

Национальный институт рака, Киев

РОЛЬ микроРНК В ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ РАКОМ ГРУДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



Д.Э. Рыспаева, И.А. Крячок

Адрес:

Рыспаева Динара Эсенбековна
03022, Киев, ул. Ломоносова, 33/43
Национальный институт рака
E-mail: ryspayeva1@gmail.com

Ключевые слова: рак грудной железы, лекарственная устойчивость, индивидуализация лечения, экспрессия генов, маркер, микроРНК, эпигенетические факторы.

Известно, что в развитии рака принимают участие не только генетические, но и эпигенетические факторы, которые могут вызывать фенотипические изменения и приводить к росту опухоли. Последние данные в молекулярной биологии свидетельствуют о том, что изменения экспрессии микроРНК являются одним из эпигенетических механизмов, участвующих в инициации, прогрессировании и метастазировании опухолевого процесса. Открытие специфических малых некодирующих молекул — микроРНК (microRNA, miRNA, miR) — сыграло исключительную роль в формировании представлений о молекулярных механизмах регуляции экспрессии генов и явилось значимым событием последних лет. После первой характеристики подпери микроРНК для рака грудной железы (2005 г.) проведено много исследований по микроРНК и доказано, что экспрессия микроРНК в опухолевых клетках значительно отличается от показателей в нормальных тканях. На основании анализа мировой литературы в статье показана биологическая и клиническая роль микроРНК в патогенезе и лекарственной устойчивости рака грудной железы. Также представлена ассоциация профилей экспрессии специфических микроРНК с клиническим течением заболевания, молекулярно-генетическими подтипами рака грудной железы, а также ответом на химио- и гормонотерапию. Проведен анализ ключевых микроРНК, перспективных для диагностики, оценки прогноза и ответа на лекарственную терапию.

Рак грудной железы (РГЖ) в течение последних лет занимает первое место в структуре заболеваемости (19,5%) и смертности (20,1%) женщин в Украине [4]. В стране ежегодно регистрируют около 13–14 тыс. случаев РГЖ, примерно половина больных, несмотря на усилия врачей, умирают от этой патологии (по данным Национального канцер-регистра за 2014 г., 5874 умерших). Несмотря на разработанные многочисленные схемы химиотерапии, серьезным препятствием на пути успешного лечения больных РГЖ остается устойчивость опухолей к лекарственным препаратам, молекулярные механизмы которой в основном неизвестны [25].

С одной стороны, повышение онкологической заболеваемости, большой удельный вес больных РГЖ, нуждающихся в системной терапии, с другой — научные достижения в области биологии этого злокачественного заболевания с выявлением мишеней для действия лекарственных препаратов побуждают к поиску путей индивидуализации специфической терапии на основе молекулярных маркеров.

Открытие ключевых молекулярных драйверов в области онкологии обусловило применение эпохальных подходов к блокированию различных белков — продуктов онкогенов в опухолевых клетках (трастузумаб, лапати-

ниб, бевацизумаб и др.). Так, открытие гиперэкспрессии гена *HER2* (*ERBB2*) и планирование таргетного лечения способствовало повышению выживаемости при РГЖ. Таким образом, понимание биологических характеристик опухоли и концепции ее гетерогенности нацеливают на поиск более совершенных методов лечения [5].

Предполагается, что идентификация молекулярных маркеров химиочувствительности и химиорезистентности позволит улучшить результаты противоопухолевой терапии. Исследования, проводимые в данном направлении, ставят две задачи: 1) генетическая характеристика особенностей пациента, позволяющая индивидуализировать дозировку лекарственных препаратов и снизить их токсичность (персонализированная терапия); 2) мутационный и экспрессионный анализ опухолевой ткани с целью прогнозирования чувствительности опухоли к лекарственным средствам (индивидуализация лечения). В первом случае объектом изучения является полиморфизм генов, кодирующих ферменты лекарственного метаболизма, во втором — приобретенные мутации и опухольспецифические экспрессии генов, произошедшие непосредственно в опухолевой ткани [1]. Безусловно, индивидуализация противоопухолевой терапии на основе молекулярных маркеров

не является панацеей. Низкая эффективность лекарственного лечения опухолей связана не столько с трудностями выбора соответствующих препаратов, сколько с затруднениями в разработке истинно селективных агентов, направленных на получение объективного ответа и повышение выживаемости.

Выраженная гетерогенность опухоли грудной железы делает принципиально важным изучение ее молекулярных характеристик, основанным не только на определении генных мутаций и профиля экспрессии генов, но и на новых биологических маркерах. Одним из новых биомаркеров являются микроРНК (microRNA, miRNA, miR) — небольшие молекулы, регулирующие экспрессию генов и участвующие, по-видимому, во всех биологических процессах макроорганизма.

МикроРНК активно изучают при онкологических заболеваниях в качестве перспективных предиктивных маркеров и потенциальных терапевтических агентов. Кроме того, предполагается использование микроРНК в диагностике и определении прогноза злокачественных заболеваний [2, 7].

МикроРНК — это семейство малых некодирующих РНК длиной в 19–23 нуклеотида, которые участвуют во многих биологических процессах, таких как выживаемость, апоптоз, клеточный цикл и регуляция генов [8]. Разные микроРНК могут либо стимулировать, либо супрессировать развитие опухоли и метастазов. Возможна либо повышенная экспрессия отдельных микроРНК, при этом микроРНК функционирует как онкоген, либо сниженная экспрессия, и при этом микроРНК выступает как ген, супрессирующий развитие опухоли [9].

К настоящему времени известно около 3 тыс. микроРНК человека (miRBase, 2013; <http://www.mirbase.org/>), каждая из которых потенциально может регулировать работу сотен генов-мишеней (TargetScan, v.7, 2016; <http://www.targetscan.org/>).

В процесс канцерогенеза вовлечено значительное количество микроРНК, и изменение их экспрессии способствует образованию и развитию различных типов опухолей [15]. Впервые участие микроРНК в развитии онкологических заболеваний было показано для двух генов микроРНК miR-15 и miR-16, расположенных в хромосомной области 13q14, у пациентов с хронической В-лимфоцитарной лейкемией [10]. Последующие работы показали, что в большинстве случаев многие онкологические заболевания (рак легкого, грудной железы, глиомы) имеют аномальный профиль экспрессии микроРНК по сравнению с нормальными соответствующими тканями [15]. Получены важные данные о том, что раковая инвазия и метаста-

зирование инициируются разными микроРНК [20].

Ассоциация микроРНК с РГЖ была установлена в 2005 г. в исследованиях с использованием клеточных линий, клинических образцов и моделей *in vivo*. Несколько исследований определили группу микроРНК, которые дифференциально экспрессируются при РГЖ по сравнению с нормальной тканью грудной железы, включая подавление экспрессии let-7, miR-125, miR-10b, и miR-145, а также избыточную экспрессию miR-155, miR-191, miR-21, miR-206, miR-210 и miR-213 [3, 24]. Специфическими могут быть изменения не только для опухоли разного происхождения, но и для различных гистологических типов, профилей экспрессии генов в клетках опухоли, TNM-стадии [7].

Как известно, классификация РГЖ, основанная на различии в экспрессии генов, выделяет подтипы: базальноподобный, люминальный А, люминальный В и HER-2-позитивный [27]. Выявлено, что профили экспрессии микроРНК также могут быть использованы для классификации опухолей грудной железы [13, 26]. Многие микроРНК неодинаково экспрессируются при базальном и люминальном HER2/*neu*-позитивном подтипах РГЖ. Для отдельных микроРНК, таких как члены семейства let-7, найдена связь с подтипом опухоли, эстроген-рецепторным статусом и степенью злокачественности [11, 28, 31]. Разные микроРНК, ассоциированные с разными подтипами РГЖ, могут служить маркерами прогноза ответа на лекарственную терапию [6, 18].

Особенный интерес представляют исследования, посвященные участии микроРНК в канцерогенезе. Установлено, что экспрессия микроРНК-720 снижена при метастатическом РМЖ, а реэкспрессия этой же молекулы ингибирует клеточную инвазию и миграцию как *in vitro*, так и *in vivo* [21]. Самое выраженное снижение экспрессии микроРНК отмечается для микроРНК-125b [17, 29]. При этом установлено, что для данной микроРНК существует около 65 мишеней, одна из которых — эпидермальный фактор роста — HER2/*neu*, или CD340, определение которого является обязательным в тактике терапии больных РГЖ [16].

Изменения экспрессии семейства микроРНК-200 регистрировали при люминальном и базальноподобном подтипах РГЖ, а низкая экспрессия микроРНК-200с, микроРНК-145 ассоциирована с высоким потенциалом опухолевых клеток к инвазии при трижды негативном РГЖ с *BRCA*-мутациями [14]. Для опухолей грудной железы с метастазами в регионарных лимфоузлах или с высоким пролиферативным индексом Ki-67 отмечено характерное снижение

экспрессии опухолевого супрессора let-7, что позволяет выделить группу больных с неблагоприятным прогнозом [12].

Данные о вовлечении микроРНК в формирование феномена резистентности при РГЖ показаны в немногочисленных работах [19, 22, 30, 32]. Так, в исследовании Zhao (2013) [32] изучены 183 микроРНК на двух клеточных линиях (MCF-7/доксорубин и MCF-7/доцетаксел) и определены две микроРНК — 222 и 29a, которые оказались вовлечены в развитие резистентности к противоопухолевым препаратам. В исследовании показано, что эти микроРНК являются онкогенами и, возможно, влияют на регуляцию экспрессии PTEN (phosphatase and tensin homolog), являющегося опухолевым супрессором.

Немногие микроРНК (-17/20, -21, -34a, -125b, -181a, -203, -218, -221, -222, -342), известные к настоящему времени, играют ключевую роль в развитии лекарственной устойчивости к цитостатикам (паклитаксел, доцетаксел, цисплатин и доксорубин), гормонам (тамоксифен) или трастузумабу в различных линиях клеток РГЖ [23, 33]. Например, гиперэкспрессия микроРНК-155 была связана с резистентностью к неоадьювантной химиотерапии у больных РГЖ [30].

В последнее десятилетие стало ясно, что важную роль в злокачественной трансформации клеток и в опухолевой прогрессии играют нарушения регуляции микроРНК, которые отвечают за экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. Исследования микроРНК находятся на начальном этапе, и это относится как к их прогностической, так и предиктивной роли. Также мало известно о соотношении гистологических подтипов и специфических паттернов экспрессии микроРНК и, безусловно, стоит далее исследовать это соотношение в будущем. Важным элементом прикладного рассмотрения данной проблемы представляется оценка профиля экспрессии микроРНК с диагностической целью в биопсийном материале и возможным предиктивным значением для проведения неоадьювантной химиотерапии.

Таким образом, возможно, в будущем станет реальным с помощью изучения небольшого набора микроРНК определять подтип РГЖ и, более того, прогнозировать биологические свойства опухоли и потенциальный ответ на терапию.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Имянитов Е.Н., Моисеенко В.М. (2008) Применение молекулярно-генетического анализа для выбора противоопухолевой терапии. *Вопр. онкол.*, 54(2): 121–132.
- Киселев Ф.Л. (2014) МикроРНК и рак. *Мол. биол.*, 48(2): 232–242.

3. Поспехова Н.И., Поярков С.В., Зенит-Журавлева Е.Г. и др. (2012) Экспрессионный анализ микроРНК для диагностики и прогноза рака молочной железы. *Злокачественные опухоли*, 2: 91–98.
4. Федоренко З.П., Михайлович Ю.Й., Гулак Л.О. та ін. (2006) Рак в Україні, 2014–2015. *Бюл. Нац. канцер-реєстру України*, 17: 144.
5. Чехун В.Ф. (2012) От системной биологии рака до методологии персонализированной терапии. *Онкология*, 14(2): 84–88.
6. Чехун С.В. (2015) Особливості міжпухлинної гетерогенності раку молочної залози (експериментальне та клінічне дослідження). Автореф... канд. мед. н., Київ: 24 с.
7. Ширшова А.Н., Аушев В.Н., Филипенко М.Л., Кушлинский Н.Е. (2015) МикроРНК при онкологических заболеваниях. *Мол. мед.*, 2: 4–12.
8. Bartel D.P. (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 116: 281–297.
9. Bartel D.P. (2009) MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*, 136(2): 215–233.
10. Calin G.A., Dumitru C.D., Shimizu M. et al. (2002) Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 99: 15524–15529.
11. Cheng C., Fu X., Alves P. et al. (2009) mRNA expression profiles show differential regulatory effects of microRNAs between estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative breast cancer. *Genome Biol.*, 10(9): R90.
12. D'Ippolito E., Iorio M.V. (2013) MicroRNAs and triple negative breast cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 14(11): 22202–22220; doi:10.3390/ijms141122202.
13. Eo H.S., Heo J.Y., Choi Y. et al. (2012) A pathway-based classification of breast cancer integrating data on differentially expressed genes, copy number variations and MicroRNA target genes. *Mol. Cells*, 34(4): 393–398. doi:10.1007/s10059-012-0177-0.
14. Erturk E., Cecener G., Tezcan G. et al. (2015) BRCA mutations cause reduction in miR-200c expression in triple negative breast cancer. *Gene*, 556(2): 163–9. doi: 10.1016/j.gene.2014.11.047.
15. Farazi T.A., Spitzer J.J., Morozov P., Tuschl T. (2011) MiRNAs in human cancer. *J. Pathol.*, 223(2): 102–115.
16. Fassan M., Pizzi M., Realdon S. et al. (2013) The HER2-miR125a5p/miR125b loop in gastric and esophageal carcinogenesis. *Hum. Pathol.*, 44(9): 1804–1810. doi: 10.1016/j.humpath.2013.01.023.
17. Feliciano A., Castellvi J., Artero-Castro A. et al. (2013) MiR-125b acts as a tumor suppressor in breast tumorigenesis via its novel direct targets ENPEP, CK2- α , CCNJ, and MEGF9. *PLoS One*, 8: e76247.
18. Iliopoulos D., Rotem A., Struhl K. (2011) Inhibition of miR-193a expression by Max and RXR α activates K-Ras and PLAU to mediate distinct aspects of cellular transformation. *Cancer Res.*, 71: 5144–53. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0425.
19. Kastl L., Brown I., Schofield A.C. (2012) MiRNA-34a is associated with docetaxel resistance in human breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.*, 131(2): 445–454. doi: 10.1007/s10549-011-1424-3.
20. Lages E., Ipas H., Guttin A. et al. (2012) MicroRNAs: molecular features and role in cancer. *Front. Biosci.*, 17: 2508–25040.
21. Li M., Yin J., Mao N., Pan L. (2013) Upregulation of phosphorylated cofilin 1 correlates with taxol resistance in human ovarian cancer *in vitro* and *in vivo*. *Oncol. Rep.*, 29(1): 58–66.
22. Li Q., Liu M., Ma F. et al. (2014) Circulating miR-19a and miR-205 in serum may predict the sensitivity of luminal A subtype of breast cancer patients to neoadjuvant chemotherapy with epirubicin plus paclitaxel. *PLoS ONE*, 9(8): e104870. doi: 10.1371/journal.pone.0104870.
23. Magee P., Shi L., Garofalo M. (2015) Role of microRNAs in chemoresistance. *Ann. Transl. Med.*, 3(21): 332. doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.11.32.
24. Mar-Aguilar F., Mendosa-Ramirez J.A., Malagón-Santiago I. et al. (2013) Serum circulating microRNA profiling for identification of potential breast cancer biomarkers. *Dis. Markers*, 34(3): 163–169. doi: 10.3233/DMA-120957.
25. Nwabo Kamdje A.H., Seke Etet P.F., Vecchio L. et al. (2014) Signaling pathways in breast cancer: therapeutic targeting of the microenvironment. *Cell Signal.*, 26(12): 2843–2856. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.07.034.
26. Ogino S., Fuchs C.S., Giovannucci E. (2012) How many molecular subtypes? Implications of the unique tumor principle in personalized medicine. *Expert. Rev. Mol. Diagn.*, 12(6): 621–628.
27. Perou C.M., Sorlie T., Eisen M.B. et al. (2000) Molecular portraits of human breast tumors. *Nature*, 406: 747–752.
28. Persson H., Kvist A., Rego N. et al. (2011) Identification of new microRNAs in paired normal and tumor breast tissue suggests a dual role for the ERBB2/Her2 gene. *Cancer Res.*, 71(1). doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1869.
29. Vilquin P., Donini C.F., Villedieu M. et al. (2015) MicroRNA-125b upregulation confers aromatase inhibitor resistance and is a novel marker of poor prognosis in breast cancer. *Breast Cancer Res.*, 17: 13.
30. Wang H., Tan G., Dong L. et al. (2012) Circulating MiR-125b as a marker predicting chemoresistance in breast cancer. *PLoS ONE*, 7(4): e34210. doi: 10.1371/journal.pone.0034210.
31. Yu F., Yao H., Zhu P. et al. (2007) Let-7 regulates self-renewal and tumorigenicity of breast cancer cells. *Cell*, 131(6): 1109–1123.
32. Zhao G., Guo J., Li D. (2013) MicroRNA-34a suppresses cell proliferation by targeting LMTK3 in human breast cancer MCF-7 cell line. *DNA Cell Biol.*, 32(12): 699–707.
33. Zhou M., Liu Z., Zhao Y. et al. (2010) MicroRNA-125b confers the resistance of breast cancer cells to paclitaxel through suppression of pro-apoptotic Bcl-2 antagonist killer 1 (Bak1) expression. *J. Biol. Chem.*, 285: 21496–21507.

Роль мікроРНК в індивідуалізації лікування хворих на рак грудної залози

Д.Е. Рупаєва, І.А. Крячок

Національний інститут раку, Київ

Резюме. Відомо, що в розвитку раку беруть участь не тільки генетичні, а й епігенетичні фактори, які можуть спричинити фенотипові зміни й призвести до росту пухлини. Сучасні дані в молекулярній біології свідчать, що зміни експресії мікроРНК є одним з епігенетичних механізмів, залучених до ініціації, прогресування та метастазування пухлинного процесу. Відкриття специфічних малих некодуючих молекул — мікроРНК (microRNA, miRNA, miR) — відіграло надзвичайну роль у формуванні уявлень про молекулярні механізми регуляції експресії генів і стало значущою подією останніх років. Після першої характеристики підпису мікроРНК для раку грудної залози (2005 р.) проведено багато досліджень з мікроРНК і доведено, що експресія мікроРНК у пухлинних клітинах значно відрізняється від показників у нормальних тканинах. На підставі аналізу світової літератури у статті показана біологічна і клінічна роль мікроРНК в патогенезі та лікарській стійкості раку грудної залози. Також представлена асоціація профілів експресії специфічних мікроРНК з клінічним перебігом захворювання, молекулярно-генетичними підтипами раку грудної залози та відповіддю на хіміо- і гормонотерапію. Проведено аналіз ключових мікроРНК, перспективних для діагностики, оцінки прогнозу і відповіді на лікарську терапію.

Ключові слова: рак грудної залози, лікарська стійкість, індивідуалізація лікування, експресія генів, маркер, мікроРНК, епігенетичні фактори.

The role of microRNA in the individualization of treatment of breast cancer patients

D.E. Ryspayeva, I.A. Kriachok

National Cancer Institute, Kyiv

Summary. It is known that not only genetic and epigenetic factors play a certain role in the development of cancer but they can generate phenotypic changes and promote tumor growth. The recent data in molecular biology testify that changes in the expression microRNA considered to be one of the epigenetic mechanisms which are involved in the initiation, progression and metastasis of cancer. The discovery of small non-coding specific molecules — microRNA (microRNA, miRNA, miR) has played a crucial role in the perception of the molecular mechanisms of gene expression regulation and it has been a significant event in recent years. After the first characteristic miRNA signature for breast cancer in the 2005 year, there were many investigations of miRNA and it was proved the difference in the expression of microRNA in malignant cells compared with normal tissues. Based on the analysis of world literature the article shows the biological and clinical role of microRNAs in the pathogenesis and drug resistance in breast cancer. Also there is the association of specific miRNA expression profiles with clinical course of the disease, molecular genetic subtypes of breast cancer, as well as the response to chemotherapy and hormone therapy. The key microRNAs promising for diagnosis, forecast assessment and response to drug therapy are analyzed.

Key words: breast cancer, drug resistance, individualization of treatment, gene expression, marker, microRNA, epigenetic factors.