

В.А.Туманский¹
А.А.Попович²
С.А.Попович²
Л.М.Туманская¹

¹ Запорожский государственный медицинский университет

² Запорожская городская клиническая больница экстренной и скорой медицинской помощи

Ключевые слова: рак предстательной железы, простатическая интраэпителиальная неоплазия, высокомолекулярный цитокератин, альфа-метилацил-СоА рацемазы, рецепторы андрогенов.

Надійшла: 26.08.2016

Прийнята: 13.09.2016

УДК: 616.65-007.61+616.65-006.6]-974-079.4-042.2

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ, ИНТРАЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ НЕОПЛАЗИИ И РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Исследование выполнено в рамках научно-исследовательской работы «Исследование инвазивно-метастатических свойств опухолей и их раннее прогнозирование в биоптатах больных» (номер государственной регистрации 0114U000967).

Реферат. Проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии HMW-цитокератина, альфа-метилацил-СоА рацемазы (AMACR/p504s) и рецепторов андрогенов у 32 больных ацинарным раком предстательной железы и у 30 больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы (ДГПЖ), которая у 22 пациентов сочеталась с мультифокальной интраэпителиальной неоплазией (ПИН). Установлено, что дифференциальным ИГХ признаком ДГПЖ является наличие в железах базальных, цитокератин-*HMW*-позитивных клеток и отсутствие экспрессии AMACR/p504s в секреторных клетках желез. Пучковая, микропапиллярная и крибозная ПИН высокой степени характеризуется наличием базальных, цитокератин-*HMW*+ клеток в пролифератах атипичных клеток и отсутствием в последних экспрессии AMACR/p504s. Ацинарный рак ПЖ отличается отсутствием базальных СК *HMW*-позитивных клеток в опухолевых ацинусах и цитоплазматической экспрессией AMACR/p504s в злокачественных эпителиальных клетках. Ядерная экспрессия рецепторов андрогенов определяется в эпителии ацинусов и в клетках фиброзно-мышечной стромы ПЖ, а также в злокачественных ацинарных клетках рака ПЖ.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 297-301.

© В.А.Туманский, А.А.Попович, С.А.Попович, Л.М.Туманская, 2016

✉ tumanskiy@zsmu.zp.ua

Tumanskiy V.A., Popovich A.A., Popovich S.A., Tumanskaja L.M. Peculiarities of immunohistochemical differential diagnosis of benign prostatic hyperplasia, intraepithelial neoplasia and prostate cancer.

ABSTRACT. Background. According to global statistics prostate cancer (PC) is the second leading cause of death and takes the second place in males cancer structure. **Objective.** Trephine biopsies of 32 patients with acinar PC and 30 patients with benign prostatic hyperplasia (BPH), which in 22 patients were combined with multifocal prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) were studied. **Methods.** Immunohistochemical method was used to determine the expression of high molecular weight cytokeratin (CK HMW), alpha-methylacetyl-CoA racemase (AMACR/p504s) and androgen receptors. **Results.** Immunohistochemical differential feature of BPH is the presence in basal glands CK HMW-positive cells and lack of cytoplasmic expression of AMACR/p504s in secretory gland cells. Tufting, micropapillary and cribriform high-grade PIN differs from acinar PC by the presence of basal CK HMW-positive cells in the proliferative atypical epithelial-luminal cells and the absence in the last one of cytoplasmic expression of AMACR/p504s. Acinar PC is characterized by the absence of basal NMW CK-positive tumor cells in the cancer acini, cytoplasmic expression of AMACR/ p504s in malignant epithelial cells. Nuclear expression of androgen receptors are defined in the epithelium cells of acini and fibromuscular stroma of prostate, as well as in malignant PC acinar cells. **Conclusion.** The absence in acinar structures of CK HMW-positive basal cells and presence of AMACR/p504s-positive tumor cells in trephine biopsy of prostate give the possibility to authentically determine acinar PC and differentiate it from high-grade PIN and from different subtypes of BPH.

Key words: prostate neoplasms, prostatic intraepithelial neoplasia, high molecular weight cytokeratin, AMACR/p504s, receptors androgen.

Citation:

Tumanskiy VA, Popovich AA, Popovich SA, Tumanskaja LM. [Peculiarities of immunohistochemical differential diagnosis of benign prostatic hyperplasia, intraepithelial neoplasia and prostate cancer]. *Morphologia.* 2016;10(3):297-301. Russian.

Введение

Наиболее распространенными заболеваниями мужчин пожилого и старческого возраста являются доброкачественная гиперплазия и рак предстательной железы [1]. По данным глобальной статистики рак предстательной железы (РПЖ) занимает в структуре онкологических заболеваний мужчин 2-е место в мире [2] и стоит на 2-м месте среди причин смерти мужчин в США [3]. По последним данным Национального канцер-регистра, в Украине в 2014 году показатель заболеваемости раком предстательной железы составил 26,2 (мировой стандарт) и 49,6 (украинский стандарт) на 100 тысяч населения; показатель смертности возрос до 18,5 на 100 тысяч населения [4]. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) и РПЖ сопровождаются повышенным уровнем в крови простат-специфического антигена, а ДГПЖ нередко сочетается с простатической интраэпителиальной неоплазией (ПИН) – пролиферативным процессом в ацинусах простатических желез с постепенно прогрессирующей атипией и полиморфизмом секреторно-люминальных клеток. Общепризнанным методом дифференциальной диагностики этих заболеваний является патоморфологическое исследование прицельного пункционного трепанобиоптата (ТБ) предстательной железы (ПЖ) с применением иммуногистохимических (ИГХ) методик [5]. По данным известных патоморфологов [6] в дифференциальной диагностике этих заболеваний ПЖ наиболее перспективным является выявление в пролиферирующих простатических железах базальных клеток с экспрессией высокомолекулярного цитокератина, свидетельствующих о доброкачественности пролиферативных процессов, а также выявление эпителиально-люминальных клеток с экспрессией фермента альфа-метилацил-СоА рацемазы, характерных для рака ПЖ [7]. Такого рода дифференциально-диагностические исследования пока еще не нашли должного применения в отечественной онкоурологии.

Цель исследования – определение в трепанобиоптатах наиболее значимых дифференциальных иммуногистохимических параметров простатической интраэпителиальной неоплазии, доброкачественной гиперплазии и ацинарной аденокарциномы предстательной железы (ААПЖ).

Материалы и методы

В патологоанатомическом отделении УНМЦ «Университетская клиника» Запорожского государственного медицинского университета патоморфологическими методами исследованы ТБ ПЖ 62 больных возрастом 69-72 лет, поступивших с задержкой мочеиспускания, увеличенной ПЖ и повышенным уровнем в крови простат-

специфического антигена в Запорожскую городскую клиническую больницу экстренной и скорой медицинской помощи с предварительным клиническим диагнозом ДГПЖ? - рак ПЖ? или рак ПЖ.

Столбики ТБ ПЖ заливали в парафин. Серийные срезы толщиной 4 мкм, изготовленные на прецизионном ротационном микротоме HM 3600 («MICROM Laborgerate GmbH» – Германия), окрашивали для микроскопии гематоксилином и эозином, методом Ван Гизон. В парафиновых срезах, в соответствии с инструкциями фирм-изготовителей, проводили ИГХ исследования с использованием первичных моноклональных антител к базальным клеткам простатических желез *Mo a-Hu CK HMW, Clone 34BetaE12* («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), к митохондриально-пероксисомальному ферменту альфа-метилацил-СоА рацемазе *Rb a-Hu AMACR/p504s, Clone 14H4* («Neo Markers», США), поликлональных антител к рецепторам андрогенов *Rb a-Hu Androgen Receptor* («Thermo Fisher Scientific Inc.», США), а также системы визуализации DAKO EnVision+System 3 диаминобензидином («ДАКО», США). Срезы докрашивали гематоксилином Майера, изучали в микроскопе Axioplan 2 (Carl Zeiss, Германия) и документировали цифровой фотокамерой Camedia C5060WZ (Olympus, Япония).

При микроскопии выявляли железистую, фиброзно-стромальную и смешанную железисто-фиброзно-мышечную ДГПЖ [8]. В ПЖ диагностировали ПИН низкой 1 степени, а также высокой 2 и 3 степени. В ПИН высокой степени определяли 4 варианта неоплазии: пучковый, микропапиллярный, криброзный и уплощенный [8]. У больных ААПЖ рассчитывали сумму Глисона для определения рака ПЖ высокой степени дифференцировки (сумма Глисона 3-5 баллов), средней степени дифференцировки (сумма Глисона 6-8 баллов) и низкодифференцированной аденокарциномы (сумма Глисона 9-10 баллов) [9].

Результаты и их обсуждение

При патоморфологическом исследовании ТБ ПЖ у 32 больных диагностирована ААПЖ, у 30 пациентов выявлена ДГПЖ, которая у 22 больных сочеталась с мультифокальной ПИН. Из трех патоморфологических форм ДГПЖ у 6 пациентов диагностирована преимущественно железистая ДГПЖ, у 5 больных обнаружена фиброзно-стромальная ДГПЖ, у 19 больных имела место смешанная железисто-фиброзно-мышечная ДГПЖ.

Железистая ДГПЖ отличается наличием множественных скоплений разновеликих желез, разделенных узкими прослойками фиброзно-мышечной стромы. На базальной мембране желез локализованы базальные клетки с цитоплазматической экспрессией высокомолекулярного

цитокератина (СК НМW), над которыми расположен цилиндрический секреторный эпителий без экспрессии митохондриально-пероксисомального фермента альфа-метилацил-СоА рацемазы (АМАСR/p504s), образующий складки, папиллярные и крибозные структуры. Для выявления базальных клеток нормальных ацинусов ПЖ в последние годы патоморфологами применяются такие ИГХ маркеры как цитокератины 5/6, 14, СК НМW, а также p63 [10,11]; но наиболее чувствительными и достоверными маркерами базальных ацинарных клеток ПЖ были признаны СК НМW и p63 [12]. Фиброзно-стромальную ДГПЖ отличают обширные узлы фиброзно-мышечной ткани и относительно малое число железистых ацинусов, с наличием в них СК НМW-позитивных базальных клеток.

Смешанная железисто-фиброзно-мышечная ДГПЖ представляет собой скопления крупных, разветвленных простатических желез, разделенных широкими, узловатыми, неупорядоченно закрученными прослойками гладкомышечных клеток и соединительнотканых волокон с значительным количеством фибробластов и миофибробластов. На базальной мембране желез расположены СК НМW-позитивные базальные клетки, над которыми локализованы складчатые и папиллярные структуры из цилиндрического секреторного эпителия без цитоплазматической экспрессии АМАСR/p504s.

При ИГХ исследовании у 28 из 30 больных ДГПЖ выявлен высокий уровень экспрессии рецепторов андрогенов в ядрах секреторного эпителия желез и разный уровень экспрессии этих рецепторов в ядрах клеток мио-фиброзной стромы ПЖ, что свидетельствует о чувствительности эпителиальных и стромальных клеток к андрогенам, влияющим на пролиферацию и дифференцировку простатических клеток, а также на взаимодействия между стромальными и эпителиальными клетками ПЖ.

Очаги мультифокальной ПИН выявлены у 22 больных ДГПЖ: у 4 больных железистой ДГПЖ, в 1 случае фиброзно-стромальной ДГПЖ и у 17 больных железисто-фиброзно-мышечной ДГПЖ. В очагах ПИН железы с внутриацинарными клеточными пролифератами сближены между собой «спинка к спинке» и разделены узкими прослойками фиброзно-мышечной стромы. ПИН высокой степени выявлен у 14 пациентов (составивших 63,6% всех больных ДГПЖ), ПИН низкой степени обнаружен у 8 пациентов (составивших 36,4% всех больных ДГПЖ). В ПИН низкой степени в ацинусах желез определяются пролифераты из эпителиальных клеток, которые по структуре ядер и цитоплазмы ничем не отличаются от нормальных. В ПИН высокой степени в ацинусах отмечается увеличенное количество базальных клеток, клеточные многорядные пролифераты образованы полиморфными секретор-

ными клетками с увеличенными, гиперхромными ядрами неправильной формы, в которых выявляются крупные, неправильной формы ядрышки. Такие полиморфные клетки формируют в ацинусах многорядные пучковые, микропапиллярные, крибозные и уплощенные клеточные структуры (варианты ПИН), напоминающие рак ПЖ. У 51% больных ДГПЖ преобладал микропапиллярный вариант ПИН; у 20% пациентов диагностирован уплощенный вариант ПИН; у 19% больных имел место крибозный вариант ПИН; у 10% больных выявлен пучковый вариант ПИН.

Мультифокальная очаговая ПИН в ДГПЖ имеет следующие ИГХ характеристики. В микропапиллярном варианте ПИН во внутриацинарных многорядных клеточных выпячиваниях с фибро-васкулярной сердцевинкой сохраняются ряды базальных клеток с цитоплазматической экспрессией СК НМW, а в многорядных выпячиваниях атипичных секреторных клеток отсутствует цитоплазматическая экспрессия АМАСR/p504s. В уплощенном варианте ПИН в многорядных клеточных образованиях на базальной мембране определяется ряд СК НМW-позитивных базальных клеток и отсутствует экспрессия АМАСR/p504s в атипичных секреторных клетках. В крибозном варианте ПИН, образованном распространенными внутри ацинусов полями тесно прилегающих атипичных секреторно-люминальных клеток с округлыми бесклеточными отверстиями, также определяются ряды базальных СК НМW-позитивных клеток, при этом в атипичных секреторных клетках отсутствует экспрессия АМАСR/p504s. В пучковом варианте ПИН, сформированном многорядными клеточными выпячиваниями в ацинусах также сохраняются ряды СК НМW-позитивных базальных клеток и отсутствует экспрессия АМАСR/p504s в атипичных секреторных клетках. По результатам ИГХ исследований установлено, что в секреторном эпителии микропапиллярной, крибозной, уплощенной и пучковой ПИН выявляется ядерная экспрессия рецепторов андрогенов.

При патоморфологических исследованиях в ТБ ПЖ у 32 больных диагностирована ААПЖ, состоящая из опухолевых ацинусов, сформированных атипичными раковыми клетками с полиморфными ядрами. Высокая степень дифференцировки ААПЖ (сумма Глисона 3-5 баллов) определена у 7 (21,9%) пациентов, средняя степень дифференцировки (сумма Глисона 6-8 баллов) – у 15 (46,9%) больных и низкодифференцированная аденокарцинома (сумма Глисона 9-10 баллов) – у 10 (31,2%) пациентов.

Установлено, что в опухолевых ацинусах ААПЖ, независимо от их размеров и гистоархитектонической структуры по Глисона, не выявляются базальные клетки с цитоплазматической

экспрессией СК НМВ. Это кардинально отличает раковые ацинусы от рядом расположенных неопухолевых гиперпластических ацинусов и от ацинусов с ПИН. Давно известный гистологический феномен утраты базальных клеток в ААПЖ ИГХ подтверждение получил только в последние 20 лет [13], а отсутствие СК НМВ-иммунопозитивных или р63-иммунопозитивных клеток в составе атипичных простатических ацинусов стало признанной характеристикой злокачественного процесса в ПЖ [7,14].

Вторым важным дифференциальным признаком ААПЖ является высокая экспрессия в цитоплазме опухолевых клеток раковых ацинусов митохондриально-пероксисомального фермента АМАСР/р504s, которая не выявляется в нормальных секреторных ацинарных клетках, в клетках ПИН и в гиперпластических железах ПЖ. В норме митохондриально-пероксисомальный фермент АМАСР/р504s вовлечен в бета-окисление и в биосинтез желчных кислот [15]. Экспрессия этого фермента имеет место в гепатоцитах нормальной печени, в эпителии канальцев почек и в слизистой оболочке желчного пузыря, в диспластической ткани пищевода Баррета, а также в злокачественном эпителии колоректального рака и папиллярного рака почки [16]. Однако, наиболее высокий уровень экспрессии АМАСР более чем в 95% случаев определяется в клетках рака ПЖ, потому он считается наиболее чувствительным иммуногистохимическим маркером ААПЖ [17].

Таким образом, учет обоих ИГХ параметров (отсутствие в ацинарных структурах СК НМВ-позитивных базальных клеток и наличие АМАСР/р504s-позитивных опухолевых клеток) в серийных срезах ТБ дает возможность достоверно определить ААПЖ и отличить ее от ПИН высокой степени и от разных субтипов ДППЖ. У всех больных ААПЖ в простатических ТБ выявлен высокий уровень ядерной экспрессии рецепторов к андрогенам в подавляющем большинстве клеток опухолевых желез, что свидетельствует о высокой чувствительности выявленного рака к андрогенам. Следует отметить, что отсутствие в

биоптате ацинарной опухоли СК НМВ-иммунопозитивных базальных клеток и, одновременно, наличие цитоплазматической экспрессии АМАСР опухолевыми клетками, признано достоверным ИГХ подтверждением ААПЖ в современных протоколах патоморфологического исследования трепанобиоптатов опухолей ПЖ [14,18].

Выводы

1. Дифференциальным иммуногистохимическим признаком доброкачественной гиперплазии предстательной железы является наличие в железах базальных, цитокератин-НМВ-позитивных клеток и отсутствие цитоплазматической экспрессии альфа-метилацил-СоА рацемазы в секреторных клетках желез.

2. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы характеризуется ядерной экспрессией рецепторов андрогенов не только секреторным эпителием ацинусов, но и клетками фиброзно-мышечной стромы, через которые может стимулироваться рост не только железистой, но и стромального компонента железы.

3. Пучковая, папиллярная и криброзная простатическая интраэпителиальная неоплазия высокой степени отличается от ацинарного рака предстательной железы наличием базальных, цитокератин-НМВ-позитивных клеток в пролифератах атипичных эпителиально-люминальных клеток и отсутствием цитоплазматической экспрессии альфа-метилацил-СоА рацемазы в пролиферирующих секреторных клетках.

4. Ацинарный рак предстательной железы характеризуется отсутствием базальных СК НМВ-позитивных клеток в опухолевых ацинусах, цитоплазматической экспрессией фермента альфа-метилацил-СоА рацемазы и высоким уровнем ядерной экспрессии рецепторов андрогенов в злокачественных ацинарных клетках.

Перспективы дальнейших исследований связаны с уточнением молекулярно-генетических и иммуногистохимических параметров инвазивно-метастатических свойств рака предстательной железы.

Литературные источники References

1. Lopatkin NA., author. [Urology: National guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. 1024 p. Russian.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer*. 2015;136(5):359- 86.
3. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2016*. Atlanta: American Cancer

- Society; 2016. 66 p.
4. Fedorenko ZP, Hulak LO, Mykhailovych YuI, Horokh YeL, Ryzhov AIu, Sumkina OV, Kutsenko LB, authors; Kolesnik OO, editor. [Bulletin of the National Cancer register No.17 "Cancer in Ukraine, 2014-2015"]. Kyiv: National cancer institute; 2016. 163 p. Ukrainian.
5. Pushkar DYu, Govorov AV [Biopsy of prostate]. Moscow: GEOTAR-Media. 2010. 208 p. Russian.

6. Ro JY, Kim K-R, Shen SS, Amin MB, Ayala AG, authors; Fletcher CDM, editor. Diagnostic Histopathology of Tumors. 4Ed. Philadelphia: ELSEVIER Saunders; 2013. 872-950 p.
7. Kristiansen G, Epstein JI, authors. Immunohistochemistry in Prostate Pathology. DAKO; 2013. 20 p.
8. Paltsev MA, Kakturskiy LV, Zayratyants OV, editors. [Pathological anatomy: national guidelines]. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. 1264 p. Russian.
9. Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L, Epstein JI, Humphrey PA, Mikuz G, Newling D, Nilsson S, Sakr W, Srigley JR, Wheeler TM, Montironi R. Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. Scand J Urol. Nephrol Suppl. 2005; 216:20-33.
10. Hedrick L, Epstein JI. Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostate carcinoma. Am J Surg Pathol. 1989;13(5):389-96.
11. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, Isaac B, Lin D, Garraway L, Yang A, Montironi R, McKeon F, Loda M. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. Am J Pathol. 2000;57(6):1769-75.
12. Weinstein MH, Signoretti S, Loda M. Diagnostic utility of immunohistochemical staining for p63, a sensitive marker of prostatic basal cells. Mod Pathol. 2002;15(12):1302-8.
13. Brawer MK, Peehl DM, Stamey TA, Bostwick DG. Keratin immunoreactivity in the benign and neoplastic human prostate. Cancer Res. 1985;45(8):3663-7.
14. Paner GP, Luthringer DJ, Amin MB. Best practice in diagnostic immunohistochemistry: prostate carcinoma and its mimics in needle core biopsies. Arch Pathol Lab Med 2008; 132(9):1388-96.
15. Lloyd MD, Darley DJ, Wierzbicki AS, Threadgill MD. Alpha-methylacyl-CoA racemase - an 'obscure' metabolic enzyme takes centre stage. FEBS. 2008;275(6):1089-102.
16. Went PT, Sauter G, Oberholzer M, Bubendorf L. Abundant expression of AMACR in many distinct tumour types. Pathol. 2006;38(5):426-32.
17. Jiang Z, Wu CL, Woda BA, Iczkowski KA, Chu PG, Tretiakova MS, Young RH, Weiss LM, Blute RD Jr, Brendler CB, Krausz T, Xu JC, Rock KL, Amin MB, Yang XJ. Alpha-methylacyl-CoA racemase: a multi-institutional study of a new prostate cancer marker. Histopathol. 2004;45(3):218-25.
18. Carswell BM, Woda BA, Wang X, Li C, Dresser K, Jiang Z. Detection of prostate cancer by alpha-methylacyl CoA racemase (P504S) in needle biopsy specimens previously reported as negative for malignancy. Histopathol. 2006;48(6):668-73.

Туманський В.О., Попович А.О., Попович С.А., Туманська Л.М. Імуногістохімічні диференційно-діагностичні особливості доброякісної гіперплазії, інтраепітеліальної неоплазії та раку передміхурової залози.

Реферат. Проведено імуногістохімічне (ІГХ) дослідження експресії НМВ-цитокератину, альфа-метилацил-СоА рацемази (АМАСР/р504s) і рецепторів андрогенів у 32 хворих на ацинарний рак передміхурової залози (ПЗ) та у 30 хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози (ДГПЗ), яка у 22 пацієнтів поєднувалася з мультифокальною простатичною інтраепітеліальною неоплазією (ПІН). Встановлено, що диференційною ІГХ ознакою ДГПЗ є наявність в залозах базальних, цитокератин-НМВ-позитивних клітин та відсутність експресії АМАСР/р504s в секреторних клітинах залоз. Пучкова, мікропапілярна і криброзна ПІН високого ступеню характеризується наявністю базальних, цитокератин-НМВ+ клітин в проліфератах атипичних клітин та відсутністю в останніх експресії АМАСР/р504s. Ацинарний рак ПЗ відрізняється відсутністю базальних СК НМВ-позитивних клітин в пухлинних ацинусах та цитоплазматичною експресією АМАСР/р504s в злоякісних епітеліальних клітинах. Ядерна експресія рецепторів андрогенів визначається в епітелії ацинусів і клітинах фіброзно м'язової строми ПЗ, а також в злоякісних ацинарних клітинах раку ПЗ.

Ключові слова: рак передміхурової залози, ПІН, високомолекулярний цитокератин, альфа-метилацил-СоА рацемаза, рецептори андрогенів.