

DOI: 10.24060/2076-3093-2017-7-3-60-67

ЭПИГЕНЕТИКА КАНЦЕРОГЕНЕЗА**Р. Н. Мустафин¹, Э. К. Хуснутдинова^{1,2}****¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный университет», Уфа, Россия****² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия**

Мустафин Рустам Наилевич – кандидат биологических наук, научный сотрудник кафедры генетики и фундаментальной медицины БашГУ, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32; e-mail: ruj79@mail.ru; тел. 89876171893

Хуснутдинова Эльза Камилевна – доктор биологических наук, заведующая кафедрой генетики и фундаментальной медицины БашГУ, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32; директор ФГБУН Института биохимии и генетики УНЦ РАН, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71, e-mail: elzakh@mail.ru, тел. 83472356088

В настоящее время ключевыми механизмами канцерогенеза признаны эпигенетические события, к которым относятся специфические изменения метилирования ДНК, модификации гистонов, экспрессия микроРНК и высшая хроматиновая организация. Согласно последним данным, некодирующие РНК (микроРНК, малые интерферирующие РНК или siРНК, piРНК, длинные некодирующие РНК или lncРНК) в большинстве своем либо непосредственно образуются из мобильных генетических элементов, либо имеют транспозонное происхождение. Некодирующие РНК специфически влияют на метилирование генома и модификации гистонов в онтогенезе, чему способствуют эволюционно запрограммированные особенности активации транспозонов, из последовательностей которых происходят данные РНК. Таким образом, материальной основой эпигенетической наследственности служат транспозоны. Под действием стресса и при старении увеличивается вероятность развития онкопатологии, что объясняется повышенной вероятностью аномальной активации мобильных генетических элементов, чувствительных к стрессовым воздействиям и изменению уровня гормонов. Аномальная активация транспозонов в клетках ведет к геномной нестабильности – большинство подобных клеток подвергаются апоптозу. Однако в некоторых случаях прогрессирующая геномная нестабильность ведет к повреждению генов онкосупрессоров и активации онкогенов - в результате апоптоза не происходит, а клетки обретают способность неконтролирующей пролиферации с накоплением множества мутаций вследствие прогрессирующей геномной нестабильности, вызванной мобилизацией транспозонов. В каждом типе злокачественных опухолей запускаются свои каскадные механизмы активации мобильных генетических элементов с участием некодирующих РНК. Исследование эпигенетических механизмов развития каждого типа рака даст возможность разработать эффективные методы ранней молекулярно-генетической диагностики онкопатологии, а также таргетной терапии на разных стадиях развития патологического процесса.

Ключевые слова: геномная нестабильность (ГН), длинные некодирующие РНК (lncРНК), метилирование (МТ), микроРНК, неаллельная гомологичная рекомбинация (NAHR – non-allelic homologous recombination), некодирующие РНК (нкРНК), ретро-транспозиция (РТ), транспозоны (TE – transposable elements)

EPIGENETICS OF CARCINOGENESIS**Rustam N. Mustafin¹, Elza K. Khusnutdinova^{1,2}****¹ Bashkiria State University, Ufa, Russian Federation****² Ufa Branch of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation**

Mustafin Rustam Nailevich – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Genetics and Fundamental Medicine Department of Bashkir State University, 32 Zaki Valedi str., Ufa, 450076; e-mail: ruj79@mail.ru; tel.: +79876171893

Khusnutdinova Elza Kamilevna – Doctor of Medical Sciences, the Head of the Genetics and Fundamental Medicine Department of Bashkir State University, 32 Zaki Valedi str., Ufa, 450076; the Head of Federal State Budgetary Science Institution Biochemistry and Genetics Institute of Russian Science Academy Ufa Science Center, 71 October avenue, Ufa, 450054, e-mail: elzakh@mail.ru; tel.: +73472356088

Currently, the key mechanisms of carcinogenesis are epigenetic events. Epigenetic factors include DNA methylation, histone modifications, microRNA expression and higher chromatin organization. Non-coding RNAs include microRNAs, small interfering RNAs or siRNAs, piRNAs, long noncoding RNAs or lncRNAs. According to recent data, most of these RNAs are directly formed from mobile genetic elements or have a transposon origin. Non-coding RNAs specifically affect the methylation of the genome and the modification of histones in ontogenesis. This is facilitated by evolutionarily programmed features of activation of transposons, since non-coding RNAs are formed from transposons. Thus, the material basis of epigenetic heredity are the transposons. Stress and aging increase the likelihood of developing cancer. This can be explained by an increase in the number of abnormal activation of mobile genetic elements that are sensitive to stress and hormones. Abnormal activation of transposons in cells leads to genomic instability-most such cells undergo apoptosis. However, in some cases, progressive genomic instability leads to damage to oncosuppressor genes and oncogenes activation - as a result of apoptosis does not occur, and cells acquire the ability of uncontrolled proliferation with the accumulation of a variety of mutations due to the progressive genomic instability caused by the mobilization of transposons. In each type of malignant tumors, specific cascade mechanisms of activation of mobile genetic elements with the participation of non-coding RNA are triggered. The study of epigenetic mechanisms of development of each type of cancer will enable to develop effective methods for early molecular genetic diagnosis of cancer, as well as targeted therapy at different stages of carcinogenesis.

Keywords: genomic instability, long noncoding RNA (lncRNA), methylation, microRNA, non-allelic homologous recombination, non-coding RNA, retrotransposition, transposons

ВВЕДЕНИЕ

Этиология и патогенез опухолевого роста связаны с нарушением экспрессии протоонкогенов (усиление) и генов онкосупрессоров (подавление), ведущей к неконтролируемой пролиферации, «ускользанию» от апоптоза, нарушению метаболизма в опухолевой ткани с особенностями кровоснабжения и иннервации. В настоящее время известно более 30 генов онкосупрессоров и более 100 протоонкогенов [1]. Причиной изменения экспрессии генов могут быть мутации, эпигенетические факторы, воздействие вирусов и транспозонов. При этом для возникновения трансформированного клеточного клона необходимо как минимум 5-9 изменений в разных онкогенах и генах онкосупрессоров. С учетом скорости мутационных процессов подобное накопление в одной и той же клетке почти невероятное событие [2]. Ключевыми механизмами канцерогенеза считаются эпигенетические события, вероятность возникновения которых значительно выше. В настоящее время эпигенетические исследования, в том числе крупные международные секвенационные проекты, собирают информацию для создания «нормального» эпигенома тканей и типов клеток, а также физиологических вариаций эпигенома, воздействие на которые различных канцерогенов можно оценить [3].

К эпигенетическим факторам относятся специфические изменения метилирования ДНК, модификации гистонов, экспрессия микроРНК и высшая

хроматиновая организация. МикроРНК, в свою очередь, регулируются эффекторами эпигенетической системы, такими как ДНК-метилтрансфераза (DNMT), гистоновая деацетилаза (HDAC) и генами репрессивного комплекса Polycomb. Полногеномный анализ различных типов рака показал влияние метилирования ДНК и модификации гистонов на глобальное регулирование микроРНК. МикроРНК, так называемые эпи-микроРНК, сами регулируют компоненты эпигенетической системы, такие как DNMT и гистоновые модификаторы (рис. 1). Данные эпи-микроРНК косвенно влияют на экспрессию генов онкосупрессоров, чья экспрессия контролируется эпигенетическими факторами [4]. Все больше фактов указывает на большое значение дерегуляции микроРНК в инициации и прогрессировании опухолей, при котором они могут вести себя в роли онкогенов или онкосупрессоров в зависимости от клеточной функции их мишеней. Более того, активация или супрессия специфических семейств микроРНК являются механизмом, посредством которого онкогены, такие как Мус, или гены онкосупрессоры, такие как p53, индуцируют или ингибируют туморогенез. Герминативные мутации были обнаружены в генах микроРНК, на основании чего высказано предположение, что они могут участвовать в наследственной предрасположенности к раку, особенно в тех случаях, когда не выявлен причинный ген болезни [5]. В частности, в некоторых случаях синдрома Линча не обнаружено мута-

ций в генах системы репарации, но отмечена микросателлитная нестабильность, что обусловлено эпигенетической инактивацией и метилированием промоторов. Подобные герминальные эпимутации выявлены в генах MLH1 и MSH2, что дает основание для поиска эпигенетических маркеров других наследственных синдромов [6]. Описаны также эпигенетические изменения микроРНК локусов, изменяющие их транскрипцию и вызывающие метастатическую способность опухолевых клеток (рис. 1). МикроРНК могут влиять на чувствительность к химиотерапии и лекарственную устойчивость [5].

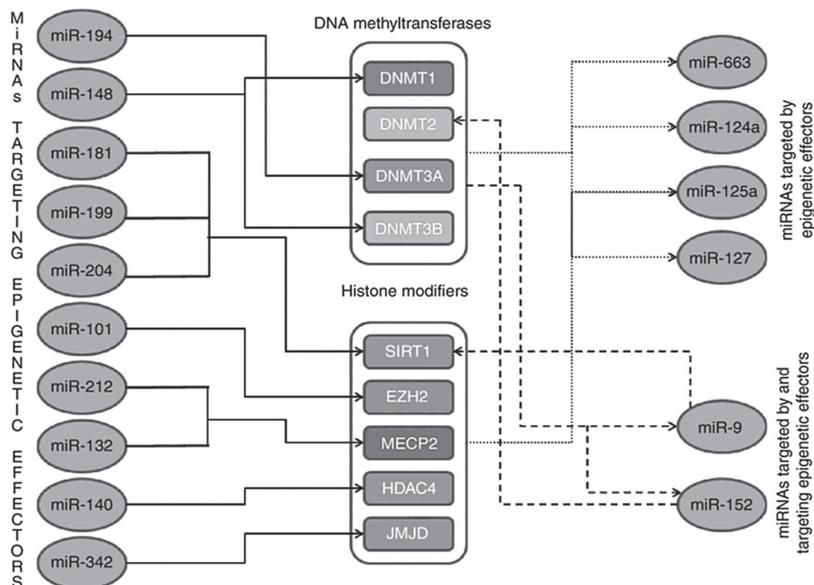


Рисунок 1 – Схема взаимосвязи микроРНК с метилтрансферазами и гистоновыми модификаторами [4].

Аномальному метилированию генов как причине канцерогенеза в последнее время отводится все большее внимание. Дисбаланс метилирования наблюдается во всех опухолевых клетках, проявляясь глобальным гипометилированием генома и локальным гиперметилированием промоторов генов онкосупрессоров. Ряд веществ, вызывающих метилирование ДНК, являются доказанными канцерогенами для лабораторных животных. Наиболее широко распространена инактивация путем гиперметилирования промоторного района гена INK4A, что является общей чертой многих типов опухолей. Для некоторых типов неоплазм гиперметилирование является главным механизмом инактивации гена INK4A (60 - 90% случаев рака простаты, мочевого пузыря, толстой кишки). Для ряда опухолей было показано, что нарушение метилирования не ограничивается одним геном, а может затрагивать одновременно несколько генов, повреждение функций которых существенно для развития опухолей. Из 45000 CpG-островков, имеющих в геноме человека, одновременно гиперметилированными могут оказаться в среднем 600 с разбросом от 0 до 4500 в отдельных неоплазмах. При этом гиперметилирование CpG-островков приводит к возрастанию частоты мутаций

вследствие нестабильности 5-метилцитозина с заменой пар G-C на A-T - подобные мутации гена TP53 в неоплазмах составляют до 30%. Аберрантное метилирование CpG-островков – раннее событие в процессе возникновения опухоли, обнаруживаемое на более ранних стадиях опухолевой прогрессии, чем потеря гетерозиготности. Более того, оказалось, что в нормальных клетках имеет место локальное гиперметилирование некоторых генов – феномен, связанный со старением [7].

Мобилизация транспозонов и геномная нестабильность при раке

Поскольку большинство видов рака обусловлены накоплением мутаций, геномная нестабильность, определяемая как склонность к накоплению мутаций, является характерной чертой опухолевых клеток. Существует множество источников геномной нестабильности при раке, начиная от воздействия генотоксических веществ окружающей среды до эндогенной генерации реактивных метаболитов, повреждающих ДНК. Кроме того, геном человека несет в себе множество потенциальных инсерционных мутагенов – транспозонов (TE – transposable elements). Около 45% всего генома человека происходит от TE. Существуют доказательства соматических ретротранспозиций в нормальных тканях человека. Многочисленные свидетельства о ретротранспозициях в соматических тканях дают основание предположить, что каждый индивидуум мозаичен по геномным перестройкам благодаря мобилизации TE в определенных клеточных популяциях. С другой стороны, наличие активных инсерционных мутагенов в геноме может быть также мощным источником геномной нестабильности [8].

TE подразделяются на ДНК-TE (менее 2% генома человека) и ретроТЕ [9]. РетроТЕ классифицируются на LTR (long terminal repeats – длинные концевые повторы), длинные диспергированные элементы – LINE и короткие диспергированные повторы – SINE. LINE-элементы кодируют обратную транскриптазу, тогда как SINE не автономны и зависят от белков, кодируемых LINE для их репликации и интеграции. LINE1-элементы присутствуют в количестве около 400 000 в основном дефективных копий, около 100 из них способны к транспозициям. LINE1 имеют длину около 6 килобаз и кодируют 2 белка - ORF1p и ORF2p [8]. LINE1 способны ретротранспозироваться неавтономных SINE-элементов, таких как Alu, изменяя таким образом структуру генома бесчисленными способами. Известно не менее 60 инсерций TE, вызывающих болезни человека [10]. Ретроэлементы в составе генома человека приобрели фактическое бессмертие и защиту от неблагоприятных факторов, взамен предоставив рекомбинантные возможности своего генетического аппарата для осуществления эволюционных, адапционных и биологических

процессов, жизненно важных для организма человека. Последствием нарушения сложившегося биологического равновесия является патологическая активность ретроТЕ, способная затронуть экспрессию любого гена [11].

Механизмы, по которым мобилизации ТЕ ведут к потенциально вредным мутациям, разнообразны. ТЕ (главным образом Alu) обладают обширным репертуаром гомологичных нуклеотидных последовательностей, рассеянных по всему геному, что может привести к неаллельной гомологичной рекомбинации (NAHR – non-allelic homologous recombination). NAHR-индуцированные мутации – самые распространенные из всех ТЕ-индуцированных мутаций в неоплазмах человека. Кроме того, интеграция ТЕ в экзон может вызвать заболевание путем создания рамки считывания, ведущей к преждевременному стоп-кодону и нонсенсопосредованному распаду или путем индуцирования пропуска экзона. Также ТЕ, в частности Alu, могут предоставлять дополнительные сайты сплайсинга при внедрении в экзоны (экзонизация), создавая новые, потенциально вредные альтернативные сплайсинговые изоформы. Менее часто инсерции ТЕ могут вызвать крупные делеции кодирующих последовательностей. Относительно слабые сайты полиаденилирования LINE иногда не обрабатываются как таковые, что приводит к чтению через транскрипцию фланкированного гена и его инкорпорацию в активный элемент с их трансдукцией в новое геномное местоположение. LINE1 также могут нарушать экспрессию генов на уровне транскрипции путем индуцирования антисмысловых транскрипции генов, фланкирующих сайт их интеграции через активность антисмыслового промотора на их 5'UTR. Дополнительные механизмы нарушения экспрессии генов, которые могут вызвать болезни человека, включают сайленсинг фланкирующих генов путем гетерохроматизации ТЕ в результате механизмов клеточного контроля [8]. Например, согласно последним исследованиям, Alu-ТЕ, инсертированные в хромосому человека 9p21 внутри длинной некодирующей РНК (lncРНК) ANRIL, были необходимы для trans-регуляции генов, предположительно вовлеченных в атеросклероз. Также ТЕ потенциально несут сайты связывания для транскрипционных факторов. Полногеномные анализы выявили обогащение транспозонами сайтов связывания для ESR1, TP53, OCT4, SOX2, CTCF человека. Показано, что ТЕ обеспечивают до 25% сайтов связывания для плюрипотентных регуляторов OCT4, NANOG и для хроматинового ремоделятора CTCF в эмбриональных стволовых клетках человека, играя важную роль в контроле транскрипционных программ, которые управляют плюрипотентностью и клеточным репрограммированием [12].

ТЕ являются естественными кандидатами в качестве патогенетических факторов рака. Воздействие некоторых внешнесредовых факторов, которые повышают риск развития рака, усиливает транскрипцию ТЕ и деметилирование их промоторов, подтверждая идею о том, что транспозиции

могут быть причинным механизмом неоплазм. Старение, являющееся важнейшим фактором риска развития рака у человека, также ассоциировано с мобилизацией ТЕ [8]. Прогрессирующее гипометилирование генома человека при старении происходит преимущественно в последовательностях транспозонного происхождения. При этом мобилизация ТЕ приводит к геномной нестабильности, ведущей к дегенеративным процессам и раку [13]. Количество компонентов ТЕ, как транскриптов, так и белков в неоплазмах выше по сравнению с нормальной тканью. В соответствии с более высоким уровнем экспрессии ТЕ метилирование их промоторов при раке снижается. Оба феномена коррелируют с ухудшением прогноза и более высокими уровнями метастазов, что обосновывает патогенетическую роль мобилизации ТЕ. При этом ТЕ считаются «водителями» в патогенезе развития рака – повреждение генов с онкосупрессорной активностью вследствие интеграции ТЕ доказывает патогенетическую роль данных мутаций [8].

Транспозоны как материальная основа эпигенетической наследственности

Транспозоны имеют важное значение в регуляции экспрессии генов на посттранскрипционном уровне путем продукции микроРНК [14]. Активная экспрессия ТЕ свойственна неоплазмам эмбрионального происхождения и неоплазмам репродуктивных органов – данные типы опухолей относятся к наиболее злокачественным с агрессивным инвазивным ростом и высоким метастатическим потенциалом [15]. Около 25% промоторов генома человека содержат последовательности транспозонного происхождения, включая многие cis-регуляторные последовательности, которые вовлечены в специфический паттерн генной экспрессии. При этом значительное количество микроРНК и других некодирующих РНК происходят от ТЕ, которые свою очередь регулируют экспрессию других клеточных генов, несущих ТЕ в их транскриптах [16]. Наиболее распространенные семейства ТЕ в геноме человека (Alu, MIR, L1) обеспечивают платформу для микроРНК-медиированной регуляции с управлением в 3'UTR мРНК. Возможность регуляции генов обеспечивают ТЕ, расположенные преимущественно внутри или вокруг генов [17]. МикроРНК ТЕ-происхождения имеют тенденцию к образованию филогено-специфических микроРНК. В данном отношении Alu-производные микроРНК примат-специфичны, а MITE-производные miR-548 главным образом обнаруживаются у приматов [14]. В исследовании Roberts J.T. с соавт., проанализировавших происхождение 1213-и локусов микроРНК, обнаружено, что большинство функциональных микроРНК созданы транспозициями ТЕ [18]. В базе данных miRBase содержатся 55 экспериментально подтвержденных генов микроРНК, образованных из ТЕ, а также 85 новых микроРНК прогнозируются из потенциально законсервированных вторичных структур 587-и ТЕ человека. При этом ТЕ способны продукции человеческих микроРНК-генов

множеством механизмов. Gim J. с соавт. выявили 1900 различных микроРНК (406 ранее выявленных и 1494 новых) с подтвержденным ТЕ-происхождением [14]. Происхождение микроРНК из ТЕ предполагает еще одну предпочтительную роль одомашнивания. При процессинге одной ТЕ-последовательности машина РНК-интерференции может быть загружена с небольшой направляющей РНК, способной определить мишени всех РНК, содержащих ТЕ противоположной цепи. То есть сеть мишеней уже сформирована еще до установления первичных miR, которые «возникают» из серии случайных ТЕ-инсерций, когда это выгодно регуляторной нише. Данные транскрипции через интерфейс ТЕ устанавливают многие функциональные miR. В работе Borchert G.M. с соавт. при анализе геномных событий, ответственных за формирование 15 000 аннотированных miR против источников базы данных ТЕ и нкРНК, обнаружено, что взаимосвязь между miR и ТЕ более значительна, чем оценивалось ранее, и в более широком плане подтверждает важную роль ТЕ в происхождении miR, их экспрессии и формировании регуляторной сети. Выявлено, что 2392 отдельных микроРНК (около 15%) происходят непосредственно от ТЕ. Далее авторы исследовали точное происхождение микроРНК от ТЕ и показали, что чаще всего за генерацию miR отвечают ДНК-ТЕ - 891, другие распределены следующим образом: LTR - 414, LINE - 312, SINE - 353, сателлиты - 137 и другие - 136. Из них 136 miR произошли от некодирующих РНК-последовательностей (другие), которые также с наибольшей вероятностью произошли из нехарактерных SINE-элементов [19]. Учитывая важную роль микроРНК в метилировании генома [4] и регуляции модификации гистонов в онтогенезе человека, можно предположить, что ТЕ являются материальной основой эпигенетической наследственности.

Значительная часть экзонов длинных некодирующих РНК (lncРНК) также организована из ТЕ (41% их последовательностей имеют ТЕ-происхождение, а 83% содержат как минимум один фрагмент ТЕ). Как следствие многие зрелые lncРНК-транскрипты содержат комбинацию множества повторяющихся фрагментов, напоминающих структуры домена белка. ТЕ оказывают значительное воздействие на генную структуру lncРНК, особенно с точки зрения регуляторных областей и сайтов сплайсинга. Найдено множество примеров, по которым промоторы, сплайсинговые доноры и акцепторы, сайты полиаденилирования lncРНК состояли из НП ТЕ-происхождения. Показано, что у 127-и lncРНК в плюрипотентных стволовых клетках специфически усиливается регуляция элементами HERV-N. Предполагается, что HERV-N фактически отвечают за рождение новых lncРНК путем инсерции активных промоторов в ранее не активные области генома [20].

Самоконтроль транспозонов в норме и при канцерогенезе

Результаты исследований последних лет доказывают, что ТЕ могут управлять туморогенезом чело-

века путем активации онкогенов или инактивации генов-онкосупрессоров [9]. В процессе эволюции при формировании видов, в частности человека, сформировались пути самоконтроля ТЕ продуктами собственной транскрипции. Данный самоконтроль носит стадие- и тканеспецифический характер. Развитие рака может быть связано с дисбалансом самоконтроля ТЕ продуктами собственной транскрипции, что наиболее вероятно при старении. Инсерции ТЕ могут изменять активность мажорных и минорных генов, так как содержат в своем составе модули системы управления при связывании с регуляторными белками. При кроссинговере между ТЕ могут возникать хромосомные мутации - делеции, дупликации, инверсии. Кроме того, ТЕ могут достраивать теломерные концы хромосом, участвовать в горизонтальном переносе генов и откликаться вспышками транспозиций под действием стресса [21]. В работе Pavlicev M. с соавт., использовавших корреляцию экспрессионных образцов в 18-и типах тканей, обнаружено тканеспецифическое разъединение генной экспрессии по 62-м различным LTR-классам. Исследователями предполагается, что LTR эндогенных ретровирусов участвуют в тканеспецифической регуляции прилегающих генов [22]. Обнаружение специфических механизмов нарушения самоконтроля, являющихся пусковым механизмом в развитии рака, может настроить исследователей на поиск новых способов противоопухолевой терапии. Наиболее подходящими кандидатами в данном плане являются микроРНК. Значительное количество микроРНК и других некодирующих РНК происходит от ТЕ, которые в свою очередь регулируют экспрессию других клеточных генов, несущих ТЕ в их транскриптах. Кроме того, выявлено множество тканеспецифичных микроРНК ретроТЕ-происхождения, что может быть движущей силой для создания новых регуляторных элементов, вовлеченных в контроль генной экспрессии [16].

Среднее значение метилирования ТЕ в большинстве типов неоплазм ниже по сравнению с нормальными тканями и усиливается при прогрессировании рака. Определенные фенотипы неоплазм ассоциированы с уровнем метилирования специфичных ТЕ, например уровни метилирования HERV-K ассоциированы с неблагоприятным прогнозом и резистентностью к терапии платиной при светлоклеточной карциноме яичника [23]. В нормальных тканях семейства HERV гиперметилированы. В определенной степени уровни метилирования HERV-E и HERV-K также варьируют среди нормальных, опухолевых тканей и тканей микроокружения опухолей. Молодые примат-специфичные линии проявляют большую восприимчивость к деметилированию при болезнях, чем более древние линии. Сходные тенденции характерны для Alu. Более молодые Alu (AluY) гиперметилированы в нормальных взрослых тканях. Они подвергаются усиленной потере метилирования ДНК в неоплазмах [24].

Эндогенные siРНК регулируют ретроТЕ в соматических клетках подобно piРНК в половых клетках [16]. LINE-1 (L1) регулируются различными путями в

зависимости от клеточного контекста. В мужских половых клетках L1 ингибируются сложной системой, включающей piРНК, которая в конечном счете метилирует L1 [9]. При этом нарушение регуляции Piwi-piРНК путей обнаруживается в опухолевых клетках [13]. В эмбриональных стволовых клетках унаследованное метилирование L1 поддерживается ДНК-метилтрансферазами DNMT1, DNMT3A, DNMT3B. В линии клеток эмбриональной карциномы новые инсертированные L1 подвергаются сайленсингу путем изменений гистонов, включая деацетилирование H4 и деметилирование H3K9. В репрессию L1 в различных соматических тканях вовлечены также другие белки, такие как MECP2 (methyl CpG binding protein 2), RB1 (retinoblastoma protein-containing complex), TREX1 (3' repair exonuclease 1), ERCC (excision repair cross complementing 1), APOBEC (apolipoprotein D mRNA editing enzyme). Перечисленные белки вместе с другими факторами предотвращают экспрессию L1 или соматические ретротранспозиции во всех нормальных тканях за исключением развивающегося головного мозга [9]. В работе Chen L. с соавт. выявлено множество экспрессирующихся эндо-siРНК (напрямую регулирующих экспрессию LINE-1), количество которых значительно истощается в клетках рака молочной железы человека в сравнении с нормальной тканью. Гиперэкспрессия данных эндо-siРНК в раковых клетках заметно подавляет экспрессию эндогенных LINE-1 через усиление метилирования ДНК в промоторе 5'UTR LINE1. Полученные данные говорят о возможности подавления геномной нестабильности при помощи биомолекул с эпигенетическим управлением [10]. Самоконтроль со стороны TE и продуктов их экспрессии в регуляции дифференцировки клеток в онтогенезе (рис. 2) дает основание предположить существование взаимоконтроля TE с белоккодирующими генами. В связи с этим интересен факт того, что онкосупрессорный ген, мутации в котором наиболее часто обнаруживаются в неоплазмах, участвует в сдерживании активности TE. P53 ограничивает ретротранспозиционную активность и генетически взаимодействует с компонентами пути piРНК [25]. Существование обратной взаимосвязи между геном, контролирующим активность TE, и мутациями в нем в неоплазмах, для которых доказана патологическая активация TE, логична.

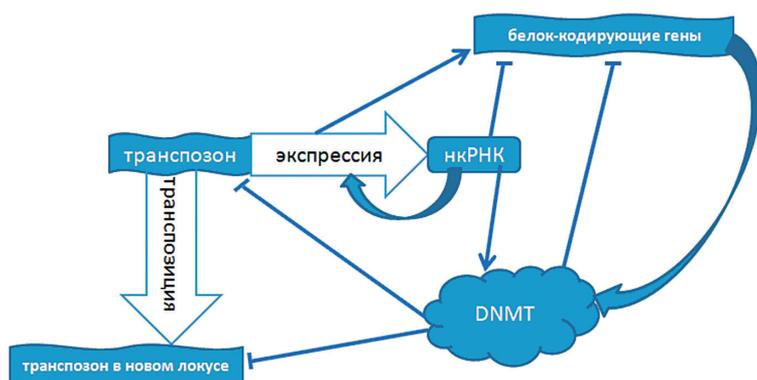


Рисунок 2 - Схема взаимоконтроля транспозонов и белоккодирующих генов.

Подобная взаимосвязь дает основание для поиска эпигенетических факторов воздействия TE на гены, контролирующие их активность. Воздействие на данные факторы может помочь в синтезе молекул, контролирующих функционирование злокачественных клеток.

Эпигенетические факторы в диагностике и лечении рака

Вовлеченные в канцерогенез микроРНК характеризуются взаимодействием со множеством молекул, влияющих на опухолевую прогрессию. Так, мишенями для онкогенной микроРНК miR-21, которая усиливает свою активность во многих типах рака, являются SKI, RAB6A, RAB6C, RHOV, TGFB1, TRFBR2, RASA1, BCL2, PDCD4, TP53, PTEN, ANP32A, SMARCA4, TPM1. Мишенями для онкосупрессорной микроРНК Let-7 являются гены RAS, HMGGA2, LIN28, PEBP1. В то же время для каждого типа неоплазм характерно изменение экспрессии нескольких характерных микроРНК. МикроРНК также вовлечены в регуляцию метастазирования рака – данные молекулы обозначаются как “metastamir” и проявляют как про-, так и антиметастатическую активность [4]. Таким образом, обнаружение специфических микроРНК, изменение которых обнаруживается на ранних стадиях канцерогенеза, может дать основание как для создания диагностических маркеров, так и таргетной терапии рака.

Арил-гидрокарбонные рецепторы (AHR) вызывают дифференцировку клеток карциномы человека через транскрипционную регуляцию Alu-TE, чьи РНК-транскрипты могут подавлять гены плюрипотентности. Транскрипты, продуцируемые регулируемые AHR Alu-транспозонами, могут контролировать экспрессию стволовых генов OCT4 и NANOG, необходимых для стволовых клеток и плюрипотентности при дифференцировке раковых клеток. Контроль дискретных Alu-элементов специфическими транскрипционными факторами может обеспечить регуляцию работы генома при неоплазмах и помочь в борьбе с раком. Например, выявлен SINE-транспозон B1-X35S, который функционирует в качестве геномного инсулятора, блокирующего экспрессию генов-мишеней [12]. С раком желудка ассоциированы lncРНК, такие как CCAT1, GACAT1, H19 и SUMO1P3. В канцерогенез желудка вовлечены piРНК – piR-651/823 – эффективный диагностический биомаркер рака желудка в крови и желудочном соке [26]. Согласно недавним исследованиям, piРНК экспрессируются в неоплазмах человека и изменение их экспрессии играет существенную роль в развитии рака. Выявлена дифференциальная экспрессия L1-специфичных siРНК в широком спектре клеток рака молочной железы в сравнении с нормальной тканью. Гиперэкспрессия данных siРНК заметно подавляет эндогенную экспрессию L1 путем усиления метилирования ДНК в области промотора L1. Для сайленсинга экспрессии L1 в клетках рака молочной железы в эксперименте

используется L1-специфичная эндо453- последовательность [16].

Выявлено, что микроРНК играют важную роль в туморогенезе, апоптозе, метастазах и химиорезистентности рака. Среди большого количества микроРНК miR-1 преимущественно подавляется почти во всех обследованных раковых опухолях человека и представляет собой перспективную мишень для противораковой терапии. Реэкспрессия miR-1, стимулируя апоптоз, может подавлять пролиферацию раковых клеток и возвращать чувствительность к лекарствам как *in vitro*, так и *in vivo* [27]. В работе Patutina O.A. с соавт. показан новый тип биоматериала, способный расщеплять специфические последовательности микроРНК miR-специфические искусственные рибонуклеазы (miRNAзы). В частности, представлен каталитический пептид Ацетил-[(LeuArg)2Gly]2, ковалентно присоединенный к miR-нацеленному олигонуклеотиду, который может быть линейным или в виде шпильки. Одна из наиболее эффективных miRNAз показала специфическое ингибирование miR-21 в клетках лимфосаркомы, что привело к снижению пролиферативной активности [28]. В исследовании Sakabe T. с соавт. показано, что miR-137 может использоваться в качестве прогностического маркера у больных с гепатоцеллюлярной карциномой и быть потенциальной мишенью для элиминации стволовых раковых клеток [29]. У больных с раком яичников высокие концентрации miR-135a-3p в сыворотке были в значительной степени связаны с благоприятным клиническим прогнозом. При раке яичников количество miR-135a-3p значительно ниже в сравнении с кистами яичников и нормой. В экспериментальных работах на клетках рака яичников показано, что повышенная экспрессия miR-135a-3p индуцировала лекарственную чувствительность к цисплатину и паклитакселу и подавляла пролиферацию клеток и рост опухоли ксенотрансплантата [30]. Ресвератол, натуральный съедобный полифенольный фитоалексин, оказывает противоопухолевое действие при лимфолейкозе за счет ингибирования miR-196b/miR-1290, вызывает антипролиферативный эффект, остановку клеточного цикла, апоптоз и ингибирование миграции. При этом miR-196b/miR-1290 непосредственно связаны с 3'-UTR областью мРНК гена IGFBP3 (белка связывания инсулиноподобного фактора роста) [31]. Новый класс противоопухолевых агентов представлен онколитическими аденовирусами. В восприимчивости клеток к репликации вирусов важную роль играют микроРНК, тогда как аденовирусная инфекция обычно снижает их экспрессию. Показано, что miR-26b может усиливать опосредованную аденовирусом гибель клеток, способствуя распространению онколитических вирусов в клеточных линиях рака простаты. В связи с этим miR-26b может быть использован в комбинации с онколитическим аденовирусом [32].

МикроРНК могут быть использованы в качестве биомаркеров рака, так как они присутствуют в крови и очень стабильны. В последнее время стало ясно, что в классификации и стратификации опухо-

лей могут быть использованы данные оценки модуляции микроРНК – профили экспрессии микроРНК способны классифицировать опухоли на разных стадиях и различать их в подгруппах больных с различной молекулярной патологией. Онко-ассоциированные микроРНК могут представлять новую группу жизнеспособных мишеней для терапевтического воздействия. Работы по их клиническому применению уже ведутся. В частности, достигнут успех в снижении уровня холестерина в плазме крови у приматов путем системного введения микроРНК-ингибитора10, что дает надежды на возможное применение подобного подхода в клинической онкологии [5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Майборода АА. Гены и белки онкогенеза. Сибирский медицинский журнал. 2013;(2):132-138. [Mayboroda AA. Genes and proteins of oncogenesis. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal*. 2013;(2):132-138. (in Russ.)].
2. Имянитов ЕН. Общие представления о таргетной терапии. Практическая онкология. 2010;11(3):123-130. [Imyanitov EN. General ideas about targeted therapy. *Prakticheskaya onkologiya = Practical oncology*. 2010;11(3):123-130. (in Russ.)].
3. Herceg Z, Lambert M, van Veldhoven K, Demetriou C, Vineis P, Smith MT, et al. Towards incorporating epigenetic mechanisms into carcinogen identification and evaluation. *Carcinogenesis*. 2013;34(9):1955-67. DOI: 10.1093/carcin/bgt212.
4. Samantarrai D, Dash S, Chhetri B, Mallick B. Genomic and epigenomic cross-talks in the regulatory landscape of miRNAs in breast cancer. *Mol Cancer Res*. 2013;11(4):315-28. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0649.
5. Giordano S, Columbano A. MicroRNA: new tools for diagnosis, prognosis, and therapy in hepatocellular carcinoma? *Hepatology*. 2013;57(2):840-847. DOI: 10.1002/hep.26095.
6. Цуканов АС, Шубин ВП, Поспехова НИ, Сачков ИЮ, Кашников ВН, Шельгин ЮА. Наследственные раки желудочно-кишечного тракта. Практическая онкология. 2014;15(3): 126-133. [Tsukanov AS, Shubin VP, Pospekhova NI, Sachkov IYu, Kashnikov VN, Shelygin YuA. Hereditary cancers of the gastrointestinal tract. *Prakticheskaya onkologiya = Practical oncology*. 2014;15(3):126-133. (in Russ.)].
7. Заридзе ДГ. Канцерогенез. М.;2004. [Zaridze DG. *Carcinogenesis*. M.;2004. (in Russ.)].
8. Moyano M, Stefani G. PiRNA involvement in genome stability and human cancer. *J Hematol Oncol*. 2015;8:38-47. DOI: 10.1186/s13045-015-0133-5.
9. Rodic N, Burns KH. Long interspersed element-1 (LINE-1): passenger or driver in human neoplasms? *PLOS Genetics*. 2013;9(3):e1003402. DOI: 10.1371/journal.pgen.1003402.
10. Chen L, Dahlstrom JE, Lee S, Rangasamy D. Naturally occurring endo-siRNA silences LINE-1 retrotransposons in human cells through DNA methylation. *Epigenetics*. 2012;7(7):758-77. DOI: 10.4161/epi.20706.

11. Сидельников ГД, Валихов АФ. О роли эндогенных ретровирусов в биологии опухолевого роста. Вопросы онкологии. 2016;62(6):758-766. [Sidel'nikov GD, Valikhov AF. About the role of endogenous retroviruses in the biology of tumor growth. Voprosy onkologii = Problems in oncology. 2016;62(6):758-766. (in Russ.)].
12. Morales-Hernandez A, Gonzalez-Rico FJ, Roman AC, Rico-Leo E, Alvarez-Barrientos A, Sanchez L, et al. Alu retrotransposons promote differentiation of human carcinoma cells through the aryl hydrocarbon receptor. Nucleic Acids Res. 2016;44(10):4665-4683. DOI: 10.1093/nar/gkw095.
13. Sturm A, Ivics Z, Vellai T. The mechanism of ageing: primary role of transposable elements in genome disintegration. Cell Mol Life Sci. 2015;72(10):1839-47. DOI: 10.1007/s00018-015-1896-0.
14. Gim J, Ha H, Ahn K, Kim DS, Kim HS. Genome-wide identification and classification of microRNAs derived from repetitive elements. Genomic Inform. 2014;12(4):261-267. DOI: 10.5808/GI.2014.12.4.261.
15. Киселев ОИ. Эндогенные ретровирусы: структура и функция в геноме человека. Вопросы вирусологии. 2013;(S1):102-115. [Kiselev OI. Endogenous retroviruses: structure and function in the human genome. Voprosy virusologii = Problems of virology. 2013;(S1):102-115. (in Russ.)].
16. Ohms S, Rangasamy D. Silencing of LINE-1 retrotransposons contributes to variation in small noncoding RNA expression in human cancer cells. Oncotarget. 2014;5(12):4103-17. DOI: 10.18632/oncotarget.1822.
17. Spengler RM, Oakley CK, Davidson BL. Functional microRNAs and target sites are created by lineage-specific transposition. Hum Mol Genet. 2014;23(7):1783-93. DOI: 10.1093/hmg/ddt569.
18. Roberts JT, Cooper EA, Favreau CJ, Howell JS, Lane LG, Mills JE, et al. Continuing analysis of microRNA origins: Formation from transposable element insertions and noncoding RNA mutations. Mob Genet Elements. 2013;1(6):e27755. DOI: 10.4161/mge.27755.
19. Borchert GM, Holton NW, Williams JD, Hernan WL, Bishop IP, Dembosky JA, et al. Comprehensive analysis of microRNA genomic loci identifies pervasive repetitive-element origins. Mob Genet Elements. 2011;1(1):8-17. DOI: 10.4161/mge.1.1.15766.
20. Johnson R, Guigo R. The RIDL hypothesis: transposable elements as functional domains of long noncoding RNAs. RNA. 2014;20(7):959-976. DOI: 10.1261/rna.044560.114.
21. Васильева ЛА, Антоненко ОВ, Выхристюк ОВ, Захаров ИК. Селекция изменяет паттерн мобильных генетических элементов в геноме *Drosophila Melanogaster*. Вестник ВОГиС. 2008;12(3):412-425. [Vasil'eva LA, Antonenko OV, Vykhristyuk OV, Zakharov IK. Selection changes the pattern of mobile genetic elements in genome of *Drosophila Melanogaster*. Vestnik VOGiS = VOIPS Bulletin. 2008;12(3):412-425. (in Russ.)].
22. Pavlicev M, Hiratsuka K, Swaqgart KA, Dunn C, Muglia L. Detecting endogenous retrovirus-driven tissue-specific gene transcription. Genome Biol Evol. 2015;7(4):1082-97. DOI: 10.1093/gbe/evv049.
23. Kitkumthorn N, Mutirangura A. Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation in cancer: biology and clinical applications. Clin Epigenet. 2011;2:315-330. DOI:10.1007/s13148-011-0032-8.
24. Szpakowski S, Sun X, Lage JM, Dyer A, Rubinstein J, Kowalski D, et al. Loss of epigenetic silencing in tumors preferentially affects primate-specific retroelements. Gene. 2009;448(2):151-167. DOI: 10.1016/j.gene.2009.08.006.
25. Wylie A, Jones AE, D'Brot A, Lu WJ, Kurtz P, Moran JV, et al. P53 genes function to restrain mobile elements. Genes Dev. 2016;30(1):64-77. DOI: 10.1101/gad.266098.115.
26. Li P, Chen S, Xia T, Jiang XM, Shao YF, Xiao BX, et al. Non-coding RNAs and gastric cancer. World J Gastroenterol. 2014;20(18):5411-19. DOI: 10.3748/wjg.v20.i18.5411.
27. Han C, Shen JK, Hornicek FJ, Kan Q, Duan Z. Regulation of microRNA-1 (miR-1) expression in human cancer. Biochim Biophys Acta. 2017;1860(2):227-232. DOI: 10.1016/j.bbaggm.2016.12.004.
28. Patutina OA, Bichenkova EV, Miroshnichenko SK, Mironova NL, Trivoluzzi LT, Burusco KK, et al. MiRNases: Novel peptide-oligonucleotide bioconjugates that silence miR-21 in lymphosarcoma cells. Biomaterials. 2017;122:163-178. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.01.018.
29. Sakabe T, Azumi J, Umekita Y, Toriguchi K, Hatano E, Hirooka Y, et al. Prognostic relevance of miR-137 in patients with hepatocellular carcinoma. Liver Int. 2017;37(2):271-279. DOI: 10.1111/liv.13213.
30. Fukagawa S, Miyata K, Yotsumoto F, Kiyoshima C, Nam SO, Anan H, et al. MiR-135a-3p a promising biomarker and nucleic acid therapeutic agent for ovarian cancer. Cancer Sci. 2017;108(5):886-896. DOI: 10.1111/cas.13210.
31. Zhou W, Wang S, Ying Y, Zhou R, Mao P. MiR-196b/miR-1290 participate in the antitumor effect of resveratrol via regulation of IGFBP3 expression in acute lymphoblastic leukemia. Oncol Rep. 2017;37(2):1075-1083. DOI: 10.3892/or.2016.5321.
32. Hodzic J, Sie D, Vermeulen A, van Beusechem VW. Functional screening identifies human miRNAs that modulate adenovirus propagation in prostate cancer cells. Hum Gene Ther. 2017 Jan; 23. DOI: 10.1089/hum.2016.143.