

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ПРОГРЕССИИ И ИНГИБИРОВАНИЯ ПРЕДОПУХОЛЕВЫХ
ИЗМЕНЕНИЙ БРОНХИАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ**

А.А. Щеголева, А.В. Исаева, Л.С. Ляпунова

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: shegolmay@gmail.com

**MOLECULAR MARKERS OF PROGRESSION AND INHIBITION OF PREMALIGNANT CHANGES
IN THE BRONCHIAL EPITHELIUM**

A.A. Shchegoleva, A.V. Isaeva, L.S. Lyapunova

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: shegolmay@gmail.com

***Abstract.** In this study, we analyzed expression profiles of various changes in the bronchial epithelium (basal cell hyperplasia, squamous metaplasia and dysplasia) and found specific genes for each bronchial change depending on their combinations with each other. Expression of the proteins encoded by these genes was validated in lung tissue samples using the database The Human Protein Atlas. The described genes are possible markers of progression and inhibition of premalignant changes in the bronchial epithelium.*

Введение. Предопухолевый процесс при плоскоклеточном раке лёгких, одной из форм немелкоклеточного рак лёгких (НМРЛ), является сложным многоступенчатым процессом, характеризующимся последовательным накоплением генетических и молекулярных нарушений и идущим параллельно с морфологическими изменениями от нормального эпителия через базальноклеточную гиперплазию (БКГ) и плоскоклеточную метаплазию (ПМ) к дисплазии (Д, I-III степени) [1]. Ранее мы показали, что у больных НМРЛ в нормальной ткани легкого, отдаленной от опухолевого очага, наблюдаются различные сочетания морфологических изменений эпителия бронхов: изолированная БКГ (иБКГ), БКГ, сочетающаяся с ПМ (пмБКГ), ПМ, сочетающаяся с БКГ (бкгПМ) и ПМ, сочетающаяся с дисплазией (дПМ), дисплазия (Д). Наличие различных вариантов предопухолевых изменений было ассоциировано с прогрессией НМРЛ. Наличие изолированной БКГ в мелких бронхах больных с НМРЛ было связано с высокой частотой гематогенного метастазирования [2], а сочетание БКГ и ПМ – с повышенной вероятностью рецидивирования заболевания [3].

Последние наши данные указывают на то, что экспрессионный профиль БКГ и ПМ зависит от того, сочетаются они друг с другом или нет. Кроме того, мы подтвердили, что БКГ и ПМ отличаются от нормального эпителия, а также друг от друга в экспрессионном плане. Тем не менее, варианты БКГ более схожи друг с другом, чем с ПМ. Тогда как бкгПМ по экспрессионному профилю ближе к БКГ, чем к дПМ [4].

Вероятно, вышеперечисленные варианты морфологических изменений эпителия бронхов представляют различные предопухолевые состояния, одни из которых прогрессируют далее (например, дПМ в Д), а другие – останавливаются или вовсе реверсируют до нормального эпителия. В этом плане, актуальным является поиск возможных маркеров, на основании которых можно было бы судить о риске прогрессирования или ингибирования предопухолевого процесса в легком.

Таким образом, целью настоящего исследования был поиск генов, специфических для каждого из вариантов морфологических изменений эпителия бронхов, как потенциальных маркеров вероятности протекания различных сценариев предопухолевого процесса.

Материалы и методы исследования. В исследовании использовались данные полнотранскриптомного профилирования различных морфологических изменений эпителия бронхов: иБКГ, пмБКГ, бкгПМ, дПМ и Д (GEO, GSE GSE81819). Отбор дифференциально экспрессирующихся генов между разными предопухолевыми изменениями проводился в среде R с использованием пакета *limma*. В анализ брали специфические гены, гипо- или гиперэкспрессирующиеся в каком-либо морфологическом изменении ($p < 0.05$). Функциональное аннотирование специфических генов проводилось с помощью базы данных GeneCards. Экспрессия белков, кодируемых данными генами, в нормальном эпителии бронхов, различных предопухолевых изменениях и опухолевой ткани оценивалась с помощью ресурса The Human Protein Atlas и иммуногистохимического окрашивания соответствующих образцов.

Результаты. Для каждого из вариантов морфологических изменений эпителия бронхов были найдены специфические гены. Наибольшее их количество было в дисплазии, наименьшее, всего один неохарактеризованный транскрипт, – в пмБКГ.

Таблица 1.

Гены, гипо- или гиперэкспрессирующиеся в различных морфологических изменениях эпителия бронхов

	иБКГ	пмБКГ	бкгПМ	дПМ	Д
Гиперэкспрессия	<i>TMEM81</i> <i>VMO1</i>	<i>XLOC_012803</i> (некодирующая РНК)		<i>KHK</i> <i>PCDH18</i>	<i>MS4A3</i> <i>BTN1A1</i>
Гипоэкспрессия	<i>VASP</i>		<i>BHLHB9</i>	<i>MAP7D2</i> <i>CCDC114</i> <i>ITPR2</i>	<i>CTAG1A</i> <i>PCDH10</i> <i>LIFR</i> <i>HOXB6</i> <i>EVI2A</i> <i>TAC4</i> <i>XAGE2</i> <i>WBSR17</i>

Примечания: иБКГ, изолированная БКГ; пмБКГ, БКГ, сочетающаяся с ПМ; бкгПМ ПМ, сочетающаяся с БКГ; ПМ, дПМ, сочетающаяся с дисплазией; Д, дисплазия.

Для каждого из генов был оценен изначальный уровень флюоресценции на микроматрицах. Только гены (*BHLHB9*, *MAP7D2*, *PCDH18*, *CCDC114* и *BTN1A1*) с наибольшим изменением флюоресценции в каждом типе предопухолевых состояний были выбраны для дальнейшей оценки экспрессии кодируемых ими белков.

Ген *BHLHB9* (Basic Helix-Loop-Helix Family Member B9) кодирует фактор транскрипции и играет роль в контроле клеточного старения. По нашим данным гиперэкспрессия этого гена характерна для бкГПМ.

Ген *PCDH18* (Protocadherin 18) кодирует белок клеточной адгезии, который играет важную роль в контактах нейрональных клеток друг с другом. Несмотря на это, данный белок также экспрессируется в тканях легкого. Гиперэкспрессия гена *PCDH18* наблюдается в дПМ.

Ген *MAP7D2* (Microtubule Associated Protein 7 Domain Containing 2) экспрессируется в эпителиальных клетках, кодируемый им белок вовлечен в динамику микротрубочек. Экспрессия этого гена в значительной степени снижена в дПМ, чем в остальных изменениях.

Ген *CCDC114* (Coiled-Coil Domain Containing 114), белок которого является компонентом “the outer dynein arm docking complex (ODA-DC)”. Данный комплекс ответственен за прикрепление внешней динеиновой «ручки» к поверхности микротрубочек. Экспрессия гена *CCDC114*, как и кодируемого белка, снижена в дПМ.

Ген *BTN1A1* (Butyrophilin Subfamily 1 Member A1), член семейства иммуноглобулинов, ингибирует пролиферацию CD4 и CD8 Т-клеток, Т-клеточный метаболизм и секрецию IL2 и IFNG. Гиперэкспрессия этого гена характерна для дисплазии. Экспрессия белка BTN1A1 в нормальном эпителии бронхов значительно снижена.

Заключение. Для каждого варианта морфологических изменений эпителия бронхов найдены специфические гены, описана их функциональная значимость и валидирована экспрессия на белковом уровне в образцах ткани легкого. Описанные гены представляют диагностическую ценность как возможные маркеры для оценки риска прогрессирования или ингибирования предопухолевого процесса в бронхиальном эпителии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект №17-29-06002).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kadara H., Wistuba I.I. (2014) Molecular Biology of Lung Preneoplasia. Lung Cancer, Ch. 6, pp. 110-128.
2. Пат. 2489718 РФ. МПК G01N 33/48. Способ прогнозирования возникновения гематогенных метастазов при плоскоклеточном раке легкого / О.В. Панкова, В.М. Перельмутер. Заявлено 22.06.2012; Опубл. 10.08.2013, Бюл. № 22.
3. Pankova O.V., Denisov E.V., Ponomaryova A.A., Gerashchenko T.S., Tuzikov S.A., Perelmuter V.M. (2016) Recurrence of squamous cell lung carcinoma is associated with the co-presence of reactive lesions in tumor-adjacent bronchial epithelium. Tumor Biology, Vol. 37, no. 3, pp. 3599–3607.
4. Щеголева А.А., Геращенко Т.С., Таширева Л.А. Экспрессионные характеристики различных вариантов морфологических изменений бронхиального эпителия // Перспективы развития фундаментальных наук: Доклады XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Томск 2017. – Т. 4. – С.184–186.