

## ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКА NANOG В КЛЕТКАХ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ РАЗЛИЧНЫХ ПРОГНОСТИЧЕСКИХ ГРУПП

Г. Ю. Кудрявцев<sup>1,3</sup>✉, Л. В. Кудрявцева<sup>1</sup>, Л. М. Михалева<sup>2</sup>, Я. Ю. Кудрявцева<sup>1</sup>, Н. А. Соловьева<sup>1</sup>, В. А. Осипов<sup>3</sup>, И. И. Бабиченко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

<sup>3</sup> Госпиталь для ветеранов войн № 2, Москва, Россия

Рак предстательной железы — наиболее часто выявляемое онкологическое заболевание среди мужчин, этому во многом способствуют распространение скрининговых исследований и высокая частота биопсий органа. Верификация опухолей с потенциально более неблагоприятным прогнозом течения является первостепенной задачей при лечении рака предстательной железы. Целью исследования было определить клинико-морфологические ассоциации и прогностическую значимость экспрессии белка Nanog при раке предстательной железы в различных прогностических группах. Работа выполнена на материале ткани предстательной железы, полученном после оперативного вмешательства, а также образцах ткани биопсии (всего 89 случаев). Было проведено гистологическое и иммуногистохимическое исследование с использованием антител к белкам Ki-67 и Nanog. Корреляционные связи между выраженностью экспрессии указанных маркеров и прогностической группой определяли с помощью коэффициента Спирмена, а связь с клинико-морфологическими проявлениями — с использованием критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ). Обнаружена статистически значимая прямая корреляционная связь между выраженностью экспрессии Ki-67 и Nanog и порядковым номером прогностической группы ( $r_s = 0,619, p < 0,001$  и  $r_s = 0,786, p < 0,001$  соответственно). Удалось обнаружить связь между высокой степенью экспрессии Nanog и экстрапростатическим распространением опухоли ( $p = 0,041$ ). Повышенная экспрессия белка Nanog в клетках рака предстательной железы связана с более злокачественными формами аденокарциномы и свидетельствует о неблагоприятном прогнозе.

**Ключевые слова:** рак предстательной железы, аденокарцинома простаты, Ki-67, Nanog, индекс Глисона, прогностические группы

**Вклад авторов:** Г. Ю. Кудрявцев, Я. Ю. Кудрявцева, Н. А. Соловьева — обзор литературы, написание текста; Л. В. Кудрявцева, В. А. Осипов — статистическая обработка данных; Л. М. Михалева — сбор и обработка материалов; И. И. Бабиченко — концепция и дизайн исследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование было одобрено Комитетом по этике Медицинского института РУДН (протокол № 13 от 19 декабря 2019 г.), дизайн исследования соответствовал правилам Хельсинкской декларации об использовании тканей человека. От всех пациентов было получено письменное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Георгий Юрьевич Кудрявцев  
ул. Байкальская, д. 35, кв. 216, г. Москва, 107207; kgosha@mail.ru

**Статья получена:** 06.10.2020 **Статья принята к печати:** 20.10.2020 **Опубликована онлайн:** 30.10.2020

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2020.067

## IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF NANOG PROTEIN IN PROSTATE CANCER CELLS OF DISTINCT GRADE GROUPS

Kudryavtsev GYu<sup>1,3</sup>✉, Kudryavtseva LV<sup>1</sup>, Mikhaleva LM<sup>2</sup>, Kudryavtseva YaYu<sup>1</sup>, Solovyeva NA<sup>1</sup>, Osipov VA<sup>3</sup>, Babichenko II<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Research Institute of Human Morphology, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Hospital for War Veterans № 2, Moscow, Russia

Prostate cancer is the most common type of cancer among men, which is mainly due to extensive use of screening tests and high total number of prostate biopsies. Verification of tumors with poorer prognosis is the primary goal of prostate cancer management. The study was aimed to determine the clinical and morphological associations and the prognostic value of the Nanog protein expression in prostate cancer of distinct Grade Groups. We used the prostate tissue specimens obtained during surgery, and the biopsy specimens, the total of 89 cases. Histological and immunohistochemical assessment was performed using antibodies to Ki-67 and Nanog. Correlations between the expression of markers and the Grade Groups were revealed using the Spearman's rank correlation coefficient, and the correlation with clinical and morphological characteristics was determined using the chi-squared test ( $\chi^2$ ). There was a positive correlation between the expression of Ki-67 and Nanog, and the Grade Group numerical order ( $r_s = 0.619, p < 0.001$  and  $r_s = 0.786, p < 0.001$  respectively). We managed to find the relationship between the high Nanog expression and the extraprostatic extension ( $p = 0.041$ ). High expression of Nanog protein in the prostate cancer cells was associated with a higher-grade adenocarcinoma and indicated a poor prognosis.

**Keywords:** prostate cancer, prostate adenocarcinoma, Ki-67, Nanog, Gleason index, Grade Groups

**Author contribution:** Kudryavtsev GYu, Kudryavtseva YaYu, Solovyeva NA — literature survey, manuscript writing; Kudryavtseva LV, Osipov VA — statistical data processing; Mikhaleva LM — sample collection and processing; Babichenko II — study concept and design.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia (protocol № 13 dated December 19, 2019); the study design was consistent with the Declaration of Helsinki guidelines regarding the research involving identifiable human tissue samples. The informed consent was submitted by all patients.

✉ **Correspondence should be addressed:** Georgy Yu. Kudryavtsev  
Baikalskaya, 35, apt. 216, Moscow, 107207; kgosha@mail.ru

**Received:** 06.10.2020 **Accepted:** 20.10.2020 **Published online:** 30.10.2020

**DOI:** 10.24075/brsmu.2020.067

По данным статистики, в 2018 г. в России было выявлено 42 518 новых случаев заболеваемости раком предстательной железы (РПЖ), среди мужского населения более значимую цифру продемонстрировали только

злокачественные новообразования трахеи, бронхов и легочной ткани [1].

РПЖ является одной из самых частых опухолей, встречающихся у мужчин во всем мире, его частота в

развитых странах превышает 200 случаев на 100 000 мужчин. Хотя клиническое течение опухоли варьирует от медленно растущих локальных форм до высоко агрессивных наблюдений с быстрым метастазированием, РПЖ является одной из основных причин заболеваемости и смертности среди мужчин [2, 3].

Один из наиболее высоких показателей заболеваемости РПЖ зарегистрирован в США. У одного из шести американских мужчин в течение жизни развивается рак предстательной железы, в то же время среди таких пациентов только один умирает непосредственно от РПЖ или его осложнений, в остальных случаях опухоль, как правило, клинически не проявляется [4]. Эти данные подтверждают результаты вскрытия, в которых рак простаты посмертно диагностирован у одной трети пациентов в возрасте 50–60 лет и в 60% наблюдений умерших в возрасте старше 80 лет [5].

До момента внедрения в широкую практику исследования концентрации простатспецифического антигена (ПСА) РПЖ часто диагностировали после того, как у пациентов проявлялись симптомы местнораспространенного или метастатического процесса, а общая пятилетняя выживаемость составляла 70% [6]. Распространение скрининга ПСА привело к резкому увеличению выявления рака простаты, включающему, главным образом, локализованный рак. Тем не менее данный метод не обладает высокой специфичностью и зачастую способствует увеличению числа инвазивных процедур при лечении клинически незначимых видов рака [7]. Этим обусловлена необходимость дальнейшего поиска биологических маркеров для уточнения модели прогрессирования различных форм РПЖ с целью выбора наиболее адекватной лечебной тактики.

Одним из перспективных направлений решения данной проблемы является углубленное изучение основных механизмов гистогенеза наиболее частой формы РПЖ — аденокарциномы.

На современном этапе стохастическая модель канцерогенеза, предполагающая, что каждая опухолевая клетка по отдельности обладает способностью к амплификации и способна давать начало новому опухолевому пулу, постепенно отходит на второй план [8]. На смену ей приходит иерархический подход к прогрессированию опухоли. Такой подход предполагает модель, в которой опухоль состоит из полиморфных по своей пролиферативной активности и потенциалу дифференцировки атипичных клеток. Указанная теория подразумевает наличие стволовых опухолевых клеток, которые, аналогично нормальным стволовым клеткам, обладают способностью к многократному делению, в том числе асимметричному, и, соответственно, обладают мультипотентным потенциалом дифференцировки в пределах опухолевой ткани. Считается, что именно стволовые опухолевые клетки потенцируют рост опухоли [9].

Ранние наблюдения (1960-е гг.), основанные на изучении гемобластозов, доказали гетерогенность клеток в массе опухоли, предполагая существование незрелой популяции клеток. Первое доказательство, подтверждающее гипотезу о существовании раковых стволовых клеток (РСК) и основанное на исследовании острого миелолейкоза, было получено в 1990-х гг. [10]. Более поздние исследования показали наличие РСК и в других типах опухолей, в частности при РПЖ.

Механизмы сохранения РСК мультипотентного потенциала к дифференцировке изучены недостаточно,

однако одна из главных ролей может принадлежать регуляторным белкам, отвечающим за аналогичные свойства эмбриональных стволовых клеток (ЭСК).

Белок Nanog представляет собой транскрипционный фактор, который участвует в самообновлении стволовых клеток. Впервые он был обнаружен в эмбриональных стволовых клетках мыши и описан как важный регулятор транскрипции, который отвечает за механизмы клеточной дифференцировки [11, 12].

Указанный белок, кодируемый геном *NANOG1*, состоит из 305 аминокислот и содержит три функциональных домена: N-концевой домен, C-концевой домен и консервативный гомеодоменный мотив, необходимый для связывания с промоторной областью целевых участков ДНК и регуляции транскрипции [13].

Вместе с другими транскрипционными факторами, наиболее консервативными из которых являются SOX2 и OCT4, Nanog играет главную роль в поддержании свойств ЭСК [14]. Эти три ключевых фактора обычно функционируют совместно через формирование транскрипционной сети, контролируя экспрессию набора связанных с плюрипотентностью ЭСК генов. Nanog высоко экспрессируется в плюрипотентных стволовых клетках, а также в клетках эмбриональных карцином, и снижение его экспрессии происходит при созревании клеток [11]. Сверхэкспрессия белка Nanog не только поддерживает плюрипотентность ЭСК в мышечных моделях в отсутствие такого сильного внешнего фактора, как лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), но также способствует росту ЭСК человека на искусственных средах в условиях отсутствия фидера — функциональной основы, представленной первичными эмбриональными фибробластами [15]. Таким образом, уровень белка Nanog определяет судьбу плюрипотентных клеток в физиологических условиях.

Идентификация в массиве опухолевой ткани клеток, проявляющих признаки и маркеры стволовости, могла бы помочь в прогнозировании клинически неблагоприятного течения РПЖ.

Целью исследования было определить прогностическую значимость экспрессии белка Nanog в клетках аденокарциномы предстательной железы.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В период с сентября 2017 г. по май 2019 г. на базе двух стационаров (Городская клиническая больница № 31 и Госпиталь для ветеранов войн № 2) был отобран материал, полученный от 89 пациентов урологического профиля в ходе хирургического лечения, а также в результате диагностических манипуляций, связанных с заболеваниями предстательной железы.

Средний возраст пациентов на момент взятия образцов ткани железы составлял 69,3 года (от 47 до 89 лет). Критерий включения: пациенты с морфологически верифицированным РПЖ, не получавшие неоадьювантную терапию. Критерии исключения: отсутствие данных клинико-инструментальных обследований (показатели ПСА, распространение опухоли), а также наблюдения с объемом материала, недостаточным для проведения иммуногистохимического анализа и последующей интерпретации результата. Оперативное вмешательство было проведено в 48 случаях (трансуретральная резекция в 23, радикальная простатэктомия — в 25 наблюдениях), диагностическая трансректальная мультифокальная

биопсия была взята у 41 пациента. Морфологическая оценка РПЖ предполагала не только оценку степени злокачественности опухоли на основании системы градации Глисона, но также, согласно рекомендациям ВОЗ, была дополнена характеристикой прогностической группы в каждом наблюдении.

Иммуногистохимическое исследование материала проводили в соответствии со стандартным протоколом, в качестве первичных антител использовали кроличьи моноклональные антитела к белку Nanog (Clone EPR2027(2), Epitomics; США). Положительный контроль представлял собой образцы ткани семиномы яичка. Пролиферативную активность клеток оценивали при помощи моноклональных кроличьих антител к белку Ki-67 (Clone SP6, Cell Marque; США). В качестве положительного контроля использовали реакцию с лимфоидной тканью миндалин (клетки герминативных центров). ИГХ-реакцию проводили с использованием системы детекции QUANTO на Autostainer 360 (Thermo Fisher Scientific; США). Докрашивание срезов осуществляли гематоксилином Майера. Исследование препаратов проводили с помощью микроскопа Axioplan 2 imaging (Karl Zeiss; Германия) с фотофиксацией камерой AxioCam ERc 5s (Karl Zeiss; Германия).

Для количественной оценки пролиферативной активности осуществляли подсчет соотношения окрашенных ядер на 300 клеток при увеличении  $\times 400$ . Условно была принята следующая градация: отсутствие экспрессии (0 баллов), слабая экспрессия (1 балл) — окрашены менее 10% ядер клеток, умеренная экспрессия (2 балла) — более 10%, но менее 33% клеточных ядер, сильная экспрессия (3 балла) — более 33% ядер клеток в ткани были положительными.

Оценку экспрессии Nanog также осуществляли путем подсчета числа иммунопозитивных клеток при большом увеличении ( $\times 400$ , минимальное число клеток — 300), однако результат был скорректирован с учетом интенсивности окрашивания. Применяли шкалу с числом баллов от 0 до 3: 0 — отсутствие реакции, 1 — реакция слабая, 2 и 3 — реакция умеренная и сильная соответственно. Затем вычисляли иммуногистохимический индекс H-score (histochemical score) по следующей формуле:

$$H\text{-score} = \sum (P_i \times i),$$

где  $i$  — интенсивность окрашивания, выраженная в баллах от 0 до 3;  $P_i$  — доля клеток, окрашенных с разной

интенсивностью, в %. Значение индекса колебалось от 0 до 300 баллов [16].

Статистический анализ проводили при помощи программы Statistica 10.0 (StatSoft; США) в среде Windows 10. Достоверность различия выборок с распределением, отличным от нормального, определяли с помощью  $U$ -критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Корреляционные взаимоотношения оценивали с помощью коэффициента Спирмена, для оценки силы связи коэффициентов корреляции использовали шкалу Чеддока. Для выявления связи между экспрессией исследуемых маркеров и клинико-морфологическими характеристиками пациентов использовали критерий хи-квадрат ( $\chi^2$ ) и точный критерий Фишера.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

После гистологического исследования РПЖ был диагностирован в 68 случаях, остальные наблюдения характеризовались наличием доброкачественной гиперплазии в сочетании с воспалительными изменениями различной степени выраженности. После морфологической оценки все наблюдения были разделены, согласно рекомендациям, на пять прогностических групп: к первой прогностической группе были отнесены 18 случаев (26,5%), ко второй — 16 случаев (23,6%), к третьей — 15 (22,1%). В четвертую и пятую прогностические группы попали 10 (14,7%) и 9 (13,2%) наблюдений соответственно. На основании клинико-морфологических данных определяли степень распространения опухолевого процесса: случаи случайно обнаруженной при обследовании опухоли, а также карциномы, ограниченной тканью органа, были отнесены к локализованным формам (T1 и T2 по классификации TNM AJCC, 8-е издание). Экстрапростатический рост расценивали как признак распространенной формы (T3 и T4). Пороговое значение концентрации ПСА в крови составляло 10 нг/мл.

Среди всех наблюдений экспрессия Ki-67 была обнаружена в 82 случаях (92,1%). В группе доброкачественной гиперплазии предстательной железы экспрессия Ki-67 была выявлена в 14 наблюдениях (66,7%), причем подавляющее большинство случаев характеризовалось слабым уровнем экспрессии. При сравнении экспрессии этого маркера в наблюдениях доброкачественного поражения предстательной железы и РПЖ были получены статистически значимые различия,

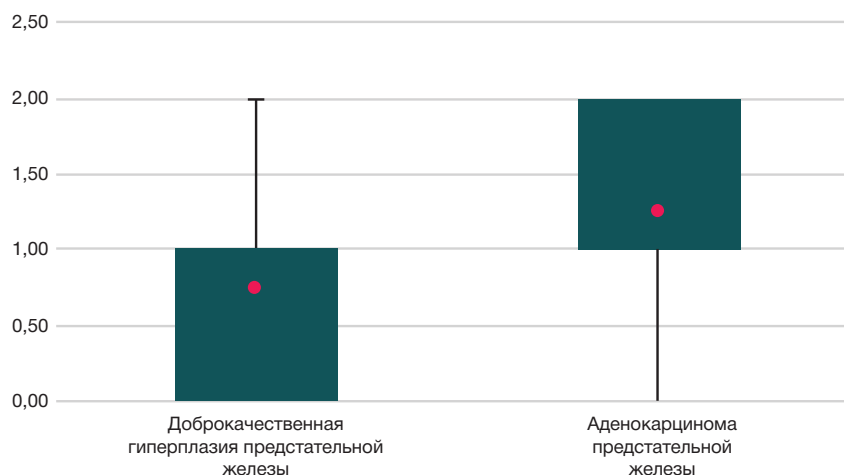


Рис. 1. Показатели экспрессии Ki-67 при доброкачественной гиперплазии и аденокарциноме предстательной железы

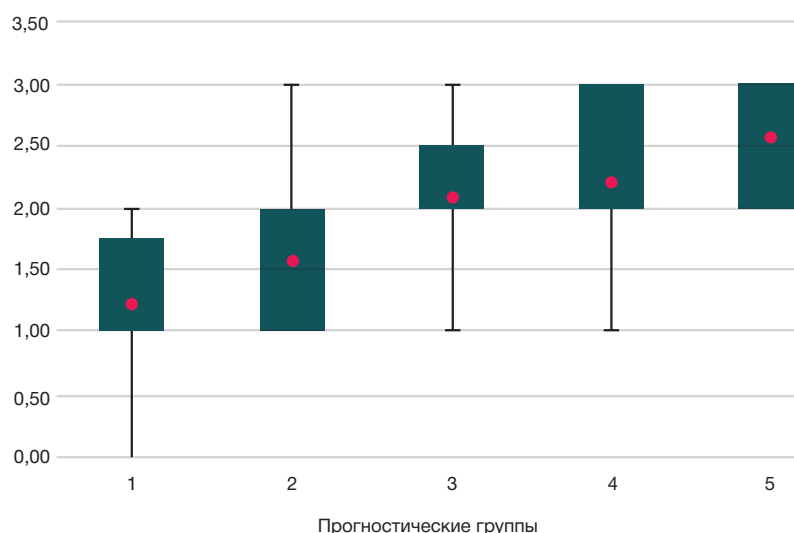


Рис. 2. Сравнительная характеристика показателей экспрессии Ki-67 в различных прогностических группах рака предстательной железы

причем в целом показатели пролиферативной активности в последнем случае оказались на порядок выше ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

Сравнительный анализ показателей пролиферативной активности в различных прогностических группах продемонстрировал прогredientное увеличение средних значений уровня экспрессии Ki-67 с увеличением порядкового номера прогностической группы (рис. 2). Корреляционный анализ показал наличие сильной прямой связи между сравниваемыми параметрами ( $r_s = 0,619$ ,  $p < 0,001$ ).

### Экспрессия Nanog

В нашем исследовании экспрессия Nanog отсутствовала во всех наблюдениях доброкачественной гиперплазии предстательной железы, в то время как среди 68 случаев РПЖ иммунопозитивными к данному белку оказались 26 наблюдений (38,2%). В прогностической группе 1 экспрессии Nanog выявлено не было, во 2-й прогностической группе позитивными оказались три наблюдения (18,75%), в 3-й — 6 (40%), в 4-й — 8 (80%), и, наконец, в 5-й — 9 из 9 наблюдений. Средние показатели экспрессии Nanog с учетом интенсивности окраски в различных прогностических группах представлены на рис. 3.

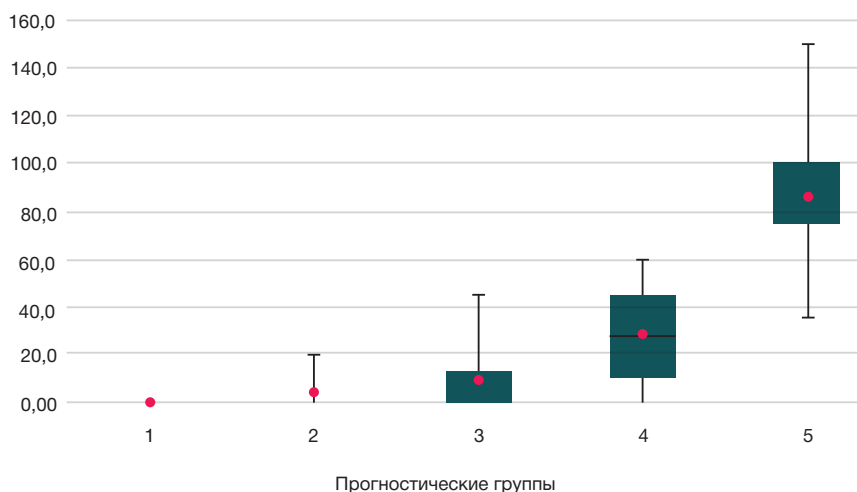


Рис. 3. Сравнительная характеристика показателей экспрессии Nanog в различных прогностических группах рака предстательной железы

Сопоставление показателей иммуногистохимического индекса экспрессии Nanog в клетках аденокарциномы предстательной железы позволило выявить прямую связь с увеличением порядкового номера прогностической группы ( $r_s = 0,786$ ,  $p < 0,001$ ).

Характер экспрессии исследуемых маркеров в основных морфологических паттернах РПЖ по классификации Глисона представлен на рис. 4.

При сопоставлении клинико-морфологических особенностей с показателями экспрессии исследуемых маркеров (табл.) была обнаружена статистически значимая связь между уровнем экспрессии Ki-67 и наличием экстрапростатического распространения опухоли ( $p = 0,046$ ), а также высоким уровнем ПСА в крови ( $> 10$  нг/мл;  $p < 0,001$ ). В то же время высокие значения иммуногистохимического индекса экспрессии Nanog были связаны с наличием распространенной формы рака ( $p = 0,041$ ), однако статистически значимой связи между показателями реактивности к данному маркеру и концентрацией ПСА в крови выявлено не было.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение особенностей раковых стволовых клеток (РСК) позволило пересмотреть подходы к основополагающим принципам опухолевой организации и метаболизму.



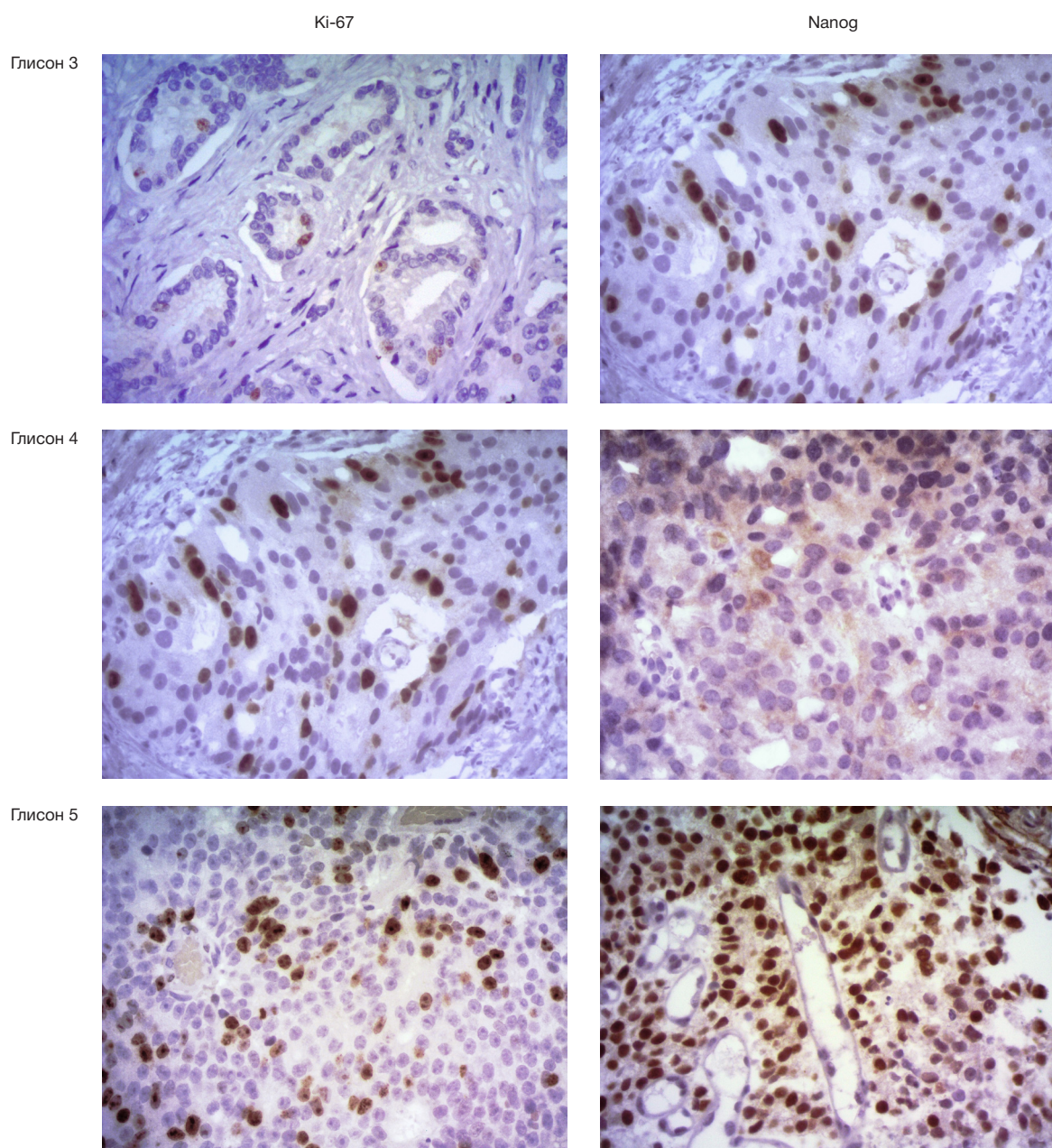


Рис. 4. Экспрессия Ki-67 и Nanog в клетках рака предстательной железы при основных морфологических паттернах по классификации Глисона (увеличение  $\times 400$ )

Клеточная гетерогенность опухолевой ткани обусловлена ее иерархической организацией, отчасти моделирующей физиологическую гистоархитектонику исходной ткани. Симметричное и асимметричное деление РСК приводит к поддержанию опухолевой популяции, с одной стороны, и к увеличению объема опухолевой ткани за счет потерявших свойства стволовости клеток — с другой [17].

Было показано, что уровень экспрессии Nanog выше в РСК, чем в остальной популяции опухолевых клеток при некоторых типах онкологии [18, 19].

Функциональные исследования продемонстрировали, что Nanog является не только маркером РСК, но также способствует развитию РСК-подобных характеристик при некоторых видах рака. Например, активация эмбрионального гена *NANOG* заставляет субпопуляцию клеток колоректального рака принимать стволовой фенотип [20].

Экспрессия Nanog была обнаружена в различных опухолях, включая рак молочной железы, шейки матки,

полости рта, почек, простаты, легких, желудка, мозга и яичников [21]. Выраженная экспрессия Nanog — показатель плохого прогноза для пациентов с серозной карциномой яичников, колоректальным раком и раком молочной железы. В плоскоклеточной карциноме полости рта и аденокарциноме легких более высокая экспрессия Nanog вместе с Oct4 связана с поздней стадией рака и более низкими показателями выживаемости [22, 23].

В раковых клетках aberrantная экспрессия Nanog была связана с повышенной скоростью пролиферации *in vitro* и ростом опухоли *in vivo*. Было показано, что сверхэкспрессия Nanog, наряду с Oct4, увеличивает клонотенный рост и образование сфероидных тел клеток аденокарциномы легких [24], и, наоборот, нокаунт Nanog в клетках рака молочной железы подавляет клонотенный рост и пролиферацию [25]. При нокауне Nanog несколько генов, связанных с клеточным циклом (таких как циклины D1, D2, D3 и E1, а также циклин-зависимые киназы 1 и 6), а также связанный с p53 сигнальный путь (например, Bcl6

Таблица. Связь экспрессии Ki-67 и Nanog с основными клинико-морфологическими характеристиками

| Клинико-морфологические характеристики | Число случаев, N (%), всего 68 | Экспрессия Ki-67 |            |            |                   | Экспрессия Nanog (иммуногистохимический индекс) |               |                   |
|--|--------------------------------|------------------|------------|------------|-------------------|---|---------------|-------------------|
|  |                                | 1 балл           | 2 балла    | 3 балла    | Значение <i>p</i> | Слабая (<40)                                    | Сильная (>40) | Значение <i>p</i> |
| Распространенность опухоли             |                                |                  |            |            |                   |   |               |                   |
| Локализованная форма (T1, T2)          | 39 (57,4%)                     | 19 (27,9%)       | 17 (25%)   | 5 (7,4%)   | 0,046             | 8 (11,8%)                                       | 2 (2,9%)      | 0,041             |
| Распространенная форма (T3, T4)        | 29 (42,6%)                     | 6 (8,8%)         | 11 (16,2%) | 9 (13,2%)  |                   | 5 (7,4%)  | 11 (16,2%)    |                   |
| Показатель ПСА в крови                 |                                |                  |            |            |                   |   |               |                   |
| <10 нг/мл                              | 51 (75%)                       | 23 (33,8%)       | 21 (30,9%) | 4 (5,9%)   | <0,001            | 9 (13,2%)                                       | 5 (7,4%)      | 0,238             |
| >10 нг/мл                              | 17 (25%)                       | 2 (2,9%)         | 7 (10,3%)  | 10 (14,7%) |                   | 4 (5,9%)  | 8 (11,8%)     |                   |

и Atf3) были подавлены, что может говорить об участии Nanog в клеточном цикле [25, 26].

Настоящее исследование позволило выявить экспрессию белка Nanog в клетках РПЖ, причем данный белок отсутствовал как в нормальных тканях предстательной железы, так и в наблюдениях доброкачественной гиперплазии предстательной железы. Гетерогенность выраженности экспрессии белка Nanog говорит о том, что различные варианты аденокарциномы, отличающиеся в первую очередь по степени клеточной анаплазии, имеют различный гистохимический профиль. Принимая во внимание, что этот транскрипционный белок присущ в основном эмбриональным клеткам, обнаружение его в клетках опухолевого массива говорит в пользу теории существования особого пула клеток с признаками «стволового» фенотипа. При сравнении различных прогностических групп было обнаружено, что с возрастанием степени клеточной анаплазии частота и степень выраженности экспрессии Nanog увеличивается, что находит свое отражение в оценке опухоли по классификации Глисона и в дальнейшем влияет на выбор прогностической группы. Такая прямая корреляция подтверждает тот факт, что в клеточном массиве наиболее низкодифференцированных аденокарцином предстательной железы существует значимая субпопуляция РСК, которые проявляют свойства мультипотентности благодаря наличию Nanog. Также в исследовании была продемонстрирована статистически значимая связь между выраженностью экспрессии Nanog

и наличием экстрапростатического распространения опухоли, что является немаловажным фактором, влияющим на прогноз. Большинство наблюдений, оказавшихся в значительной степени иммунореактивными по экспрессии данного белка, также характеризовались высокими показателями экспрессии Ki-67, что говорит о высоком пролиферативном потенциале анаплазированных раковых клеток, в том числе РСК. ИГХ-реакция с маркерами Nanog и Ki-67 в прогностических группах 1 и 2 оказалась на порядок ниже, чем в 5-й группе, что свидетельствует о потенциально благоприятном течении хорошо дифференцированных карцином.

## ВЫВОДЫ

Определение раковых стволовых клеток в тканях рака предстательной железы является перспективным методом диагностики и прогнозирования течения заболевания. Высокие показатели экспрессии Nanog связаны с высокой пролиферативной активностью опухоли, а также потенциально неблагоприятным прогнозом — обладающие свойством полипотентности раковые стволовые клетки могут служить источником самообновления популяции опухолевых клеток, играть роль в механизмах метастазирования и химиорезистентности. Обнаружение опухолевых клеток с таким потенциалом требует выбора более агрессивной лечебной тактики, направленной в первую очередь на радикальную элиминацию опухоли.

## Литература

- Каприн А. Д., Старинский В. В., Петрова Г. В., редакторы. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена» — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Минздрава России, 2019; 250 с.
- Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Ferlay J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide: an analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer*. 2016; 138 (6): 1388–400.
- Heidegger I, Heidenreich A, Pfister D. New biomarkers for selecting the best therapy regimens in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Target Oncol*. 2017; 12 (1): 37–45.
- Horner MJ, Ries LAG, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Howlader N, et al (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975–2006, National Cancer Institute. Bethesda, MD. Available from: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2006/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/)
- Bell KJL, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: a systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer*. 2015; 137 (7): 1749–57.
- Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, et al. SEER Cancer Statistics Review 1975–2013 National Cancer Institute SEER Cancer Statistics Review 1975–2013, National Cancer Institute. National Cancer Institute. Bethesda, 2016. Available from: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/).
- Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level  $\leq 4.0$  ng per Milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350 (22): 2239–46.
- Kreso A, Dick JE. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*. 2014; 14 (3): 275–91. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
- Aguilar-Gallardo C, Simón C. Cells, stem cells, and cancer stem cells. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2013; 31 (01): 005–013. DOI: 10.1055/s-0032-1331792.
- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997; 3: 730–7. DOI: 10.1038/nm0797-730.
- Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, Smith A. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*. 2003; 113: 643–



55. PubMed PMID: 12787505.
12. Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*. 2003; 113: 631–42.
  13. Gawlik-Rzemieniewska N, Bednarek I. The role of NANOG transcriptional factor in the development of malignant phenotype of cancer cells. *Cancer Biol Ther*. 2015; 17 (1): 1–10. DOI:10.1080/15384047.2015.1121348.
  14. Boiani M, Scholer HR. Regulatory networks in embryo-derived pluripotent stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005; 6: 872–84.
  15. Gong S, Li Q, Jeter CR, Fan Q, Tang DG, Liu B. Regulation of NANOG in cancer cells. *Mol Carcinog*. 2015; 54 (9): 679–87. DOI: 10.1002/mc.22340.
  16. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol*. 2003; 21 (20): 3798–807.
  17. Battle E, Clevers H. Cancer stem cells revisited. *Nat Med*. 2017; 23 (10): 1124–34. DOI:10.1038/nm.4409.
  18. Zhang J, Espinoza LA, Kinders RJ, et al. NANOG modulates stemness in human colorectal cancer. *Oncogene*. 2013 Sep 12; 32 (37): 4397–405.
  19. Niu CS, Li DX, Liu YH, Fu XM, Tang SF, Li J. Expression of NANOG in human gliomas and its relationship with undifferentiated glioma cells. *Oncol Rep*. 2011; 26 (3): 593–601.
  20. Ibrahim EE, Babaei-Jadidi R, Saadeddin A, et al. Embryonic NANOG activity defines colorectal cancer stem cells and modulates through AP1- and TCF-dependent mechanisms. *Stem Cells*. 2012; 30 (10): 2076–87.
  21. Grubelnik G, Boštjančič E, Pavlič A, Kos M, Zidar N. NANOG expression in human development and cancerogenesis. *Exp Biol Med*. 2020; 245 (5): 456–64.
  22. Chiou SH, Yu CC, Huang CY, et al. Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008; 14 (13): 4085–95.
  23. Gillis AJ, Stoop H, Biermann K, et al. Expression and interdependencies of pluripotency factors LIN28, OCT3/4, NANOG and SOX2 in human testicular germ cells and tumours of the testis. *Int J Androl*. 2011; 34 (4 Pt 2): e160–e174.
  24. Chiou SH, Wang ML, Chou YT, et al. Coexpression of oct4 and nanog enhances malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res*. 2010; 70 (24): 10433–4.
  25. Han J, Zhang F, Yu M, et al. RNA interference-mediated silencing of NANOG reduces cell proliferation and induces G0/G1 cell cycle arrest in breast cancer cells. *Cancer Lett*. 2012; 321 (1): 80–8.
  26. Choi SC, Choi JH, Park CY, Ahn CM, Hong SJ, Lim DS. Nanog regulates molecules involved in stemness and cell cycle-signaling pathway for maintenance of pluripotency of P19 embryonal carcinoma stem cells. *J Cell Physiol*. 2012; 227 (11): 3678–92.

## References

1. Kaprin AD, Starinskiy VV, Petrova GV, editors. Malignant tumors in Russia in 2018 (morbidity and fatality). Moscow: FGBU «Moskovskiy nauchno-issledovatel'skiy onkologicheskii institute im. P.A. Gertsena» — filial FGBU «Natsional'nyy meditsinskiy issledovatel'skiy radiologicheskii tsentr» Minzdrava Rossii, 2019; 250 p. Russian.
2. Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, Laversanne M, Jemal A, Ferlay J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide: an analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer*. 2016; 138 (6): 1388–400.
3. Heidegger I, Heidenreich A, Pfister D. New biomarkers for selecting the best therapy regimens in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Target Oncol*. 2017; 12 (1): 37–45.
4. Horner MJ, Ries LAG, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Howlader N, et al (eds). SEER Cancer Statistics Review, 1975–2006, National Cancer Institute. Bethesda, MD. Available from: [http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2006/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2006/)
5. Bell KJL, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: a systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer*. 2015; 137 (7): 1749–57.
6. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Miller D, Bishop K, Altekruse SF, et al. SEER Cancer Statistics Review 1975–2013 National Cancer Institute SEER Cancer Statistics Review 1975–2013, National Cancer Institute. Bethesda, 2016. Available from: [https://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2014/](https://seer.cancer.gov/csr/1975_2014/).
7. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, et al. Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level  $\leq 4.0$  ng per Milliliter. *N Engl J Med*. 2004; 350 (22): 2239–46.
8. Kreso A, Dick JE. Evolution of the cancer stem cell model. *Cell Stem Cell*. 2014; 14 (3): 275–91. DOI: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
9. Aguilar-Gallardo C, Simón C. Cells, stem cells, and cancer stem cells. *Seminars in Reproductive Medicine*. 2013; 31 (01): 005–013. DOI: 10.1055/s-0032-1331792.
10. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997; 3: 730–7. DOI: 10.1038/nm0797-730.
11. Chambers I, Colby D, Robertson M, Nichols J, Lee S, Tweedie S, Smith A. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*. 2003; 113: 643–55. PubMed PMID: 12787505.
12. Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*. 2003; 113: 631–42.
13. Gawlik-Rzemieniewska N, Bednarek I. The role of NANOG transcriptional factor in the development of malignant phenotype of cancer cells. *Cancer Biol Ther*. 2015; 17 (1): 1–10. DOI:10.1080/15384047.2015.1121348.
14. Boiani M, Scholer HR. Regulatory networks in embryo-derived pluripotent stem cells. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2005; 6: 872–84.
15. Gong S, Li Q, Jeter CR, Fan Q, Tang DG, Liu B. Regulation of NANOG in cancer cells. *Mol Carcinog*. 2015; 54 (9): 679–87. DOI: 10.1002/mc.22340.
16. Hirsch FR, Varella-Garcia M, Bunn PA, et al. Epidermal growth factor receptor in non-small-cell lung carcinomas: correlation between gene copy number and protein expression and impact on prognosis. *J Clin Oncol*. 2003; 21 (20): 3798–807.
17. Battle E, Clevers H. Cancer stem cells revisited. *Nat Med*. 2017; 23 (10): 1124–34. DOI:10.1038/nm.4409.
18. Zhang J, Espinoza LA, Kinders RJ, et al. NANOG modulates stemness in human colorectal cancer. *Oncogene*. 2013 Sep 12; 32 (37): 4397–405.
19. Niu CS, Li DX, Liu YH, Fu XM, Tang SF, Li J. Expression of NANOG in human gliomas and its relationship with undifferentiated glioma cells. *Oncol Rep*. 2011; 26 (3): 593–601.
20. Ibrahim EE, Babaei-Jadidi R, Saadeddin A, et al. Embryonic NANOG activity defines colorectal cancer stem cells and modulates through AP1- and TCF-dependent mechanisms. *Stem Cells*. 2012; 30 (10): 2076–87.
21. Grubelnik G, Boštjančič E, Pavlič A, Kos M, Zidar N. NANOG expression in human development and cancerogenesis. *Exp Biol Med*. 2020; 245 (5): 456–64.
22. Chiou SH, Yu CC, Huang CY, et al. Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008; 14 (13): 4085–95.
23. Gillis AJ, Stoop H, Biermann K, et al. Expression and interdependencies of pluripotency factors LIN28, OCT3/4, NANOG and SOX2 in human testicular germ cells and tumours of the testis. *Int J Androl*. 2011; 34 (4 Pt 2): e160–e174.
24. Chiou SH, Wang ML, Chou YT, et al. Coexpression of oct4 and nanog enhances malignancy in lung adenocarcinoma by inducing cancer stem cell-like properties and epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Cancer Res*. 2010; 70 (24): 10433–4.
25. Han J, Zhang F, Yu M, et al. RNA interference-mediated silencing of NANOG reduces cell proliferation and induces G0/G1 cell cycle arrest in breast cancer cells. *Cancer Lett*. 2012; 321 (1): 80–8.
26. Choi SC, Choi JH, Park CY, Ahn CM, Hong SJ, Lim DS. Nanog regulates molecules involved in stemness and cell cycle-signaling pathway for maintenance of pluripotency of P19 embryonal carcinoma stem cells. *J Cell Physiol*. 2012; 227 (11): 3678–92.