancerogenesis and breast cancer prognosis. *Vestnik Rossiiskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii*. 2018;18(2):5 (in Russian)].
- Sinn BV, Weber, KE, Schmitt WD, et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res*. 2019;21(1):142. DOI:10.1186/s13058-019-1231-z
- Рябчиков Д.А., Безнос О.А., Дудина И.А., и др. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы. *Российский биотерапевтический журнал*. 2018;17(1):53–7 [Ryabchikov DA, Beznos OA, Dudina IA, et al. Disseminated tumor cells of luminal breast cancer patients. *Russian Journal of Biotherapy*. 2018;17(1):53–7 (in Russian)]. DOI:10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57
- Титов К.С., Казаков А.М., Барышникова М.А., и др. Некоторые молекулярные и иммунологические факторы прогноза трижды негативного рака молочной железы. *Онкогинекология*. 2019;4(32):26–34 [Titov KS, Kazakov AM, Baryshnikova MA, et al. Some molecular and immunologic prognostic factors of triple negative breast cancer. *Oncogynecology*. 2019;4(32):26–34 (in Russian)]. DOI:10.52313/22278710\_2019\_4\_26
- Талипов О.А., Рябчиков Д.А., Чулкова С.В., и др. Метилирование генов супрессорных микроРНК при раке молочной железы. *Онкогинекология*. 2020;2(34):14–22 [Talipov OA, Ryabchikov DA, Tchulkova SV. Methylation of suppressor microRNA genes in breast cancer. *Oncogynecology*. 2020;2(34):14–22 (in Russian)]. DOI:10.52313/22278710\_2020\_2\_14
- Cheng Y, Zak O, Aisen P, et al. Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex. *Cell*. 2004;116(4):565–76. DOI:10.1016/S0092-8674(04)00130-8
- Eckenroth BE, Steere AN, Chasteen ND, et al. How the binding of human transferrin primes the transferrin receptor potentiating iron release at endosomal pH. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108(32):13089–94. DOI:10.1073/pnas.1105786108
- Daniels TR, Delgado T, Rodriguez JA, et al. The transferrin receptor part I: biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer. *Clin Immunol*. 2006;121(2):144–58. DOI:10.1016/j.clim.2006.06.010

12. Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM, et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015;347(6220):1260419. DOI:10.1126/science.1260419
13. Shen Y, Li X, Dong D, et al. Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy. *Am J Cancer Res*. 2018;8(6):916–31.
14. Basuli D, Tesfay L, Deng Z, et al. Iron addiction: a novel therapeutic target in ovarian cancer. *Oncogene*. 2017;36(29):4089–99. DOI:10.1038/ncr.2017.11
15. Habashy HO, Powe DG, Staka CM, et al. Transferrin receptor (CD71) is a marker of poor prognosis in breast cancer and can predict response to tamoxifen. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;119(2):283. DOI:10.1007/s10549-009-0345-x
16. Jiang XP, Elliott RL. Decreased iron in cancer cells and their microenvironment improves cytolysis of breast cancer cells by natural killer cells. *Anticancer Res*. 2017;37(5):2297–305. DOI:10.21873/anticancer.11567
17. Pham CG, Bubic C, Zazzeroni F, et al. Ferritin heavy chain upregulation by NF- $\kappa$ B inhibits TNF $\alpha$ -induced apoptosis by suppressing reactive oxygen species. *Cell*. 2004;119(4):529–42. DOI:10.1016/j.cell.2004.10.017
18. Kenneth NS, Mudie S, Naron S, Rocha S. Tfr1 interacts with the IKK complex and is involved in IKK-NF- $\kappa$ B signalling. *Biochem J*. 2013;449(1):275–84. DOI:10.1042/BJ20120625
19. Greene CJ, Attwood K, Sharma NJ, et al. Transferrin receptor 1 upregulation in primary tumor and downregulation in benign kidney is associated with progression and mortality in renal cell carcinoma patients. *Oncotarget*. 2017;8(63):107052–75. DOI:10.18632/oncotarget.22323
20. Jammongkan W, Thanan R, Techasen A, et al. Upregulation of transferrin receptor-1 induces cholangiocarcinoma progression via induction of labile iron pool. *Tumour Biol*. 2017;39(7):1010428317717655. DOI:10.1177/1010428317717655
21. Chan KT, Choi MY, Lai KK, et al. Overexpression of transferrin receptor CD71 and its tumorigenic properties in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Rep*. 2014;31(3):1296–304. DOI:10.3892/or.2014.2981
22. Rosager AM, Sorensen MD, Dahlrot RH, et al. Transferrin receptor-1 and ferritin heavy and light chains in astrocytic brain tumors: Expression and prognostic value. *PLoS One*. 2017;12(8):e0182954. DOI:10.1371/journal.pone.0182954
23. Бершвили А.И., Тулицын Н.Н., Лактионов К.П. Иммунофенотипическая характеристика отечно-инфильтративной формы рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2009;(3-4):15–9 [Berishvili AI, Tupitsyn NN, Laktionov KP. Immunophenotypic characteristics of inflammatory breast cancer. *Tumors of female reproductive system*. 2009;(3-4):15–9 (in Russian)]. DOI:10.17650/1994-4098-2009-0-3-4-15-19
24. Ohkuma M, Haraguchi N, Ishii H, et al. Absence of CD71 transferrin receptor characterizes human gastric adenocarcinoma stem cells. *Ann Surg Oncol*. 2012;19(4):1357–64. DOI:10.1245/s10434-011-1739-7
25. Leung TH, Tang HW, Siu MK, et al. CD71+ Population Enriched by HPV-E6 Protein Promotes Cancer Aggressiveness and Radioresistance in Cervical Cancer Cells. *Mol Cancer Res*. 2019;17(9):1867–80. DOI:10.1158/1541-7786.MCR-19-0068
26. Kang MK, Hur BI, Ko MH, et al. Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma. *BMC Neurosci*. 2008;9:15. DOI:10.1186/1471-2202-9-15
27. Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования в диагностике и прогнозе рака молочной железы. *Иммунология гемопоза*. 2009;1(9):8–52 [Artamonova EV. The role of tumor cell immunophenotyping in the diagnosis and prognosis of breast cancer. *Haematopoiesis Immunology*. 2009;1(9):8–52 (in Russian)].
28. Субботина А.А., Летягин В.П., Тулицын Н.Н., и др. Анализ результатов неoadъювантного лечения больных с учетом иммунофенотипических особенностей рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2008;(4):31–4 [Subbotina AA, Letyagin VP, Tupitsyn NN, et al. Analysis of the results of neoadjuvant treatment in patients with consideration for the immunophenotypical features of breast cancer. *Tumors of female reproductive system*. 2008;(4):31–4 (in Russian)]. DOI:10.17650/1994-4098-2008-0-4-31-34
29. Chen JQ, Russo J. Dysregulation of glucose transport, glycolysis, TCA cycle and glutaminolysis by oncogenes and tumor suppressors in cancer cells. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1826(2):370–84. DOI:10.1016/j.bbcan.2012.06.004
30. Riganti C, Gazzano E, Polimeni M, et al. The pentose phosphate pathway: an antioxidant defense and a crossroad in tumor cell fate. *Free Radic Biol Med*. 2012;53(3):421–36. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2012.05.006
31. Kang MK, Hur BI, Ko MH, Kim CH, Cha SH, Kang SK. Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma. *BMC Neurosci*. 2008;9:15

Статья поступила в редакцию / The article received: 15.03.2022

Статья принята к печати / The article approved for publication: 04.10.2022