

Р.М. Саттаров, М.Н. Михайлова
**РОЛЬ ЦИКЛИНОВ И ЦИКЛИНЗАВИСИМЫХ КИНАХ В РАЗВИТИИ
ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Е.И. Карасёва
Кафедра биологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

R.M. Sattarov, M.N. Mikhailova
**THE ROLE OF CYCLINS AND CYCLIN-DEPENDENT KINASES
IN CANCER DEVELOPMENT**

Tutor: PhD in Biological sciences, associate professor E.I. Karaseva
Department of Biology
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Данная работа содержит обобщенные литературные сведения об основных аспектах участия циклинов и циклинзависимых киназ в возникновении и развитии онкологических заболеваний. Сообщаются данные о специфичности действия отдельных циклинов, об их взаимодействии с белками Мус, Ras, MYNA. Упоминается взаимосвязь дисфункции отдельных циклинов и centrosомной амплификации, роль неканонических циклинов в развитии опухолей.

Ключевые слова: D-циклины, Мус, Ras, MYNA.

Resume. This work contains generalized literature data on the main aspects of the involvement of cyclins and cyclin-dependent kinases in the onset and development of oncological diseases. Data are reported on the specificity of the action of individual cyclins, on their interaction with Мус, Ras, MYNA. The relationship between the dysfunction of individual cyclins and centrosomal amplification and the role of non-canonical cyclins in the development of tumors are mentioned.

Keywords: D-cyclins, Мус, Ras, MYNA.

Актуальность. Регуляция клеточного цикла является одной из важных точек приложения для исследований, посвященных разработке новых подходов к лечению онкологических заболеваний.

Цель: рассмотрение участия циклинов и циклинзависимых киназ (CDK) в возникновении и прогнозе раковых заболеваний.

Задачи:

1. Рассмотреть онкогенное действие каждого из D-циклинов, проанализировать специфичность их действия.
2. Привести данные о взаимодействии циклинов с онкогенами Мус и Ras, а также с MYNA и иными эпигенетическими факторами.
3. Раскрыть взаимосвязь между нарушениями работы циклинов и centrosомной амплификацией.
4. Сообщить о роли неканонических циклинов в развитии раковых заболеваний

Материал и методы. Анализ и обобщение литературных данных по заявленной теме, метод сравнительного анализа, метод индукции.

Результаты и их обсуждение. Циклины выполняют важную роль в клеточной пролиферации. В комплексе с определенными CDK они регулируют прохождение клетки по фазам клеточного цикла. Известно несколько классов циклинов (А, В, С и D). Кроме того, у многоклеточных эукариот имеется по несколько представителей

каждого класса (D1, D2 и т.д.). В текущее время известно, что геном человека кодирует 12 циклинов.

Научные данные указывают, на то, что большое разнообразие циклинов обеспечивает разные способы контроля их концентрации в клетке и, то, что их действие является тканеспецифичным.

Например, амплификация гена циклина D1, расположенного на хромосоме 11q13 была описаны при широком спектре рака человека, например, плоскоклеточном раке головы и шеи, пищевода, языка и гортани, карциномы шейки матки, астроцитомы, немелкоклеточный рак легкого, саркомы мягких тканей и др. Наиболее задокументированным из них является частое участие циклина D1 в патогенезе рака молочной железы человека. Таким образом, примерно 15–20% карцином молочной железы человека содержат амплификацию гена циклина D1. Следовательно, избыточная экспрессия циклина D1 может служить маркером злокачественной трансформации эпителиальных клеток молочной железы [2, с. 2910].

Гены циклинов D2 и D3 также сверхэкспрессируются при многих видах рака человека. Циклин D2 участвует в развитии В-клеточного лимфоцитарного лейкоза и лимфоплазмочитарной лимфомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, а также в опухолях яичек и яичников, в то время как сверхэкспрессия циклина D3 наблюдается в глиобластомах, почечно-клеточных карциномах, аденокарциномах поджелудочной железы и некоторых В-клеточных злокачественных новообразованиях, таких как диффузные крупноклеточные В-клеточные лимфомы или множественные миеломы. [2, с. 2911].

Уровень циклина D2 при раке толстой кишки позволяет сделать прогноз заболевания, а концентрация циклина D1, не имея прогностического значения, позволяет оценить тяжесть заболевания, а именно, степень метастазирования [1, с. 342]. При почечно-клеточном раке низкий уровень циклина D1 коррелирует с плохим прогнозом, а содержание циклинов D2 и D3 не имеет прогностического значения [5, с. 1421].

Считается, что специфические последовательности промоторов генов циклина D делают определенные D-циклины чувствительными к специфическим онкогенным путям. Например, было постулировано, что онкоген Ras передает сигнал через циклин D1, в то время как Muc может воздействовать на механизмы клеточного цикла, активируя транскрипцию циклина D2. Однако современные исследования доказывают неоднозначность подобного суждения. В опытах на мышах выявлено, что клетки, не имеющие все типы D-циклинов показывают сниженную восприимчивость к действию онкогенов Ras и Muc, что доказывает прямую зависимость между гиперэкспрессией циклинов и канцерогенезом. Анализ уровней циклина D показал, что в клетках дикого типа онкоген Ras вызывает сильную активацию циклина D1, но не D2 или D3. Точно так же наблюдается сильная активация циклина D1 с помощью Ras в клетках, содержащих только циклин D1. Удивительно, но клетки, содержащие только циклин D2 и только D3, оставались восприимчивыми к Ras-управляемой трансформации.

Был сделан вывод, что онкоген Ras может передавать сигналы в клетках, содержащих только циклин D2, и в клетках, содержащих только D3, без значительной ин-

дукции циклинов D2 и D3. Следовательно, онкоген Ras может использовать отдельные D-циклины без повышения их уровней. Следовательно, онкоген Ras может усиливать взаимодействие циклинов D2 и D3 с их каталитическими партнерами, CDK4 и CDK6. Путь Ras может также воздействовать на комплексы циклин D-CDK, увеличивая их киназную активность посредством других посттрансляционных механизмов, таких как фосфорилирование субъединицы CDK или ассоциация с ингибиторами клеточного цикла [7, с. 7117].

Клетки указанных генотипов инфицировали ретровирусами, кодирующими Myc (рисунок 1), или Ras+доминантно-негативный p53 (рисунок 2), или пустыми векторами (EV). Белковые лизаты (25 мг) разделяли на гелях SDS-PAGE, иммуноблоттировали и зондировали антителами против циклинов D1, D2, D3 или против актина в качестве контроля [7, с. 7118].

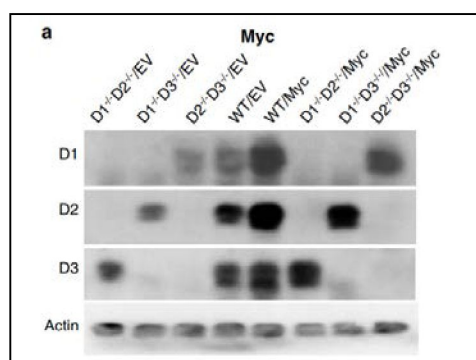


Рис. 1 – Уровни циклинов D в клетках, экспрессируемых Myc

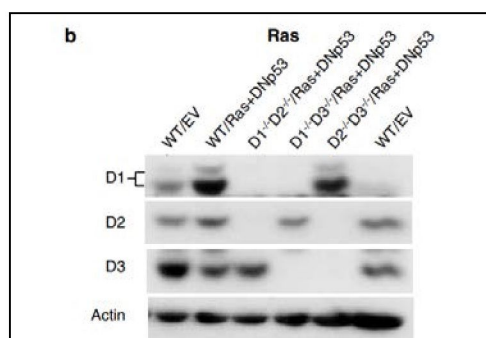


Рис. 2 – Уровни циклинов D в клетках, экспрессируемых Ras

Новейшие исследования в онкологии пролили свет на роль циклинов в амплификации centrosom. При утрате или инактивации гена p53 происходит centrosomная амплификация. При раке мутационная активация циклина E и, как следствие, высокая активность CDK2 индуцируют амплификацию centrosom одновременно с потерей p53. Также в амплификации может принимать участие и циклин A. Химиотерапевтические препараты обратимо останавливают клеточный цикл, однако не устраняют дефект, связанный с p53. После прекращения химиотерапии клетки с амплифицированными centrosomами возобновляют клеточный цикл и приобретают дальнейшие злокачественные фенотипы. Циклины A и E могут являться специфической мишенью для терапий [4, с. 5298].

Не мало важно учитывать эпигенетическую составляющую канцерогенеза. Например, МУС-индуцированный ядерный антиген (MNA) представляет собой гистондеметилазу и сильно экспрессируется при многих видах рака.

Имеются сообщения о том, что активация MNA в клетках рака легкого способствует пролиферации клеток, а подавление MNA в клетках карциномы пищевода, карциномы шейки матки, рака толстой кишки или рака поджелудочной железы ингибирует пролиферацию клеток. В современных исследованиях указывается на то, что циклины и CDK напрямую активируются MNA посредством деметилирования H3K9me3 (триметилирование лизина 9 на белковой субъединице гистона H3). Однако молекулярные механизмы того, как MNA способствует пролиферации клеток, еще предстоит выяснить. Высокий уровень MNA является показателем плохого прогноза у пациентов с глиобластомой. Эти результаты раскрывают новую роль MNA в контроле пролиферации клеток глиобластомы и онкогенеза и предполагают потенциальное терапевтическое значение MNA.

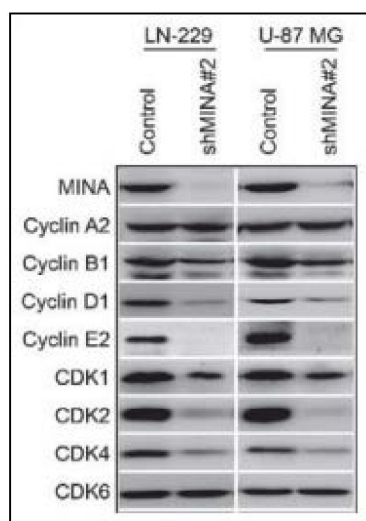


Рис. 3 - Экспрессия циклинов и CDK в клеточных линиях глиобластомы LN-229 и U-87 MG с нокадауном MNA или без него

Накопленные данные указывают на то, что локальные модификации гистоновых хвостов играют важную роль в регуляции ремоделирования хроматина, и нарушение этих процессов часто приводит канцерогенезу. Было показано, что метилирование гистонов тесно коррелирует с регуляцией транскрипции. Таким образом, MNA, как новый и важный регулятор клеточного цикла, может работать в качестве молекулярной мишени для противоопухолевой терапии [6, с. 393].

Помимо циклинов A, B, C и D существуют неканонические циклины. Эти белки связываются с CDK, которые не относятся к клеточному циклу, но участвуют в регуляции транскрипции. К неканоническим относятся циклины CNTD2 и CCN1, CCN0, которые также имеют значение в развитии онкозаболеваний. Гиперэкспрессия CCN1 связана с пролиферацией клеток при немелкоклеточном раке легких. Интересно, что сверхэкспрессия CCN1 также была связана с худшим ответом на противораковые агенты. Утверждается, что устойчивость, обеспечиваемая CCN1, по-видимому, не

связана с химической структурой лекарств, и теперь необходимы дальнейшие исследования, чтобы выяснить, могут ли белки множественной лекарственной устойчивости участвовать в этом ответе. Более того, CCNI был связан с ангиогенезом при раке яичников и раке молочной железы, что позволяет предположить, что его роль в развитии рака может выходить за рамки пролиферации клеток. CNTD2 активируется в тканях рака легких человека и коррелирует с худшим прогнозом. Необходимы дальнейшие исследования, которые могут пролить некоторый свет на физиологическую и патологическую роль CNTD2. Интересно, что CNTD2, по-видимому, не экспрессируется в нормальных тканях, что позволяет предположить, что этот циклин может представлять собой специфическую мишень для будущих терапий. Активация CCNO в значительной степени связана со снижением общей выживаемости больных раком легких. Предполагается, что CCNO является еще одним циклином, участвующим в возникновении заболевания [3, с. 7-9].

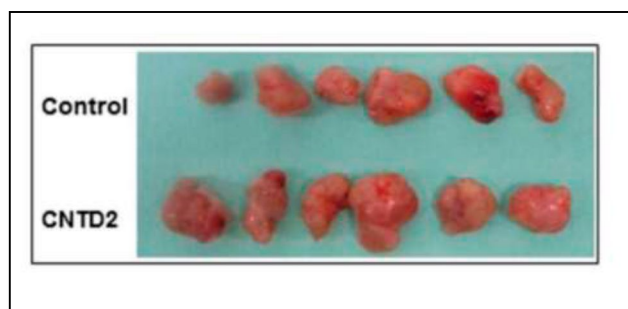


Рис. 4 – Изображения опухолей, полученных на 62-й день, взятые от мышей с трансплантированными клетками A549-пустой вектор (контроль) и A549-CNTD2

Выводы: циклины, циклинзависимые киназы используются в современной онкологии как диагностические критерии прогноза онкозаболеваний. В настоящий момент разработаны ингибиторы CDK, которые показали эффективность в клинических испытаниях. Результаты новейших исследований в данной области позволяют совершенствовать методы лечения и диагностики онкологических заболеваний.

Литература

1. Expression of D-type cyclins in colon cancer and in cell lines from colon carcinomas / A. Mermelstein, A. Gerson, S. Walfisch [et al.] // «British Journal of Cancer». – 2005. – №93. – P. 338-345.
2. Deshpande, A. Cyclins and cdks in development and cancer: a perspective / A. Deshpande, P. Sicinski, P.W. Hinds // «Oncogene». – 2005. – №24. – P. 2909-2915.
3. A systematic analysis of orphan cyclins reveals CNTD2 as a new oncogenic driver in lung cancer / L. Gasa, A. Sanchez-Botet, E. Quandt [et al.] // «Scientific Reports». – 2017. – №7.
4. Roles of cyclins A and E in induction of centrosome amplification in p53-compromised cells / K. Hanashiro, M. Kanai, Y. Geng [et al.] // «Oncogene». – 2008. – №27. – P. 5288-5302.
5. Expression of cyclin D1, D3, E, and p27 in human renal cell carcinoma analysed by tissue microarray / Y. Hedberg, B. Ljungberg, G. Roos [et al.] // «British Journal of Cancer». – 2003. – №88. – P. 1417-1423.
6. MINA controls proliferation and tumorigenesis of glioblastoma by epigenetically regulating cyclins and CDKs via H3K9me3 demethylation / M.Y. Huang, F. Xuan, W. Liu [et al.] // «Oncogene». – 2017. – №36. – P. 387-396.
7. Qunyan, Y. Ras and Myc can drive oncogenic cell proliferation through individual D-cyclins / Y. Qunyan, M.A. Ciemerych, P. Sicinski // «Oncogene». – 2005. – №24. – P. 7114-7119.