



Оригинальная статья

Прогностическая значимость актин-связывающих белков фасцина и эзрина у больных плоскоклеточным раком головы и шеи

Кондакова И.В.¹ • Какурина Г.В.¹ • Колегова Е.С.¹ • Черемисина О.В.¹ • Коршунов Д.А.¹ • Бахронов И.А.¹ • Чойнзонов Е.Л.^{1,2}

Кондакова Ирина Викторовна – д-р мед. наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>

✉ 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, Российская Федерация. Тел.: +7 (3822) 28 26 97; +7 (906) 950 63 45. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

Какурина Гелена Валериевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Колегова Елена Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории биологии опухолевой прогрессии Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9122-3274>

Черемисина Ольга Владимировна – д-р мед. наук, заведующая отделением эндоскопии Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>

Коршунов Дмитрий Афанасьевич – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории биохимии опухолей Научно-исследовательского института онкологии¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>. E-mail: ieved@yandex.ru

Бахронов Ислон Аслидинович – аспирант отделения опухолей головы и шеи Научно-исследовательского института онкологии¹. E-mail: islom.fighter101@gmail.com

Чойнзонов Евгений Лхамцыренович – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий отделением опухолей головы и шеи, директор Научно-исследовательского института онкологии¹, заведующий кафедрой онкологии²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>. E-mail: choynzonov@gmail.com

Актуальность. В процессе неопластической трансформации эпителиальные клетки становятся подвижными, что служит одним из основных механизмов метастазирования и рецидивирования. Клеточная подвижность регулируется актин-связывающими белками, осуществляющими ассоциацию/диссоциацию актиновых филаментов между собой и с клеточной мембраной. Ранее нами показано присутствие актин-связывающих белков в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком головы и шеи (ПРГШ), однако недостаточно исследована их связь с развитием метастазов и рецидивов у онкологических больных.

Цель – исследовать уровень актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от рецидивирования и лимфогенного метастазирования. **Материал и методы.** У 30 пациентов с ПРГШ (T1-4N0-2M0), средний возраст 56 ± 7 лет, методом иммуноферментного анализа определяли уровни фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови до комбинированного лечения.

Результаты. Медианный уровень фасцина-1 был статистически значимо выше в сыворотке пациентов с лимфогенными метастазами по сравнению с больными без метастазов: 0,64 (0,40; 5,89) и 6,35 (1,72; 8,35) нг/мл соответственно ($p < 0,001$). В период от 12 до 36 месяцев после комбинированного лечения рецидив опухоли развился у 12 (40%) больных. Уровень эзрина был статистически значимо

выше в группе больных с рецидивированием по сравнению с больными ПРГШ, у которых рецидивы не развились в течение 3 лет после комбинированного лечения: 2,55 (2,35; 2,75) против 1,93 (1,87; 2,5) нг/мл ($p = 0,02$). По данным ROC-анализа выявлена связь содержания фасцина-1 в сыворотке крови с процессом метастазирования (AUC=0,71, 95% доверительный интервал 0,57–0,85) и связь содержания эзрина с развитием рецидивов (AUC=0,76, 95% доверительный интервал 0,57–0,94).

Заключение. Полученные показатели могут быть использованы для разработки малоинвазивных способов раннего обнаружения метастазов в лимфатических узлах и для прогноза рецидивирования ПРГШ.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак головы и шеи, рецидивирование, лимфогенное метастазирование, прогноз, актин-связывающие белки, фасцин, эзрин

Для цитирования: Кондакова ИВ, Какурина ГВ, Колегова ЕС, Черемисина ОВ, Коршунов ДА, Бахронов ИА, Чойнзонов ЕЛ. Прогностическая значимость актин-связывающих белков фасцина и эзрина у больных плоскоклеточным раком головы и шеи. Альманах клинической медицины. 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-006.

Поступила 26.11.2021; доработана 10.03.2022; принята к публикации 14.03.2022; опубликована онлайн 21.03.2022

¹ ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; 634050, г. Томск, Московский тракт, 2, Российская Федерация



Плоскоклеточный рак органов головы и шеи (ПРГШ) – актуальная и сложная проблема современной онкологии. В структуре общей заболеваемости он составляет 20% [1]. Ежегодно в мире появляется около 600 тыс. новых больных раком головы и шеи, а 5-летняя выживаемость варьирует в пределах 40–50% [2]. В Российской Федерации заболеваемость остается высокой и составляет 35 тыс. первичных больных ежегодно [3]. ПРГШ включает опухоли, развившиеся из плоского эпителия полости рта, глотки и гортани. Ввиду скрытого клинического течения, сложности анатомо-топографического строения, инфильтративного характера роста, раннего вовлечения в опухолевый процесс лимфоузлов, трудности диагностики и позднего обращения пациентов результаты лечения не всегда удовлетворительны. Часто диагностируются запущенные формы рака, выживаемость среди таких пациентов составляет около 40% [4]. Основной причиной летальности при ПРГШ выступают местные рецидивы и метастазы в лимфатические узлы шеи [5]. Общая частота метастатического поражения шейных лимфатических узлов достигает 60% [6]. Существует острая потребность в молекулярных маркерах, которые помогут прогнозировать развитие метастазов и рецидивов, обеспечить более эффективное и специфическое лечение ПРГШ, повысить выживаемость [7].

Молекулярные исследования показали, что ПРГШ имеет высокую степень генетической гетерогенности, что приводит к мутациям, связанным с потерей функции в генах-супрессорах опухолей, таких как p53 и p16INK4a, а также активации онкогенов, таких как рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) 4 и PIK3CA5 [8]. Установлена прогностическая значимость протеаз в отношении развития лимфогенных метастазов [9]. Протеомные исследования сыворотки крови выявили, что некоторые актин-связывающие белки могут быть определены в сыворотке крови больных ПРГШ [10]. Актин-связывающие белки регулируют перестройку цитоскелета во время эпителиально-мезенхимального перехода, обеспечивая подвижность клеток, что служит причиной появления циркулирующих опухолевых клеток, ответственных за развитие метастазов и рецидивов [11]. Ранее нами было показано присутствие актин-связывающих белков, в частности, эзрина и фасцина, в сыворотке крови больных ПРГШ [12].

Известно, что эзрин способствует метастазированию опухоли, однако молекулярные

механизмы этого пока не определены. Эзрин избыточно экспрессируется в ткани рака языка, может играть важную роль в миграции и инвазии и, таким образом, служить терапевтической мишенью при плоскоклеточных карциномах языка [13]. Определение уровня сывороточного эзрина предлагается в качестве маркера ранней диагностики при плоскоклеточном раке пищевода [14].

В процессе локомоции клеток ПРГШ важная роль принадлежит актин-связывающему белку фасцину, который вовлечен в формирование пучков актина [15]. Ингибирование фасцина-1 в клетках ПРГШ снижало миграцию и инвазию клеток карциномы *in vitro* и уменьшало метастазирование *in vivo*, а экспрессия этого показателя в инвазивном фронте опухолей была связана с опухолеспецифической смертностью на поздних стадиях [16]. Несмотря на то что экспрессия генов и уровень фасцина и эзрина в тканях активно исследуются, большой интерес представляют данные, полученные в результате изучения этих белков в сыворотке крови онкологических больных, так как это позволит разработать малоинвазивные способы прогнозирования метастазирования и рецидивирования заболевания.

Цель исследования – изучить уровни актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от рецидивирования и метастазирования.

Материал и методы

В исследование вошли 30 пациентов с ПРГШ (T1-4N0-2M0), поступивших на лечение в отделение опухолей головы и шеи НИИ онкологии Томского НИМЦ. Средний возраст пациентов составил 56 ± 7 лет. Диагноз был гистологически верифицирован, во всех случаях опухоли имели гистологическое строение плоскоклеточной карциномы разной степени дифференцировки. До проводимого исследования пациенты не получали специального лечения. В дальнейшем больным проводилось комбинированное лечение, которое заключалось в выполнении хирургического вмешательства на первичном опухолевом очаге и регионарном лимфатическом аппарате шеи (по показаниям) с пред- или послеоперационным курсом лучевой терапии или химиотерапией. Группу контроля составили 12 здоровых доноров, не имеющих хронических заболеваний верхних дыхательных путей в стадии обострения, их средний возраст был 47 ± 9 лет.

Работа проведена в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принци-



пы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266. Всеми пациентами было дано информированное согласие на проведение исследования.

Сыворотку крови больных и здоровых доноров получали для исследований в соответствии со стандартным протоколом и хранили при -80°C . Определение фасцина и эзрина в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом на микропланшетном ридере Multiskan FC 100 (ThermoFisher Scientific) с помощью наборов ELISA Kit for Fascin (FSCN1) (Cloud-Clone Corp.) и ELISA Kit for Cytovillin (CVL; Ezrin) (Cloud-Clone Corp.). Уровни фасцина и эзрина в сыворотке крови оценивали до начала комбинированного лечения.

Статистическую обработку результатов осуществляли с применением пакета программ Statistica 8.0 (StatSoft, Россия) и IBM SPSS Statistics 22.0. После проверки количественных показателей на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова – Смирнова использовался непараметрический критерий Манна – Уитни (U-test) для сравнения различий двух групп. Для количественных признаков рассчитывали медиану с интерквартильным размахом и выражали в таблицах как Me [Q25%; Q75%], где n – количество человек. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Чувствительность, специфичность и прогностическую значимость кандидатных маркеров определяли методом ROC-анализа (англ. receiver operating characteristic) по правилу расчета площадей под кривыми AUC (англ. area under curve) и указывали 95% доверительный интервал (95% ДИ). По результатам ROC-анализа выбирали точку отсечения (cut-off) исходя из оптимального соотношения «чувствительность/специфичность».

Результаты

На рис. 1 приведены данные по содержанию актин-связывающих белков фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови у больных ПРГШ по сравнению со здоровыми донорами. Значимых различий в уровнях изучаемых белков не наблюдалось, что связано, вероятно, с большим разбросом данных в группе пациентов с ПРГШ.

Изучение уровней актин-связывающих белков в сыворотке крови больных ПРГШ в зависимости от лимфогенного метастазирования

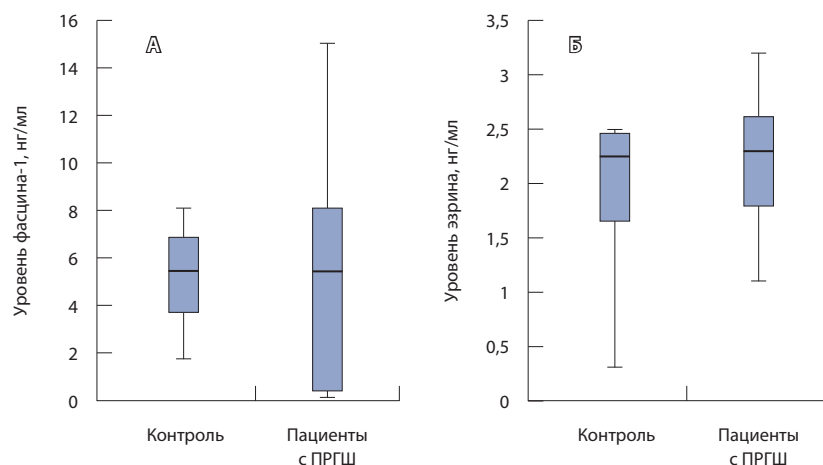


Рис. 1. Уровень фасцина-1 (А) и эзрина (Б) в сыворотке крови в группах больных плоскоклеточным раком области головы и шеи (ПРГШ) и контрольной группы

Таблица 1. Уровень фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком области головы и шеи до лечения в зависимости от лимфогенного метастазирования, Me (Q25%; Q75%)

Показатель, нг/мл	T2-3N0-M0 (n=21)	T2-3N1-2M0 (n=9)	Значение p
Фасцин-1	0,64 (0,40; 1,89)	6,35 (1,72; 8,35)	0,001
Эзрин	1,93 (1,6; 2,6)	2,20 (1,55; 2,60)	0,86

показало, что уровень фасцина-1 был статистически значимо выше в группе больных с метастазами по сравнению с пациентами без метастазов (табл. 1).

На следующем этапе работы было проведено исследование зависимости уровней исследуемых показателей в сыворотке крови от рецидивирования в течение 3 лет после комбинированного лечения больных ПРГШ. В представленной выборке пациентов прогрессирование опухолевого процесса наблюдалось у 12 (40%) больных за счет развития рецидивов опухоли в период от 12 до 36 месяцев. Уровень эзрина был статистически значимо выше в группе больных ПРГШ с рецидивированием по сравнению с больными, у которых рецидивы не развились (табл. 2). Это позволяет говорить о существовании зависимости развития рецидивов от уровня эзрина, определяемого в сыворотке крови до начала лечебных процедур.

Результаты ROC-анализа, с помощью которого рассчитывали перспективность определения уровней фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови для различения больных с метастазами и без них, а также больных с высоким и низким риском развития рецидивов, отражены на рис. 2.

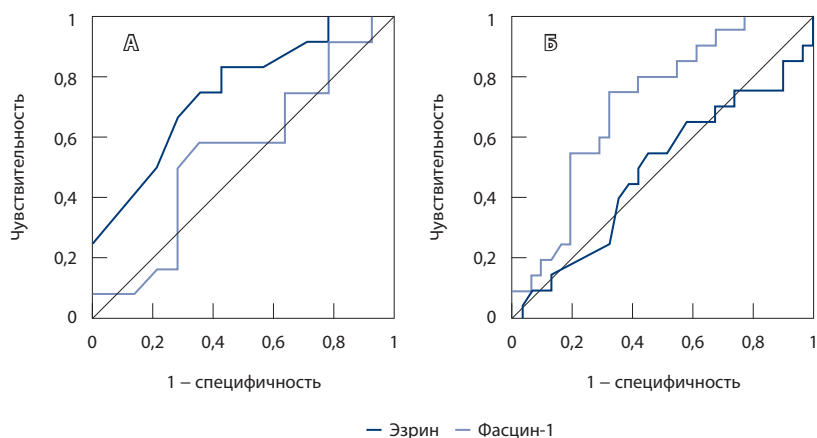


Рис. 2. ROC-анализ факторов прогноза рецидивирования (А) и лимфогенного метастазирования (Б) у больных плоскоклеточным раком области головы и шеи

Таблица 2. Уровень фасцина-1 и эзрина в сыворотке крови больных плоскоклеточным раком области головы и шеи в зависимости от развития рецидивов после комбинированного лечения, Me (Q25%; Q75%)

Показатель, нг/мл	R1 (n = 12)	R0 (n = 18)	Значение <i>p</i>
Фасцин-1	6,05 (0,52; 7,50)	1,18 (0,46; 7,08)	0,45
Эзрин	2,55 (2,35; 2,75)	1,93 (1,87; 2,5)	0,02

R1 – рецидив есть, R0 – рецидива нет

При изучении прогностической значимости белков в отношении рецидивирования выявлено, что для эзрина AUC равна 0,76 с 95% ДИ 0,57–0,94. Это позволяет классифицировать эзрин как удовлетворительный предиктор появления рецидивов в течение 3 лет у больных ПРГШ. Чувствительность прогноза составляет 75%, специфичность 70% при пороговом значении уровня эзрина (cut-off) более 2,10 нг/мл. Для фасцина-1 AUC была 0,55 с 95% ДИ 0,32–0,77, что говорит об отсутствии предсказательной значимости фасцина-1 в отношении развития рецидивов в течение 3 лет у больных ПРГШ в представленной выборке. Таким образом, рецидивы чаще выявлялись среди больных, в сыворотке крови которых уровень эзрина был выше 2,10 нг/мл. В случае развития лимфогенных метастазов для фасцина-1 AUC была равна 0,71 с 95% ДИ 0,57–0,85, что позволяет отнести его к удовлетворительным признакам лимфогенного метастазирования у больных ПРГШ. Чувствительность составила 75%, специфичность – 62% с пороговым значением (cut-off) для уровня фасцина-1 в сыворотке крови более 1,18 нг/мл. Для эзрина AUC = 0,49 с 95% ДИ 0,32–0,66, следовательно, он не связан с лимфогенным метастазированием.

Обсуждение

Поиск маркеров прогноза развития метастазов и рецидивов ПРГШ – одно из важных направлений молекулярной онкологии, так как основной причиной летальности при данной патологии становятся местные рецидивы и метастазы в лимфатические узлы. Общепринятым и основным критерием прогноза, который определяет тактику лечения больных, служит распространенность опухолевого процесса, однако эффективность лечения и исход заболевания далеко не всегда связаны с этим критерием [3]. Наличие метастазов в лимфатических узлах считается одним из неблагоприятных прогностических факторов у больных ПРГШ, сокращающим 5-летнюю выживаемость пациентов вдвое. В то же время известно, что около 25% пациентов имеют скрытые метастазы в лимфатические узлы [2]. Именно поэтому представляется невозможным использование клинико-морфологических прогностических факторов на ранних стадиях опухолевого процесса и при скрытых метастазах в лимфатические узлы, которые не определяются клинически [2]. Раннее обнаружение лимфогенных метастазов – необходимое условие планирования адекватного объема лечения онкологических больных. В связи с этим актуален поиск дополнительных молекулярных прогностических критериев, которые могли бы объективно отражать состояние опухолевой прогрессии и определять прогноз развития заболевания. Современные достижения молекулярной онкологии наряду с пониманием фундаментальных основ опухолевой прогрессии способствовали развитию практических приложений, связанных, в частности, с идентификацией белковых маркеров в сыворотке крови.

К числу показателей, которые могут служить перспективными маркерами метастазирования и рецидивирования ПРГШ, относятся актин-связывающие белки. В литературе представлены весьма скудные данные о возможности присутствия актин-связывающих белков в сыворотке крови. Известно, что к циркулирующим маркерам относится фасцин, который был обнаружен в интерстициальной жидкости опухолевого микроокружения пациентов с ПРГШ [17], и показано увеличение его содержания в сыворотке крови при раке легкого по сравнению со здоровыми донорами [18]. Ранее нами было подтверждено присутствие фасцина-1 в сыворотке крови больных ПРГШ [12].

В настоящей работе показана связь сывороточного уровня фасцина-1 с развитием лимфогенных метастазов у больных ПРГШ. Изучение



механизмов участия фасцина в опухолевом росте выявило, что белок специфически взаимодействует с F-актином с образованием параллельных пучков актина и участвует в регуляции клеточной адгезии, межклеточных взаимодействий и миграции [15]. Обнаружено увеличение экспрессии фасцина-1 в различных эпителиальных новообразованиях, включая ПРГШ. Кроме того, сверхэкспрессия фасцина-1 в ткани ПРГШ связана с инвазией и метастазированием рака [15, 19]. Ингибирование фасцина-1 микроРНК miR-145-5p, которая выполняет роль супрессора опухолей, снижало прогрессирование рака гортани [20]. Обнаруженная нами связь содержания фасцина-1 в сыворотке крови с процессом метастазирования позволяет утверждать, что формирование метастатического ПРГШ сопряжено с повышением уровня фасцина в сыворотке крови. Этот показатель можно рассматривать в качестве кандидатного маркера для прогноза метастазирования рака вышеуказанной локализации и для раннего обнаружения лимфогенных метастазов. Определение этого показателя позволит выделить группы больных с высокой вероятностью возникновения лимфогенного метастазирования, оптимизировать сроки динамического наблюдения больных и в случае прогрессирования заболевания принять своевременные лечебные меры.

Оценка частоты появления рецидивов у данной категории пациентов в течение 3 лет после комбинированного лечения выявила, что прогрессирование опухолевого процесса у 40% больных было отмечено за счет развития именно рецидивов опухоли. Изучение сывороточного уровня актин-связывающих белков показало наличие эзрина. Нами получены данные о связи сывороточного уровня эзрина с развитием рецидивов у больных ПРГШ. Прогностическая ценность уровня актин-связывающих белков в сыворотке крови в отношении появления рецидивов у больных ПРГШ была определена с помощью ROC-анализа, результаты которого обозначили

перспективы использования этого показателя для прогноза рецидивирования. Представленные результаты согласуются с данными литературы, указывающими на снижение безрецидивной выживаемости у больных с высоким содержанием эзрина в клетках ПРГШ [21]. Установлено, что эзрин вносит существенный вклад в развитие опухолевой прогрессии плоскоклеточного рака гортани и выступает фактором прогноза рака этой локализации [22]. Эзрин, будучи членом семейства белков «эзрин – радиксин – моэзин» (ERM), которое относится к белкам, связанным с цитоскелетом и клеточной мембраной, играет роль в ремоделировании нитей актина и межклеточной адгезии [13]. Сверхэкспрессия эзрина в тканях опухолей ассоциируется с инвазией и метастазами ПРГШ [14]. Таким образом, не только тканевая экспрессия эзрина может служить фактором прогноза течения заболевания, но и уровень этого белка в сыворотке крови может быть дополнительным фактором, позволяющим выявлять рецидивы ПРГШ. Полученные нами результаты позволяют глубже понять механизмы опухолевой прогрессии на системном уровне и разработать новые подходы к прогнозированию метастазирования и рецидивирования ПРГШ.

Заключение

У пациентов с ПРГШ выявлено повышение уровня фасцина-1 в сыворотке крови при лимфогенном метастазировании и повышение уровня эзрина в связи с рецидивированием опухолевого процесса. В совокупности наши данные показывают, что эзрин и фасцин-1 в сыворотке крови связаны с прогрессированием ПРГШ. Результаты, представленные в данной работе, создают фундаментальную базу для разработки малоинвазивных способов прогнозирования развития рецидивов и раннего обнаружения метастазов и обуславливают необходимость дальнейших исследований роли актин-связывающих белков в опухолевой прогрессии. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена в рамках Госзадания НИИ онкологии Томского НИМЦ на 2022 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

И.В. Кондакова – разработка дизайна исследования, анализ результатов, анализ научной работы, написание текста; Г.В. Какурина – исследование показателей в сыворотке крови методом

иммуноферментного анализа; Е.С. Колегова – статистическая обработка материала; О.В. Черемисина – проведение комплексного обследования, формирование групп пациентов; Д.А. Коршунов – обработка материала, составление базы данных; И.А. Бахронов – набор клинического материала; Е.Л. Чойнзонов – разработка концепции научной работы, утверждение итогового варианта текста рукописи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.



Литература / References

- Каприн АД, Старинский ВВ, Шахзадова АО, ред. Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена—филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2020. 252 с. [Kaprin AD, Starinskiy VV, Shahzadova AO, editors. Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality). Moscow: MNIIOI named after P.A. Herzen – branch of the FSBI "National Medical Research Center of Radiology" of the Ministry of Health of Russia; 2020. 252 p. Russian.]
- Marur S, Forastiere AA. Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: Update on Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2016;91(3):386–396. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.12.017.
- Чойнзонов ЕЛ, Кондакова ИВ, Спирина ЛВ, Лебедев ИН, Гольдберг ВЕ, Чижевская СЮ, Шишкин ДА, Уразова ЛН, Какурина ГВ, Бычков ВА, Хричкова ТЮ, Мельников АА. Плоскоклеточный рак головы и шеи: молекулярные основы патогенеза. Москва: Наука; 2016. 224 с. [Choinzonov EL, Kondakova IV, Spirina LV, Lebedev IN, Goldberg VE, Chizhevskaya SYu, Shishkin DA, Urazova LN, Kakurina GV, Bychkov VA, Khrichkova TYu, Melnikov AA. Squamous cell head and neck carcinoma: molecular bases of pathogenesis. Moscow: Nauka; 2016. 224 p. Russian.]
- Simard EP, Torre LA, Jemal A. International trends in head and neck cancer incidence rates: differences by country, sex and anatomic site. *Oral Oncol.* 2014;50(5):387–403. doi: 10.1016/j.oraloncology.2014.01.016.
- Vasan K, Low TH, Gupta R, Ashford B, Asher R, Gao K, Ch'ng S, Palme CE, Clark JR. Lymph node ratio as a prognostic factor in metastatic cutaneous head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2018;40(5):993–999. doi: 10.1002/hed.25066.
- Sacco AG, Cohen EE. Current Treatment Options for Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(29):3305–3313. doi: 10.1200/JCO.2015.62.0963.
- Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вопросы онкологии.* 2012;58(1):26–32. [Kakurina GV, Kondakova IV, Choinzonov EL. Prognosis of metastasis of squamous cell carcinomas of the head and neck. *Problems in Oncology.* 2012;58(1):26–32. Russian.]
- Alsahafi E, Begg K, Amelio I, Raulf N, Lucarelli P, Sauter T, Tavassoli M. Clinical update on head and neck cancer: molecular biology and ongoing challenges. *Cell Death Dis.* 2019;10(8):540. doi: 10.1038/s41419-019-1769-9.
- Спирина ЛВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шарова НП, Чижевская СЮ, Шишкин ДА. Активность и субъединичный состав протеасом в плоскоклеточных карциномах головы и шеи. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010;149(1):89–92. [Spirina LV, Kondakova IV, Choinzonov EL, Sharova NP, Chigevskay SY, Shishkin DA. Activity and subunit composition of proteasomes in head and cervical squamous cell carcinomas. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2010;149(1):89–92. Russian.]
- Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шишкин ДА, Черемисина ОВ. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2013;(2):62–66. [Kakurina GV, Kondakova IV, Choinzonov EL, Shishkin DA, Cheremisina OV. Assessment of blood serum proteome in patients with squamous cell head and neck carcinoma. *Siberian Journal of Oncology.* 2013;(2):62–66. Russian.]
- Tada H, Takahashi H, Ida S, Nagata Y, Chikamatsu K. Epithelial-Mesenchymal Transition Status of Circulating Tumor Cells Is Associated With Tumor Relapse in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res.* 2020;40(6):3559–3564. doi: 10.21873/anticancer.14345.
- Какурина ГВ, Шашова ЕЕ, Черемисина ОВ, Чойнзонов ЕЛ, Кондакова ИВ. Циркулирующие актин-связывающие белки при прогрессировании рака гортани и гортаноглотки. *Сибирский онкологический журнал.* 2020;19(4):88–93. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93. [Kakurina GV, Shashova EE, Cheremisina OV, Choinzonov EL, Kondakova IV. Circulating actin-binding proteins in progression of laryngeal and hypopharyngeal cancers. *Siberian Journal of Oncology.* 2020;19(4):88–93. Russian. doi: 10.21294/1814-4861-2020-19-4-88-93.]
- Saito S, Yamamoto H, Mukaisho K, Sato S, Higo T, Hattori T, Yamamoto G, Sugihara H. Mechanisms underlying cancer progression caused by ezrin overexpression in tongue squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2013;8(1):e54881. doi: 10.1371/journal.pone.0054881.
- Li L, Liu M, Lin JB, Hong XB, Chen WX, Guo H, Xu LY, Xu YW, Li EM, Peng YH. Diagnostic Value of Autoantibodies against Ezrin in Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Dis Markers.* 2017;2017:2534648. doi: 10.1155/2017/2534648.
- Bu M, Liu X, Liu X, Xu W. Upregulation of fascin-1 is involved in HIF-1 α -dependent invasion and migration of hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2019;55(2):488–498. doi: 10.3892/ijo.2019.4827.
- Wahab A, Hyytiäinen A, Wahbi W, Tuomainen K, Tervo S, Conesa-Zamora P, Jauhiainen L, Mäkinen LK, Paaavonen T, Toppila-Salmi S, Saleem A, Almagush A, Salo T, Al-Samadi A. The effect of fascin 1 inhibition on head and neck squamous cell carcinoma cells. *Eur J Oral Sci.* 2021;129(6):e12819. doi: 10.1111/eos.12819.
- Lee LY, Chen YJ, Lu YC, Liao CT, Chen IH, Chang JT, Huang YC, Chen WH, Huang CC, Tsai CY, Cheng AJ. Fascin is a circulating tumor marker for head and neck cancer as determined by a proteomic analysis of interstitial fluid from the tumor microenvironment. *Clin Chem Lab Med.* 2015;53(10):1631–1641. doi: 10.1515/cclm-2014-1016.
- Teng Y, Xu S, Yue W, Ma L, Zhang L, Zhao X, Guo Y, Zhang C, Gu M, Wang Y. Serological investigation of the clinical significance of fascin in non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer.* 2013;82(2):346–352. doi: 10.1016/j.lungcan.2013.08.017.
- Papaspyrou K, Brochhausen C, Schmidtman I, Fruth K, Gouveris H, Kirckpatrick J, Mann W, Brieger J. Fascin upregulation in primary head and neck squamous cell carcinoma is associated with lymphatic metastasis. *Oncol Lett.* 2014;7(6):2041–2046. doi: 10.3892/ol.2014.2007.
- Gao W, Zhang C, Li W, Li H, Sang J, Zhao Q, Bo Y, Luo H, Zheng X, Lu Y, Shi Y, Yang D, Zhang R, Li Z, Cui J, Zhang Y, Niu M, Li J, Wu Z, Guo H, Xiang C, Wang J, Hou J, Zhang L, Thorne RF, Cui Y, Wu Y, Wen S, Wang B. Promoter Methylation-Regulated miR-145-5p Inhibits Laryngeal Squamous Cell Carcinoma Progression by Targeting FSCN1. *Mol Ther.* 2019;27(2):365–379. doi: 10.1016/j.jymthe.2018.09.018.
- Schlecht NF, Brandwein-Gensler M, Smith RV, Kawachi N, Broughel D, Lin J, Keller CE, Reynolds PA, Gunn-Moore FJ, Harris T, Childs G, Belbin TJ, Prystowsky MB. Cytoplasmic ezrin and moesin correlate with poor survival in head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck Pathol.* 2012;6(2):232–43. doi: 10.1007/s12105-011-0328-1.
- Gao W, Zhang C, Feng Y, Chen G, Wen S, Huangfu H, Wang B. Fascin-1, ezrin and paxillin contribute to the malignant progression and are predictors of clinical prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma. *PLoS One.* 2012;7(11):e50710. doi: 10.1371/journal.pone.0050710.



The prognostic value of actin-binding proteins fascin and ezrin in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck

I.V. Kondakova¹ • G.V. Kakurina¹ • E.S. Kolegova¹ •
O.V. Cheremisina¹ • D.A. Korshunov¹ • I.A. Bakhronov¹ •
E.L. Choinzonov^{1,2}

Rationale: During neoplastic transformation, epithelial cells become mobile, which is one of the main mechanisms of metastatic disease and recurrence. Cell motility is regulated by actin-binding proteins, which ensure the association/dissociation of actin filaments and their interaction with the cell membrane. Previously, we have shown the presence of actin-binding proteins in the serum from patients with squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC); however, their association with the development of metastases and relapses in cancer patients has not been sufficiently studied.

Aim: To evaluate the serum levels of actin-binding proteins fascin-1 and ezrin in patients with HNSCC depending on the disease recurrence and lymphatic metastasis.

Materials and methods: Serum fascin-1 and ezrin levels before combination therapy were measured with ELISA assay in 30 HNSCC (T1-4N0-2M0) patients (mean age 56 ± 7 years).

Results: The median fascin-1 level was significantly higher in the patients with lymphatic metastases, compared to those without metastases: 0.64 (0.40; 5.89) vs 6.35 (1.72; 8.35) ng/mL, respectively ($p < 0.001$). At 12 to 36 months after combination therapy, the disease relapsed in 12 (40%) patients. Ezrin levels were significantly higher in

the relapsed patients, compared to those without a relapse within 3 years after combination therapy: 2.55 (2.35; 2.75) vs 1.93 (1.87; 2.5) ng/mL ($p = 0.02$). The ROC analysis showed an association between fascin-1 serum levels with metastatic disease (AUC = 0.71, 95% confidence interval 0.57–0.85) and an association between ezrin levels and the disease relapse (AUC = 0.76, 95% confidence interval 0.57–0.94).

Conclusion: These indicators can be used for the development of minimally invasive early detection of metastases in lymphatic nodes and for the prognosis of HNSCC recurrence.

Key words: squamous cell carcinoma of the head and neck, recurrence, lymphatic metastasis, prognosis, actin-binding proteins, fascin, ezrin

For citation: Kondakova IV, Kakurina GV, Kolegova ES, Cheremisina OV, Korshunov DA, Bakhronov IA, Choinzonov EL. The prognostic value of actin-binding proteins fascin and ezrin in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-006.

Received 26 November 2021; revised 10 March 2022; accepted 14 March 2022; published online 21 March 2022

Funding

The study was performed as a part of the State project of the Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, for 2022.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests as per this article.

Authors' contributions

I.V. Kondakova, design of the study, analysis of the results, analysis of the study, text writing; G.V. Kakurina, evaluating of indicators in serum with ELISA assay; E.S. Kolegova, statistical analysis; O.V. Cheremisina, complete medical examination practice, patient groups recruitment; D.A. Korshunov, data management, creating a database; I.A. Bakhronov, clinical data collection; E.L. Choinzonov, the study concept, approval of the final version of the manuscript. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Irina V. Kondakova – MD, PhD, Professor, Head of Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0947-8778>

✉ 5 Kooperativnyy per., Tomsk, 634009, Russian Federation. Tel.: +7 (3822) 28 26 97; +7 (906) 950 63 45. E-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

Gelena V. Kakurina – MD, PhD, Senior Research Fellow, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-9429>. E-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

Elena S. Kolegova – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Biology of Tumor Progression, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9122-3274>

Olga V. Cheremisina – MD, PhD, Head of Department of Endoscopy, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7234-4708>

Dmitriy A. Korshunov – MD, PhD, Research Fellow, Laboratory of Tumor Biochemistry, Cancer Research Institute¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1058-3882>. E-mail: ieved@yandex.ru

Islom A. Bakhronov – Postgraduate Student, Department of Head and Neck Tumors, Cancer Research Institute¹. E-mail: islom.fighter101@gmail.com

Evgeny L. Choinzonov – MD, PhD, Professor, Member of Russ. Acad. Sci., Head of Department of Head and Neck Tumors, Director of Cancer Research Institute¹; Head of Chair of Oncology²; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3651-0665>. E-mail: choynzonov@gmail.com

¹Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativnyy per., Tomsk, 634009, Russian Federation

²Siberian State Medical University; 2 Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation