

Л.М. Шлапацька
<https://orcid.org/0000-0003-3671-9036>

Л.Г. Бучинська
<https://orcid.org/0009-0002-9588-1375>

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

DOI: <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.03.190>

CXCL12 РЕГУЛЮЄ ЕКСПРЕСІЮ CD54, CD326 ТА CD227 В КЛІТИНАХ ЛІНІЙ РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Мета: з'ясувати можливість CXCL12 регулювати експресію CD326, CD227 та CD54 в клітинах ліній раку молочної залози. **Об'єкт і методи:** дослідження проведено на клітинних лініях раку молочної залози T-47D, MCF-7 — люмінального та MDA-MB-231 — тричі негативного молекулярних підтипів. Профіль експресії CD54, CD326 та CD227 вивчали методом проточної цитометрії. **Результати:** встановлено, що CD326 та CD227 є фенотиповою ознакою клітин ліній люмінального, а CD54 — тричі негативного молекулярних підтипів. За дії CXCL12 відбувається зміна профілю експресії CD54, CD326 та CD227: в клітинах ліній люмінального молекулярного підтипу T-47D, MCF-7 відмічено зростання експресії CD54, CD227 та CD326, тоді як в клітинах тричі негативного молекулярного підтипу MDA-MB-231 — ріст експресії CD54 поряд зі зниження експресії CD326. **Висновки:** активація CXCL12/CXCR4 сигнального шляху в клітинах ліній раку молочної залози регулює експресію CD54, CD326 та CD227, що призводить до набуття клітинами більш агресивного фенотипу.

Ключові слова: рак молочної залози, клітинні лінії, адгезія, CXCL12, CD326 (EPCAM), CD227 (Muc-1), CD54 (ICAM-1).

Хемотаксичний цитокін/хемокін CXCL12 та його рецептор CXCR4 за гомеостатичних умов, перш за все, відіграють ключову роль у розвитку та нормальному функціонуванні імунної системи — трансепітеліальній міграції лейкоцитів, формуванні імунного синапсу, контролюють процеси проліферації та міграції клітин під час ембріонального кровотворення та органогенезу, проте не менш важливе значення мають у патогенезі низки захворювань і, зокрема, злоякісних новоутворень [1, 2]. Серед відомих на сьогодні 20 хемокинових рецепторів CXCR4 є одним із найбільш досліджених при злоякісних патологіях, експресія якого притаманна більш як 23 різновидам пухлин епітеліального, мезенхімального походження і асоціюється з різким посиленням ангиогенезу, розвитком метастазів і більш агресивним перебігом пухлинного процесу [3, 4]. Вважають, що процес метастазування за участі хемокинових рецепторів частіше за все відбувається в органи, клітини яких синтезують ліганд-зв'язуючі хемокини — ключові контролери клітинного трафіку. Метастатичний потенціал раку молочної залози (РМЗ) тісно пов'язаний із підвищеною експресією хемокіну CXCL12. Першочерговим джерелом продукції CXCL12 є кістковий

мозок, печінка, легені та лімфатичні вузли, що і характеризує їх як місця найбільш частого метастазування при даній патології [5].

Метастазування — складний, багатоетапний процес, реалізація якого відбувається за участі широкого кола молекул і, зокрема, клітинної адгезії, які опосередковують взаємодію між клітинами і позаклітинним матриксом, запускаючи внутрішньоклітинні реакції у відповідь на специфічні молекулярні медіатори пухлинного мікрооточення. Регуляція експресії цих молекул опосередковується мережею позаклітинних сигнальних білків (наприклад, цитокінів, гормонів) і залежить від типу клітин, стадії їх диференціювання та молекулярного фенотипу. Наша увага була зосереджена на CD326 (EPCAM), CD227 (Muc1) та CD54 (ICAM-1), роль яких у патогенезі пухлин епітеліального походження на сьогодні цілком очевидна, однак не достатньо вивчена у контексті відповіді на дію компонентів пухлинного мікрооточення.

CD326 (Epithelial Cell Adhesion Molecule — EPCAM) — багатофункціональний білок, прогностична значимість експресії якого залежить від нозологічної форми новоутворення. Висока експресія CD326 у первинних карциномах молочної

Ц и т у в а н н я: Шлапацька Л.М., Бучинська Л.Г. CXCL12 регулює експресію CD54, CD326 та CD227 в клітинах ліній раку молочної залози. Онкологія. 2025. 27, № 3. С. 190—196. <https://doi.org/10.15407/oncology.2025.03.190>

© РН “Akademperiodyka” of the NAS of Ukraine, 2025. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

залози [6–8], простати [9], підшлункової залози [10], яєчника [11] асоціюється з поганим прогнозом, проте високі показники експресії цього маркера у злоякісно трансформованих клітинах товстої кишки [12], нирки [13], ендометрія [14] корелюють з більш сприятливим перебігом захворювання. Важливо відмітити, що експресія CD326 при метастатичному РМЗ значно вища порівняно з первинними пухлинами. Окрім цього, експресія CD326 різниться в межах різних гістологічних типів та молекулярних підтипів РМЗ. Так, надмірну експресію CD326 відмічають при протоковому РМЗ, тоді як при інших морфологічних формах РМЗ зазвичай відмічають низьку експресію CD326. Тричі негативний РМЗ є агресивною формою РМЗ, злоякісно трансформовані клітини якого мають фенотип мезенхімальних клітин, що зберігають експресію як CD326, так і маркерів епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП). Таку коекспресію маркерів ЕМП та CD326 пов'язують з низькою виживаністю хворих [15].

CD227 (Муцин-1 — Muc-1) — багатофункціональний білок, залучений у процес пухлинної прогресії. Підвищений рівень експресії CD227 властивий злоякісно трансформованим клітинам при ряді новоутворень і асоціюється з поганим прогнозом та низькою виживаністю хворих. У більшості хворих на холангіокарциному, карциному жовчного міхура, карциному щитоподібної залози, колоректальний рак та рак печінки експресія CD227 є досить високою [16]. CD227 гіперекспресований у понад 90% пухлин молочної залози з переважною цитоплазматичною експресією, що частково є результатом генетичних змін і порушення регуляції транскрипції гена MUC1, розташованого у 1q21 фрагменті ділянки хромосоми, яка часто зазнає змін у клітинах РМЗ [17]. У пухлинних клітинах молочної залози CD227 стимулює транскрипцію, опосередковану рецептором екстрогена, антагонізує інгібуючі ефекти тамоксифену та сприяє індукованому естродіолом росту та виживанню клітин [18].

Єдиним відомим лігандом позаклітинного домену α -субодиниці CD227 є CD54 (Inter-Cellular Adhesion Molecule 1 — ICAM-1) — трансмембранний білок, що стабілізує взаємодію між клітинами та сприяє міграції лейкоцитів до ендотелію, процесу метастазування і ангиогенезу (зокрема після взаємодії із CD227/Muc-1). Експресія CD54 задокументована у більшості, якщо не у всіх типах клітин пухлинного мікрооточення [19, 20]. Підвищення експресії CD54 характерно при метастазуванні багатьох солідних пухлин, що вказує на важливу роль цього рецептора в прогресії захворювання. Проте значимість CD54 для оцінки прогнозу перебігу раку не є однозначною. При багатьох формах раку, зокрема ротової порожнини,

шлунка та молочної залози, експресія CD54 позитивно корелює з більш агресивним фенотипом пухлини та її метастатичним потенціалом, тоді як при колоректальному раку та неходжкінській лімфомі високі показники експресії CD54 асоціюються із сприятливими клінічними результатами [21]. Допускають, що гомофільна взаємодія молекул CD54 між клітинами РМЗ та мезенхімальними стовбуровими клітинами в кістковому мозку опосередковує метастатичну експансію пухлинних клітин, витісняючи гемопоетичні стовбурові клітини зі своєї ніші [22].

Враховуючи, що молекули адгезії, опосередковуючи взаємодію між пухлинними клітинами та компонентами строми, є особливо важливими у прогресії злоякісних новоутворень, а CXCL12 є активним гравцем чисельних біологічних процесів серед яких інвазія, проліферація, метастазування, **метою дослідження** було з'ясування можливості даного хемокіна регулювати експресію CD326, CD227 та CD54 в клітинах ліній РМЗ. В якості моделі *in vitro* для дослідження екзогенного впливу CXCL12 як елемента тканинного мікрооточення на експресію молекул адгезії епітеліальних клітин молочної залози, нами були обрані клітинні лінії РМЗ різних молекулярних підтипів, які за активації CXCR4/CXCL12 стають більш рухливими та інвазивними [23]. Для інтерпретації результатів був використаний комплексний підхід, який враховував локалізацію досліджуваного антигена (внутрішньоклітинну і на поверхневій мембрані), аналіз кількості клітин, що експресують маркер, та рівень його експресії. Даний підхід дозволяє дати більш розгорнуту та детальну характеристику зареєстрованих змін, які відображаються на біологічних властивостях клітин.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В дослідженнях були використані лінії клітин РМЗ: T-47D, MCF-7 — люмінального та MDA-MB-231 — тричі негативного молекулярних підтипів, отримані з Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин ІЕПОР ім.Р.Є. Кавецького НАН України. Всі лінії клітин культивували у середовищі DMEM (BioWest, France), що містило 10% ембріональної сироватки телят (FBS), 2 мМ L-глутаміна та 100 мкг/мл суміші антибіотиків (пеніцилін/стрептоміцин) при 37°C в атмосфері 5% CO₂. Для дослідження впливу CXCL12 на показники експресії маркерів, що складали сферу інтересу, 0,8x10⁶ клітин ліній РМЗ вносили у 25 см³ флакони для культивування (BioWest, France) в 5 мл повноцінного поживного середовища. Після 24 год культивування клітини інкубували протягом 2 год лише у середовищі DMEM, після чого замінювали на повноцінне поживне середовище, до якого додавали 100 нг/мл рекомбінантного білка SDF-1 α /CXCL12 (Cell Systems,

Germany). Експресію маркерів досліджували після 48 год культивування клітин ліній РМЗ із CXCL12 за допомогою непрямого варіанта імунофлуоресцентного методу з використанням моноклональних антитіл (МкАт) проти CD326 (клон Vu1D9, ІЕПОР, Україна), CD227 (клон Vu3C6, ІЕПОР, Україна), CD54 (клон 1H4, ІЕПОР, Україна). В якості вторинних антитіл були використанні козячі антитіла проти F(ab')₂ фрагментів імуноглобулінів миші кон'юговані з FITC (Sigma-Aldrich, США). Профіль експресії досліджуваних маркерів вивчали як на плазматичній мембрані (s), так і в цитоплазмі клітин (cy) згідно раніше описаних методик [24]. Аналіз препаратів проводили на проточному цитофлуориметрі Beckman Coulter DxFLEx (Beckman Coulter, США) за допомогою програми CytExpert (DxFLEx Software). Кількість клітин позитивних або негативних за експресією досліджуваного антигена вираховували після аналізу 10 тис. подій. Результати досліджень щодо кожного із антигенів були представлені у формі відсотка клітин, що є позитивними за даним маркером, та рівня його експресії за показником індексу середньої інтенсивності флуоресценції клітин (iMFI). iMFI відповідав співвідношенню показника MFI клітин, після взаємодії із мішені спрямованими МкАт, проти MFI клітин, що реагували з МкАт МОРС-21, які використовували у якості негативного контролю. Статистичну обробку результатів проводили з використанням програми "Statistica", Stat Soft Inc (США). Вірогідність різниці між показниками груп порівняння оцінювали за *t*-критерієм Стюдента, яка вважалась вірогідною при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При вивченні впливу CXCL12 на показники експресії маркерів адгезії клітин ліній РМЗ різних молекулярних підтипів перш за все було проведено комплексне дослідження профілю експресії CD326, CD327 та CD54 з урахуванням їх локалізації. Даний підхід аргументовано тим, що таке комплексне дослідження раніше не було проведено із застосуванням методу проточної цитометрії, втім заслуговує на увагу, оскільки за набором мембранних і цитоплазматичних антигенів, рівнем їх експресії можна встановити рівень диференціювання, лінійну приналежність, функціональний стан клітин. Окрім цього, дослідники не завжди дають інформацію стосовно використаного клону антитіл, спрямованих проти антигена, що пояснює розбіжності в отриманих результатах на одному і тому ж об'єкті дослідження.

Експресію CD326 визначали за допомогою МКАТ Vu1D9, що розпізнають тиреоглобулінний домен типу 1 (TY-1 домен), який є складовою частиною позаклітинного домена CD326, і детектується водночас як на плазматичній мембрані,

так і в цитоплазмі клітин [25, 26]. Встановлено, що більшість клітин ліній люмінального молекулярного підтипу конститутивно експресують CD326 на високому рівні як всередині клітин, так і на плазматичній мембрані, причому внутрішньоклітинний iMFI CD326 є значно нижчим, ніж на плазматичній мембрані ($p < 0,05$). В клітинах лінії MDA-MB-231 даний маркер детектується переважно всередині клітин та на плазматичній мембрані 18% клітин на вкрай низькому рівні (табл.). Наші дослідження відповідають відомостям щодо високої експресії CD326 в клітинах ліній РМЗ люмінального молекулярного підтипу, хоча у хворих на РМЗ висока експресія CD326 більш притаманна пухлинам тричі негативного молекулярного підтипу і пов'язана з поганим прогнозом, що сприяє стійкій проліферації та росту пухлини/метастазів [27, 28]. З іншої сторони, CD326 також є маркером епітеліальної диференціації, який опосередковує гомофільні адгезивні взаємодії і пов'язаний з більш диференційованими та менш мігруючими клітинами, що може запобігати метастазуванню [29].

Після культивування клітин ліній РМЗ із CXCL12 не виявлено достовірних відмінностей у кількості CD326-позитивних клітин в жодній із клітинних ліній люмінального типу, тоді як кількість клітин MDA-MB-231, що експресують даний маркер в цитоплазмі зменшувалась. Поряд з цим було констатовано протилежні зміни у показниках iMFI CD326 клітин ліній РМЗ різних молекулярних підтипів за дії CXCL12. Зокрема, в клітинах люмінального молекулярного підтипу iMFI CD326 зростав на 15,1% на плазматичній мембрані клітин MCF-7 та на 94% у цитоплазмі клітин T-47D, тоді як в клітинах тричі негативного молекулярного типу MDA-MB-231 — зменшувався на 39,7% (рис. 1А). Визначені відмінності у зміні рівня експресії CD326 вірогідно пов'язанні зі статусом диференціювання клітин ліній РМЗ. Враховуючи, що в клітинних лініях з характеристиками епітеліальних клітин підвищення експресії CD326 стимулює їх проліферацію та інвазію, натомість інгібує міграцію та інвазію клітин РМЗ мезенхімального походження [30], виявленні нами зміни в профілі експресії CD326 за умов дії CXCL12 свідчать про набуття клітинами MCF-7, T-47D і MDA-MB-231 більш агресивного фенотипу.

На сьогодні CD54 більш відомий як маркер лейкоцитів, який обумовлює їх адгезивні властивості. Однак його експресія характерна на достатньо високому рівні і для епітеліальних клітин у відповідь на зовнішні стимули, що обумовило значення цього маркера у регуляції багатьох важливих клітинних функцій як на етапі виникнення, так і при розвитку низки патологічних станів. Багатофункціональність CD54 можна пояснити його структурною організацією, до складу якої

Показники експресії маркерів адгезії в клітинах ліній раку молочної залози за умови дії CXCL12

Маркер	Показник	Топологія	T-47D		MCF-7		MDA-MB-231	
			клітини	клітини + CXCL12	клітини	клітини + CXCL12	клітини	клітини + CXCL12
CD54	%	s	6,2 ± 1,2	6,7 ± 0,9	30,5 ± 2,5	38,9 ± 0,7	86,5 ± 2,3*	98,6 ± 1,4**
		cy	33,1 ± 3,3 [#]	50,2 ± 4,8**	52,2 ± 4,2 [#]	56,6 ± 3,2	83,5 ± 3,5*	95,2 ± 4,1**
	iMFI y.o.	s	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,1	8,4 ± 0,4**	9,7 ± 0,1*	15,5 ± 0,4**
		cy	2,4 ± 0,6 [#]	4,3 ± 0,4**	4,5 ± 0,8 [#]	4,9 ± 1,2	4,6 ± 0,4 [#]	8,5 ± 0,4**
CD227	%	s	29,0 ± 2,1	33,0 ± 2,9	22,4 ± 2,6	22,8 ± 1,8	0	0
		cy	68,8 ± 3,1 [#]	84,4 ± 2,1**	48,6 ± 2,1 [#]	83,2 ± 3,1** [#]	0	0
	iMFI y.o.	s	2,3 ± 0,1	2,2 ± 0,3	2,7 ± 0,3	2,5 ± 0,4	1	1
		cy	3,1 ± 1,1	5,5 ± 0,4** [#]	2,6 ± 0,4	5,4 ± 0,3** [#]	1	1
CD326	%	s	89,4 ± 3,5	92,3 ± 3,8	97,1 ± 2,1	97,6 ± 0,6	18,0 ± 2,8*	16,0 ± 1,7
		cy	77,3 ± 4,1	82,7 ± 3,9	97,3 ± 2,5	96,5 ± 1,2	67,0 ± 4,1 [#]	55,0** ± 2,3
	iMFI y.o.	s	30,5 ± 2,1	32,2 ± 1,7	135,6 ± 1,5	150,7 ± 0,3**	2,3 ± 0,2*	2,2 ± 0,1
		cy	18,2 ± 2,3 [#]	35,3 ± 2,1**	55,9 ± 2,8 [#]	50,8 ± 1,8	6,3 ± 0,4* [#]	3,8 ± 0,2**

Примітки: * — $p < 0,05$ порівняно з клітинами люмінального молекулярного підтипу; ** — $p < 0,05$ порівняно з відповідними показниками клітин без культивування з CXCL12; [#] — $p < 0,05$ порівняно з відповідними показниками на плазматичній мембрані клітин.

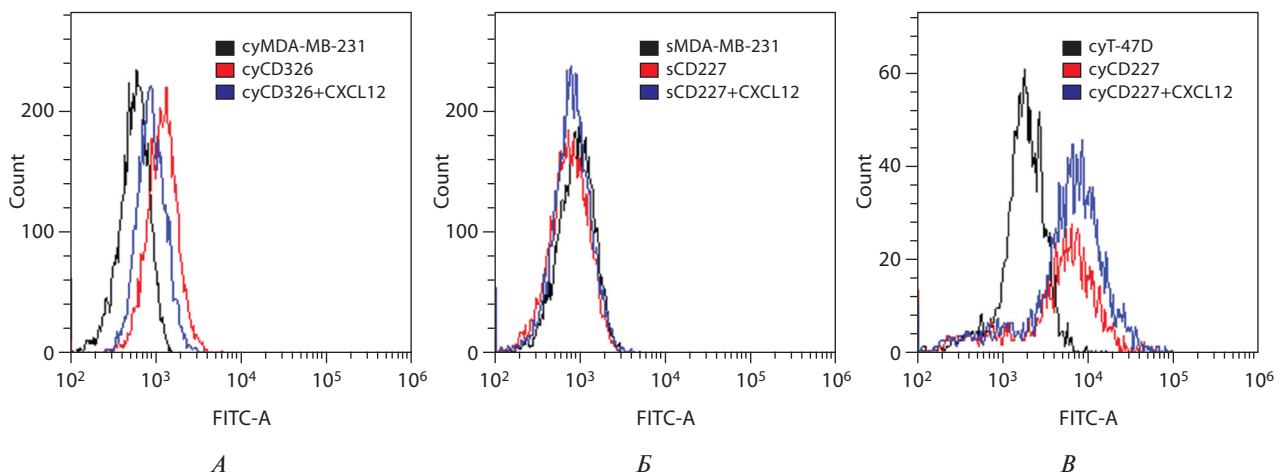


Рис. 1. Вплив CXCL12 на внутрішньоклітинну експресію CD326 (А), експресію CD227 на плазматичній мембрані в клітинах MDA-MB-231 (Б) та на внутрішньоклітинну експресію CD227 в клітинах T-47D (В)

входить п'ять позаклітинних імуноглобулінових доменів, трансмембранний домен та короткий цитоплазматичний хвіст, який взаємодіє з актином цитоскелету та містить тирозин, що виконує сигнальні функції [31].

Інформація щодо анти-CD54 МКАТ 1Н4, які були використані у роботі, є досить обмеженою. Відомо лише, що вони розпізнають позаклітинний домен CD54 [32]. Нами встановлено, що МКАТ 1Н4 детектують CD54 як на плазматичній мембрані, так і всередині майже всіх клітин лінії тричі негативного молекулярного типу (див. табл.). При цьому рівень експресії CD54 на плазматичній мембрані клітин лінії MDA-MB-231 був

майже вдвічі вищим, ніж внутрішньоклітинний ($p < 0,05$). Показники експресії CD54 клітин MCF-7 та T-47D були достовірні менші, порівняно з клітинами MDA-MB-231, що відповідає результатам досліджень інших авторів [33, 34]. Звертає увагу той факт, що внутрішньоклітинна експресія CD54 в лініях люмінального типу більш виражена, ніж на плазматичній мембрані як за відсотком позитивних клітин, так і iMFI. Слід зазначити, що CD54 є імунофенотиповою ознакою як клітинних ліній так і пухлинних клітин хворих на тричі негативний РМЗ, у яких відмічають наявність третинних лімфоїдних структур з високим відсотком імунних та стромальних клітин у пухлинно-

му середовищі. За таких умов хворі мають гарні показники відповіді на імунотерапію і, зокрема, CAR-T-клітинну терапію [35, 36].

В експериментальних дослідженнях *in vitro* показано, що CXCL12 підвищує експресію CD54 в первинних клітинах мієломи [37], ендотеліальних клітинах судин сітківки [32], клітинних лініях раку легені [38]. У роботі Tung S. (2012) також засвідчено зростання експресії CD54 в клітинах лінії раку товстої кишки DLD-1 під впливом CXCL12, яке було опосередковане активацією ERK, JNK та p38 сигнальних каскадів, транскрипційними факторами Sp1, C/EBP- β та NF- κ B і супроводжувалось адгезією клітин до ендотелію. В наших дослідженнях вперше зафіксовано зростання показників експресії CD54 в клітинних лініях PM3 різних молекулярних підтипів за умов дії CXCL12. Найбільш виражені зміни відмічено у клітинах MCF-7 за показником iMFI, який зростав у 4,4 раза на плазматичній мембрані клітин. У клітинах MDA-MB-231 достовірні зміни виявлено за всіма досліджуваними параметрами експресії CD54 (див. *табл.*).

Експресію CD227 визначали за допомогою МКAT Vu3C6, які реагують з GVTAPDTRPAP тандемними повторами позаклітинної α -субодиниці CD227, збагаченими сайтами глікозилювання, і детектуються як на плазматичній мембрані, так і в цитоплазмі клітин [40, 41].

Нами не виявлено експресію CD227 в клітинах лінії MDA-MB-231 (*рис. 1Б*), тоді як в клітинах ліній люмінального типу цей маркер був детектований переважно всередині клітин. Експресія CD227 в клітинах MCF-7 була менш виражена, аніж в T-47D, що співпадає з результатами досліджень інших авторів [33, 40]. Виявлені особливості топології CD227 в клітинах ліній PM3 можуть бути пояснені тим, що анти-CD227 МКAT не завжди реагують з CD227 плазматичної мембрани злоякісно трансформованих клітин внаслідок змін у конфігурації взаємодіючого з МКAT епітопу за рахунок його глікозилювання. Не виключено, що саме тому після культивування клітин з CXCL12 були виявлені зміни в показниках експресії CD227 лише в цитоплазмі клітин. Відмічено зростання як кількості CD227-позитивних клітин MCF-7 і T-47D (на 71,2 і 22,7% відповідно, *рис. 1Б*), так і iMFI CD227 (на 107,7 та 77,4% відповідно). Враховуючи, що за надмірної експресії CD227 пухлинні клітини здатні уникати апоптозу, пришивидшувати ріст та інвазивність [42], можна допустити, що культивування клітин ліній люмінального підтипу PM3 з CXCL12 призводить до зростання їх злоякісності. Інформація щодо регуляції експресії CD227 за умов впливу CXCL12 в інших злоякісно трансформованих клітинах відсутня, проте відомо, що даний хемокин збільшує експресію CD227 на рівні мРНК та білка в епітеліальних клітинах ди-

хальних шляхів людини (клітини NCI-H292), нормальних клітинах бронхіального епітелію (NHBE) [43]. Профіль експресії CD227 в пухлинах молочної залози та клітинних ліній різних молекулярних підтипів співставний, а саме найвищі показники експресії CD227 властиві пухлинам люмінального А підтипу та відсутні у тричі негативних пухлинах PM3 [42, 44], тому дані модельні системи є доречним інструментом для вивчення наслідків паракринного впливу не тільки CXCL12, а і інших факторів пухлинного мікрооточення.

Таким чином, результати роботи свідчать, що активація CXCL12/CXCR4 сигнального шляху в клітинах ліній PM3 регулює експресію низки молекул адгезії, які є активними учасниками процесів міграції, інвазії та метастазування. Зокрема, в клітинах ліній люмінального молекулярного підтипу T-47D, MCF-7 відмічено зростання експресії CD54, CD227 та CD326, тоді як в клітинах тричі негативного молекулярного підтипу MDA-MB-231 констатовано збільшення експресії CD54 поряд зі зниження експресії CD326. Такі зміни в профілі експресії маркерів обумовлюють набуття клітинами більш агресивного фенотипу, що модулює їх біологічні властивості.

ВИСНОВКИ

1. Активація CXCL12/CXCR4 сигнального шляху в клітинах ліній PM3 призводить до змін у профілі експресії маркерів адгезії CD54, CD227 та CD326, що обумовлює формування їх більш агресивного фенотипу.

2. CD326 є фенотиповою ознакою клітин ліній PM3 люмінального молекулярного підтипу, рівень експресії маркера зростає за екзогенної дії CXCL12, тоді як в клітинах лінії тричі негативного молекулярного підтипу — знижується.

3. Експресія CD227 притамана клітинам люмінального молекулярного підтипу, внутрішньоклітинний рівень експресії якого вдвічі зростає за дії CXCL12.

4. Наявність експресії CD54 більш характерна для клітинних ліній тричі негативного молекулярного підтипу. CXCL12 однонаправлено модулює експресію CD54 в клітинах ліній обох молекулярних підтипів, що виражено у зростанні як кількості CD54-позитивних клітин так і iMFI CD54.

Робота виконана в рамках НДР “Гормонально-рецепторний статус клітин пухлинного мікрооточення як фактор модуляції онкогенезу в ендометрії та молочної залози” (№ держреєстрації 0123U100100).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Bianchi ME, Mezzapelle R. The Chemokine receptor CXCR4 in cell proliferation and tissue regeneration. *Front Immunol* 2020; **11**: 2109. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02109>

2. **Masrou M, Moeinafshar A, Poopak A, et al.** The role of CXC chemokines and receptors in breast cancer. *Clin Exp Med* 2025; **25** (1): 128. <https://doi.org/10.1007/s10238-025-01662-7>.
3. **Zielińska KA, Katanaev VL.** The signaling duo CXCL12 and CXCR4: chemokine fuel for breast cancer tumorigenesis. *Cancers (Basel)* 2020; **12** (10): 3071. <https://doi.org/10.3390/cancers12103071>.
4. **Masahiro K, Kitayama J, Kazama S, Nagawa H.** Expression pattern of CXC chemokine receptor-4 is correlated with lymph node metastasis in human invasive ductal carcinoma. *Breast Cancer Research* 2003; **5** (5): R144–50. <https://doi.org/10.1186/bcr627>.
5. **Yang Y, Li J, Lei W, et al.** CXCL12-CXCR4/CXCR7 Axis in Cancer: from Mechanisms to Clinical Applications. *Int J Biol Sci* 2023; **19** (11): 3341–59. <https://doi.org/10.7150/ijbs.82317>.
6. **Osta W, Chen Y, Mikhitarian K, et al.** EpCAM is overexpressed in breast cancer and is a potential target for breast cancer gene therapy. *Cancer Research* 2004; **64** (16): 5818–24. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0754>.
7. **Spizzo G, Went P, Dirnhofer S, et al.** High Ep-CAM expression is associated with poor prognosis in node-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004; **86** (3): 207–13. <https://doi.org/10.1023/B:BREA.0000036787.59816.01>.
8. **Menz A, Lony N, Lennartz M, et al.** Epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) expression in human tumors: a comparison with pan-cytokeratin and TROP2 in 14,832 tumors. *Diagnostics (Basel)* 2024; **14** (10): 1044. <https://doi.org/10.3390/diagnostics14101044>.
9. **Mukherjee S, Richardson A, Rodriguez-Canales J, et al.** Identification of EpCAM as a molecular target of prostate cancer stroma. *Am J Pathol* 2009; **175** (6): 2277–87. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.090013>.
10. **Fong D, Moser P, Kasal A, et al.** Loss of membranous expression of the intracellular domain of EpCAM is a frequent event and predicts poor survival in patients with pancreatic cancer. *Histopathol* 2014; **64** (5): 683–92. <https://doi.org/10.1111/his.12307>.
11. **Spizzo G, Went P, Dirnhofer S, et al.** Overexpression of epithelial cell adhesion molecule (Ep-CAM) is an independent prognostic marker for reduced survival of patients with epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2006; **103** (2): 483–8. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2006.03.035>.
12. **Went P, Vasei M, Bubendorf L, et al.** Frequent high-level expression of the immunotherapeutic target Ep-CAM in colon, stomach, prostate and lung cancers. *British J Cancer* 2006; **94** (1): 128–35. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602924>.
13. **Went P, Dirnhofer S, Salvisberg T, et al.** Expression of epithelial cell adhesion molecule (EpCam) in renal epithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2005; **29** (1): 83–8. <https://doi.org/10.1097/01.pas.0000146028.70868.7a>.
14. **Wen K, Sun P, Chou H, et al.** The role of EpCAM in tumor progression and the clinical prognosis of endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2018; **148** (2): 383–92. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2017.11.033>.
15. **Wu Q, Wang J, Liu Y, et al.** Epithelial cell adhesion molecule and epithelial-mesenchymal transition are associated with vasculogenic mimicry, poor prognosis, and metastasis of triple negative breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2019; **12** (5): 1678–89.
16. **Lan Y, Ni W, Tai G.** Expression of MUC1 in different tumours and its clinical significance (Review). *Mol Clin Oncol* 2022; **17** (6): 161. <https://doi.org/10.3892/mco.2022.2594>.
17. **Rahn J, Dabbagh L, Pasdar M, Hugh J.** The importance of MUC1 cellular localization in patients with breast carcinoma: an immunohistologic study of 71 patients and review of the literature. *Cancer* 2001; **91** (11): 1973–82. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20010601\)91:11<1973::aid-cncr1222>3.0.co;2-a](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20010601)91:11<1973::aid-cncr1222>3.0.co;2-a).
18. **Kufe D.** MUC1-C oncoprotein as a target in breast cancer: activation of signaling pathways and therapeutic approaches. *Oncogene* 2013; **32** (9): 1073–81. <https://doi.org/10.1038/onc.2012.158>.
19. **Reina M, Espel E.** Role of LFA-1 and CD54 in cancer. *Cancers (Basel)* 2017; **9** (11): 153. <https://doi.org/10.3390/cancers9110153>.
20. **Benedicto A, Romayor, Arteta B.** Role of liver CD54 in metastasis. *Oncol Let* 2017; **14** (4): 3883–92. <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6700>.
21. **Tachimori A, Yamada N, Sakate G, et al.** Up regulation of CD54 gene expression inhibits tumour growth and liver metastasis in colorectal carcinoma. *Eur J Cancer* 2005; **41** (12): 1802–10. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.04.036>.
22. **Ramer R, Bublitz K, Freimuth F, et al.** Cannabidiol inhibits lung cancer cell invasion and metastasis via intercellular adhesion molecule-1. *FASEB J* 2012; **26** (4): 1535–48. <https://doi.org/10.1096/fj.11-198184>.
23. **Kang H, Watkins G, Parr C, et al.** Stromal cell derived factor-1: its influence on invasiveness and migration of breast cancer cells *in vitro*, and its association with prognosis and survival in human breast cancer. *Breast Cancer Res* 2005; **7** (4): R402–10. <https://doi.org/10.1186/bcr1022>.
24. **Gordienko I, Lykhova O, Shcherbina V, Shlapatska L.** SLAMF1/CD150 expression and topology in prostate and breast cancer cell lines. *Exp Oncol* 2021; **43** (4): 312–16. <https://doi.org/10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-43-no-4.17010>.
25. **Kuhn S, Koch M, Nubel T, et al.** A complex of EpCAM, claudin-7, CD44 variant isoforms, and tetraspanins promotes colorectal cancer progression. *Mol Cancer Res* 2007; **5** (6): 553–67. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-06-0384>.
26. **Pop M, Bartoş D, Fiş A, et al.** Detection of epithelial specific cell adhesion molecules in colon cancer and the correlation with clinical and pathological characteristics EpCAM expression in colon cancer. *Ann Ital Chir* 2019; **90**: 318–23.
27. **Schmidt M.** Prognostic effect of epithelial cell adhesion molecule overexpression in untreated node-negative breast cancer. *Clin Cancer Res* 2008; **14** (18): 5849–55. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0669>.
28. **Gires O, Pan M, Schinke H, et al.** Expression and function of epithelial cell adhesion molecule EpCAM: where are we after 40 years? *Cancer Metastasis Rev* 2020; **39** (3): 969–87. <https://doi.org/10.1007/s10555-020-09898-3>.
29. **Gun B, Melchers L, Ruiters M, et al.** EpCAM in carcinogenesis: the good, the bad or the ugly. *Carcinogenesis* 2010; **31** (11): 1913–21. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq187>.
30. **Martowicz A, Spizzo G, Gastl G, Untergasser G.** Phenotype-dependent effects of EpCAM expression on growth and invasion of human breast cancer cell lines. *BMC Cancer* 2012; **12**: 501. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-501>.
31. **Bui T, Wiesolek H, Sumagin R.** ICAM-1: A master regulator of cellular responses in inflammation, injury resolution, and tumorigenesis. *J Leukoc Biol* 2020; **108** (3): 787–99. <https://doi.org/10.1002/JLB.2MR0220-549R>.
32. **Yuan X, Wu H, Li X, et al.** SDF-1 α /CXCR4 signaling promotes capillary tube formation of human retinal vascular endothelial cells by activating ERK1/2 and PI3K pathways *in vitro*. *Mol Med Rep* 2022; **26** (4): 305. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12821>.
33. **Leccia F, Nardone A, Corvigno S, et al.** Cytometric and biochemical characterization of human breast cancer cells reveals heterogeneous myoepithelial phenotypes. *Cyto-*

- metry A 2012; **81** (11): 960–2. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.2209>.
34. Huang Z, Yu P, Tang J. Characterization of triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cell spheroid model. *Oncotargets Ther* 2020; **13**: 5395–405. <https://doi.org/10.2147/OTT.S249756>.
 35. Zhang Y, Fan J, Wang X, *et al.* Role of CD54 in triple-negative breast cancer. *Open Med (Wars)* 2024; **19** (1): 20240969. <https://doi.org/10.1515/med-2024-0969>.
 36. Wei H, Wang Z, Kuang Y, *et al.* Intercellular adhesion molecule-1 as target for CAR-T-cell therapy of triple-negative breast cancer. *Front Immunol* 2020; **11**: 573823. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.573823>.
 37. Iqbal M, Otsuyama K, Shamsasenjan K, *et al.* Constitutively lower expressions of CD54 on primary myeloma cells and their different localizations in bone marrow. *Eur J Haematol* 2009; **83** (4): 302–12. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0609.2009.01284.x>.
 38. Xing B, Yang L, Cui Y. Lidocaine inhibited migration of NSCLCA549 cells via the CXCR4 regulation. *Cancer Biomark* 2022; **33** (3): 317–30. <https://doi.org/10.3233/CBM-210249>.
 39. Tung S, Chang S, Chou M, Huang W, *et al.* CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor-1 regulates cell adhesion in human colon cancer cells by induction of intercellular adhesion molecule-1. *J Biomed Sci* 2012; **19** (1): 91. <https://doi.org/10.1186/1423-0127-19-91>.
 40. Ryuko K, Schol D, Snijdwint F, *et al.* Characterization of a new MUC1 monoclonal antibody (VU-2-G7) directed to the glycosylated PDTR sequence of MUC1. *Tumour Biol* 2000; **21** (4): 197–210. <https://doi.org/10.1159/000030126>.
 41. Engelstaedter V, Heublein S, Schumacher A, *et al.* Mucin-1 and its relation to grade, stage and survival in ovarian carcinoma patients. *BMC Cancer* 2012; **12**: 600. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-600>.
 42. Iizuka M. Altered intracellular region of MUC1 and disrupted correlation of polarity-related molecules in breast cancer subtypes. *Cancer Sci* 2015; **106** (3): 307–14. <https://doi.org/10.1111/cas.12596>.
 43. Choi I, Ahn do W, Choi J, *et al.* Regulation of airway inflammation by G-protein regulatory motif peptides of AGS3 protein. *Sci Rep* 2016; **6**: 27054. <https://doi.org/10.1038/srep27054>.
 44. Semba R, Horimoto Y, Sakata-Matsuzawa M, *et al.* Possible correlation of apical localization of MUC1 glycoprotein with luminal A-like status of breast cancer. *Sci Rep* 2023; **13** (1): 5281. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32579-4>.

CXCL12 REGULATES THE EXPRESSION OF CD54, CD326 AND CD227 IN BREAST CANCER CELL LINES

L.M. Shlapatska, L.G. Buchynska

R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. *Aim:* to determine the ability of CXCL12 to regulate the expression of CD326, CD227 and CD54 in breast cancer cell lines. **Object and methods:** the studies were conducted on breast cancer cell lines T-47D, MCF-7 — luminal and MDA-MB-231 — basal molecular subtypes. The expression profile of CD54, CD326 and CD227 was analyzed by flow cytometry. **Results:** it was found that CD326 and CD227 are phenotypic markers of luminal cell lines, and CD54 is a marker of basal molecular subtypes. Under the action of CXCL12, the expression profile of CD54, CD326, and CD227 changes: in cells of the luminal molecular subtype T-47D, MCF-7

lines, an increase in the expression of CD54, CD227, and CD326 was observed, while in cells of the triple-negative molecular subtype MDA-MB-231, an increase in the expression of CD54 was observed along with a decrease in the expression of CD326. **Conclusion:** activation of the CXCL12/CXCR4 signaling pathway in breast cancer cell lines upregulates the expression of CD54, CD326, and CD227, leading to the cells acquiring a more aggressive phenotype.

Keywords: breast cancer, cell lines, adhesion, CXCL12, CD326 (EpCAM), CD227 (Muc-1), CD54 (ICAM-1).

Адреса для листування:

Шлапацька Л.М.

03022. Київ, вул. Васильківська, 45,

Інститут експериментальної патології, онкології

і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України

Email: larisash70@ukr.net

Одержано: 29.10.2025

Прийнято до друку: 15.11.2025

Опубліковано: 27.11.2025