

Тканеспецифичность экспрессии протеогликанов в различных типах опухолей человека

А.В. Суховских^{1,2}, Э.В. Григорьева^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики»; Россия, 630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет»; Россия, 630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Контакты: Анастасия Владимировна Суховских anastasia-suhovskih@mail.ru

Введение. Протеогликаны (ПГ) — белково-углеводные молекулы, участвующие в межклеточных взаимодействиях и поддержании структуры внеклеточного матрикса. Экспрессия ПГ и их состав значительно изменяются при злокачественной трансформации клеток и тканей.

Цель работы — изучить тканеспецифичность экспрессии основных ПГ (глипикана-1, перлекана, синдекана-1, агрекана, версикана, ХСПГ4/NG2, бревикана, декорина и люмикана) в нормальных (фибробласты, эпителиальные клетки предстательной железы PNT2) и опухолевых клеточных линиях человека (рак предстательной железы, молочной железы, легкого, мозга, почки) методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией.

Результаты. Было показано, что фибробласты наиболее активно экспрессируют ПГ, а клетки PNT2 характеризуются более низкой (в 5–6 раз) экспрессией ограниченного набора ПГ. Опухолевые клеточные линии отличаются по общей транскрипционной активности ПГ (до 10 раз) и паттерну экспрессируемых ПГ, обладая при этом тканеспецифичными признаками (например, экспрессия синдекана-1 более характерна для опухолей предстательной железы, а экспрессия перлекана — для рака легкого).

Заключение. Вариабельность паттернов экспрессии ПГ в клеточных линиях одного типа опухоли может вносить вклад во внутриопухолевую гетерогенность и служить потенциальным биомаркером для персонализированной диагностики опухолей.

Ключевые слова: внеклеточный матрикс, микроокружение опухоли, протеогликаны, паттерн экспрессии, тканеспецифичность, рак легкого, рак молочной железы, рак предстательной железы

DOI: 10.17650/2313-805X-2016-3-1-53-60

Tissue-specificity of proteoglycans expression in different cancers

A. V. Suhovskih^{1,2}, E. V. Grigor'eva^{1,2}

¹Institute of Molecular Biology and Biophysics; 2/12 Timakova St., Novosibirsk, 630117, Russia;

²Novosibirsk State University; 2 Pirogova St., Novosibirsk, 630090, Russia

Background. Proteoglycans (PGs) are complex glycosylated molecules playing an important role in cell-cell and cell-matrix interactions and signaling. Expression of PGs and their expression pattern change considerably during malignant transformation of mammalian cells and tissues.

Objective. The aim of our work was to investigate tissue-specificity of main PGs expression (glypican-1, perlecan, syndecan-1, aggrecan, versican, CSPG4/NG2, brevican, decorin, lumican) in normal cells (fibroblasts and normal epithelial prostate cells PNT2) and in different human cancer cell lines (prostate, breast, lung, brain, kidney). Expression patterns of main PGs were determined in these cells using reverse transcription polymerase chain reaction analysis and immunocytochemical staining.

Results. It was shown that fibroblasts actively expressed PGs, and PNT2 cells had lower (5–6-fold) expression levels of a limited set of PG. In different cancer cell lines, overall transcriptional activities of PGs varied up to 10-fold, although their expression patterns had tissue-specific properties (for example, expression of syndecan-1 is more specific for prostate cancer cells, while perlecan is typical for lung cancer cell lines).

Conclusions. Along with this, variability of the PG expression patterns in cell lines of the same tissue of origin was shown, suggesting a possible contribution of the variable PGs expression to intratumoural heterogeneity of cancer cells and their potential as perspective biomarker (s) for personalised cancer diagnostics.

Key words: extracellular matrix, tumour microenvironment, proteoglycan, expression pattern, tissue-specificity, lung cancer, breast cancer, prostate cancer

Введение

Внеклеточный матрикс (ВКМ) — основной компонент микроокружения опухолевых клеток, который отвечает за развитие злокачественного процесса и процесс метастазирования. Одним из основных компо-

нентов ВКМ являются протеогликаны (ПГ) — сложные белково-углеводные молекулы, состоящие из корового белка и присоединенных к нему углеводных цепей гликозаминогликанов. ПГ локализуются в основном на клеточной поверхности и в ВКМ, участвуют в под-

держании межклеточных контактов, взаимодействии с различными факторами роста и передаче сигнальной информации [1, 2]. Эти молекулы были идентифицированы много лет назад и охарактеризованы как тканеспецифичные компоненты всех живых клеток и тканей [3]. Так, синдеканы и глипиканы, являющиеся ПГ клеточной поверхности, выступают в качестве корцепторов для факторов роста и соответствующих тирозинкиназных рецепторов, взаимодействуют с белками цитоскелета [4]. Синдекан-1 экспрессируется эпителиальными клетками [4] и вовлечен в большое количество биологических процессов, включая дифференцировку, клеточную адгезию, организацию цитоскелета, клеточную миграцию, воспаление и ангиогенез [5, 6]. Декорин (дерматансульфат ПГ), присутствующий преимущественно в ВКМ, вступает в контакт с различными типами коллагенов, а также играет роль в регуляции клеточной пролиферации, взаимодействуя с клетками непосредственно или через факторы роста [7].

В литературе достоверно показано участие различных ПГ в процессах канцерогенеза [2, 8]. Увеличение экспрессии трансмембранного гепарансульфата ПГ синдекана-1 является негативным прогностическим фактором при раке молочной железы [9], поджелудочной железы [10], желудка [11], эндометрия [12] и яичников [13]. Уровень его экспрессии в опухолях молочной железы коррелирует с плохим ответом на химиотерапию [9], что может быть связано со стимуляцией синдеканом-1 опухолевых стволовых клеток [14]. Также показано, что синдекан-1 вовлечен в стимуляцию опухолевых стволовых клеток в колоректальной карциноме [15] и в их стабилизацию при раке предстательной железы [16], когда высокая экспрессия синдекана-1 является признанной чертой агрессивного развития опухоли [17]. Увеличение экспрессии синдекана в глиомах также связано с плохим прогнозом течения заболевания [18].

Декорин (дерматансульфат ПГ) принадлежит к семейству малых белков, богатых лейцином (SLRP), синтезируется в основном фибробластами стромы и депонируется в ВКМ, где связывается с коллагеном I типа. Как функциональный компонент ВКМ, декорин вовлечен в ряд физиологических (клеточная пролиферация, дифференцировка и заживление ран) и патологических процессов (канцерогенез) [19].

Декорин является мощным ингибитором пролиферации, связывая различные факторы роста, включая трансформирующий фактор роста β -1,2 (TGF β -1,2) и миостатин, напрямую блокирует некоторые рецепторы, принадлежащие семейству тирозинкиназ, например рецептор эпидермального фактора роста-1 (EGFR), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF1R), фактор роста гепатоцитов (HGF) [20]. Декорин также участвует в контроле процессов воспаления путем связывания с toll-подобными рецепторами 2-го и 4-го типов [21].

Люмикан (кератансульфат ПГ) принадлежит к семейству малых ПГ, богатых лейцином. Люмикан игра-

ет ключевую роль в организации ВКМ и участвует в регуляции многих биологических функций: вовлечен в регуляцию клеточного роста, апоптоз, миграцию, инвазию клеток, ангиогенез [22]. Имеются двойственные данные о про- и анти-онкогенной роли люмикана. В некоторых работах показано, что повышенная экспрессия люмикана коррелирует с плохим прогнозом при раке поджелудочной железы [23] и плоскоклеточном раке легкого [24], а в опухолях молочной железы экспрессия люмикана в строме снижена, что ассоциировано с более поздней стадией заболевания [25].

В большинстве работ описаны изменения экспрессии различных индивидуальных ПГ в опухолевых тканях, однако одновременное определение набора ПГ и паттерна их экспрессии в конкретном типе клеток/ткани остается малоизученным. Специфические наборы ПГ идентифицированы в опухолях молочной железы [25], предстательной железы [26], прямой кишки [27], гортани [28], плевры [29] и в образцах нейроэндокринных опухолей человека [30]. Вместе с тем косвенные данные указывают на возможность как типовой, так внутриопухолевой гетерогенности экспрессии ПГ, и этот вопрос может быть тесно связан с морфологическими и функциональными характеристиками опухолевых клеток.

Цель данной работы — определение паттерна экспрессии ПГ в различных линиях нормальных и опухолевых клеток человека в культуре *in vitro* с использованием единых методов исследования и проведение сравнительного анализа, который позволит проверить гипотезу о гетерогенной и/или тканеспецифичной экспрессии ПГ в различных опухолях.

Экспериментальная часть

Клеточные культуры. Культура нормальных эпителиальных клеток предстательной железы PNT2 была получена из Европейской коллекции клеточных культур (European Collection of Animal Cell Cultures, ECACC). Иммуortalизованные фибробласты человека (TERT-immortalized fibroblasts) и культуры клеток рака предстательной железы (LNCaP, PC3, DU145), молочной железы (MCF7), легкого (U2020, A549, H157, H647), почки (KRCY), головного мозга (U87) человека получены в Каролинском медицинском институте г. Стокгольма (Швеция). Фибробласты, PNT2, LNCaP, PC3, DU145 культивировали в среде RPMI (Roswell Park Memorial Institute), все остальные клеточные линии — в среде IMDM (Iscove modified Dulbecco's medium), содержащей 2 mM L-глутамин, 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 10 % фетальной бычьей сыворотки (fetal bovine serum — FBS), в 5 % CO₂ атмосфере при +37 °C. Для анализа клетки снимали с поверхности с использованием смеси трипсина с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) по стандартному протоколу, фиксировали в RNA-later и хранили при –20 °C.

Анализ экспрессии генов методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с обратной транскрип-

цией. Суммарную клеточную РНК выделяли с помощью набора PureLink Total RNA Purification System (Invitrogen, США), 1 мкг полученной РНК использовали в реакции обратной транскрипции (ОТ) для синтеза кДНК (First Strand cDNA Synthesis kit, Fermentas, США). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) осуществляли на амплификаторе Терцик (ДНК-технология, Россия) в конечном объеме 10 мкл (1 мкл кДНК; ПЦР-буфер – 10 мМ Трис-НСl; 1,7 мМ MgCl₂; 50 мМ KCl; рН 8,3; по 5 пмоль прямого и обратного праймеров; 0,1 ммоль каждого дезоксинуклеозидтрифосфата; 1 ед. активной Taq-ДНК-полимеразы). Амплификацию проводили при следующих условиях: 5 мин при температуре +95 °С, 30 с – при +95 °С, 30 с при температуре, индивидуальной для каждой пары праймеров, 60 с – при +72 °С, 10 мин – при +72 °С. Температура отжига и количество циклов для каждой пары праймеров указаны в таблице.

Горизонтальный электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле. Анализ продуктов ПЦР выполняли методом горизонтального гель-электрофореза в 1,5 % агарозном геле в трис-боратном электродном (Tris/

Borate/EDTA, TBE) буфере (89 мМ Трис, 0,05 М ЭДТА, 89 мМ борная кислота, рН – 8,0) при напряженности электрического поля 6–8 В/см на протяжении 20–30 мин. Перед нанесением на гель к пробам добавляли буфер для нанесения (50,0 % глицерин, 0,1 % бромфеноловый синий, 0,1 % ксиленцианол). Гель окрашивали в буфере TBE с концентрацией бромистого этидия 50 мкг/мл. Сканирование геля проводили в ультрафиолетовом свете с помощью видеосистемы Viber Lourmat ECX-F20M.

Иммуноцитохимический анализ. Клетки фиксировали в 4 % параформальдегиде (10 мин при комнатной температуре), обрабатывали 0,1 % тритон X-100 (10 мин при комнатной температуре). Блокировку проводили 3 % FBS в PBS-T (PBS, 0,05 % Tween 20) на протяжении 30 мин при комнатной температуре, инкубировали с первичными антителами (в разведениях для анти-синдекан-1 (Abcam, Великобритания), анти-глипикан-1 (Abcam, Великобритания) – 1:150) в PBS-T, содержащем 1 % FBS, в течение 1 ч при комнатной температуре и затем с вторичными антителами anti-mouse, конъюгированными с FITS (Vector, США) (в разведе-

Последовательности праймеров и условия ПЦР

Праймер	Последовательность в направлении 5'–3'	Размер продукта ПЦР, п. н.	Условия ПЦР	
			температура отжига, °С	количество циклов
Глипикан-1 (прямой)	5'-GAGCTGCGGCGAGGTCCG-3'	648	55	33
Глипикан-1 (обратный)	5'-CTGGTCTACTGTGCTCACTGCC-3'			
Перлекан (прямой)	5'-TCCCTGGACACAGATGGC-3'	314	55	35
Перлекан (обратный)	5'-ACCCATGCAGAAACAGGG-3'			
Синдекан-1 (прямой)	5'-GCCCCCTGAAGATCAAGATGGC-3'	790	61	30
Синдекан-1 (обратный)	5'-CCTCCTGTTTGGTGGGCTTCTG-3'			
Агрекан (прямой)	5'-CTTCTACCGCCCACTGGCC-3'	400	63	33
Агрекан (обратный)	5'-GCCAGCCGGCGTCACACTG-3'			
Версикан (прямой)	5'-GGCCAGCCCCCTGTTGTAGA-3'	308	63	33
Версикан (обратный)	5'-AGGGATCAGCGCCTCGACTC-3'			
ХСПГ4/NG2 (прямой)	5'-AGCCCTTTTGGGAGGCCCATG-3'	758	61	30
ХСПГ4/NG2 (обратный)	5'-GAAGATGCCTGCCACGCTGC-3'			
Бревикан (прямой)	5'-GCCCTCACCATCCCTTGCCA-3'	476	61	30
Бревикан (обратный)	5'-TCCGACAGCCAGCCAGCATC-3'			
Декорин (прямой)	5'-GGCCACTATCATCCTCCTTCTGC-3'	1031	59	25
Декорин (обратный)	5'-ATGGCAGAGCGCACGTAGACAC-3'			
Люмикан (прямой)	5'-CTCTCTCCTGGCAATTGATGGTGG-3'	720	61	30
Люмикан (обратный)	5'-GACAGATCCAGCTCAACCAGGG-3'			
Ген GAPDH (прямой)	5'-GGGCGCCTGGTCACCAG-3'	350	59	22
Ген GAPDH (обратный)	5'-AACATGGGGCATCAGCAGAG-3'			

нии 1:1000), и anti-rabbit, конъюгированными с Texas Red (Vector, США) (в разведении 1:2000) в буфере PBS-T, содержащем 1 % FBS, в течение 1 ч при комнатной температуре. На срезы наносили покровную среду Prolong Gold Antifade reagent with DAPI (Invitrogen, США). Препараты анализировали на микроскопе Dmre (Leica, Германия).

Статистический анализ. Денситометрию проводили с помощью компьютерной программы Gel Analysis (Россия). Относительный уровень мРНК генов оценивали в относительных единицах как отношение интенсивности специфической полосы гена к интенсивности полосы гена «домашнего хозяйства» глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназы (*GAPDH*). Данные по экспрессии генов определяли как среднее значение с расчетом среднестатистического отклонения. Все расчеты выполняли с использованием программного обеспечения Origin 8.5 (OriginLab, США).

Результаты

На первом этапе была поставлена задача изучить экспрессию 9 основных ПГ ВКМ и клеточной поверхности: глипикана-1, перлекана, синдекана-1, агрекана, версикана, ХСПГ4/NG2, бревикана, декорина и люмикана на уровне мРНК в фибробластах, нормальных эпителиальных клетках предстательной железы человека (PNT2) и на различных опухолевых клеточных линиях человека (клеточные линии рака предстательной железы LNCaP, PC3, DU145, рака легкого U2020, A549, H647, H157, рака молочной железы MCF7, рака почки KRCY, глиобластомы U87). Для этого бы-

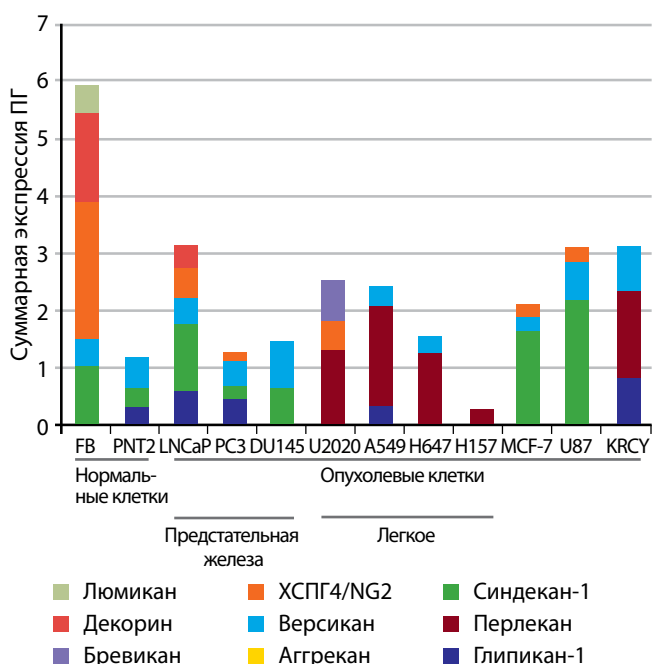


Рис. 1. Паттерн транскрипционной активности генов ПГ в различных клеточных линиях. Анализ ОТ-ПЦР, интенсивность амплифицированного ДНК-фрагмента для каждого гена по отношению к интенсивности *GAPDH*. В каждой колонке виден вклад экспрессии индивидуальных ПГ в ее общий уровень

ла проведена полуколичественная оценка уровня экспрессии исследуемых генов методом мультиплексной ОТ-ПЦР; контрольный ген – *GAPDH* (рис. 1).

В качестве основного параметра для проведения сравнительного анализа использовали общий уровень транскрипционной активности генов, кодирующих ключевые ПГ, полученный суммированием уровней экспрессии индивидуальных ПГ в каждой конкретной клеточной линии. На рис. 2 каждой отдельной колонке соответствует общий уровень транскрипционной активности ПГ-кодирующих генов.

Согласно полученным данным нормальные клетки различного морфологического происхождения значительно отличаются между собой по набору экспрессируемых ПГ и общему уровню их экспрессии. Фибробласты, как основные клеточные компоненты стромы, синтезируют широкий набор ПГ, основными из которых являются синдекан-1, ХСПГ4/NG2, декорин, люмикан. Нормальные PNT2 экспрессируют глипикан-1, синдекан-1 и версикан. Разница в общем уровне экспрессии ПГ между фибробластами и нормальными PNT2 составляет 5–6 раз.

Опухолевые клеточные линии также отличаются между собой по общей транскрипционной активности ПГ (до 10 раз) и по набору экспрессируемых ПГ. Каждая опухолевая клеточная линия имеет свой паттерн и специфический суммарный уровень транскрипционной активности ПГ-кодирующих генов, однако для различных видов опухолей можно выявить и общие особенности паттернов экспрессии ПГ. Так, например, во всех клеточных линиях рака предстательной железы экспрессируются 2 ПГ: синдекан-1 и версикан. Также в клетках LNCaP экспрессируются глипикан-1, ХСПГ4/NG2 и декорин, в клетках PC3 – глипикан и ХСПГ4/NG2. Во всех клеточных линиях рака легкого экспрессируется перлекан, а также глипикан-1, ХСПГ4/NG2, версикан, бревикан в разных комбинациях в различных клеточных линиях рака легкого.

Таким образом, несмотря на индивидуальные особенности различных клеточных линий, можно сделать вывод о тканеспецифичной экспрессии определенного набора ПГ в разных типах опухолей человека.

При этом вариабельность паттерна экспрессии ПГ в различных линиях опухолевых клеток одинакового морфологического происхождения обусловлена определенными комбинациями уровней экспрессии индивидуальных ПГ (см. рис. 2).

По результатам ОТ-ПЦР можно увидеть, что ни один из ПГ не экспрессируется во всех клеточных линиях. Перлекан экспрессируется на высоком уровне в клеточных линиях рака легкого (см. рис. 2). Экспрессия глипикана-1 характерна как для клеток предстательной железы, так и для клеток рака легкого и рака почки. ХСПГ4/NG2, являющийся типичным для клеток нервной ткани и для стволовых клеток, экспрессируется также в клеточных линиях рака предстательной железы (LNCaP и PC3), рака молочной железы

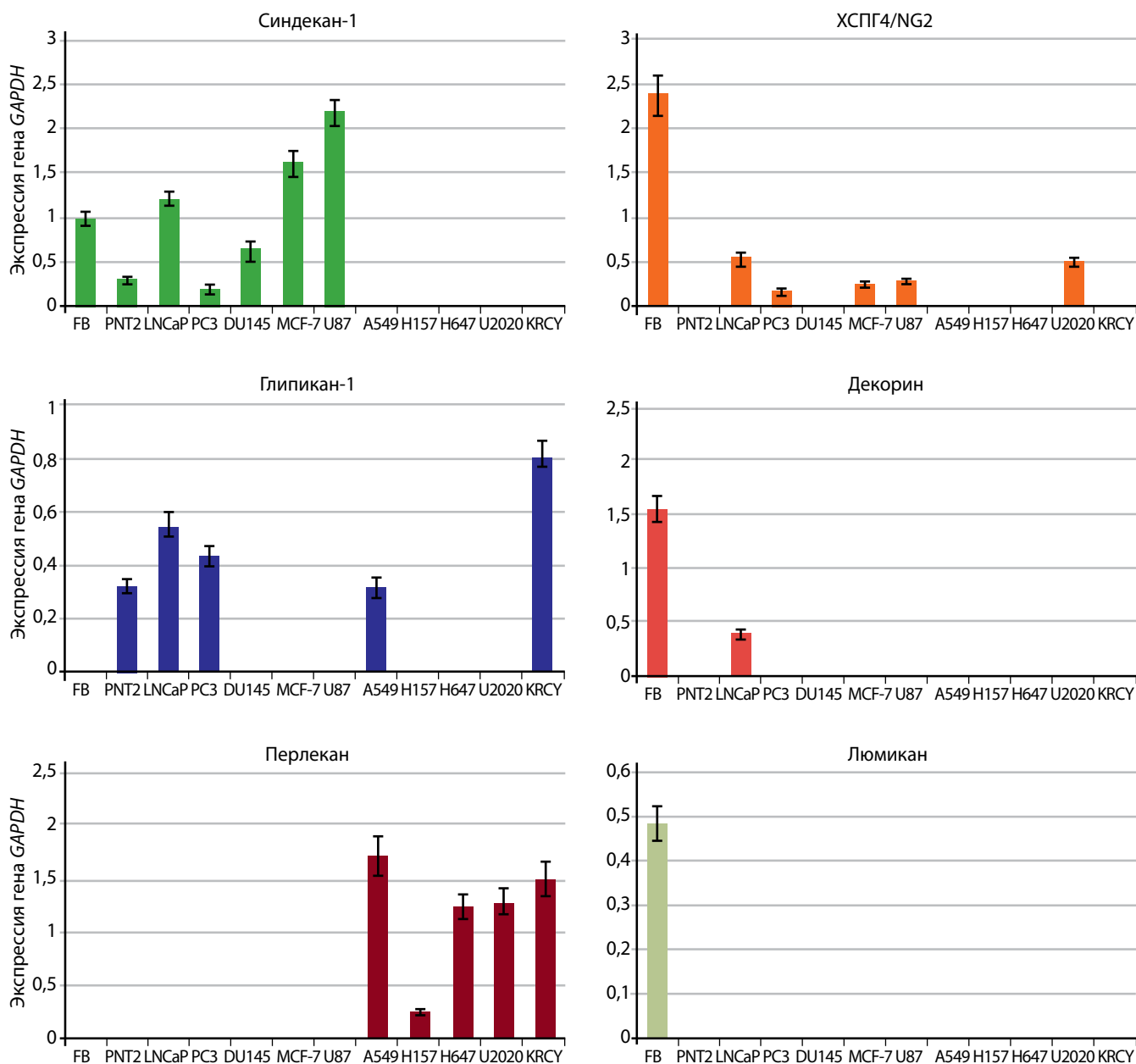


Рис. 2. Экспрессия отдельных ПГ в различных клеточных линиях. Анализ ОТ-ПЦР, интенсивность амплифицированного ДНК-фрагмента для каждого гена по отношению к интенсивности GAPDH

и мелкоклеточного рака легкого (U2020). Декорин экспрессируется в фибробластах и в клеточной линии рака предстательной железы LNCaP, люмикан – только в фибробластах, синдекан-1 – преимущественно в клеточной линии рака мозга (U87) и в клетках предстательной железы (как в нормальных – PNT2, так и в опухолевых – LNCaP, PC3, DU145). Интересно, что уровень экспрессии синдекана-1 значительно варьирует в клеточных линиях рака предстательной железы с различными функциональными характеристиками (LNCaP – гормонозависимая, нематастазирующая, PC3 и DU145 – гормоннезависимые, матастазирующие), что может свидетельствовать о высокой внутриопухолевой гетерогенности клеток по уровню экспрессии этого гена.

Данные иммунофлуоресцентного окрашивания нормальных (PNT2) и опухолевых (LNCaP, PC3, DU145) клеток предстательной железы на синдекан-1 и глипикан-1 подтверждают гетерогенность экспрессии исследуемых молекул на белковом уровне в различных клеточных линиях (рис. 3).

Показано, что синдекан-1 активно экспрессируется в опухолевых клетках предстательной железы LNCaP, PC3 и слабо в DU145 и нормальных PNT2 (см. рис. 3), а глипикан-1 – активно в LNCaP, PC3, PNT2 и слабо в DU145, что согласуется с данными по их экспрессии на уровне мРНК.

Таким образом, различные типы опухолей человека отличаются между собой по набору экспрессируе-

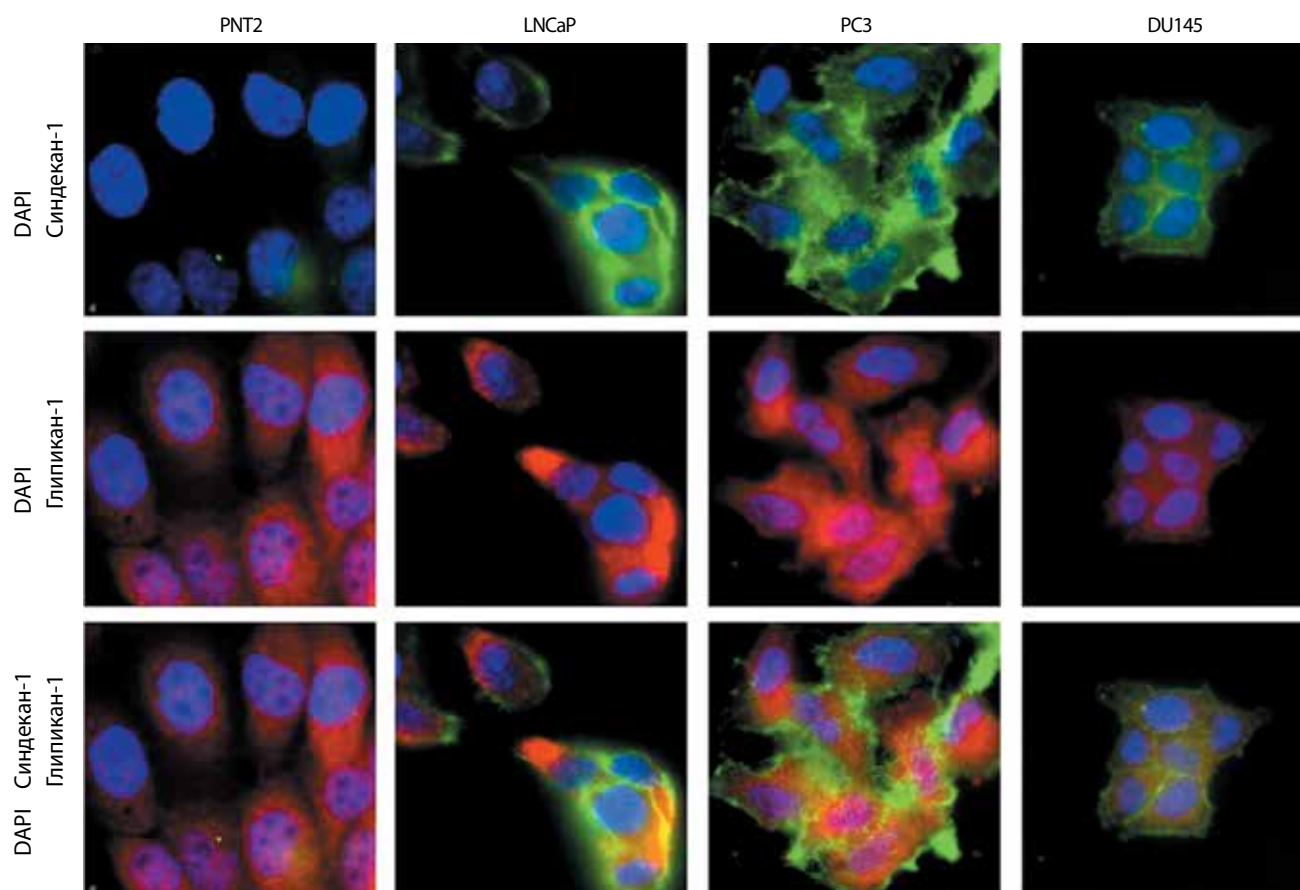


Рис. 3. Иммуноцитохимическое окрашивание синдекана-1 и глипикана-1 в нормальных эпителиальных клетках предстательной железы (PNT2) и в клеточных линиях рака предстательной железы (LNCaP, PC3, DU145). Верхний ряд – окрашивание клеток на синдекан-1 (зеленый цвет), средний – на глипикан-1 (красный цвет), нижний – на синдекан-1 и глипикан-1. Ядра клеток визуализированы DAPI (синий цвет)

мых ПГ и по уровню их транскрипционной активности. Вместе с тем различия в экспрессии ПГ наблюдаются также и между клеточными линиями в пределах одной опухоли (при этом каждая клеточная линия обладает специфичным паттерном экспрессии основных ПГ), что может свидетельствовать о внутриопухолевой гетерогенности клеточного состава опухоли *in vivo* по этому параметру.

Обсуждение

В данной работе впервые проведено одновременное исследование экспрессии основных ПГ (глипикан-1, перлекана, синдекана-1, агрекана, версикана, ХСПГ4/NG2, бревикана, декорина и люмикана) в фибробластах, нормальных PNT2 и в различных опухолевых клеточных линиях (LNCaP, PC3, DU145, U2020, A549, H647, H157, MCF-7, U87, KRCY) человека. Мы показали, что нормальные PNT2 и фибробласты значительно отличаются по паттерну и уровню экспрессии ПГ. Общий уровень экспрессии ПГ в фибробластах выше, чем в нормальных PNT2 в 5–6 раз. К экспрессируемым в фибробластах ПГ относятся хондроитинсульфат, дерматансульфат и кератансульфат ПГ (ХСПГ4/NG2, декорин и люмикан), которые составляют структурную основу ВКМ, а в нормальных PNT2 домини-

руют гепарансульфат ПГ (синдекан-1, глипикан-1) – ПГ клеточной поверхности, отвечающие за взаимодействие клетки с ВКМ. Полученные данные хорошо согласуются с положением о том, что основную массу ВКМ в ткани предстательной железы синтезируют фибробласты, основной функцией которых является синтез компонентов ВКМ, в том числе ПГ, а эпителиальные клетки характеризуются более низким уровнем экспрессии специфического набора ПГ.

В опухолевых клетках происходят изменения паттерна и уровня экспрессии ПГ. Это можно видеть на модели рака предстательной железы. В морфологически различных клеточных линиях (LNCaP, PC3, DU145) происходят специфические изменения состава и уровня экспрессии отдельных ПГ, но в целом паттерн экспрессируемых ПГ остается характерным: во всех клеточных линиях экспрессируется синдекан-1, что говорит о тканеспецифичности экспрессии этого ПГ в данных клеточных линиях.

Состав и паттерн экспрессии ПГ варьируют также в различных клеточных линиях рака легкого (U2020, A549, H647, H157), однако и в этом случае во всех клеточных линиях прослеживаются черты тканеспецифичности, связанные с доминирующей экспрессией перлекана. Ранее паттерн экспрессии ПГ в опухолевых

клетках легкого не был изучен, имеются лишь данные об экспрессии некоторых ПГ (синдекана, глипикана, перлекана и CD44), экспрессия которых была проанализирована в опухолях легких *in vivo* и клеточных линиях рака легкого человека Calu-1, SW 900, NCI-H520, A-427, Calu-3, SK-LU-1. Повышенная экспрессия перлекана в клеточных линиях рака легкого одного из самых агрессивных онкологических заболеваний подтверждает, что данный белок индуцирует опухолевый рост и прогрессию, в частности процессы метастазирования [31].

В целом в научной литературе имеются несколько работ по изучению паттернов экспрессии ПГ в различных линиях опухолевых клеток *in vitro* и опухолей *in vivo* – в клетках рака яичника человека *in vitro* показана экспрессия синдеканов-1, -2, -4, глипиканов-1, -3, -5 и CD44 [32]; в опухолевых клетках *in vitro* и опухолях прямой кишки человека *in vivo* экспрессируются синдекан-1, глипикан-1, перлекан, декорин, бигликан, версикан, агрекан, серглицин, NG2, бревикан, люмикан и CD44 [27]; в опухолях плоскоклеточного рака гортани – агрекан, версикан, декорин и бигликан [30]; в образцах нейроэндокринных опухолей человека – глипиканы-1, -5 и синдекан-2 [29]; в злокачественной мезотелиоме – синдеканы-1, -2, -4, бигликан и версикан [29]. Однако все эти исследования проводили с использованием различных методов и для разного набора ПГ, в силу чего сопоставление данных в плане определения тканеспецифичности паттерна экспрессии ПГ является затруднительным. В настоящей работе впервые проведен сравнительный анализ состава и уровня экспрессии ПГ в различных линиях опухолевых клеток и показано, что наряду с тканеспецифичными особенностями паттерна экспрессии ПГ существуют особенности, присущие морфологически различным видам опухолевых клеток в пределах одной ткани. Выявление ПГ, ассоциированных с наиболее агрессивными подтипами опухолевых клеток, позволяет предложить их в качестве новых прогностических маркеров тяжести течения заболевания.

Важным аспектом анализа полученных данных является их сопоставление с результатами аналогичных экспериментов, проведенных нами ранее для различных типов опухолей человека *in vivo*. Показано, что рак молочной железы [25], предстательной железы [26] и прямой кишки [27] характеризуются специфическими паттернами экспрессии ПГ, что указывает на тканеспецифичность экспрессии и паттерна ПГ в различных опухолях *in vivo*. Вместе с тем в опухолях предстательной железы *in vivo* наблюдается определенная вариабельность паттернов экспрессии ПГ [26], связанная, по-видимому, с различными морфологическими характеристиками индивидуальных опухолей. Представленные в настоящей работе результаты хорошо согласуются с этими данными и впервые идентифицируют ПГ как потенциальные биомаркеры для индивидуализированной диагностики наиболее агрессивных подтипов опухолевых клеток.

Заключение

Таким образом, в данной работе впервые охарактеризованы паттерны экспрессии ПГ в опухолевых клеточных линиях различного морфологического происхождения и показаны тканеспецифичные особенности экспрессии ПГ. С учетом вариабельности экспрессии определенных ПГ в опухолевых клетках различной степени агрессивности можно говорить о важном вкладе ПГ в явление гетерогенности опухолевых клеток и предложить новые молекулярные маркеры для персонализированной диагностики опухолей и выработки оптимальной стратегии их лечения.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 12-04-01657, 24-04-01283).

Авторы выражают благодарность д.б.н. В.И. Кашубе за помощь и поддержку при выполнении работы, к.б.н. Л.А. Мостович за техническую помощь при проведении иммуноокрашивания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Sarrazin S., Lamanna W.C., Esko J.D. Heparan sulfate proteoglycans. Cold Spring Harb Perspect Biol 2011;3(7):pii:a004952.
- Theocharis A.D., Skandalis S.S., Tzanakakis G.N., Karamanos N.K. Proteoglycans in health and disease: novel roles for proteoglycans in malignancy and their pharmacological targeting. FEBS J 2010;277:3904–23.
- Dietrich C.P., Nader H.B., Straus A.H. Structural differences of heparan sulfates according to the tissue and species of origin. Biochem Biophys Res Commun 1983;111(3):865–71.
- Gharbaran R. Advances in the molecular functions of syndecan-1 (SDC1/CD138) in the pathogenesis of malignancies. Crit Rev Oncol Hematol 2015;94(1):1–17.
- Liu W., Litwack E.D., Stanley M.J. et al. Heparan sulfate proteoglycans as adhesive and anti-invasive molecules. Syndecans and glypican have distinct functions. J Biol Chem 1998;273:22825–32.
- Beauvais D.M., Burbach B.J., Rapraeger A.C. The syndecan-1 ectodomain regulates alpha-vbeta3 integrin activity in human mammary carcinoma cells. J Cell Biol 2004;167:171–81.
- Shi X., Liang W., Yang W., et al. Decorin is responsible for progression of non-small-cell lung cancer by promoting cell proliferation and metastasis. Tumour Biol 2015;36(5):3345–54.
- Iozzo R.V., Sanderson R.D. Proteoglycans in cancer biology, tumour microenvironment and angiogenesis. J Cell Mol Med 2011;15(5):1013–31.
- Gotte M., Kersting C., Ruggiero M. et al. Predictive value of syndecan-1 expression for

- the response to neoadjuvant chemotherapy of primary breast cancer. *Anticancer Res* 2006;26:621–7.
10. Juuti A., Nordling S., Lundin J. et al. Syndecan-1 expression – a novel prognostic marker in pancreatic cancer. *Oncology* 2005;68(2–3):97–106.
 11. Wiksten J.P., Lundin J., Nordling S. et al. Epithelial and stromal syndecan-1 expression as predictor of outcome in patients with gastric cancer. *Int J Cancer* 2001;95:1–6.
 12. Hasengaowa, Kodama J., Kusumoto T. et al. Prognostic significance of syndecan-1 expression in human endometrial cancer. *Ann Oncol* 2005;16(7):1109–15.
 13. Kusumoto T., Kodama J., Seki N. et al. Clinical significance of syndecan-1 and versican expression in human epithelial ovarian cancer. *Oncol Rep* 2010;23:917–25.
 14. Ibrahim S.A., Hassan H., Vilardo L. et al. Syndecan-1 (CD138) modulates triple-negative breast cancer stem cell properties via regulation of LRP-6 and IL-6-mediated STAT3 signaling. *PloS One* 2013;8(12):e85737.
 15. Kim S.Y., Choi E.J., Yun J.A. et al. Syndecan-1 Expression Is Associated with Tumor Size and EGFR Expression in Colorectal Carcinoma: a Clinicopathological Study of 230 Cases. *Int J Med Sci* 2015;12(2):92–9.
 16. Shimada K., Anai S., Fujii T. et al. Syndecan-1 (CD138) contributes to prostate cancer progression by stabilizing tumour-initiating cells. *J Pathol* 2013;231(4):495–504.
 17. Zellweger T., Ninck C., Mirlacher M. et al. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of syndecan-1 expression in prostate cancer. *Prostate* 2003;55(1):20–9.
 18. Xu Y., Yuan J., Zhang Z. et al. Syndecan-1 expression in human glioma is correlated with advanced tumor progression and poor prognosis. *Mol Biol Rep* 2012;39(9):8979–85.
 19. Theocharis A.D., Skandalis S.S., Tzanakakis G., Karamanos N.K. Proteoglycans in health and disease: novel roles for proteoglycans in malignancy and their pharmacological targeting. *FEBS J* 2010;277(19):3904–23.
 20. Iozzo R.V., Moscatello D.K., McQuillan D.J., Eichstetter I. Decorin is a biological ligand for the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 1999;274(8):4489–92.
 21. Merline R., Moreth K., Beckmann J. et al. Signaling by the matrix proteoglycan decorin controls inflammation and Cancer through PD CD4 and microRNA-21. *Sci Signal* 2011;4(199):ra75.
 22. Albig A.R., Roy T., Becenti D.J., Schiemann W.P. Transcriptome analysis of endothelial cell gene expression induced by growth on matrigel matrices: identification and characterization of MAGP-2 and lumican as novel regulators of angiogenesis. *Angiogenesis* 2007;10(3):197–216.
 23. Matsuda Y., Yamamoto T., Kudo M. et al. Expression and roles of lumican in lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma. *Int J Oncol* 2008;33:1177–85.
 24. Ishiwata T., Cho K., Kawahara K. et al. Role of lumican in cancer cells and adjacent stromal tissues in human pancreatic cancer. *Onc Rep* 2007;18(3):537–43.
 25. Eshchenko T.Y., Rykova V.I., Chernakov A.E. et al. Expression of different proteoglycans in human breast tumors. *Biochemistry (Mosc)* 2007;72(9):1016–20.
 26. Suhovskih A.V., Mostovich L.A., Kunin I.S. et al. Proteoglycan expression in normal human prostate tissue and prostate cancer. *ISRN Oncol* 2013;2013:680136.
 27. Suhovskih A.V., Aidagulova S.V., Kashuba V.I., Grigorjeva E.V. Proteoglycans as potential microenvironmental biomarkers for colon cancer. *Cell Tissue Res* 2015;361(3):833–44.
 28. Skandalis S.S., Theocharis A.D., Theocharis D.A. et al. Matrix proteoglycans are markedly affected in advanced laryngeal squamous cell carcinoma. *Biochim Biophys Acta* 2004;1689(2):152–61.
 29. Gulyás M., Hjerpe A. Proteoglycans and WT1 as markers for distinguishing adenocarcinoma, epithelioid mesothelioma, and benign mesothelium. *J Pathol* 2003;199(4):479–87.
 30. García-Suárez O., García B., Fernández-Vega I. et al. Neuroendocrine tumors show altered expression of chondroitin sulfate, glypican 1, glypican 5, and syndecan 2 depending on their differentiation grade. *Front Oncol* 2014;4:15.
 31. Nackaerts K., Verbeke E., Deneffe G. et al. Heparan sulfate proteoglycan expression in human lung-cancer cells. *Int J Cancer* 1997;74(3):335–45.
 32. Kokenyesi R. Ovarian carcinoma cells synthesize both chondroitin sulfate and heparan sulfate cell surface proteoglycans that mediate cell adhesion to interstitial matrix. *J Cell Biochem* 2001;83(2):259–70.