

Молекулярные маркеры рака эндометрия (обзор литературы)

Н.Е. Левченко, К.П. Лактионов, М.А. Таипов, М.С. Титова, В.Е. Шевченко
ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Марат Азатович Таипов martaip@rambler.ru

В настоящее время фундаментальные исследования в онкологии сфокусированы на поиске новых потенциальных маркеров метастатической активности опухолевых клеток и рациональных подходов к противоопухолевой терапии. Постоянный поиск биомаркеров рака эндометрия, обладающих высокой чувствительностью и специфичностью, является перспективным направлением в медицине. Идентификация новых маркеров позволит выявлять заболевание на ранней стадии и своевременно начинать лечение.

Ключевые слова: рак эндометрия, протеомика, масс-спектрометрия, молекулярные маркеры, мишени для таргетной терапии

Molecular markers of endometrial cancer (review of literature)

N.E. Levchenko, K.P. Laktionov, M.A. Taipov, M.S. Titova, V.E. Shevchenko
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Currently, basic research in oncology focused on finding new potential markers of metastatic activity of tumor cells and rational approaches to cancer therapy. Constant search for biomarkers of endometrial cancer with high sensitivity and specificity, is a promising direction in medicine. Identification of new markers will identify the disease at an early stage and start early treatment.

Key words: endometrial cancer, proteomics, mass spectrometry, molecular markers, targets for targeted therapy

Введение

Рак эндометрия (РЭ) считается «болезнью цивилизации» и наиболее распространенным онкогинекологическим заболеванием. Практически во всех странах мира заболеваемость РЭ за последние 2 десятилетия возросла и составляет 15,3–23,5 на 100 тыс. населения. Современные исследования и наблюдения доказали прямую связь роста заболеваемости РЭ и возраста пациенток. По данным МАИР, в 2007 г. В России противоопухолевое лечение по поводу РЭ было проведено 5,5 % женщин в возрасте до 45 лет. В структуре заболеваемости женщин злокачественными новообразованиями РЭ занимает 2-е ранговое место в возрастной группе 55–69 лет и 3-е место в возрастной группе 40–54 года [1]. РЭ является причиной смерти 9–10 женщин из 100 тыс. женского населения в мире. Результаты статистического прогнозирования свидетельствуют о дальнейшем росте заболеваемости [2].

Клиническая онкопротеомика

До настоящего времени диагностика и верификация РЭ остается по-прежнему инвазивной, что вызывает необходимость разработки и внедрения в практику доклинических неинвазивных методов исследования [3, 4]. Недавно в онкологии появилось новое направление – клиническая онкопротеомика. Это идентификация и количественное определение всех

индивидуальных белков, которые содержатся в образце (сыворотка крови, спинномозговая жидкость, моча, биопсийный материал) и мониторинг изменения их концентраций. Протеом – это совокупность всех белков, содержащихся в данном образце. Полный анализ протеома клеток, тканей, органов и биологических жидкостей проводится с помощью двумерного электрофореза с высоким разрешением и последующей идентификации индивидуальных белков методом масс-спектрометрии (МС). Это позволяет проанализировать до 10 тыс. индивидуальных белков в одном образце и зафиксировать изменения их концентраций. Появление в последнее время новых протеомных технологий, таких как МС, значительно расширило возможности исследователей для поиска новых биомаркеров. Значительному прогрессу в области протеомики способствовали успехи МС-анализа пептидов. Метод МС включает в себя 3 основных этапа. Во-первых, в ионном источнике масс-спектрометра из образца получают ионизированные пептиды или белки. Во-вторых, происходит разделение ионов пептидов и белков в анализаторе масс на основе их величины отношения массы к заряду (m/z). В-третьих, детектор ионов (времяпролетный масс-спектрометр) регистрирует отдельные ионы с указанием значения m/z иона, числа ионов и времени их пролета от источника до детектора ионов. Идентификация маркеров,

которые позволят выявить заболевание на ранней (доклинической) стадии, является основной целью клинической онкопротеомики РЭ. Диагностические маркеры должны обладать высокой чувствительностью и специфичностью, быть легкодоступными для анализа из тканей или жидкостей организма, определяться в плазме крови. Раннее выявление маркеров РЭ в крови – это перспективное направление в науке, однако технически является сложной задачей из-за гетерогенности заболевания и вариабельности белков плазмы крови. Наш обзор посвящен теоретическим предпосылкам и практическим результатам поиска новых протеомных маркеров РЭ.

Протеомные маркеры рака эндометрия

На сегодняшний день нет высокочувствительных и специфичных диагностических маркеров РЭ [5, 6]. Проводится большое число исследований для выявления эндометриоза, однако данных по РЭ получено мало. Тем не менее в работах канадских ученых из Медицинского университета г. Торонто [7–9] было определено, что протеины калгранулин А и каперонин-10 могут выступать в качестве дифференциальных маркеров, так как уровень этих белков в опухолевой ткани эндометрия повышается по сравнению с нормальным эндометрием. В своей работе ученые подтвердили полученные результаты применением различных методик, в том числе иммуногистохимических и полимеразной цепной реакции в реальном времени. В других опубликованных работах в качестве потенциальных биомаркеров определяли циклофилин А, связывающий пептид эпидермальных жирных кислот, и кальцифозин [10, 11]. Y.S. Wang et al. С использованием метода МС идентифицировали дифференциальную экспрессию 12 белков в плазме крови больных РЭ в сравнении с группой здоровых женщин. Среди выявленных протеинов особый интерес, по мнению исследователей, представляют белки, кодируемые генами *ORM1*, *HP*, *SERPINC1*, *SERPINA3*, *ApoA4*, *ITIH4*, *HRG* [12], которые рассматриваются в качестве потенциальных биомаркеров РЭ. В ряде экспериментальных исследований с использованием модельных линий клеток РЭ обнаружена гиперэкспрессия белка BST2. Терапевтический эффект анти-BST2 антител был изучен как в пробирке, так и в естественных условиях. Анти-BST2 моноклональные антитела в пробирке показали хороший цитотоксический эффект по отношению к BST2-позитивным клеткам РЭ. В модели ксенотрансплантата в естественных условиях анти-BST2 антитела значительно ингибировали рост опухоли из BST2-позитивных клеток РЭ. Анти-BST2 антитела обладают мощным противоопухолевым эффектом в отношении клеток РЭ как в пробирке, так и в естественных условиях, что указывает на большой потенциал их клинического применения для лечения РЭ

[13]. В исследовании S. Zhou et al. показана избыточная экспрессия белка ANXA2 у больных РЭ [14]. Функциональный анализ показал, что эстроген может заметно стимулировать ANXA2 и вызывать эпителиально-мезенхимальный переход в опытах на модельных клеточных линиях РЭ. Показано, что гиперстимуляция ANXA2 повышает проангиогенную мощность аденомиоза клетками РЭ через пути HIF-1 α /VEGF-A, а ингибирование ANXA2 блокирует рост клеток РЭ, метастазирование и ангиогенез [14, 15]. По данным исследователей, ANXA2 мог бы служить в качестве потенциальной терапевтической мишени при лечении РЭ [10].

В ряде работ на основе протеомных методов анализа ткани метастазов выявлено, что белки ENO1, TPI-1 и TAGLN2 могут играть определенную роль в развитии и прогрессировании церебральных метастазов РЭ, рака яичников, рака молочной железы [16]. В исследовании С.М. Uhlar et al. обнаружено, что белки семейства SAA гиперэкспрессированы в плазме крови больных РЭ. Белки SAA принадлежат к семейству аполипопротеинов, которые синтезируются главным образом в печени в ответ на воспалительные стимулы как белки острой фазы воспаления [17]. Уровни экспрессии этих белков в сыворотке крови увеличиваются при широком спектре опухолевых заболеваний, а высокие уровни концентраций SAA в плазме крови больных положительно коррелируют с метастазированием и негативным прогнозом при РЭ [18]. В работе Z. Yi et al. выявлено, что фермент циклооксигеназы-2 (COX-2) играет важную роль в развитии и метастазировании РЭ [19]. Показано, что блокирование сигнального пути COX-2 приводит к активации апоптоза и гибели клеток РЭ в экспериментах на клеточных линиях. Сигнальные каскады Extracellular signal-regulated kinases (ERK) и Mitogen-activated protein kinase (MEK) играют важную роль в противоопухолевом действии ингибиторов COX-2 в пробирке. Активация сигнального каскада ERK1/2 несет ответственность за увеличение COX-2-экспрессии белка в некоторых раковых клетках, обработанных селективным ингибитором COX-2 NS398 [20]. Одновременно сочетание препаратов NS398 и U0126 (ингибиторов COX-2) приводит к двукратному увеличению апоптоза опухолевых клеток РЭ, что связано с активацией каспазы-3, изменением Bcl-2 семейства белков. Блокировка сигнального каскада MEK-ERK, регулирующего COX-2, приводит к активации апоптоза и гибели клеток РЭ [20]. Применение специфических ингибиторов сигнального каскада MEK, ERK, COX-2 может быть взято за основу для создания новых химиотерапевтических препаратов направленного действия против РЭ. Н. Liang et al. провели полномасштабное секвенирование образцов ДНК, полученных из опухолевой ткани РЭ, и идентифицировали 12 потенциальных регу-

ляторных генов РЭ, включая 10 генов — супрессоров опухолевого роста (*ARID1A*, *INHBA*, *KMO*, *TTL5*, *GRM8*, *IGFBP3*, *AKTIP*, *PHKA2*, *TRPS1* и *Wnt11*) и 2 потенциальных онкогена (*ERBB3* и *RPS6KC1*) [21]. Особый интерес представляет мутация гена *ARID1A*, которая часто происходит совместно с мутациями в гене фосфатидилинозитол-3-киназы (*PI3K*) и связана с патологической активацией сигнального пути *PI3K* в клетках РЭ [21]. Таким образом, ген *ARID1A* и протеин, кодируемый этим геном, являются регуляторами активности сигнального пути *PI3K* и могут быть использованы в качестве потенциальных мишеней для противоопухолевой терапии РЭ.

В последнее время обнаружен новый вид регуляторных молекул, называемых микроРНК (miRNA), которыми регулируется экспрессия большинства генов человека. Одни молекулы микроРНК участвуют в развитии и прогрессировании рака, другие, наоборот, способны подавить развитие злокачественных опухолей и могут быть использованы при лечении онкологических больных. Молекулы микроРНК также могут найти применение в клинической практике в качестве диагностических биомаркеров с целью раннего выявления у человека онкологического заболевания. В новом выпуске журнала “Cancer Biomarkers” ученые приводят обзор результатов исследований, посвященных возможностям использования некодирующих микроРНК в качестве биомаркеров злокачественного процесса в человеческом организме. Доктор P.Jr. Morin из канадского Университета Монктона (Université de Moncton) считает, что привлекательность терапевтического подхода, основанного на применении молекул микроРНК, обусловлена тем, что эти молекулы могут влиять одновременно на экспрессию множества генов, задействованных в различных сигнальных путях [22]. По словам P.Jr. Morin, поскольку молекулы микроРНК циркулируют в кровеносной системе человека и изменение их концентраций в плазме и сыворотке крови можно измерить, эти молекулы можно рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров, позволяющих выявить онкологическое заболевание на ранней стадии, спрогнозировать его течение и оценить ответ организма на противоопухолевую терапию.

A. Torres et al. обнаружили повышенную экспрессию микроРНК MiR-21 и гена *Maspin* в клетках РЭ

[23]. В исследовании изучались образцы тканей и плазмы, анализировались микроРНК, которые, по мнению авторов, могут быть потенциальными диагностическими и прогностическими маркерами РЭ. Всего проанализирована экспрессия 866 микроРНК. Обнаружено, что 7 микроРНК усиливают свою активность, а 2 — подавляются в образцах плазмы крови больных РЭ. Авторы показали, что микроРНК MiR-92a/MiR-410, MiR-92a/MiR-205/MiR-410 гиперэкспрессированы в ткани РЭ. МикроРНК MiR-205 и MiR-200a являются маркерами рецидива РЭ. МикроРНК MiR-1228/MiR-200c/MiR-429 могут быть независимыми прогностическими маркерами в целом, а MiR-1228/MiR-429 являются маркерами выживаемости без прогрессирования заболевания [24–27]. МикроРНК MiR-9/MiR-1228 и MiR-9/MiR-92a циркулируют в плазме крови и ассоциированы с РЭ [28].

Анализируя данные о микроРНК, мы пришли к выводу, что они являются новыми потенциальными диагностическими и прогностическими маркерами, а также мишенями для направленной терапии РЭ.

Заключение

В настоящее время протеомика приобретает направленный характер: исследуется не просто протеом опухолевой клетки, а конкретные сигнальные пути, ассоциированные с метастазированием. По нашему мнению, исследование каскада белковых сигнальных путей, ассоциированных с метастазированием и развитием РЭ, позволит идентифицировать новые потенциальные мишени для направленной терапии. На основании анализа данных литературы мы пришли к выводу, что поиск дифференциально-экспрессированных белков в опухолевой ткани и плазме крови больных РЭ позволит выявить и идентифицировать новые потенциальные биомаркеры для ранней диагностики этой патологии. Изучение экспрессии молекулярно-биологических маркеров у больных РЭ позволит дать научное объяснение различному течению заболевания при сопоставимых по распространенности и гистологической структуре опухолям, оценить риск возникновения рецидивов и метастазов, обосновать назначение рациональных режимов комбинированной терапии и препаратов направленного действия пациенткам с данной патологией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов. Опухоли женской репродуктивной системы 2009;(1–2):76–80.
2. Сидоренко Ю.С., Левченко Н.Е. Органосохраняющие и функционально-щадящие

- операции в онкогинекологии. Тез. докл. науч.-практ. конференции «Лечение рецидивов и метастазов злокачественных опухолей». М., 2003. С. 453–6.
3. Краснощекова Г.И. Современные цитологические дифференциально-диагности-

- ческие критерии злокачественных опухолей тела матки. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2005. С. 25.
4. Бохман Я.В. Лекции по онкогинекологии. М., 2007. С. 304.
5. Дубініна В.Г., Боброва В.М. Генетичні ас-

- пекти розвитку раку ендометрія. Одеський медичний журнал 2006;(3):50–7.
6. Клиническая онкогинекология: Руководство для врачей. Под ред. В.П. Козаченко. М.: «Издательство Медицина», 2005. С. 376.
7. Com E., Hondermarck H. Functional proteomics in oncology: to understand more than to describe. *Med Sci (Paris)* 2007;23(1):27–30.
8. Attarha S., Mints M., Andersson S., Souchelnytskyi S. Endometrial cancer and application of proteomics. *Exp Oncol* 2011;33(3):174–7.
9. Lawrie L.C., Fothergill J.E., Murray G.I. Spot the differences: proteomics in cancer research. *Lancet Oncol* 2001;2(5):270–7.
10. Gemoll T., Habermann J.K., Lahmann J. et al. Protein profiling of genomic instability in endometrial cancer. *Cell Mol Life Sci* 2012;69(2):325–33.
11. Paik Y.K., Kim H., Lee E.Y. et al. Overview and introduction to clinical proteomics. *Methods Mol Biol* 2008;428:1–31.
12. Wang Y.S., Cao R., Jin H. et al. Altered protein expression in serum from endometrial hyperplasia and carcinoma patients. *J Hematol Oncol* 2011;4:15.
13. Yokoyama T., Enomoto T., Serada S. et al. Plasma membrane proteomics identifies bone marrow stromal antigen 2 as a potential therapeutic target in endometrial cancer. *Int J Cancer* 2013;132(2):472–84.
14. Zhou S., Yi T., Liu R. et al. Proteomics identification of annexin A2 as a key mediator in the metastasis and proangiogenesis of endometrial cells in human adenomyosis. *Mol Cell Proteomics* 2012;11(7):M112.017988.
15. Alkhas A., Hood B.L., Oliver K. et al. Standardization of a sample preparation and analytical workflow for proteomics of archival endometrial cancer tissue. *J Proteome Res* 2011;10(11):5264–71.
16. Yoshida A., Okamoto N., Tozawa-Ono A. et al. Proteomic analysis of differential protein expression by brain metastases of gynecological malignancies. *Hum Cell* 2013;26(2):56–66.
17. Uhlar C.M., Whitehead A.S. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999;265(2):501–23.
18. Malle E., Sodin-Semrl S., Kovacevic A. Serum amyloid A: an acute-phase protein involved in tumour pathogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2009;66(1):9–26.
19. Yi Z., Jingting C., Yu Z. Proteomics reveals protein profile changes in cyclooxygenase-2 inhibitor-treated endometrial cancer cells. *Int J Gynecol Cancer* 2009;19(3):326–33.
20. Gao J., Niwa K., Takemura M. et al. Significant anti-proliferation of human endometrial cancer cells by combined treatment with a selective COX-2 inhibitor NS398 and specific MEK inhibitor U0126. *Int J Oncol* 2005;26(3):737–44.
21. Liang H., Cheung L.W., Li J. et al. Whole-exome sequencing combined with functional genomics reveals novel candidate driver cancer genes in endometrial cancer. *Genome Res* 2012;22(11):2120–9.
22. Morin P.Jr. MiRNAs in cancer: non-coding RNAs as appealing biomarkers for malignancy. *Cancer Biomark* 2012;11(6):227–8.
23. Torres A., Torres K., Paszkowski T. et al. Highly increased maspin expression corresponds with up-regulation of miR-21 in endometrial cancer: a preliminary report. *Int J Gynecol Cancer* 2011;21(1):8–14.
24. Torres A., Torres K., Pesci A. et al. Diagnostic and prognostic significance of miRNA signatures in tissues and plasma of endometrioid endometrial carcinoma patients. *Int J Cancer* 2013;132(7):1633–45.
25. Ramón L.A., Braza-Boils A., Gilbert J. et al. Micro-RNAs related to angiogenesis are dysregulated in endometrioid endometrial cancer. *Hum Reprod* 2012;27(10):3036–45.
26. Bae J., Won M., Kim D.Y. et al. Identification of differentially expressed microRNAs in endometrial cancer cells after progesterone treatment. *Int J Gynecol Cancer* 2012;22(4):561–5.
27. Karaayvaz M., Zhang C., Liang S. et al. Prognostic significance of miR-205 in endometrial cancer. *PLoS One* 2012;7(4):e35158.
28. Gilbert-Estelles J., Braza-Boils A., Ramon L.A. et al. Role of microRNAs in gynecological pathology. *Curr Med Chem* 2012;19(15):2406–13.