

Регуляторные механизмы патогенеза рака прямой кишки

Соколова Екатерина Алексеевна, инженер;
 Боярских Ульяна Александровна, кандидат биологических наук, м.н.с.;
 Кель Александр Эдуардович, кандидат биологических наук, с.н.с.;
 Филипенко Максим Леонидович, кандидат биологических наук, зав. лабораторией
 Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (г. Новосибирск)

Рак считают одним из наиболее тяжелых заболеваний человека и в среднем от него страдает каждый третий мужчина и каждая четвертая женщина [1]. Текущий прогноз заболеваемости раком неутешительный — число заболевших к 2030 году повысится до 22,2 млн в год. Однако для некоторых видов рака прогнозируется снижение уровня заболеваемости и среди них рак шейки матки и желудка, для других — рак молочной железы (РМЖ), рак простаты (РП), колоректальный рак (КРР) — прогнозируется устойчивый рост [2]. Рак прямой кишки (РПК) занимает третье по распространенности место у мужчин после рака легкого и РП; у женщин его распространенность уступает только РМЖ. Примерно 10% смертельных исходов приходится на РПК [3].

Высокое число спорадических случаев (до 80%), указывает на чрезвычайную важность профилактических мероприятий, в том числе и на своевременное выявление РПК посредством биомаркеров на доклинической стадии заболевания. Это позволит существенно увеличить шанс пациента на благоприятное течение болезни: показатель 5-летней общей выживаемости до 60% при своевременной диагностике КРР, в группу которого входит и РПК, на ранних стадиях и менее 15% — выявлении опухоли на поздних III-IV стадиях [3]. Биомаркеры (или онкомаркеры) — это соединения, продуцируемые клетками злокачественной опухоли или соединения, продуцируемые нормальными клетками организма в ответ на прогрессию опухоли [4]. С конца 80-ых годов исследование биомаркеров рака стало одной из наиболее «популярных» тем экспериментальной онкологии, ежегодно открываются несколько новых «многообещающих» маркеров. На сегодняшний день, описаны около 200 онкомаркеров, однако, их диагностическая значимость остается под вопросом. Одна из причин тому, что большинство из них это «косвенные» маркеры. Эти маркеры могут зависеть от этнического бэкграунда, географии проживания, образа жизни и др. Наиболее достоверными являются, так называемые, функциональные маркеры, которые напрямую вовлечены в патогенез заболевания, и поэтому их присутствие или количественное изменение в первую очередь будет зависеть от патологии, и в гораздо меньшей степени от остальных факторов жизни человека.

Для выявления перспективных функциональных биомаркеров РПК, которые могли бы обеспечивать высокоточную диагностику патологии на ранних стадиях и давать устойчивые результаты для различных когорт пациентов, необходимо понимание регуляторных механизмов патогенеза РПК.

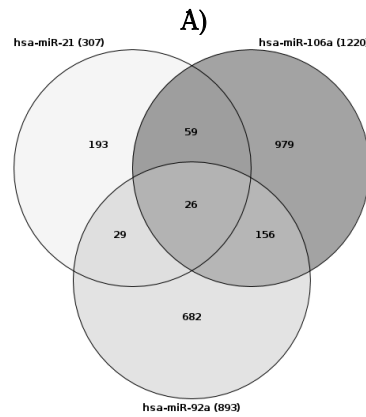
Нами проанализировано возможное взаимодействие в патогенезе РПК двух основных уровней регуляции экспрессии генов — регуляция на уровне транскрипции, осу-

ществляемой в клетках транскрипционными факторами и регуляция на пост-транскрипционном уровне с помощью микроРНК. Особое внимание в последнее время привлекают регуляторные взаимодействия между микроРНК и транскрипционными факторами на основе, так называемых, сетей с прямым распространением сигнала (feed-forward networks) (СПС), которые обеспечивают стабильную регуляцию работы генов в различных клеточных состояниях в норме и патологии [5]. СПС обычно включают несколько микроРНК, регулирующих активность своих генов-мишеней не только напрямую, но и посредством транскрипционных факторов, которые регулируют транскрипцию этих же генов-мишеней. Такая сложная регуляция обеспечивает особую устойчивость работы всей регуляторной системы, а нарушение работы таких СПС зачастую приводит к патологии.

Нашей задачей стояло выявление потенциальных СПС, возникающих при РПК, для выявления механизма патогенеза и для выбора на основе этого механизма наиболее перспективных биомаркеров для неинвазивных методов определения РПК. В качестве одних из самых перспективных классов биомаркеров нами рассмотрены микроРНК с повышенной экспрессией при КРР, в группу которого входит и РПК, которые можно детектировать в плазме крови или кале. В настоящее время выявлены три основных микроРНК в качестве потенциальных ранних биомаркеров КРР, а значит с высокой долей вероятности и РПК, это miRNA-21, miRNA-106a и miRNA-92a [6,7]. Мы воспользовались базой данных TargetScan (<http://www.targetscan.org/>) и проанализировали списки мишеней этих трех микроРНК. На рисунке 1 показан результат сравнения мишеней и функционального анализа общих генов-мишеней для этих трех микроРНК.

Выявили 26 генов, которые являются общими мишенями для трех рассматриваемых микроРНК. Интересно отметить, что среди них находится много генов, кодирующих транскрипционные факторы таких генов, как *BCL11B*, *CSRNP3*, *GATAD2B*, *KLF12*, *KLF3*, *NFAT5*, *NFIB*, *SMAD7*. Это свидетельствует о наличии сложной регуляции между микроРНК, транскрипционными факторами и их мишенями.

Рис. 1. Сравнение и анализ генов-мишеней для трех микроРНК человека известных в качестве потенциальных биомаркеров для ранней диагностики РПК. А) Диаграмма Вена показывающая сравнение числа генов мишеней для трех микроРНК. Б) Молекулярные пути (GO термины), содержащие наибольшее статистически значимое количество генов-мишеней общих для трех микроРНК из рисунка 1А. В) Список болезней, ассоциированных с общими генами-мишенями для трех микроРНК.



Б)

Код молекулярного пути	Название молекулярного пути	Количество генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a
GO:0050793	regulation of developmental process	9
GO:0010629	negative regulation of gene expression	7
GO:0051252	regulation of RNA metabolic process	11
GO:0032743	positive regulation of interleukin-2 production	2
GO:0045595	regulation of cell differentiation	6
GO:0042110	T cell activation	4
GO:0051147	regulation of muscle cell differentiation	2
GO:0007179	transforming growth factor beta receptor signaling pathway	3
GO:0022407	regulation of cell-cell adhesion	2

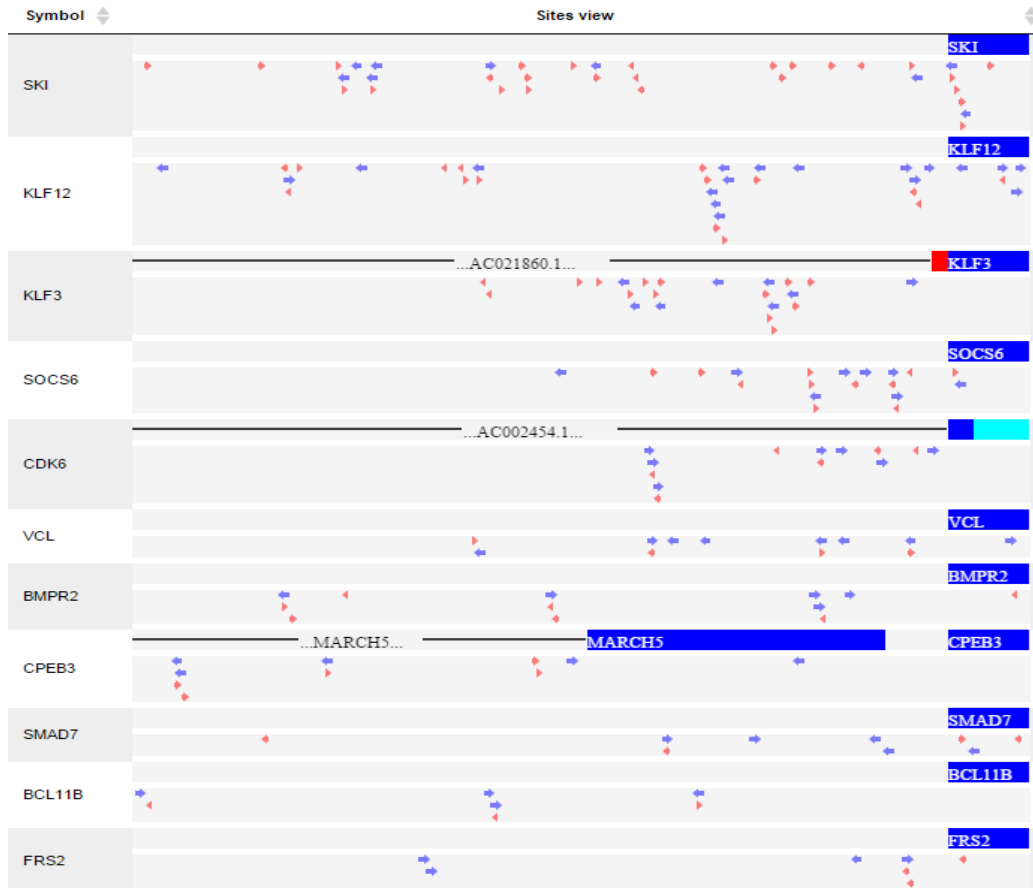
В)

Название болезни	Количество генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a
Карцинома роговых клеток (Carcinoma, Squamous Cell)	5
Опухоли слюнных желез (Salivary Gland Neoplasms)	2
Опухоли поджелудочной железы (Pancreatic Neoplasms)	2
Опухоли печени (Liver Neoplasms)	2
Заболевания поджелудочной железы (Pancreatic Diseases)	2
Опухоли желудочно-кишечного тракта (Digestive System Neoplasms)	3

С целью выявления потенциальных механизмов регуляции транскрипции 26 генов проведен анализ их промоторов с помощью метода F-Match, разработанного нами ранее [8] и доступного в компьютерной среде «geneXplain platform» (www.genexplain.com). На рисунке 2 показаны результаты такого анализа и выделены два семейства транскрипционных факторов Klf и Bcl, сайты которых перепредставлены в промоторах 26 общих генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a, а сами эти факторы

кодируются некоторыми из этих же генов, обеспечивая таким образом устойчивую саморегуляцию.

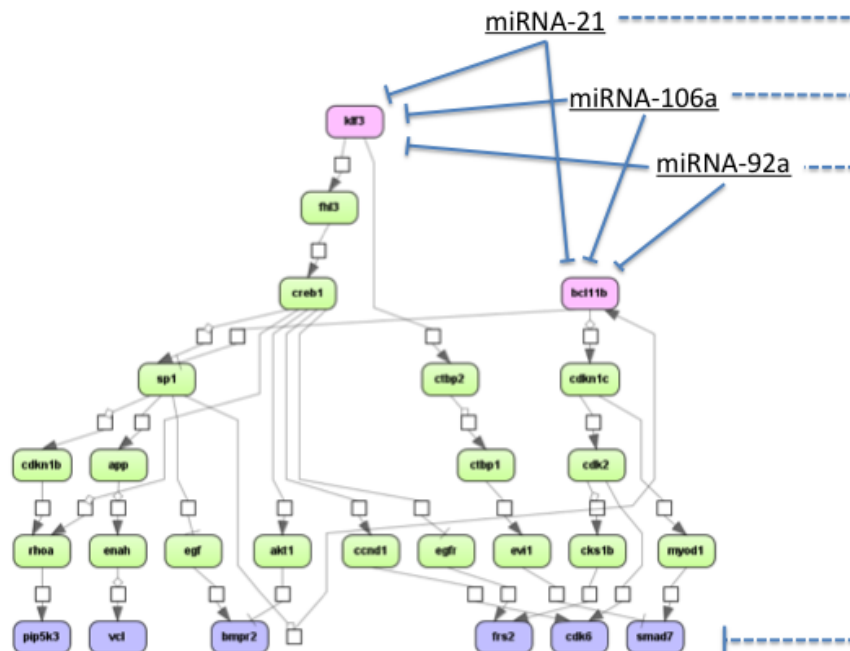
Рис. 2. Схема сайтов связывания транскрипционных факторов найденных в промоторах (от -1000 до +100 относительно старта транскрипции) 26 общих генов-мишеней, общих для miR-21, miR-106a, miR-92a. Для каждого из генов на этой схеме показан промотор (белая полоса), начало первого экзона (синий прямоугольник) и сайты связывания для двух семейств факторов Klf (красные стрелки) и Bcl (синие стрелки).



Выявленные в результате такого анализа взаимоотношения между микроРНК, транскрипционными факторами и генами-мишенями для обоих типов регуляторов хорошо описываются СПС, схематически показанной на рисунке 3. В результате проведенного анализа можно сделать вывод о потенциальном возникновении одной или нескольких СПС при развитии РПК, которые, по-видимому, обеспечивают стабилизацию патологического состояния клеток. Дальнейшая экспериментальная вали-

дация этих выявленных механизмов патогенеза РПК позволит подойти к вопросу подбора перспективных биомаркеров с рациональной точки зрения.

Рис. 3. СПС под контролем микроРНК, специфичных для КРР, и транскрипционных факторов, играющих важное значение в клеточной пролиферации и дифференцировке. Сеть построена на основе применения алгоритма поиска ключевых звеньев с использованием базы данных GeneWays [9].



Работа выполнена при финансовой поддержке федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы»,

Соглашение № 14.604.21.0101, уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0101.



Литература:

1. Siegel R. et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. // *CA. Cancer J. Clin.* 2011. Vol. 61, № 4. P. 212–236.
2. Bray F. et al. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008-2030): a population-based study. // *Lancet Oncol.* 2012. Vol. 13, № 8. P. 790–801.
3. Binefa G. et al. Colorectal cancer: from prevention to personalized medicine. // *World J. Gastroenterol.* 2014. Vol. 20, № 22. P. 6786–6808.
4. Lindblom A., Liljegren A. Regular review: tumour markers in malignancies. // *BMJ.* 2000. Vol. 320, № 7232. P. 424–427.
5. Sun J. et al. Uncovering MicroRNA and Transcription Factor Mediated Regulatory Networks in Glioblastoma. // *PLoS Comput. Biol.* 2012. Vol. 8, № 7. P. e1002488.
6. Link A. et al. Fecal MicroRNAs as novel biomarkers for colon cancer screening. // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2010. Vol. 19, № 7. P. 1766–1774.
7. Wu C.W. et al. Detection of miR-92a and miR-21 in stool samples as potential screening biomarkers for colorectal cancer and polyps. // *Gut.* 2012. Vol. 61, № 5. P. 739–745.
8. Kel A. et al. Beyond microarrays: find key transcription factors controlling signal transduction pathways. // *BMC Bioinformatics.* 2006. Vol. 7 Suppl 2, № Suppl 2. P. S13.
9. Iossifov I. et al. Looking at cerebellar malformations through text-mined interactomes of mice and humans. // *PLoS Comput. Biol.* 2009. Vol. 5, № 11. P. e1000559.