

**ПОИСК МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ИНВАЗИВНОГО РОСТА РАКА МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ, СВЯЗЬ ИХ ЭКСПРЕССИИ С ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ**

Н.М. Новиков, Т.С. Геращенко, Н.В. Крахмаль

Научный руководитель: к.б.н. Е.В. Денисов

Национальный исследовательский Томский государственный университет,

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

НИИ онкологии, Томский НИМЦ, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

E-mail: drcoxisefoxi@gmail.com

**SEARCH FOR MARKERS OF INVASIVE GROWTH IN BREAST CANCER: ASSOCIATION WITH
DISEASE PROGNOSIS**

N.M. Novikov, T.S. Gerashchenko, N.V. Krakhmal

Scientific Supervisor: E.V. Denisov, PhD

Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenina Str. 36, 634050

Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, Russia, Tomsk, Kooperativny Str. 5, 634050

E-mail: drcoxisefoxi@gmail.com

***Abstract.** In the present study, we analyzed the gene expression profiles of various morphological structures of breast cancer (GEO, GSE80754) to identify new markers of invasion and to assess their association with disease prognosis. Nine proteins (KIF14, DSC3, WAVE, etc.) was selected based on the literature analysis of the involvement of genes up- and down-regulated in solid and trabecular structures in cancer invasion and a heterogeneity in expression of their proteins in breast tumors. The association of these proteins with patients' survival was assessed.*

Введение. Инвазия – один из признаков опухолевого роста, проявляющийся в миграции клеток опухоли из первичного очага в соседние ткани. Инвазия является первым этапом в процессе метастазирования онкологических заболеваний [1]. Понимание молекулярных основ движения опухолевых клеток представляет актуальную задачу в современной онкологии [2]. Несмотря на обилие литературных данных по этой проблеме, в настоящее время отсутствуют эффективные маркеры, указывающие на то, двигается ли опухолевая клетка или находится в состоянии покоя.

Ранее нашим коллективом была описана внутриопухолевая морфологическая гетерогенность рака молочной железы (РМЖ), представленная наличием различных видов структур: альвеолярных, солидных, тубулярных, трабекулярных и дискретных [3,4]. Собственные данные указывают на то, что данные структуры являются отражением различных вариантов инвазивного роста и играют значительную роль в метастазировании РМЖ. Например, трабекулярные структуры имеют выраженный мезенхимальный фенотип, демонстрируют значительную регуляцию сигнальных путей, вовлеченных в инвазию, и ассоциированы с высоким риском гематогенного метастазирования РМЖ [5]. Всё это позволило нам заключить, что внутриопухолевая морфологическая гетерогенность РМЖ представляет привлекательную модель для поиска новых маркеров опухолевой инвазии.

Таким образом, целью настоящего исследования было поиск маркеров инвазивного роста РМЖ и оценка их связи с прогнозом заболевания.

Материалы и методы. В работе использовались собственные данные полнотранскриптомного профилирования (GEO, GSE80754) различных морфологических структур трёх случаев РМЖ (средний возраст – 45 лет, степень злокачественности – 2, T₂N₀₋₂M₀). Данные микроматричного анализа подвергались биоинформатической обработке в среде R с помощью программного пакета limma. Были отобраны гены, дифференциально экспрессирующиеся в структурах по сравнению с нормальным эпителием молочной железы, и гены, дифференциально экспрессирующиеся между структурами без поправки на норму. Обязательным условием была статистически значимая гипер- и/или гипокспрессия (p<0,05). Затем был произведен анализ гипер- и гипокспрессирующихся генов в каждом типе морфологических структур на предмет их связи с инвазией и метастазированием. Была сформирована панель генов опухолевой инвазии, специфичных для морфологических структур, в частности для солидных и трабекулярных структур, показывающих выраженные инвазивные характеристики как варианты коллективной миграции опухолевых клеток. Белки, кодируемые данными генами, оценивались в базе данных Human Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org>) на предмет их избирательной экспрессии в солидных и трабекулярных структурах, проявляющейся в маркировке периферии или концов (инвазивный фронт) данных структур. Оценка связи экспрессии белков с выживаемостью больных РМЖ проводилась с использованием ресурса Kaplan-Meier Plotter (<http://kmplot.com>)

Результаты. На основании анализа гипо- и гиперэкспрессирующихся генов солидных и трабекулярных структур был составлен список маркеров, которые представляют потенциальный интерес в плане их маркировки коллективной инвазии и инвазивного фронта опухоли молочной железы. Кроме того, выбраны гены, экспрессирующиеся одновременно в солидных и трабекулярных структурах. На основании проведенного анализа особенностей экспрессии белков, кодируемых выбранными генами, в опухолях молочной железы, было выбрано девять белков (KIF14, DSC3, WAVE и др.), гетерогенно/избирательно экспрессирующихся как в пределах опухоли, так и в пределах солидных и трабекулярных структур. Так, согласно базе данных Human Protein Atlas KIF14 и DSC3 гиперэкспрессировались (Рис. 1А), а экспрессия WAVE терялась на периферии и концах данных структур.

Была исследована ассоциация экспрессии этих белков с безрецидивной и метастатической выживаемостью пациентов с РМЖ. На основании результатов Kaplan-Meier Plotter (<http://kmplot.com>) ассоциированными с безрецидивной выживаемостью были белки KIF14, DSC3 и WAVE (Рис. 1Б). При этом для белков KIF14 и DSC3 с плохой выживаемостью была ассоциирована высокая экспрессия, тогда как для белка WAVE – низкая экспрессия. Кроме того, высокая экспрессия KIF14 и низкая экспрессия WAVE были также ассоциированы с плохой безметастатической выживаемостью. Подобные результаты были получены для других белков опухолевой инвазии.

Заключение. Были найдены новые молекулярные маркеры инвазивного фронта рака молочной железы и показана связь их экспрессии с выживаемостью и клиническим прогнозом заболевания.

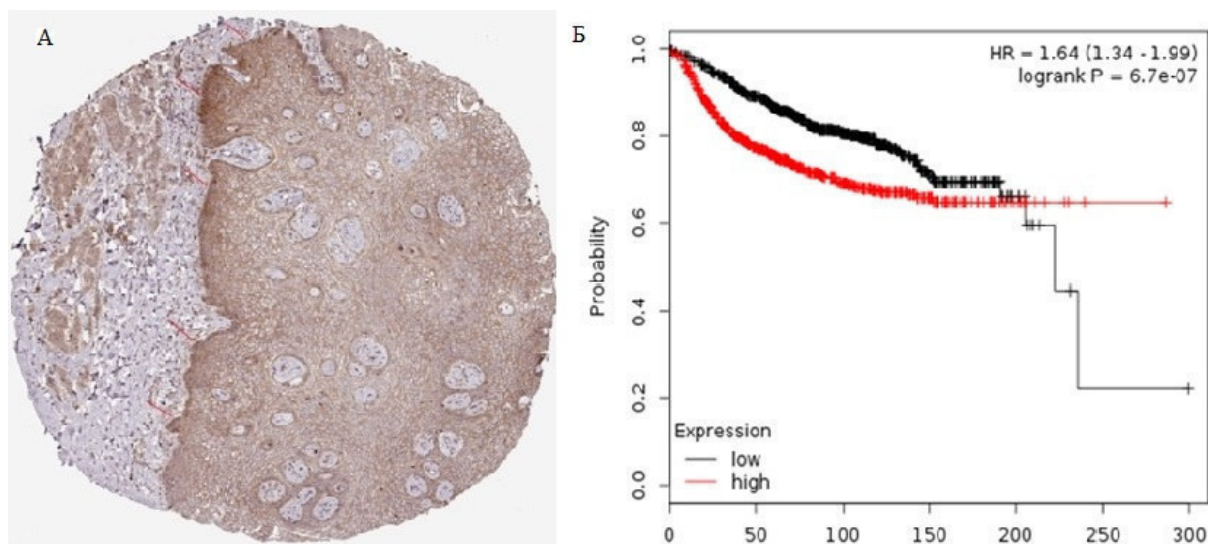


Рис. 1. А – Гиперэкспрессия белка KIF14 по периферии солидной структуры (*The Human Protein Atlas*, <https://www.proteinatlas.org>); Б – Ассоциация экспрессии KIF14 в опухолевой ткани молочной железы с безрецидивной (справа) выживаемостью больных РМЖ (Kaplan-Meier Plotter, <http://kmplot.com>).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-15-00318).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Friedl, P., Wolf, K. (2003). Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nature Reviews Cancer*, no. 3, pp. 362-374.
2. Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Денисов Е.В., Вторушин С.В., Перельмутер В.М. Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления // *Acta Naturae*. – 2015. – Т. 7 – №2. – С.18-30.
3. Завьялова М.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Гарбуков Е.Ю., Глущенко С.А. Сопряженность лимфогенного метастазирования и гистологического строения инфильтративного компонента протокового рака молочной железы // *Сибирский онкологический журнал*. – 2006. – № 1. – С. 32-35.
4. Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Гарбуков Е.Ю. Особенности гематогенного метастазирования при раке молочной железы в зависимости от гистологического строения опухоли // *Сибирский онкологический журнал*. – 2006. – № 3. – С. 29-33.
5. Denisov, E.V., Skryabin, N.A., Gerashchenko, T.S., Tashireva, L.A., Wilhelm, J., Buldakov, M.A., Sleptcov, A.A., Lebedev, I.N., Vtorushin, S.V., Zavyalova, M.V., Cherdyntseva, N.V., Perelmuter, V.M. (2017). Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44+CD24-stemness. *Oncotarget*, no. 8, pp. 61163–61180.