

Прогностическое значение стволовых опухолевых клеток и экспрессии ALK у пациентов с меланомой кожи I–II стадии

К.С. Титов^{1,2}, А.А. Маркин^{2,3}, Г.М. Запиров², М.В. Сорокина¹

¹ГБУЗ «Московский научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 125281 Москва, 2-й Боткинский проезд, 5;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

³ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, шоссе Энтузиастов, 86

Контакты: Александр Андреевич Маркин markinalexander1993@yandex.ru

Введение. Меланома является основной причиной смерти пациентов со злокачественными опухолями кожи. Несмотря на то что прогноз заболевания на ранних стадиях относительно благоприятный, биологические особенности опухоли могут негативно влиять на выживаемость больных с данной патологией. Потенциальными факторами прогноза меланомы кожи I–II стадии являются стволовые опухолевые клетки и экспрессия киназы анапластической лимфомы (ALK) при транслокации ее гена.

Цель исследования – оценить прогностическое значение стволовых опухолевых клеток (CD133+ и ABCB5+) и экспрессии белка ALK у пациентов с первичной меланомой кожи I–II стадии после хирургического и комбинированного лечения.

Материалы и методы. В исследование включены 48 пациентов с меланомой кожи I–II стадии (30 – с поверхностно-распространяющейся формой, 18 – с узловой). У всех больных с помощью иммуногистохимического метода определяли экспрессию маркеров стволовых опухолевых клеток (ABCB5 и CD133) и ALK. Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Jamovi (версия 2.2.5). Срок наблюдения за пациентами составил 5 лет.

Результаты. В ходе 5-летнего наблюдения прогрессия меланомы кожи I–II стадии отмечена у 12 (25 %) пациентов. Выраженность экспрессии ABCB5 и CD133 у больных с прогрессией опухоли была одинаковой. У пациентов с прогрессией меланомы экспрессия ALK выявлена в 33,3 % случаев, отсутствовала – в 8,3 % ($p = 0,034$). Пятилетняя безрецидивная выживаемость пациентов с экспрессией ALK составила 43 %, без нее – 79 % ($p = 0,015$). Наличие экспрессии белка ALK при транслокации его гена повышает риск прогрессии меланомы кожи в 4,3 раза независимо от гистологического типа опухоли ($p = 0,025$). В ходе 5-летнего периода наблюдения летальный исход, связанный с прогрессированием заболевания I–II стадии, отмечен в 27,1 % случаев. Выраженность экспрессии CD133 и ALK в случаях летального исхода и без него была одинаковой. Стволовые опухолевые клетки ABCB5+ чаще встречались при летальном исходе (61,5 % случаев), чем без него (34,3 % случаев) ($p = 0,085$). Пятилетняя общая выживаемость пациентов с экспрессией ABCB5 составила 56 %, без нее – 82 %. Наличие ABCB5 повышало риски летального исхода у больных с локальными стадиями меланомы кожи в 3,7 раза независимо от наличия CD133 ($p = 0,041$).

Заключение. В качестве дополнительных неблагоприятных факторов прогноза меланомы кожи I–II стадии могут выступать экспрессия белка ALK и наличие стволовых опухолевых клеток ABCB5.

Ключевые слова: меланома кожи, фактор неблагоприятного прогноза, стволовая опухолевая клетка, киназа анапластической лимфомы, ABCB5, CD133

Для цитирования: Титов К.С., Маркин А.А., Запиров Г.М., Сорокина М.В. Прогностическое значение стволовых опухолевых клеток и экспрессии ALK у пациентов с меланомой кожи I–II стадии. Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи 2025;17(1):67–77.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2219-4614-2025-17-1-67-77>

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF CANCER STEM CELLS AND ALK EXPRESSION IN PATIENTS WITH STAGE I–II CUTANEOUS MELANOMA

K.S. Titov^{1,2}, A.A. Markin^{2,3}, G.M. Zapirov², M.V. Sorokina¹

¹S.P. Botkin Moscow Scientific and Clinical Center, Moscow Healthcare Department; 5 2nd Botkinsky Proezd, Moscow 125281, Russia;

²Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

³A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; 86 Shosse Entuziastov, Moscow 111123, Russia

Contacts: Alexander Andreevich Markin markinalexander1993@yandex.ru

Introduction. Melanoma is the main cause of death in patients with malignant tumors of the skin. While at early stages disease prognosis is relatively favorable, biological characteristics of the tumor can negatively affect patients with this pathology. Cancer stem cells and anaplastic lymphoma kinase (ALK) expression in the presence of translocation of its gene are potential prognostic factors in stage I–II cutaneous melanoma.

Aim. To evaluate prognostic significance of cancer stem cells (CD133⁺ and ABCB5⁺) and ALK protein expression in patients with primary stage I–II cutaneous melanoma after surgical and combination treatment.

Materials and methods. The study included 48 patients with stage I–II cutaneous melanoma (30 with superficial spreading type, 18 with nodular type). In all patients, expression of cancer stem cell markers (ABCB5 and CD133) and ALK was immunohistochemically determined. Statistical data analysis was performed using Jamovi (version 2.2.5) software. Follow-up duration was 5 years.

Results. During the 5-year observation period, progression of stage I–II cutaneous melanoma was observed in 12 (25 %) patients. Intensity of ABCB5 and CD133 expression in patients with tumor progression was similar. In patients with melanoma progression, ALK expression was observed in 33.3 % of cases, was absent in 8.3 % ($p = 0.034$) of cases. Five-year recurrence-free survival in patients with ALK expression was 43 %, without ALK expression – 79 % ($p = 0.015$). ALK protein expression in the presence of its gene translocation increases progression risk 4.3-fold irrespective of histological type of the tumor ($p = 0.025$). During the 5-year observation period, death due to stage I–II disease progression was observed in 27.1 % of cases. Intensity of CD133 and ALK expression in cases with fatal outcome and without it was the same. ABCB5⁺ cancer stem cells were more common in cases of fatal outcome (61.5 % of cases) than in cases without it (34.3 % of cases) ($p = 0.085$). Five-year overall survival of patients with ABCB5 expression was 56 %, without it – 82 %. The presence of ABCB5 increased the risk of death in patients with localized stages of cutaneous melanoma 3.7-fold irrespective of the presence of CD133 ($p = 0.041$).

Conclusion. ALK protein expression and presence of ABCB5 cancer stem cells can serve as additional unfavorable prognostic factors in stage I–II cutaneous melanoma.

Keywords: cutaneous melanoma, unfavorable prognostic factor, cancer stem cell, anaplastic lymphoma kinase, ABCB5, CD133

For citation: Titov K.S., Markin A.A., Zaripov G.M., Sorokina M.V. Prognostic significance of cancer stem cells and ALK expression in patients with stage I–II cutaneous melanoma. *Sarkomy kostei, miagkikh tkanei i opukholi kozhi = Bone and Soft Tissue Sarcomas, Tumors of the Skin* 2025;17(1):67–77. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2219-4614-2025-17-1-67-77>

Введение

Меланома кожи (МК) представляет собой агрессивную злокачественную неэпителиальную опухоль и является основной причиной смерти пациентов с онкодерматологическими заболеваниями (80 % случаев). Заболеваемость МК как в Российской Федерации, так и во всем мире ежегодно растет. Так, если в 2013 г. в России данная патология была впервые выявлена у 3,39 тыс. человек, то в 2023 г. — у 5,2 тыс., причем в 80,3 % случаев диагностирована МК I–II стадии [1, 2].

Прогноз МК ранних стадий, как правило, благоприятный, однако, по данным L.A. von Schuckmann и соавт., примерно у 13,4 % пациентов с заболеванием I стадии в течение 2 лет отмечается прогрессия опухоли, вероятность которой возрастает с увеличением стадии. Так, если при МК IB и IIA стадий она наблюдалась в 5,7 и 16,5 % случаев соответственно, то при МК IIB и IIC стадий — в 19,4 и 24,4 % случаев соответственно [3]. С целью снижения риска прогрессии МК ранних стадий необходим поиск дополнительных прогностических маркеров, среди которых в последние годы особое место отводится стволовым опухолевым клеткам (СОК).

Стволовые опухолевые клетки встречаются во многих злокачественных новообразованиях, в том числе в МК [4]. Они обладают способностью к самообновлению за счет асимметричных и симметричных делений, что дает начало всем линиям более дифференцированных пролиферирующих опухолевых клеток и поддерживает тем самым опухолевый рост. Считается, что СОК возникают в результате мутаций в нормальных стволовых клетках. Помимо этого, возможен механизм обратной дифференцировки других клеток, в норме не являющихся стволовыми [5]. СОК представляют собой динамически преобразующуюся популяцию, которая может изменять собственный фенотип в зависимости от сигналов микроокружения. Маркерами стволовых клеток меланомы являются CD20, CD271, CD38, CD44, SOX10, ALDH, CD133 и ABCB5 [6, 7]. Для обнаружения стволовых клеток в МК чаще всего используются ABCB5 и CD133.

Несмотря на обнаружение различных субпопуляций СОК, авторы отмечают, что их онкогенный потенциал является противоречивым. С одной стороны, результаты многих исследований показали, что наличие экспрессии ABCB5 и CD133 ассоциировано с устойчивостью к лекар-

ственным препаратам при многих злокачественных опухолях, в том числе при МК [8–10]. Также описано, что клетки, экспрессирующие CD133, способствуют образованию периваскулярных ниш, что усиливает рост опухоли и последующее метастазирование [11]. С другой стороны, по данным Е. Quintana и соавт., при инъекции мышам опухолевых клеток, выделенных у пациентов с МК, опухоль формировалась независимо от экспрессии маркеров СОК [12, 13]. Таким образом, результаты исследований показывают отсутствие повышенного онкогенного потенциала СОК меланомы [12, 13].

Еще одним потенциальным прогностическим фактором меланомы, который на сегодняшний день не до конца изучен, является киназа анапластической лимфомы (ALK), которая представляет собой рецепторную тирозинкиназу. Результаты исследования С. Urso показывают, что транслокация *ALK* ведет к экспрессии белка ALK и активации большого количества сигнальных путей, например, Ras-ERK, JAK3-STAT3, PI3K-Akt, способствующих усиленной клеточной пролиферации и выживаемости опухолевых клеток [14].

Распространенность транслокации гена *ALK* с экспрессией его белка при МК варьирует от 0,8 до 16 % [15, 16]. При этом отмечается, что данное нарушение является и при доброкачественных меланоцитарных новообразованиях. Так, обнаружено, что около 11 % невусов Шпица содержит мутации в гене *ALK*, которые также определяют в 3 % случаев шпигподобной МК [17].

С учетом низкой распространенности транслокации гена *ALK* при МК данных об этом нарушении крайне мало, а при МК I–II стадии вообще нет.

Цель исследования – оценка прогностического значения СОК (CD133⁺ и ABCB5⁺) и экспрессии белка ALK в первичной опухоли у пациентов с МК I–II стадии.

Материалы и методы

Дизайн исследования. В исследование включены 48 пациентов с МК I–II стадии (30 – с поверхностно-распространяющейся формой, 18 – с узловой), с 2016 по 2017 г. получавших хирургическое или комбинированное лечение в Московском клиническом научно-практическом центре им. А.С. Логинова. Средний возраст больных составил 64,5 года (межквартильный интервал – 42,0–73,5).

У всех пациентов в ходе стандартного патоморфологического исследования определяли толщину опухоли по Бреслоу, наличие изъязвления эпидермиса, лимфоцитарной инфильтрации и митотический индекс. Также оценивали экспрессию маркеров СОК ABCB5, CD133 и ALK.

Иммуногистохимическое и генетическое исследование меланомы кожи. Дополнительно проведено иммуногистохимическое исследование операционного материала, полученного от пациентов с МК I–II стадии с использованием антител к маркерам СОК: для вы-

явления экспрессии CD133 – кроличьих поликлональных антител CD133 (клон ab140667, разведение 1:100) (Abcam, США), для выявления экспрессии ABCB5 – моноклональных мышинных антител (клон 5h3C6, разведение 1:200) (Abcam, США). Оценку результатов проводили с помощью светового микроскопа NIKON Eclipse 80i. Экспрессию маркеров СОК оценивали с использованием шкалы интенсивности экспрессии, согласно которой 0 – отсутствие экспрессии, 1+ – слабая экспрессия, 2+ – умеренная экспрессия, 3+ – выраженная экспрессия. Для дальнейшего анализа экспрессия маркеров СОК выражалась в виде бинарной величины. В 1-ю группу вошли пациенты с отсутствием экспрессии или низкой экспрессией этих маркеров, во 2-ю – с умеренной/выраженной экспрессией.

Дополнительно с помощью иммуногистохимического метода анализировали экспрессию ALK на срезах, изготовленных с тех же блоков. Исследование с моноклональным антителом D57.3 к ALK проводили на иммуноштейнере Ventana (Roche, США). В качестве системы детекции для ALK использовали иммуноштейнер Ventana. Далее на ALK⁺-образцах проводили полимеразную цепную реакцию для подтверждения транслокации гена *ALK*.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ данных проводили с помощью программного обеспечения Jamovi (версия 2.2.5).

Для оценки 5-летних безрецидивной (БРВ) и общей (ОВ) выживаемости пациентов с МК I–II стадии использовали кривые Каплана–Мейера, для оценки риска зависимости выживаемости от наличия того или иного исследуемого фактора – критерий Манталя–Кокса. Дополнительно для определения прогностического значения выбранных предикторов применяли однофакторный и многофакторный регрессионные анализы Кокса. Различия и факторы при каждом анализе считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

За 5-летний период наблюдения у 25 % (12/48) пациентов с МК I–II стадии отмечено прогрессирование заболевания. Сравнительная характеристика больных в зависимости от прогрессии опухоли представлена в табл. 1. Установлено, что у пациентов с прогрессированием заболевания чаще отмечалось наличие негативных стандартных патоморфологических факторов прогноза по сравнению с пациентами без прогрессирования: в большем числе случаев наблюдались изъязвление (в 83,3 и 47,2 % случаев соответственно; $p = 0,029$), заболевание II стадии (в 83,3 и 25 % случаев соответственно; $p = 0,006$), узловая форма меланомы (в 75 и 25 % случаев соответственно; $p = 0,006$), большая толщина по Бреслоу (3,5 и 0,6 мм соответственно; $p < 0,001$), а также была характерна более высокая митотическая активность.

Таблица 1. Характеристика пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от наличия прогрессии опухоли**Table 1.** Characteristics of the patients with stage I–II cutaneous melanoma depending on tumor progression status

Показатель Parameter	Нет прогрессии (n = 36) No progression (n = 36)	Есть прогрессия (n = 12) Progression (n = 12)	p
Медиана возраста (Q ₁ –Q ₃), лет Median age (Q ₁ –Q ₃), years	60,5 (41,0–73,3)	67,0 (57,8–72,8)	0,425
Гистологический тип меланомы, n (%): Histological type of melanoma, n (%):			
узловая nodular	9 (25,0)	9 (75,0)	0,006*
поверхностно-распространяющаяся superficial spreading	27 (75,0)	3 (25,0)	
Стадия, n (%): Stage, n (%):			
I	27 (75,0)	2 (16,7)	0,006**
II	9 (25,0)	10 (83,3)	
Медиана толщины опухоли по Бреслоу (Q ₁ –Q ₃), мм Median Breslow depth (Q ₁ –Q ₃), mm	0,6 (0,5–1,5)	3,5 (1,8–5,0)	<0,001
Изъязвление эпидермиса, n (%) Epidermal ulceration, n (%)	17 (47,2)	10 (83,3)	0,029***
Митотический индекс, n (%): Mitotic index, n (%):			
0	16 (44,4)	2 (16,7)	0,086***
≥1	20 (55,6)	10 (83,3)	
Наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, n (%) Presence of tumor-infiltrating lymphocytes, n (%)	33 (91,7)	11 (91,7)	1,000**
Наличие экспрессии ABCB5, n (%) Presence of ABCB5 expression, n (%)	13 (36,1)	7 (58,3)	0,310*
Интенсивность окраски ABCB5, n (%): ABCB5 staining intensity, n (%):			
отсутствует/слабая absent/weak	25 (69,4)	6 (50,0)	0,300**
умеренная/выраженная moderate/marked	11 (30,6)	6 (50,0)	
Наличие экспрессии CD133, n (%) Presence of CD133 expression, n (%)	11 (30,6)	6 (50,0)	0,300**
Интенсивность окраски CD133, n (%): CD133 staining intensity, n (%):			
отсутствует/слабая absent/weak	26 (72,2)	6 (50,0)	0,145**
умеренная/выраженная moderate/marked	10 (27,8)	6 (50,0)	
Наличие экспрессии ALK, n (%) Presence of ALK expression, n (%)	3 (8,3)	4 (33,3)	0,034***

*Показатель определен с помощью χ^2 -критерия с поправкой Йейтса. **Показатель определен с помощью точного критерия Фишера. ***Показатель определен с помощью χ^2 -критерия.

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия. Q₁ – 1-й квартиль; Q₃ – 3-й квартиль; ALK – киназа анапластической лимфомы.

*Coefficient calculated with χ^2 -test with Yates's correction. **Coefficient calculated using Fisher's exact test. ***Coefficient calculated using the χ^2 -test.
Note. Statistically significant differences are shown in bold. Q₁ – 1st quartile; Q₃ – 3rd quartile; ALK – anaplastic lymphoma kinase.

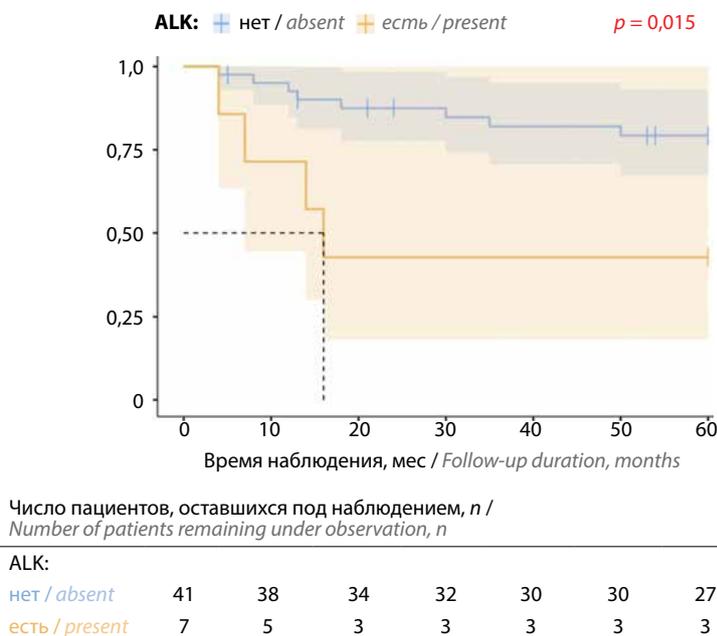


Рис. 1. Пятилетняя безрецидивная выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от наличия экспрессии киназы анапластической лимфомы (ALK) (кривые Каплана–Майера)

Fig. 1. Five-year recurrence-free survival in patients with stage I–II cutaneous melanoma depending on the presence of anaplastic lymphoma kinase (ALK) expression (Kaplan–Meier curves)

При сравнении наличия экспрессии маркеров СОК (АВСВ5 и CD133) различий между пациентами с прогрессией МК и без нее выявлено не было. Выраженность экспрессии АВСВ5 и CD133 была также аналогичной. При этом установлено, что у больных с прогрессией МК чаще наблюдалась гиперэкспрессия ALK. Так, она выявлена у 33,3 % пациентов с прогрессией опухоли и только у 8,3 % больных без нее ($p = 0,034$).

На следующем этапе проводили анализ 5-летней БРВ пациентов в зависимости от наличия ALK как единственного статистически значимо различающегося прогностического фактора МК. Результаты анализа представлены на рис. 1.

Показатели 5-летней БРВ у пациентов с МК и экспрессией ALK были статистически значимо ниже, чем у пациентов без экспрессии ALK ($p = 0,015$): 43 и 79 % соответственно. При наличии ALK средний срок до прогрессии МК составил 31,6 мес, при ее отсутствии – 52,1 мес (рис. 1).

В ходе однофакторного регрессионного анализа Кокса установлено, что наличие экспрессии ALK повышает риск прогрессии опухоли при МК I–II стадии в 4 раза (относительный риск (ОР) 4,004; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,198–13,386; $p = 0,024$) (табл. 2). Аналогичная закономерность наблюдалась при построении многофакторной модели с учетом гистологического типа МК (см. табл. 2). Выявлено, что наличие экспрессии ALK в 4,3 раза повышает риск

прогрессии опухоли локальных форм независимо от гистологического типа опухоли (ОР 4,288; 95 % ДИ 1,200–15,323; $p = 0,025$).

За 5-летний период наблюдения за пациентами с МК I–II стадии летальный исход по различным причинам произошел в 13 (27,1 %) случаях. Характеристика пациентов в зависимости от летального исхода представлена в табл. 3. Установлено, что, как и в случае с прогрессией опухоли, для умерших больных было характерно наличие стандартных неблагоприятных прогностических факторов: чаще отмечались изъязвления в структуре опухоли, более высокая митотическая активность, большая толщина опухоли по Бреслоу. Однако, несмотря на явную тенденцию к снижению ОВ при наличии негативных стандартных факторов прогноза, различия были статистически незначимыми при пограничных уровнях значимости. Единственным статистически значимо различающимся параметром оказался гистологический тип опухоли: у умерших пациентов чаще, чем у выживших, встречалась узловая МК (в 61,5 и 28,6 % случаев соответственно; $p = 0,049$).

Различий в уровнях экспрессии CD133, а также ALK между пациентами с летальным исходом и без него выявлено не было. АВСВ5⁺-СОК чаще встречались у больных с летальным исходом (61,5 % случаев), чем у выживших больных (34,3 % случаев), однако различия имели пограничный уровень значимости ($p = 0,085$).

Таблица 2. Влияние экспрессии киназы анапластической лимфомы (ALK) на риск прогрессии меланомы кожи I–II стадии (по данным регрессионного анализа Кокса)**Table 2.** The effect of anaplastic lymphoma kinase (ALK) expression on the risk of progression of stage I–II cutaneous (per Cox regression analysis)

Показатель Parameter	Относительный риск (95 % доверительный интервал) Risk ratio (95 % confidence interval)	<i>p</i>
Однофакторная модель One-factor model		
Экспрессия ALK ALK expression	4,004 (1,198–13,386)	0,024
Многофакторная модель Multifactor model		
Экспрессия ALK ALK expression	4,288 (1,200–15,323)	0,025
Гистологический тип меланомы: Histological type of melanoma:		
узловая nodular	7,705 (2,019–29,400)	0,003
поверхностно-распространяющаяся superficial spreading	Референсное значение Reference value	

Примечание. Во всех случаях различия статистически значимы.

Note. In all cases, the differences are statistically significant.

Таблица 3. Характеристика пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от летального исхода**Table 3.** Characteristics of the patients with stage I–II cutaneous melanoma depending on fatal outcome

Показатель Parameter	Нет летального исхода (<i>n</i> = 35) Without fatal outcome (<i>n</i> = 35)	Летальный исход (<i>n</i> = 13) Fatal outcome (<i>n</i> = 13)	<i>p</i>
Медиана возраста (Q_1 – Q_3), лет Median age (Q_1 – Q_3), years	58,0 (41,0–73,0)	66,0 (62,0–78,0)	0,214
Гистологический тип меланомы, <i>n</i> (%): Histological type of melanoma, <i>n</i> (%):			
узловая nodular	28,6 (10,0)	61,5 (8,0)	0,049*
поверхностно-распространяющаяся superficial spreading	71,4 (25,0)	38,5 (5,0)	
Стадия, <i>n</i> (%): Stage, <i>n</i> (%):			
I	65,7 (23,0)	46,2 (6,0)	0,368**
II	34,3 (12,0)	53,8 (7,0)	
Медиана толщины опухоли по Бреслоу (Q_1 – Q_3), мм Median Breslow depth (Q_1 – Q_3), mm	0,7 (0,5–2,0)	1,5 (0,6–5,0)	0,082
Изъязвление эпидермиса, <i>n</i> (%) Epidermal ulceration, <i>n</i> (%)	48,6 (17,0)	76,9 (10,0)	0,078***
Митотический индекс, <i>n</i> (%): Mitotic index, <i>n</i> (%):			
0	45,7 (16,0)	15,4 (2,0)	0,092*
≥1	54,3 (19,0)	84,6 (11,0)	
Наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, <i>n</i> (%) Presence of tumor-infiltrating lymphocytes, <i>n</i> (%)	91,4 (32,0)	92,3 (12,0)	1,000*
Наличие экспрессии ABCB5, <i>n</i> (%) Presence of ABCB5 expression, <i>n</i> (%)	34,3 (12,0)	61,5 (8,0)	0,085**

Окончание табл. 3
End of table 3

Показатель Parameter	Нет летального исхода (n = 35) Without fatal outcome (n = 35)	Летальный исход (n = 13) Fatal outcome (n = 13)	p
Интенсивность окраски ABCB5, n (%): ABCB5 staining intensity, n (%):			
отсутствует/слабая absent/weak	68,6 (24,0)	53,9 (7,0)	0,498**
умеренная/выраженная moderate/marked	31,4 (11,0)	46,2 (6,0)	
Наличие экспрессии CD133, n (%) Presence of CD133 expression, n (%)	34,3 (12,0)	38,5 (5,0)	1,000*
Интенсивность окраски CD133, n (%): CD133 staining intensity, n (%):			
отсутствует/слабая absent/weak	65,7 (23,0)	69,2 (9,0)	1,000*
умеренная/выраженная moderate/marked	34,3 (12,0)	30,8 (4,0)	
Наличие экспрессии ALK, n (%) Presence of ALK expression, n (%)	11,4 (4,0)	23,1 (3,0)	0,370*

*Показатель определен с помощью точного критерия Фишера. **Показатель определен с помощью χ^2 -критерия с поправкой Йейтса. ***Показатель определен с помощью χ^2 -критерия.

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия. Q_1 – 1-й квартиль; Q_3 – 3-й квартиль; ALK – киназа анапластической лимфомы.

*Coefficient calculated using Fisher's exact test. **Coefficient calculated with χ^2 -test with Yates's correction. ***Coefficient calculated using the χ^2 -test.
Note. Statistically significant differences are shown in bold. Q_1 – 1st quartile; Q_3 – 3rd quartile; ALK – anaplastic lymphoma kinase.

На следующем этапе работы мы оценили 5-летнюю ОВ пациентов в зависимости от наличия экспрессии ABCB5 как единственного дополнительного прогно-

стического фактора с пограничным уровнем значимости летального исхода. Результаты анализа представлены в виде кривых Каплана–Майера (рис. 2).

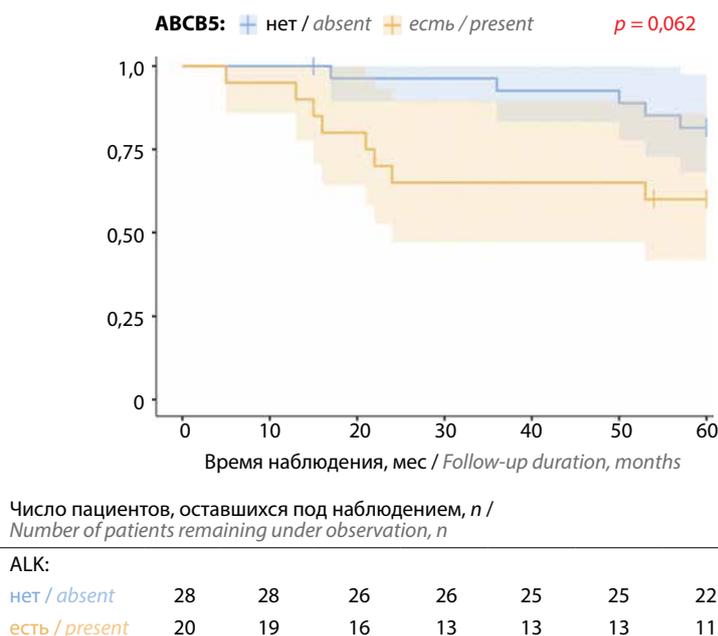


Рис. 2. Пятилетняя общая выживаемость пациентов с меланомой кожи I–II стадии в зависимости от наличия в опухоли экспрессии ABCB5 (кривые Каплана–Майера)

Fig. 2. Five-year overall survival of patients with stage I–II cutaneous melanoma depending on the presence of ABCB5 expression in the tumor (Kaplan–Meier curves)

Согласно данным, представленным на рис. 2, 5-летняя ОВ пациентов с экспрессией ABCB5 была ниже, чем пациентов без нее, однако различия оказались статистически незначимыми при пограничном уровне значимости ($p = 0,086$). Пятилетняя ОВ пациентов с наличием и отсутствием экспрессии ABCB5 составила 56 и 82 % соответственно. Средний срок до прогрессирования заболевания при экспрессии ALK оказался равен 31,6 мес, при ее отсутствии – 52,1 мес. Средний срок до летального исхода при ABCB5⁻ составил 56,8 мес, при ABCB5⁺ – 44,5 мес.

В ходе однофакторного регрессионного анализа Кокса установлено, что наличие экспрессии ABCB5 у пациентов с МК I–II стадии ассоциировано с повышением риска летального исхода при пограничном уровне значимости (ОР 2,771; 95 % ДИ 0,905–8,484; $p = 0,074$) (табл. 4).

Аналогичная закономерность наблюдалась по результатам многофакторной модели с учетом маркеров СОК (CD133 и ABCB5) и гистологического типа МК (см. табл. 4). Показано, что экспрессия ABCB5 ассоциирована с повышением риска летального исхода независимо от гистологического типа опухоли и наличия CD133⁺ при пограничном уровне достоверности (ОР 3,102; 95 % ДИ 0,881–10,924; $p = 0,078$). При ис-

ключении из модели гистологического типа опухоли выявлено, что при экспрессии ABCB5 в 3,7 раза возрастает риск летального исхода у пациентов с локальными стадиями МК независимо от наличия экспрессии CD133 (ОР 3,719; 95 % ДИ 1,056–13,106; $p = 0,041$).

Обсуждение

В ходе 5-летнего периода наблюдения установлено, что дополнительными факторами неблагоприятного прогноза МК I–II стадии являются наличие экспрессии ALK и СОК с экспрессией ABCB5.

ABCB5 – представитель суперсемейства белков-транспортёров ABC, обеспечивающих транспорт разных веществ – от малых (ионов и липидов) до крупных (лекарственных препаратов и токсинов) молекул – через клеточные мембраны [8]. Показано, что этот белок вовлечен в формирование лекарственной устойчивости опухолевых клеток к таргетным препаратам и цитостатикам при МК [8], что дает основание считать его фактором неблагоприятного прогноза. Результаты исследований показывают, что циркулирующие опухолевые клетки, экспрессирующие ABCB5, характеризуются высокой экспрессией матриксных металлопротеиназ, молекул клеточной адгезии и ангиогенных факторов при МК как I–II, так и III–IV стадии. Это

Таблица 4. Влияние наличия экспрессии CD133 и ABCB5 на риск летального исхода у пациентов с локальными формами меланомы кожи (по данным регрессионного анализа Кокса)

Table 4. Effect of the presence of CD133 and ABCB5 expression in the risk of death in patients with local forms of cutaneous melanoma (per Cox regression analysis)

Показатель Parameter	Относительный риск (95 % доверительный интервал) Risk ratio (95 % confidence interval)	<i>p</i>
Однофакторная модель One-factor model		
Экспрессия ABCB5 ABCB5 expression	2,771 (0,905–8,484)	0,074
Многофакторная модель 1 Multifactor model 1		
Экспрессия ABCB5 ABCB5 expression	3,719 (1,056–13,106)	0,041
Экспрессия CD133 CD133 expression	0,550 (0,156–1,935)	0,351
Многофакторная модель 2 Multifactor model 2		
Экспрессия ABCB5 ABCB5 expression	3,102 (0,881–10,924)	0,078
Экспрессия CD133 CD133 expression	0,572 (0,164–1,994)	0,381
Гистологический тип меланомы: Histological type of melanoma:		
узловая nodular	2,930 (0,942–9,113)	0,063
поверхностно-распространяющаяся superficial spreading	Референсное значение Reference value	–

Примечание. Жирным шрифтом выделены статистически значимые различия.

Note. Statistically significant differences are shown in bold.

указывает на повышенный инвазивный фенотип опухолевых клеток ABCB5⁺ [18]. Данный факт подтверждается результатами исследования S. Wang и соавт., которые установили, что ABCB5⁺-СОК при МК имеют более высокий метастатический потенциал по сравнению с ABCB5⁻-СОК, что делает данный маркер потенциальной терапевтической мишенью [19].

В работе T. Gambichler и соавт. указано, что экспрессия ABCB5 увеличивается в ряду «невус — диспластический невус — первичная меланома — метастазы в лимфатических узлах — отдаленные метастазы». Однако в ходе многофакторного анализа с учетом гистологического подтипа МК данный маркер не обладал прогностической значимостью в отношении выживаемости при более распространенных формах опухоли [20]. Схожие данные получены и в настоящей работе: выявлено, что при наличии ABCB5⁺-СОК наблюдалось увеличение частоты прогрессии МК I–II стадии, но различия при этом были статистически незначимыми. Это указывает на отсутствие прогностической роли данного маркера [21, 22]. Иные данные получены относительно ОВ пациентов, показатели которой при наличии ABCB5⁺ были несколько ниже, чем при отсутствии экспрессии этого маркера при пограничном уровне значимости различий ($p = 0,062$).

В ходе многофакторного анализа с учетом наличия СОК, экспрессирующих CD133, выявлено, что независимо от экспрессии этого маркера при ABCB5⁺-фенотипе в 3,7 раза увеличивается риск летального исхода (ОР 3,719; 95 % ДИ 1,056–13,106; $p = 0,041$).

Еще одним маркером СОК, изученным в рамках настоящего исследования, является CD133, также известный как проминин-1. Он представляет собой трансмембранный гликопротеин, который идентифицирован как показатель различных популяций стволовых клеток, встречающихся в том числе при МК [23]. Согласно результатам исследований CD133 характеризуется повышенной онкогенностью, инвазивностью и устойчивостью к лекарственной терапии, что в значительной степени способствует метастазированию МК [24, 25]. В работе B.K. Sharma и соавт. показано, что экспрессия транскриптов матричной РНК (мРНК) CD133⁺ у пациентов с ОВ менее 10 мес в 15–30 раз выше, чем у пациентов с ОВ более 24 мес. Таким образом, можно предположить, что клональное доминирование CD133⁺-клеток ассоциировано с прогрессией опухоли [11]. Полученные нами данные не подтверждают такую взаимосвязь. Мы выявили, что наличие CD133⁺-СОК и 5-летняя ОВ и БРВ не взаимосвязаны, что может быть обусловлено небольшим объемом выборки, включающей пациентов с МК I–II стадии, имеющих относительно благоприятный прогноз.

Согласно данным литературы транслокация гена *ALK* ассоциирована с патогенезом многих опухолей и может

играть большую роль при меланоцитарных новообразованиях [26]. Так, результаты исследования I.U. Perkins и соавт. показали, что транслокация этого гена является драйверной мутацией, запускающей канцерогенез меланомы из врожденных гигантских меланоцитарных невусов [27]. По данным H.-T.Niu и соавт., транслокации *ALK* при акральная МК, встречающиеся в 6,9 % случаев, ассоциированы с неблагоприятным прогнозом [28]. Результаты метаанализа J. Xia и соавт. показали, что мутации в гене *ALK* часто встречаются при паннегативных МК с отсутствием 5 известных драйверных мутаций — в генах *BRAF*, *NRAS*, *KIT*, *GNAQ* и *GNA11* [29]. В ходе анализа данных проекта «Атлас ракового генома» (The Cancer Genome Atlas) установлено, что экспрессия мРНК *ALK* в образцах кожи пациентов с МК в 1,8 раза выше, чем в образцах здоровых добровольцев. Экспрессия *ALK* ассоциирована с повышением риска летального исхода и уменьшением в 7,6 раза показателей ОВ [16].

Результаты представленных выше исследований указывают на неблагоприятную роль *ALK* при МК. Однако в этих работах не учитывались стадия заболевания и гистологический тип опухоли. В настоящем исследовании этот недочет устранен. Мы выявили, что наличие экспрессии *ALK* в 4,3 раза повышает риск прогрессии МК I–II стадии при 5-летнем периоде наблюдения независимо от гистологического типа опухоли, который сам по себе также является фактором прогрессии и в 7,7 раза увеличивает ее риск при узловой форме меланомы. При этом, в отличие от результатов анализа данных онкогенома [16], взаимосвязь экспрессии *ALK* и ОВ пациентов не обнаружена. Однако у умерших больных гиперэкспрессия *ALK* отмечалась в 2 раза чаще по сравнению с выжившими (в 23,1 и 11,4 % случаев соответственно). Тем не менее различия были статистически незначимыми, что может быть связано с небольшим объемом выборки, включающей только пациентов с МК I–II стадии.

Противоположные результаты получены в работе D.-D. Jia и T. Li, которые выявили, что в азиатской популяции экспрессия *ALK*, обнаруженная у 41 % пациентов с МК, ассоциирована с эффективностью иммунотерапии и благоприятным прогнозом [30]. У больных с этой опухолью и экспрессией мРНК *ALK* наблюдались более высокие показатели БРВ независимо от наличия мутаций в генах *BRAF*, *NRAS* и *KIT*, однако данный феномен не до конца понятен [30].

Заключение

Результаты исследования продемонстрировали, что дополнительными неблагоприятными факторами прогноза при МК I–II стадии при 5-летнем периоде наблюдения за пациентами являются наличие ABCB5⁺-СОК и экспрессии *ALK*. Экспрессия *ALK* ассоциирована со снижением показателей 5-летней БРВ независимо

от гистологического типа опухоли, а экспрессия маркера СОК ABCB5 — с ухудшением показателей 5-летней ОВ пациентов независимо от экспрессии CD133. Описанные нами дополнительные прогностические факторы

могут выступать в качестве потенциальных терапевтических мишеней для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на улучшение результатов лечения пациентов с МК I—II стадии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадова. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 276 с.
Malignant neoplasms in Russia, 2023 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena — filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 276 p. (In Russ.).
2. Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 262 с.
The state of cancer care in Russia in 2023. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena — filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 262 p. (In Russ.).
3. Von Schuckmann L.A., Hughes M.C.B., Ghiasvand R. et al. Risk of melanoma recurrence after diagnosis of a high-risk primary tumor. *JAMA Dermatol* 2019;155(6):688–93. DOI: 10.1001/jamadermatol.2019.0440
4. Mu X., Zhou Y., Yu Y. et al. The roles of cancer stem cells and therapeutic implications in melanoma. *Front Immunol* 2024;15:1486680. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1486680
5. Kusienicka A., Bukowska-Strakova K., Cieśla M. et al. Heme oxygenase-1 has a greater effect on melanoma stem cell properties than the expression of melanoma-initiating cell markers. *Int J Mol Sci* 2022;23(7):3596. DOI: 10.3390/ijms23073596
6. Chen H., Jiang Y., Li X. Adriamycin-loaded exosome with anti-CD20 aptamers selectively suppresses human CD20+ melanoma stem cells. *Skin Res Technol* 2023;29(1):e13259. DOI: 10.1111/srt.13259
7. Zhang Y., Peng J., Du H. et al. Identification and validation of immune- and stemness-related prognostic signature of melanoma. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:755284. DOI: 10.3389/fcell.2021.755284
8. Gerard L., Duvivier L., Fournier M. et al. Identification of two novel heterodimeric ABC transporters in melanoma: ABCB5 β /B6 and ABCB5 β /B9. *J Biol Chem* 2024;300(2):105594. DOI: 10.1016/j.jbc.2023.105594
9. Weng C.-H., Wu C.-S., Wu J.-C. et al. Cisplatin-induced giant cells formation is involved in chemoresistance of melanoma cells. *Int J Mol Sci* 2020;21(21):7892. DOI: 10.3390/ijms21217892
10. Jamal S.M.E., Alamodi A., Wahl R.U. et al. Melanoma stem cell maintenance and chemo-resistance are mediated by CD133 signal to PI3K-dependent pathways. *Oncogene* 2020;39(32):5468–78. DOI: 10.1038/s41388-020-1373-6
11. Sharma B.K., Manglik V., O’Connell M. et al. Clonal dominance of CD133+ subset population as risk factor in tumor progression and disease recurrence of human cutaneous melanoma. *International journal of oncology* 2012;41(5):1570–6. DOI: 10.3892/ijo.2012.1590
12. Quintana E., Shackleton M., Sabel M.S. et al. Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature* 2008;456(7222):593–8. DOI: 10.1038/nature07567
13. Quintana E., Shackleton M., Foster H.R. et al. Phenotypic heterogeneity among tumorigenic melanoma cells from patients that is reversible and not hierarchically organized. *Cancer Cell* 2010;18(5):510–23. DOI: 10.1016/j.ccr.2010.10.012
14. Urso C. Spitz tumors and melanoma in the genomic age: a retrospective look at ackerman’s conundrum. *Cancers* 2023;15(24):5834. DOI: 10.3390/cancers15245834
15. Yeh I., Jorgenson E., Shen L. et al. Targeted genomic profiling of acral melanoma. *J Natl Cancer Inst* 2019;111(10):1068–77. DOI: 10.1093/jnci/djz005
16. Saifullah, Tsukahara T. Integrated analysis of the clinical consequence and associated gene expression of ALK in ALK-positive human cancers. *Heliyon* 2022;8(7):e09878. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e09878
17. Wiesner T., He J., Yelensky R. et al. Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun* 2014;5:3116. DOI: 10.1038/ncomms4116
18. Rapanotti M.C., Campione E., Suarez Viguria T.M. et al. Stem-mesenchymal signature cell genes detected in heterogeneous circulating melanoma cells correlate with disease stage in melanoma patients. *Front Mol Biosci* 2020;7:92. DOI: 10.3389/fmolb.2020.00092
19. Wang S., Tang L., Lin J. et al. ABCB5 promotes melanoma metastasis through enhancing NF- κ B p65 protein stability. *Biochem Biophys Res Commun* 2017;492(1):18–26. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.08.052
20. Gambichler T., Petig A.-L., Stockfleth E. Expression of SOX10, ABCB5 and CD271 in melanocytic lesions and correlation with survival data of patients with melanoma. *Clin Exp Dermatol* 2016;41(7):709–16. DOI: 10.1111/ced.12928
21. Титов К.С., Казаков А.М., Барышникова М.А., Маркин А.А. Влияние стволовых клеток опухоли на прогноз при локализованной меланоме кожи. *Вопросы онкологии* 2020;66(5):535–9. DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-5-535-539
Titov K.S., Kazakov A.M., Baryshnikova M.A., Markin A.A. The effect of tumor stem cells on prognosis in localized skin melanoma. *Voprosy onkologii = Issues of Oncology* 2020;66(5):535–9. (In Russ.). DOI: 10.37469/0507-3758-2020-66-5-535-539
22. Титов К.С., Барышникова М.А., Казаков А.М. и др. Прогностическое значение стволовых клеток опухоли и экспрессии ALK у пациентов с первичной меланомой кожи. *Практическая онкология* 2019;20(1):72–9. DOI: 10.31917/2001072
23. Titov K.S., Kazakov A.M., Baryshnikova M.A. et al. Prognostic value of tumor stem cells and ALK expression in patients with primary skin melanoma. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2019;20(1):72–9. (In Russ.). DOI: 10.31917/2001072
24. Sabău A.-H., Niculescu R., Cocuz I.-G. et al. Characterizing CD133 and NANOG expression in melanoma: associations with histological and epidemiological parameters. *Medicina (Kaunas, Lithuania)* 2024;60(10):1658. DOI: 10.3390/medicina60101658
25. Simbulan-Rosenthal C.M., Islam N., Haribabu Y. et al. CD133 stimulates cell proliferation via the upregulation of amphiregulin in melanoma. *Cells* 2024;13(9):777. DOI: 10.3390/cells13090777
26. Kharouf N., Flanagan T.W., Alamodi A.A. et al. CD133-dependent activation of phosphoinositide 3-kinase /AKT/Mammalian target of rapamycin signaling in melanoma progression and drug resistance. *Cells* 2024;13(3):240. DOI: 10.3390/cells13030240
27. Cao S., Nambudiri V.E. Anaplastic lymphoma kinase in cutaneous malignancies. *Cancers* 2017;9(9):123. DOI: 10.3390/cancers9090123
28. Perkins I.U., Tan S.Y., McCalmont T.H. et al. Melanoma in infants, caused by a gene fusion involving the anaplastic lymphoma kinase (ALK). *Pigment Cell Melanoma Res* 2024;37(1):6–14. DOI: 10.1111/pcmr.13115

28. Niu H.-T., Zhou Q.-M., Wang F. et al. Identification of anaplastic lymphoma kinase break points and oncogenic mutation profiles in acral/mucosal melanomas. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013;6(5):646–53. DOI: 10.1111/pcmr.12129
29. Xia J., Jia P., Hutchinson K.E. et al. A meta-analysis of somatic mutations from next generation sequencing of 241 melanomas: a road map for the study of genes with potential clinical relevance. *Mol Cancer Ther* 2014;13(7):1918–28. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0804
30. Jia D.-D., Li T. Comprehensive insights on genetic alterations and immunotherapy prognosis in Chinese melanoma patients. *Sci Rep* 2024;14(1):16607. DOI: 10.1038/s41598-024-65065-6

Вклад авторов

К.С. Титов: разработка дизайна исследования;

А.А. Маркин: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи;

Г.М. Запиров, М.В. Сорокина: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

K.S. Titov: development of research design;

A.A. Markin: review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, article writing;

G.M. Zapiro, M.V. Sorokina: review of publications on the topic of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.С. Титов / K.S. Titov: <https://orcid.org/0000-0003-4460-9136>

А.А. Маркин / A.A. Markin: <https://orcid.org/0000-0002-9180-9264>

Г.М. Запиров / G.M. Zapiro: <https://orcid.org/0000-0003-22347-4615>

М.В. Сорокина / M.V. Sorokina: <https://orcid.org/0000-0002-4436-8101>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Статья подготовлена без спонсорской поддержки.

Funding. The article was prepared without external funding.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы».

Пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committees of A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center of the Moscow Healthcare Department.

The patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 14.11.2024. **Принята к публикации:** 09.01.2025. **Опубликована онлайн:** 31.03.2025.

Article submitted: 14.11.2024. **Accepted for publication:** 09.01.2025. **Published online:** 31.03.2025.