

ГАЛЕКТИНЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ: АССОЦИАЦИЯ ИХ СОДЕРЖАНИЯ С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ОПУХОЛИ И ПРОГНОЗОМ

Н.Е. Кушлинский^{1,2*}, О.В. Ковалева¹, Ю.Б. Кузьмин^{1,2}, А.А. Алферов^{1,2}, Н.Н. Зыбина³, А.Н. Грачев¹, З.З. Мамедли¹, О.О. Янушевич², И.И. Стилиди¹

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

² ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва

³ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург

GALECTINS IN THE BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER: ASSOCIATION OF THEIR CONTENT WITH CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF TUMORS AND PROGNOSIS

N.E. Kushlinski^{1,2*}, O.V. Kovaleva¹, Yu.B. Kuzmin^{1,2}, A.A. Alferov^{1,2}, N.N. Zyбина³, A.N. Gratchev¹, Z.Z. Mamedli¹, O.O. Yanushevich², I.I. Stilidi¹

¹ Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russian Federation

² Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

³ Nikiforov All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine EMERCOM of Russia, Saint-Petersburg, Russian Federation

* E-mail: biochimia@yandex.ru

Аннотация

Ввиду многогранности онкологических заболеваний функциональная роль галектинов достаточно противоречива, однако для многих типов новообразований данные маркеры играют роль промотора опухолевого роста. **Цель** – анализ содержания галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных колоректальным раком (КРР) и их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом. **Материалы и методы.** В исследование были включены 140 больных КРР, гистологически аденокарцинома толстой кишки (средний возраст – 60.7 года), и 20 здоровых доноров (средний возраст – 54.7 года). Концентрацию галектинов-1, -7, -9 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа Human Galectin-1, -7, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса. Анализ общей выживаемости выполняли по методу Каплана – Майера. Сравнение статистической значимости различий между показателями проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Для оценки потенциального влияния различных факторов риска на выживаемость дополнительно выполняли многофакторный анализ с использованием модели пропорциональных рисков Кокса. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p \leq 0.05$. **Результаты.** У больных КРР медиана концентрации галектина-9 была достоверно выше, чем в группе контроля: 11.05 (8.64–14.83) нг/мл в сравнении с 9.61 (6.73–13.03) нг/мл ($p = 0.049$). По содержанию галектина-1 и галектина-7 достоверных различий получено не было. Провели анализ диагностической информативности содержания галектинов сыворотки крови с учетом чувствительности и специфичности каждого маркера с помощью построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC). Проведенный анализ не выявил значимых ассоциаций с клинико-морфологическими характеристиками опухоли больных КРР, однако необходимо отметить тенденцию к повышению содержания галектина-9 в сыворотке крови пациентов с отдаленными метастазами и при прорастании опухоли всех слоев стенки кишки (T3–T4). Однофакторный анализ выявил благоприятную прогностическую значимость галектина-7 ($p = 0.05$). Для галектина-9 наблюдали тенденцию к благоприятному прогнозу при высоких уровнях маркера. Регрессионный анализ уровней исследованных галектинов методом Кокса показал отсутствие прогностической значимости содержания галектинов-1, -7 и -9 в сыворотке крови больных КРР. Обнаружили прямую корреляционную связь между уровнями галектина-1 и галектина-9 ($r = 0.216$, $p = 0.01$), для галектина-7 такой закономерности не выявлено. **Заключение.** Необходимо продолжить исследование галектинов у больных КРР в сочетании с другими биохимическими маркерами для разработки комплексных диагностических панелей в клинической онкологической практике.

Ключевые слова: галектин-1, галектин-7, галектин-9, колоректальный рак, сыворотка крови, прогноз.

Abstract

Due to the variety of oncologic diseases, the functional role of galectins is rather controversial; however, for many types of neoplasms these markers plays a role of a tumor growth promoter. **Purpose.** To study the content of galectins -1, -7, -9 in the blood serum of patients with colorectal cancer and to find any association with clinical and morphological characteristics of tumors and prognosis. **Materials**

and methods. The present trial included 140 patients with colorectal cancer (mean age 60.7 years) and 20 healthy donors (mean age 54.7 years). Clinical diagnosis in all patients was confirmed with morphological examination of tumors using International Histological Classification of Tumors of the Digestive System (WHO, 2019). Colon adenocarcinoma was confirmed in all of them. Galectins -1, -7, -9 concentrations in blood serum were tested with conventional techniques (before the described method) using the reagent kits for direct enzyme immunoassay [Human Galectin 1, -7, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems)] according to the manufacturer's instructions. Measurements were made at automatic immunoenzyme analyzer BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Germany). The obtained data were processed with GraphPad Prism 9.0 program. Nonparametric Mann–Whitney and Kruskal–Wallis techniques were used while comparing the obtained indicators and analyzing their relationships. The overall survival rate was calculated with Kaplan – Meier method. Comparison of statistical significance of differences between indicators was made with the logarithmic rank test. To assess the potential impact of various risk factors at patient's survival, a multivariate analysis was additionally performed using nonparametric Cox proportional hazards model. Differences and correlations were considered statistically significant at $p < 0.05$. **Results.** In CRC patients, median concentration of galectin-9 was significantly higher than in the control group: 11.05 (8.64–14.83) ng/mL vs. 9.61 (6.73–13.03) ng/mL ($p = 0.049$). No significant differences were obtained for galectin-1 and galectin-7. We analyzed diagnostic informativity of the studied blood serum galectins, taking into account sensitivity and specificity of each marker by constructing ROC curves and calculating the area under them (AUC). The analysis performed did not reveal any significant associations with clinical and morphological characteristics of the tumor in colorectal cancer patients. However, it should be noted that there is a tendency to the increased level of galectin-9 in the blood serum of patients with distant metastases and in case of tumor invading into all layers of the intestinal wall (T3–T4). An univariate analysis revealed a favorable prognostic significance of galectin-7 ($p = 0.05$). High levels of marker galectin-9 showed a trend toward favorable prognosis. The regression analysis of the studied galectin levels by Cox technique showed the absence of prognostic significance of the content of galectins -1, -7 and -9 in the blood serum of colorectal cancer patients. A direct correlation was found between levels of galectin-1 and galectin-9 ($r = 0.216$; $p = 0.01$); no such pattern was found for galectin-7. **Conclusion.** Further studies of galectins in colorectal cancer patients in combination with other biochemical markers are needed, so as to develop comprehensive diagnostic panels in clinical oncological practice.

Key words: galectin-1, galectin-7, galectin-9, colorectal cancer, blood serum, prognosis.

Ссылка для цитирования: Кушлинский Н.Е., Ковалева О.В., Кузьмин Ю.Б., Алферов А.А., Зыбина Н.Н., Грачев А.Н., Мамедли З.З., Янушевич О.О., Стилиди И.И. Галектины в сыворотке крови больных колоректальным раком: ассоциация их содержания с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2023; 3: 50–55.

Введение

Лектины представляют собой семейство белков, способных связываться с остатками углеводов на поверхности клеток. Они экспрессируются в различных тканях и могут функционально влиять на судьбу клеток [1, 2]. Галектины, или галактозид-связывающие лектины, являются растворимыми эндогенными лектинами, вовлеченными в многочисленные процессы жизнедеятельности клеток, включая пролиферацию, адгезию, межклеточные взаимодействия и др. У позвоночных охарактеризовано более 16 галектинов, которые часто классифицируются по их общей структуре на галектины-прототипы, галектины химерного типа и галектины с тандемными повторами [3].

Галектины – белки с широким спектром экспрессии и множеством функций. Некоторые из них (галектин-1, галектин-3) широко экспрессированы во многих клетках и тканях организма, в то время как для других (галектин-7) охарактеризован крайне узкий спектр экспрессии. Галектины выполняют множество подчас противоположных биологических функций в организме человека, однако молекулярный принцип их действия еще предстоит изучить.

В опухолях экспрессия галектинов не только связана с адгезией опухолевых клеток или метастазированием, но также участвует в регуляции иммунного ответа вследствие взаимодействия с различными рецепторами. В настоящее время известно, что некоторые белки данного семейства могут в перспективе стать скрининговыми маркерами онкологических заболеваний. Одним из членов семейства галектинов является белок галектин-9, который кодируется геном *LGALS9*, расположенным на коротком плече

хромосомы 17q11.2. Галектин-9 идентифицирован в эмбриональных почках мыши и тканях лимфомы Ходжкина человека в 1997 г. [4, 5] и содержит два различных, но гомологичных домена распознавания углеводов на N-конце и C-конце. Эти два домена соединены линкерными пептидами, в зависимости от длины которых выделяют три изоформы данного белка. В отличие от галектина-1 и галектина-3, которые экспрессируются практически во всех типах клеток и тканей, галектин-9 имеет более ограниченный профиль экспрессии и экспрессируется в основном эпителиальными клетками желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), тимусом и эндотелиальными клетками, а также лейкоцитами и фибробластами [6–8]. Галектины, включая галектин-9, не могут секретироваться через обычный секреторный путь из-за отсутствия гидрофобных сигнальных пептидов [9]. Недавно было показано, что галектин-9 секретируется по неклассическому пути с участием экзосом [10, 11]. Основными функциями галектина-9 являются организация доменов клеточной мембраны, определение степени индукции, необходимой для активации сигнальных путей, и ограничение времени презентации рецепторов на клеточной поверхности. В контексте онкологических заболеваний эти функции галектина-9 вовлечены в апоптоз, адгезию, миграцию, рост опухоли, инвазию и метастазирование [12]. В целом галектин-9 играет иммуносупрессорную роль в опухолевом микроокружении, связываясь с несколькими рецепторами, экспрессируемыми на иммунных клетках. Первоначально галектин-9 был идентифицирован в качестве лиганда для Т-клеточного иммуноглобулина и муцин-доменсодержащей молекулы 3 (TIM-3), индуци-

рующего гибель Т-клеток [13]. На сегодняшний день показано, что связывание галектина-9 с рецептором Dectin-1 способствует М2-поляризации макрофагов и подавлению противоопухолевого иммунного ответа [14]. Также было показано, что галектин-9 способствует дифференцировке регуляторных Т-клеток (Tregs) вследствие взаимодействия с CD44 и их экспансии и связывания с PD-1 [15, 16]. Недавно показано, что галектин-9 способен связываться в качестве лиганда с негативным регулятором Т-клеток VISTA, что повышает его иммуносупрессорную активность [17]. Широкое присутствие галектина-9 на клетках хозяина указывает на важную, но сложную роль этого лектина, биологические эффекты которого опосредованы многочисленными рецепторами с различными и часто противоположными функциями.

Галектин-1 является первым идентифицированным белком семейства галектинов, представляет собой гомодимер, состоящий из субъединиц размером 14,5 кДа. Он экспрессируется в большинстве типов клеток и тканей, имеет цитоплазматическую, мембранную и ядерную локализацию. Стоит отметить, что данный белок не содержит сигнального пептида и секретируется напрямую через плазматическую мембрану, минуя классический путь экзоцитоза [18]. Повышенная экспрессия галектина-1 часто ассоциирована с различными патологическими процессами, включая канцерогенез и опухолевую прогрессию. Внутриклеточный галектин-1 способствует проведению сигналов от различных онкогенов, например H-Ras [19], в то время как внеклеточный галектин-1 может осуществлять взаимодействие с внеклеточным матриксом, способствуя, например, агрегации клеток [18]. Повышенная экспрессия и секреция галектина-1 продемонстрированы для многих типов опухолей, а высокий уровень его экспрессии в сыворотке крови часто ассоциирован с неблагоприятным прогнозом у онкологических больных. В контексте колоректального рака (КРР) показано, что галектин-1 способствует формированию иммуносупрессорного фенотипа Т-клеток опухолевого микроокружения и его инактивация может быть новым механизмом стратегий иммунотерапии [20].

Галектин-7 идентифицирован в 1995 г. в качестве маркера кератиноцитов при изучении различных кожных заболеваний [21]. Позднее его экспрессия выявлена в других типах эпителиальных клеток. Как и многие галектины, галектин-7 проявляет противоположные эффекты в отношении опухолевой прогрессии в зависимости от типа опухоли. С одной стороны, он может способствовать росту или развитию определенных типов злокачественных новообразований, а с другой стороны, подавлять их [22]. При этом большое количество исследований посвящено изучению возможности использования системного анализа галектинов в циркуляции как по отдельности, так и в сочетании с другими маркерами в качестве диагностических параметров при онкологических заболеваниях. Так, для диагностики КРР наиболее информативным оказалось использование сочетания панели маркеров CEA + CA19-9 + Galectin-4 для достижения наибольшей чувствительности теста [23]. Однако для многих других возможных сочетаний клиническая значимость еще не определена.

Цель исследования – анализ содержания галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных КРР и их ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом.

Материалы и методы

В исследование включены 140 больных КРР (средний возраст – 60,7 года) и 20 здоровых доноров (средний возраст – 54,7 года), проходивших обследование и лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все процедуры, выполненные в исследовании с участием больных и здоровых доноров, соответствуют этическим стандартам этического комитета организации и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участников получено информированное добровольное согласие. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019), у всех пациентов выявлена аденокарцинома толстой кишки.

Концентрацию галектинов-1, -7, -9 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа Human Galectin-1, -7, -9 Quantikine ELISA (R&D Systems) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркера выражали в нанogramмах или пикogramмах на 1 мл сыворотки крови.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы GraphPad Prism 9.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна – Уитни, Краскела – Уоллиса. Анализ общей выживаемости выполняли по методу Каплана – Майера. Сравнение статистической значимости различий между показателями проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Для оценки потенциального влияния различных факторов риска на выживаемость дополнительно выполняли многофакторный анализ с использованием непараметрической модели пропорциональных рисков Кокса. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

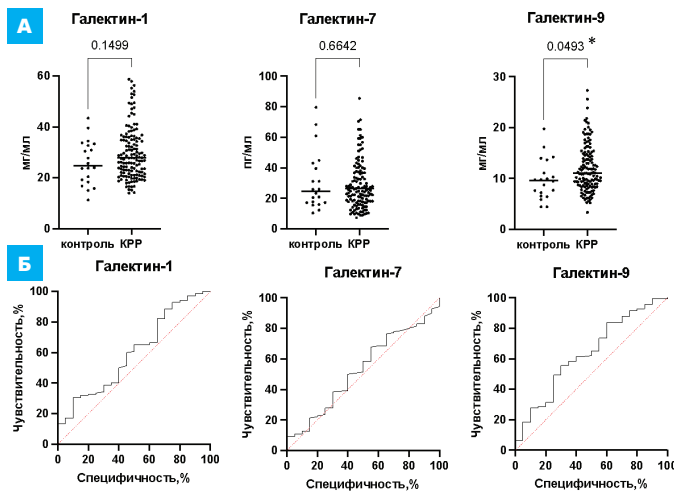
Результаты и обсуждение

У больных КРР медиана концентрации галектина-9 была достоверно выше, чем в группе контроля: 11.05 (8.64–14.83) нг/мл в сравнении с 9.61 (6.73–13.03) нг/мл ($p = 0.049$). Медиана концентрации галектина-1 в группе больных КРР составила 27.82 (21.74–36.06) нг/мл, в группе контроля – 24.83 (18.55–33.21) нг/мл ($p = 0.149$). Медиана концентрации галектина-7 в группе больных КРР равнялась 26.36 (18.21–41.31) нг/мл, в группе контроля – 24.69 (17.26–42.25) нг/мл ($p = 0.664$) (рис. 1А). Таким образом, по концентрации галектина-1 и галектина-7 достоверных различий получено не было.

Провели анализ диагностической информативности исследованных галектинов сыворотки крови с учетом чувствительности и специфичности каждого маркера с помощью построения ROC-кривых и вычисления площади под ними (AUC). Результаты представлены на рис. 1.

По результатам анализа выявлено, что содержание галектина-9 значимо выше в сыворотке крови пациентов с КРР по сравнению с контрольной группой, однако по данным ROC-анализа на сегодняшний день его нельзя использовать в диагностике данного заболевания.

Результаты анализа ассоциации содержания галектинов-1, -7 и -9 в сыворотке крови больных КРР с клинико-морфо-



* Статистически достоверные различия.

Рис. 1. Сравнительный анализ содержания галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных KRP и здоровых доноров: А – сравнительный анализ содержания галектинов -1, -7, -9 у больных KRP и здоровых доноров; Б – анализ ROC-кривых для галектинов-1, -7, -9 у больных KRP (площадь под ROC-кривой составляет 0.60 ($p=0.149$), 0.530 ($p=0.661$) и 0.636 ($p=0.049^*$) соответственно)

логическими характеристиками заболеваний представлены в табл. 1.

В результате анализа не выявлено значимых ассоциаций с клинко-морфологическими характеристиками опухоли больных KRP, однако необходимо отметить тенденцию к повышению содержания галектина-9 в сыворотке крови пациентов с отдаленными метастазами и при прорастании опухоли всех слоев стенки кишки (Т3–Т4).

Изучили роль галектинов-1, -7, -9 в прогнозе KRP. Для анализа показателей общей выживаемости пациентов распределили на две группы в зависимости от содержания исследуемых белков: с высоким и низким содержанием маркера относительно его медианы. Графики выживаемости больных KRP представлены на рис. 2.

Содержание галектина-1 в сыворотке крови не является прогностическим маркером у пациентов с KRP, в то время как галектин-7 является значимым прогностическим маркером данного заболевания ($p=0.05$). Для галектина-9 наблюдается тенденция к благоприятному прогнозу при высоких уровнях маркера ($p=0.082$). Данные однофакторного и многофакторного статистических анализов прогностической значимости исследованных маркеров представлены в табл. 2.

Регрессионный анализ уровней исследованных галектинов, проведенный методом Кокса, показал отсутствие про-

Таблица 1

Содержание галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных KRP с учетом клинко-морфологических характеристик опухоли

Характеристика	Галектин-1, нг/мл		Галектин-9, нг/мл		Галектин-7, пг/мл	
	Медиана (квартили)	p	Медиана (квартили)	p	Медиана (квартили)	p
Возраст, лет:						
≤ 60	25.99 (20.84–34.83)	0.167	10.94 (8.62–13.72)	0.433	26.36 (17.34–42.72)	0.440
>60	29.18 (23.33–36.16)		11.52 (8.66–16.04)		26.44 (18.31–40.6)	
Пол:						
мужской	29.08 (22.31–37.27)	0.075	10.53 (8.46–13.76)	0.147	31.05 (21.78–52.68)	0.001*
женский	26.07 (21.05–32.59)		11.8 (8.79–16.77)		22.38 (15.12–32.14)	
Стадия:						
I–II	27.21 (20.84–35.36)	0.459	10.35 (8.62–13.24)	0.124	26.99 (18.73–40.12)	0.778
III–IV	28.01 (22.91–36.36)		11.84 (8.59–15.64)		24.81 (17.97–45.42)	
Степень дифференцировки опухоли (G):						
G1	28.08 (20.8–33.96)	0.641	11.79 (9.18–16.8)	0.469	27.31 (20.04–42.67)	0.288
G2–G3	27.79 (21.06–36.46)		11.88 (9.03–15.09)		24.01 (17.26–42.26)	
Размер опухоли (T):						
T1–T2	28.99 (23.01–35.06)	0.752	9.59 (7.99–13.24)	0.076	24.81 (16.04–37.83)	0.398
T3–T4	27.79 (21.6–36.26)		11.71 (8.68–15.21)		27.08 (18.24–44.5)	
Наличие регионарных метастазов (N):						
N0	27.79 (21.17–35.99)	0.726	10.96 (8.64–13.96)	0.474	7.95 (18.21–41.31)	0.337
N1	28.08 (22.17–36.21)		11.23 (8.54–15.32)		22.97 (18.21–41.94)	
Наличие отдаленных метастазов (M):						
M0	27.97 (22.24–36.1)	0.401	10.5 (8.44–14.52)	0.067	27.08 (18.48–40.12)	0.602
M1	27.5 (20.61–35.47)		12.65 (9.56–16.47)		23.27 (16.34–54.32)	
Локализация:						
сигмовидная/ободочная кишка	27.5 (21.03–35.61)	1 vs 2=0.066	11.84 (9.37–15.29)	1 vs 2=0.008*	27.26 (17.89–41.31)	1 vs 2=0.542
прямая кишка	34.01 (26.09–39.46)	1 vs 3=0.716	8.95 (6.29–11.48)	1 vs 3>0.999	32.69 (21.54–45.89)	1 vs 3=0.914
слепая кишка	24.04 (18.7–29.88)	2 vs 3=0.039*	9.81 (8.46–14.52)	2 vs 3=0.81	22.91 (16.45–25.39)	2 vs 3=0.244
Отдел толстой кишки						
левый	29.23 (22.91–36.16)	0.021*	11.1 (8.86–15.18)	0.493	27.08 (17.78–41.63)	0.970
правый	23.75 (19.31–29.34)		10.36 (8.42–14.79)		24.75 (21.31–41.76)	

* Статистически достоверные различия.

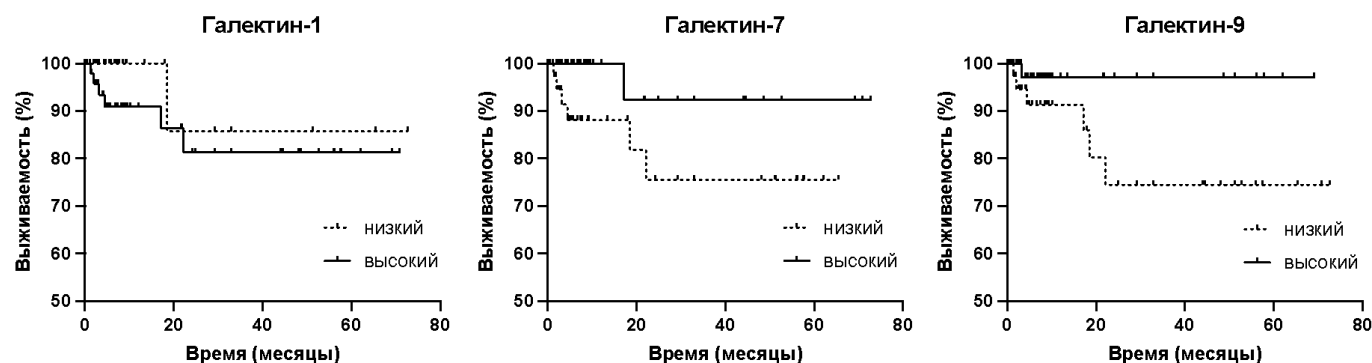


Рис. 2. Анализ общей выживаемости больных КРР в зависимости от медианы содержания галектина-1 (27.82 нг/мл), галектина-7 (26.36 пг/мл) и галектина-9 (11.05 нг/мл) в сыворотке крови

Таблица 2

Статистический анализ прогностической значимости галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных КРР

Исследуемые показатели	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	ОР	95% ДИ	p	ОР	95% ДИ	p
Галектин-1 (высокий/низкий)	3.041	0.633–14.59	0.275	1.011	0.935–1.059	0.652
Галектин-7 (высокий/низкий)	0.167	0.038–0.736	0.05*	0.988	0.914–1.005	0.568
Галектин-9 (высокий/низкий)	0.189	0.042–0.835	0.082	0.860	0.627–1.129	0.376

* Статистически достоверные различия.

Примечание. ОР – отношение рисков; 95% ДИ – 95%-ный доверительный интервал.

гностической значимости содержания галектинов-1, -7 и -9 в сыворотке крови больных КРР.

На заключительном этапе провели корреляционный анализ между содержанием исследованных галектинов-1, -7, -9 в сыворотке крови больных КРР. Так, концентрация галектина-1 прямо коррелировала с уровнем галектина-9 ($r = 0.216$, $p = 0.01$). Для галектина-7 закономерностей не выявлено.

Нами продемонстрировано, что содержание галектина-9 в сыворотке крови статистически значимо повышается у больных КРР по сравнению со здоровыми донорами, для исследованных галектинов-1 и -7 такой закономерности не выявлено. Также нами отмечено более высокое содержание галектина-9 при наличии метастатической формы заболевания, что согласуется с имеющимися немногочисленными литературными данными [24]. Несмотря на то что содержание галектина-9 повышается при развитии злокачественной опухоли, анализ его прогностической значимости продемонстрировал противоположные результаты, а именно его высокое содержание при КРР ассоциировано с лучшей выживаемостью пациентов. Также авторы показали, что тканевая экспрессия галектина-9 не коррелирует с содержанием его растворимой формы в циркуляции [25]. Результаты нашего исследования показали отсутствие прогностической значимости растворимой формы галектина-9 при КРР.

В отличие от растворимой формы функции внутриклеточного галектина-9 описаны достаточно хорошо. Так, экспрессия галектина-9 в опухолевых клетках КРР ниже, чем в окружающих нормальных тканях, и низкий уровень его экспрессии положительно коррелировал с низкой дифференцировкой и регионарным метастазированием. Пациенты с высоким уровнем тканевой экспрессии галектина-9 характеризовались лучшими показателями общей выживаемости. Также в тканях с высокой экспрессией галектина-9 наблюдали повышенную инфильтрацию естественными киллерами (NK) с помощью активации Rho/ROCK1 сигнального пути, и этот факт позволяет предположить, что снижение экспрессии данного белка является одним из механизмов ухода опухоли

от иммунологического надзора [26]. В другой работе показано, что гиперэкспрессия галектина-9 способствует апоптозу и подавляет пролиферацию клеток КРР. Одним из регуляторов экспрессии галектина-9 является miR-455-5p, которая непосредственно связывается с его 3'-нетранслируемой областью и снижает его экспрессию [27]. На экспериментальной модели КРР показано, что большинство инфильтрирующих опухоль CD8⁺ Т-клеток экспрессировали Tim-3 и при связывании галектина-9, секретируемого опухолевыми клетками, подвергались апоптозу. Антитела к Tim-3, блокирующие данное связывание, препятствовали апоптозу Т-клеток и, как следствие, подавляли рост опухолей у экспериментальных животных [28]. Также показано, что снижение экзоцитоза галектина-9 и присутствия его на клеточной поверхности с использованием фармакологических ингибиторов, вызывающих дисфункцию митохондрий, может быть новой стратегией для противоопухолевой иммунотерапии [29].

В одном из исследований, посвященных галектину-1, авторы показали, что повышение его содержания в циркуляции наблюдается уже на ранних стадиях заболевания, что делает его перспективным скрининговым маркером КРР [23]. Полученные нами данные продемонстрировали, что при КРР не выявлено значимого повышения содержания галектина-1 в сыворотке крови пациентов по сравнению со здоровыми донорами и при дальнейшем прогрессировании опухоли.

Интересные результаты продемонстрировали L.C. Lim и соавт. (2016), которые выявили, что содержание галектина-7 снижается в сыворотке крови больных КРР по сравнению с контрольной группой и при прогрессировании опухоли и данное изменение применимо к использованию в качестве диагностического маркера, однако в опухолях этих пациентов экспрессии галектина-7 не выявлено, что свидетельствует о его неопухолевом происхождении [30]. Нами показано, что содержание галектина-7 не различается между группами больных КРР и контролем, однако также заметили тенденцию к снижению содержания данного белка при прогрессировании заболевания.

Заключение

В исследовании были получены данные, свидетельствующие о достоверном повышении содержания галектина-9 в сыворотке крови больных КРР по сравнению со здоровыми донорами, для галектинов 1 и 7 такой закономерности выявлено не было. Однако растворимая форма галектина-9 не продемонстрировала прогностической значимости у данных пациентов. Данные других немногочисленных исследований также противоречивы.

В настоящее время галектины-1, -7, -9 не могут быть использованы в диагностике КРР. Необходимо продолжить исследование клинической значимости белков семейства галектинов у больных КРР в сочетании с другими биохимическими маркерами для разработки комплексных диагностических панелей в клинической онкологической практике.

Литература

- Sharon N. et al. Lectins as cell recognition molecules // *Science*. – 1989. – V. 246. – № 4927. – P. 227–234.
- Зыбина Н.Н. и др. Галектины: характеристика, роль в патогенезе, клиническом течении и прогнозе заболеваний // *Технологии живых систем*. – 2023. – Т. 20. – № 2. – С. 5–17. [Zybina N.N. et al. Galectins: characteristics, role in pathogenesis, clinical course and prognosis of diseases // *Technologies of Living Systems*. – 2023. – V. 20. – № 2. – P. 5–17. In Russian]
- Arthur C.M. et al. Evolving mechanistic insights into galectin functions. In: Stowell S.R., Cummings R.D., eds. *Galectins: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer New York. – 2015. – P. 1–35.
- Tureci O. et al. Molecular definition of a novel human galectin which is immunogenic in patients with Hodgkin's disease // *J Biol Chem*. – 1997. – V. 272. – № 10. – P. 6416–6422.
- Wada J. et al. Identification and characterization of galectin-9, a novel beta-galactoside-binding mammalian lectin // *J Biol Chem*. – 1997. – V. 272. – № 9. – P. 6078–6086.
- Chen X. et al. Intestinal epithelial cells express galectin-9 in patients with food allergy that plays a critical role in sustaining allergic status in mouse intestine // *Allergy*. – 2011. – V. 66. – № 8. – P. 1038–1046.
- Imaizumi T. et al. Interferon-gamma stimulates the expression of galectin-9 in cultured human endothelial cells // *J Leukoc Biol*. – 2002. – V. 72. – № 3. – P. 486–491.
- Morishita A. et al. Galectin-9 in gastroenterological cancer // *Int J Mol Sci*. – 2023. – V. 24. – № 7. – P. 6174.
- Hirashima M. et al. Galectin-9 in physiological and pathological conditions // *Glycoconj J*. – 2002. – V. 19. – № 7–9. – P. 593–600.
- Chabot S. et al. Regulation of galectin-9 expression and release in Jurkat T cell line cells // *Glycobiology*. – 2002. – V. 12. – № 2. – P. 111–118.
- Oomizu S. et al. Cell surface galectin-9 expressing Th cells regulate Th17 and Foxp3+ Treg development by galectin-9 secretion // *PLoS One*. – 2012. – V. 7. – № 11. – P. e48574.
- Moar P. et al. Galectin-9 as a biomarker of disease severity // *Cell Immunol*. – 2021. – V. 361. – P. 104287.
- Zhu C. et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity // *Nat Immunol*. – 2005. – V. 6. – № 12. – P. 1245–1252.
- Daley D. et al. Dectin 1 activation on macrophages by galectin 9 promotes pancreatic carcinoma and peritumoral immune tolerance // *Nat Med*. – 2017. – V. 23. – № 5. – P. 556–5567.
- Wu C. et al. Galectin-9-CD44 interaction enhances stability and function of adaptive regulatory T cells // *Immunity*. – 2014. – V. 41. – № 2. – P. 270–282.
- Madireddi S. et al. Regulatory T cell-mediated suppression of inflammation induced by DR3 signaling is dependent on galectin-9 // *J Immunol*. – 2017. – V. 199. – № 8. – P. 2721–2728.
- Yasinska I.M. et al. Ligand-receptor interactions of galectin-9 and VISTA suppress human T lymphocyte cytotoxic activity // *Front Immunol*. – 2020. – V. 11. – P. 580557.
- Camby I. et al. Galectin-1: a small protein with major functions // *Glycobiology*. – 2006. – V. 16. – № 11. – P. 137R–157R.
- Paz A. et al. Galectin-1 binds oncogenic H-Ras to mediate Ras membrane anchorage and cell transformation // *Oncogene*. – 2001. – V. 20. – № 51. – P. 7486–7493.
- Cagnoni A.J. et al. Galectin-1 fosters an immunosuppressive microenvironment in colorectal cancer by reprogramming CD8(+) regulatory T cells // *Proc Natl Acad Sci U S A*. – 2021. – V. 118. – № 21. – P. e2102950118.
- Madsen P. et al. Cloning, expression, and chromosome mapping of human galectin-7 // *J Biol Chem*. – 1995. – V. 270. – № 11. – P. 5823–5829.
- Saussez S. et al. Galectin-7 // *Cell Mol Life Sci*. – 2006. – V. 63. – № 6. – P. 686–697.
- Watanabe M. et al. Clinical significance of circulating galectins as colorectal cancer markers // *Oncol Rep*. – 2011. – V. 25. – № 5. – P. 1217–1226.
- Barrow H. et al. Serum galectin-2, -4, and -8 are greatly increased in colon and breast cancer patients and promote cancer cell adhesion to blood vascular endothelium // *Clin Cancer Res*. – 2011. – V. 17. – № 22. – P. 7035–7046.
- Sideras K. et al. Circulating levels of PD-L1 and galectin-9 are associated with patient survival in surgically treated hepatocellular carcinoma independent of their intratumoral expression levels // *Sci Reports*. – 2019. – V. 9. – № 1. – P. 10677.
- Wang Y. et al. Reduced expression of galectin-9 contributes to a poor outcome in colon cancer by inhibiting NK cell chemotaxis partially through the Rho/ROCK1 signaling pathway // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11. – № 3. – P. e0152599.
- Yang Q. et al. miR-455-5p functions as a potential oncogene by targeting galectin-9 in colon cancer // *Oncol Lett*. – 2017. – V. 13. – № 3. – P. 1958–1964.
- Kang C.W. et al. Apoptosis of tumor infiltrating effector TIM-3⁺CD8⁺ T-cells in colon cancer // *Sci Rep*. – 2015. – V. 5. – P. 15659.
- Sakhnevych S.S. et al. Mitochondrial defunctionalization suppresses Tim-3-Galectin-9 secretory pathway in human colorectal cancer cells and thus can possibly affect tumor immune escape // *Front Pharmacol*. – 2019. – V. 10. – № 342.
- Lim L.C. et al. Identification of differentially expressed proteins in the serum of colorectal cancer patients using 2D-DIGE proteomics analysis // *Pathol Oncol Res*. – 2016. – V. 22. – № 1. – P. 169–177.