

Опухолевые супрессоры

(антионкогены, рецессивные опухолевые гены) –

клеточные гены, инактивация которых резко увеличивает вероятность развития новообразований, а восстановление функции, наоборот, может подавить рост опухолевых клеток.

Нарушения функции p53

```
graph TD; A[Нарушения функции p53] --> B[Нормальная клетка]; A --> C[Опухолевая клетка]; B --> D[Резкое увеличение вероятности возникновения новообразования (синдром Ли-Фраумени и др.)]; C --> E[Прогрессия новообразования (увеличение агрессивности, устойчивость к химиотерапии)];
```

**Нормальная
клетка**



**Резкое увеличение вероятности
возникновения новообразования
(синдром Ли-Фраумени и др.)**

**Опухолевая
клетка**



**Прогрессия новообразования
(увеличение агрессивности,
устойчивость к химиотерапии)**

p53

Изменения транскрипции реактивных генов

↑ *Hi95*,
↑ *PA26*,
↑ *GPx*,
↑ *Mn-SOD*
↑ *OGG1*
↑ *p53R2*
↑ *GADD45*,
↑ *DDB2*,
↑ *XPC*,
↑ *XPE* и др.

↑ *HGF/SF*,
↑ *HGF1/MSP*,
↑ *MET*,
↑ *HB-EGF*,
↑ *EGF-R*,
↑ *MCK*,
↑ *SMA -α*,
↓ *Фибронектин*,
↓ *E-кадгерин* и др.

↑ *Tsp1*,
↑ *Tsp2*,
↑ *BAl1*,
↓ *HIF-1*,
↓ *VEGF*

↑ *p21WAF1*,
↑ *14-3-3σ*,
↑ *Ptprv*
↑ *PTGF-β*,
↑ *Reprimo*,
↓ *Cdc2*,
↓ *Циклин В*,
↓ *Мус*
↓ *DP1* и др.

↑ *BAX*,
↑ *PUMA*,
↑ *p53AIP1*,
↑ *PIG3*,
↑ *Fas/APO1*,
↑ *Killer/DR5*,
↑ *APAF1*,
↓ *сарвивин*
↓ *BCL2* и др.

Детоксикация
радикалов и
репарация ДНК

Миграция и
дифференци-
ровка клеток

Подавление
ангиогенеза

Остановка
клеточного
цикла

Апоптоз

Мутации p53 - наиболее универсальное молекулярное изменение в опухолях человека

Число случаев (x1000) с мутациями p53

% опухолей с мутациями p53

Развивающиеся страны

Развитые страны

250 200 150 100 50 50 100 150 200 250



Рак легкого

70%



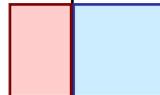
Рак толстой кишки

65%



Рак желудка

45%



Рак мочевого пузыря

61%

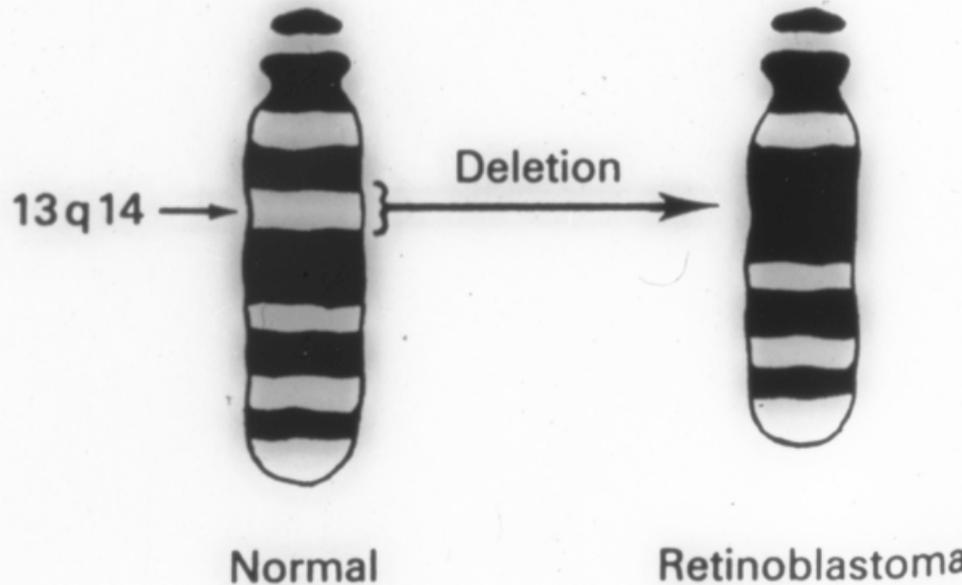


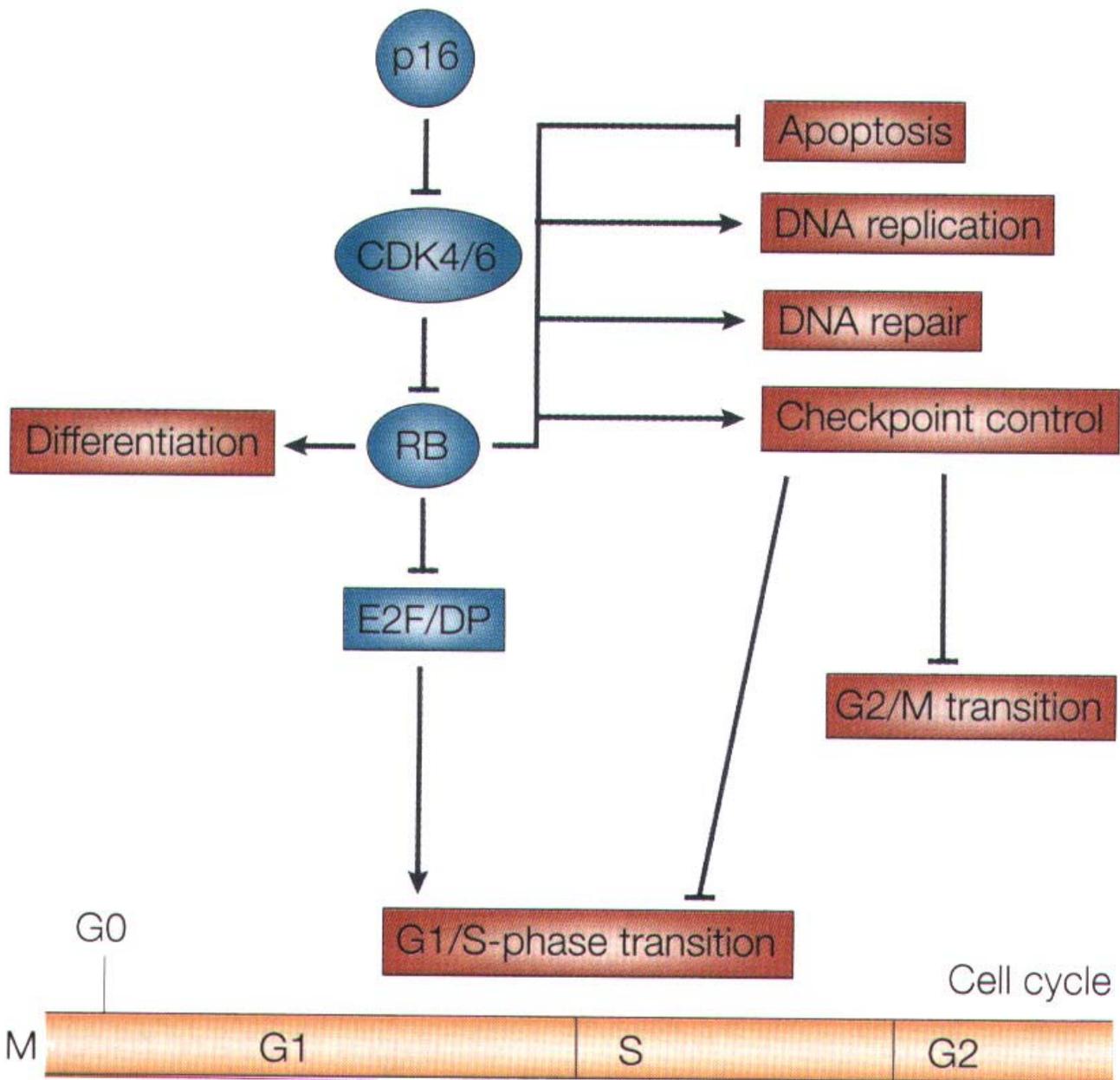
Рак молочной железы

30%

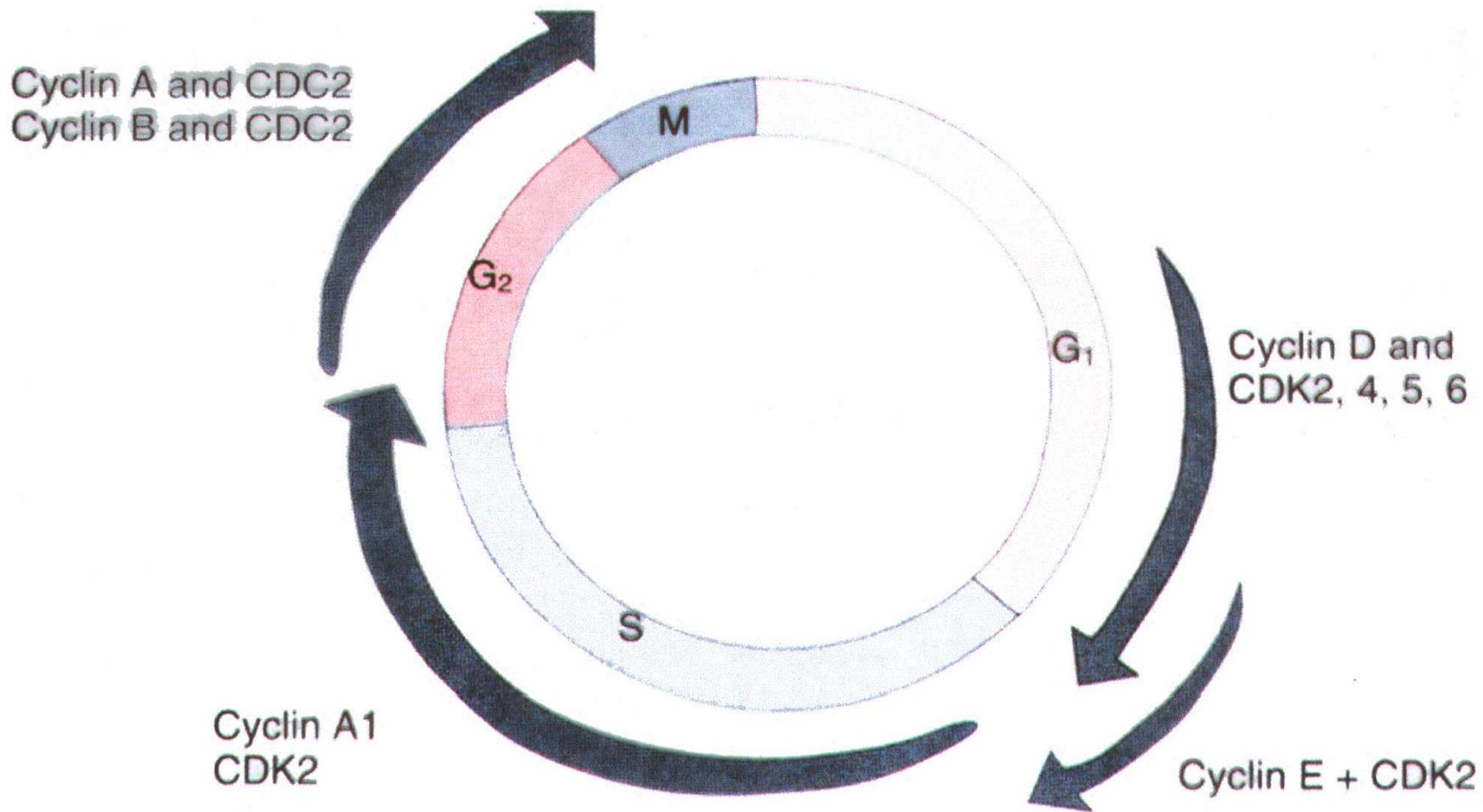
FIGURE 9.4

Chromosome deletions in retinoblastoma. Deletions of chromosome 13 band q14 are detected in both inherited and sporadic retinoblastoma.





The RB pathway and the many potential functions of RB.



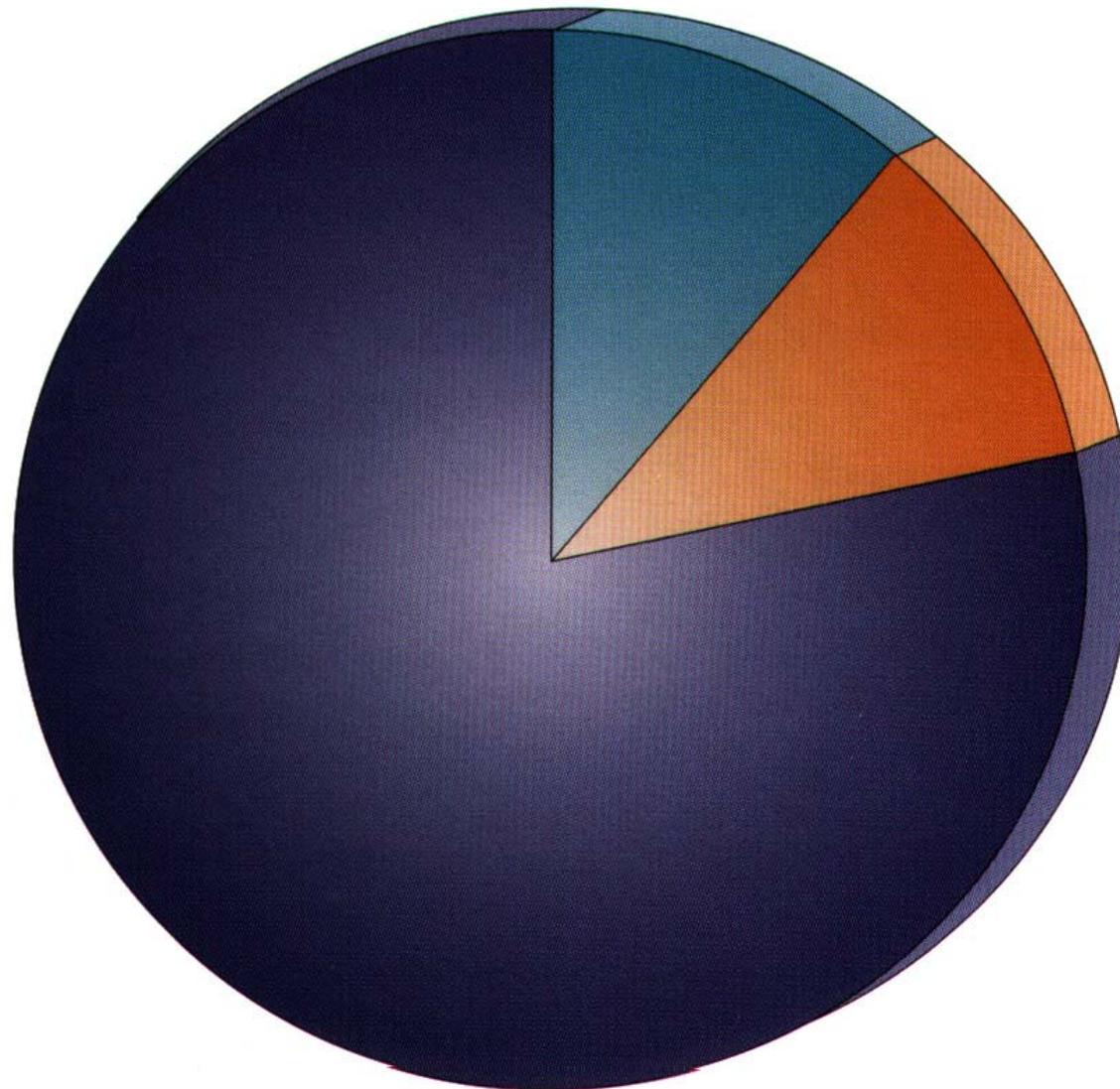
The stages of the cell cycle and expression of the cyclins and CDKs.

Расшифровка структуры генома человека.

Два типа генетических нарушений:

а) мутации в геноме;

б) эпигенетические нарушения:



Mutation types in human cancer.

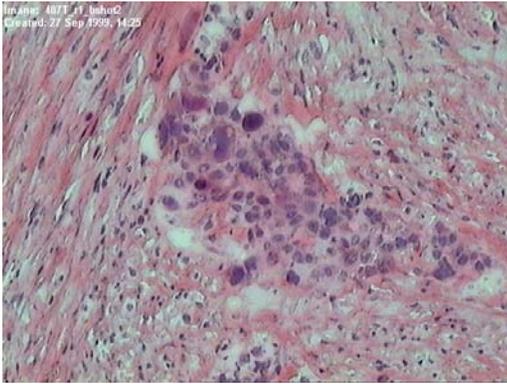
Мутаторный фенотип опухолевых клеток (последнее десятилетие)

- Замена оснований, инсерции, делеции, реаранжировки, изменение копийности
- Соматические мутации (driver and passenger)
- Driver mutations обеспечивают преимущественный и неконтролируемый рост
- От 1 000 до 10 000 замещений (рак молочных желез, яичники, колоректальный рак, поджелудочная железа, глиома)
- Существенно меньше мутаций – медуллобластома, острые лейкозы, тестикулярные опухоли
- Более 10 000 мутаций – опухоли легких, меланома
- Driver mutations – потенциальные мишени для противоопухолевой терапии
- ~ 400 соматических мутировавших генов участвуют в превращении нормальной клетки в опухолевую (2% белок-кодирующих генов)

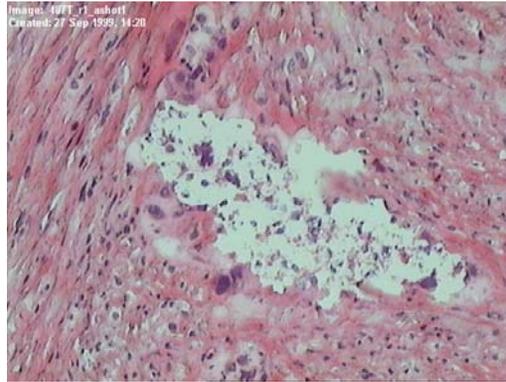
Мутаторный фенотип опухолевых клеток (последнее десятилетие)

- Доминантные опухолевые гены – мутации в одном из двух аллелей (80% опухолей)
- Рецессивные опухолевые гены – мутации в обеих аллелях
- Клональная экспансия для возникновения доминантного субклона, размножение которого приводит к возникновению опухоли
- Метастазы – это, как правило субклоны первичной опухоли

Microdissection of cervical tumors



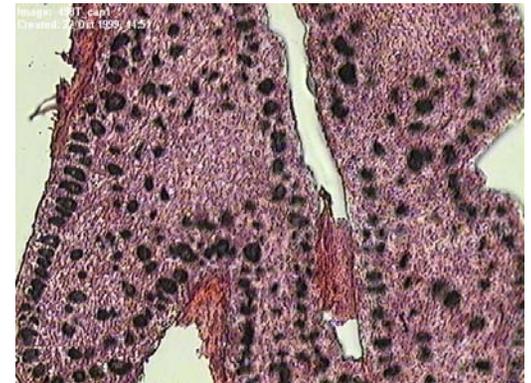
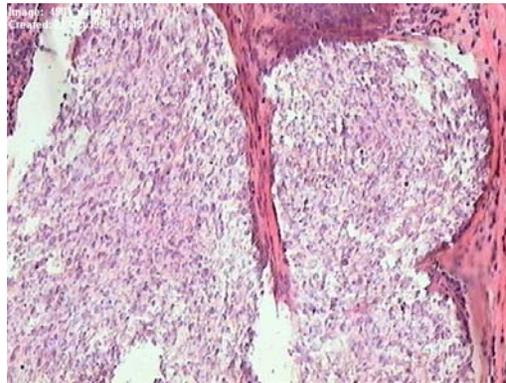
Before



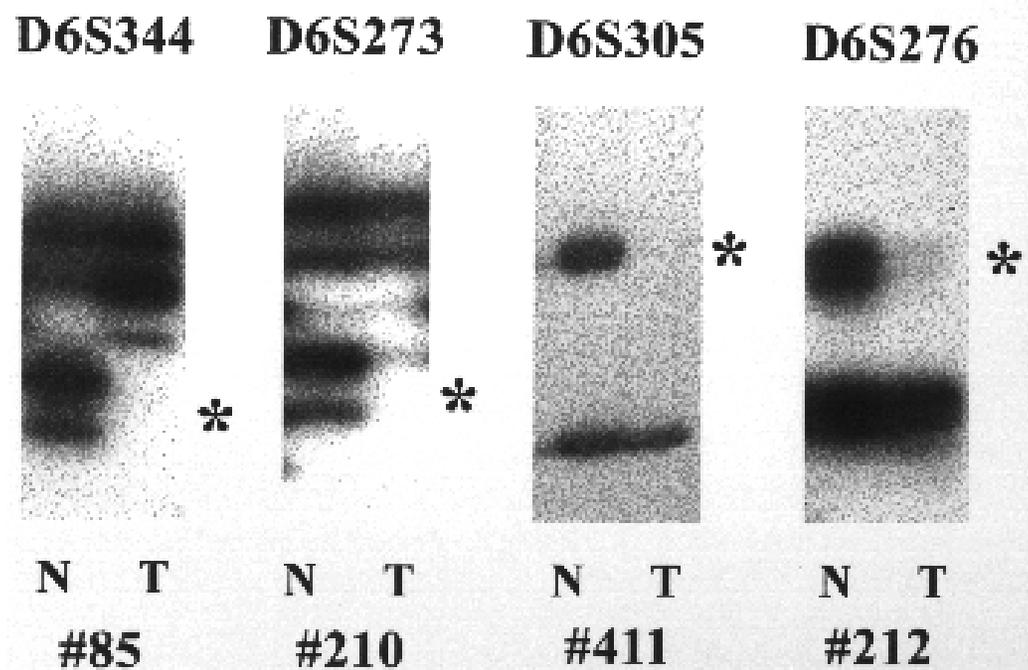
After



Cap

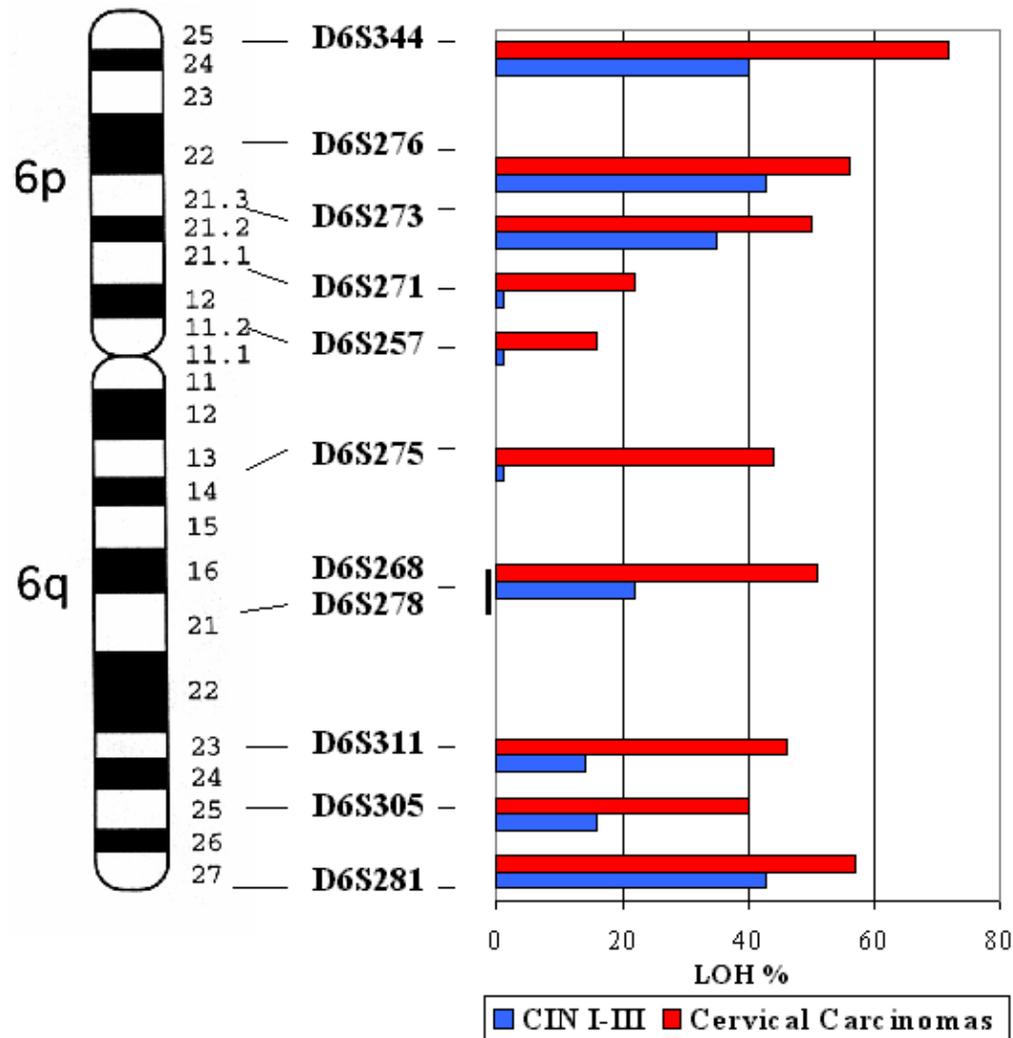


Аллельные делеции (LOH) хромосомы 6 в опухолях шейки матки.



Частота LOH на хромосоме 6 в карциномах и интраэпителиальных поражениях шейки матки, подвергнутых микродиссекции.

**LOH frequency on chromosome 6 in
microdissected squamous cell carcinomas and
intraepithelial lesions**



Эпигеномные нарушения в опухолях

- Нарушения в уровнях экспрессии генов
- Метилирование CpG островков в промоторах и первых экзонах генов
- Ацетилирование гистонов и реаранжировки хроматина
- Сплайсинг
- Микро-РНК (mir-RNA)

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ (ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ).

Контроль уровня экспрессии генов и использование метода экспрессионных микрочипов.

Преимущества:

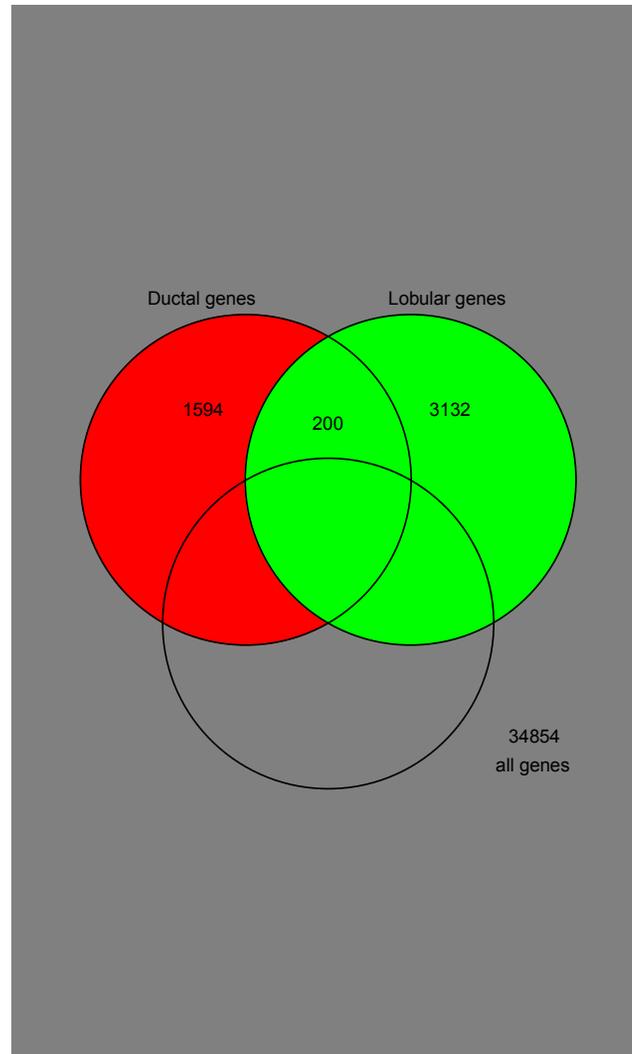
- одновременный анализ экспрессии всех генов клетки;
- вычленение кластеров специфических генов для опухолей различных локализаций и для каждой индивидуальной опухоли;
- создание упрощенных “диагностических” вариантов микрочипов, содержащих не более 100-1000 генов.

Значение для клиники:

- паттерн экспрессии генов может определять чувствительность к различным химиопрепаратам и определять тактику лечения;
- проводить целенаправленный поиск новых ген-направленных противоопухолевых препаратов;
- верифицировать диагноз в сложных случаях;
- прогноз заболевания.

Математическая обработка данных.

Круговая диаграмма.



ГЕНЫ, ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИЕСЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ.

(предварительные данные совместного исследования с Университетом

Дж.Мейсона, США)

- 1. Опухолевый супрессор p27/KIP 1**
- 2. IGBP 1 (IGF связующий белок 1)**
- 3. PSG 1 (бета 1-гликопротеид, специфичный для беременности)**
- 4. FGG (фибриноген)**
- 5. DKK 2**
- 6. TNFRSF 14 (ген семейства TNF, участвующий в индукции металлопротеиназ)**
- 7. CAV 1 (кавеолин)**
- 8. PL2G2A – ген фосфолипазы A2, ассоциированный с хорошим прогнозом.**
- 9. PSA – ген простат-специфического антигена.**
- 10. Транскрипционные факторы YY1 и HESX 1.**
- 11. RANBP 2 – белок ядерных пор.**
- 12. SUMO E3 лигаза**
- 13. Rho-Gef p114.**

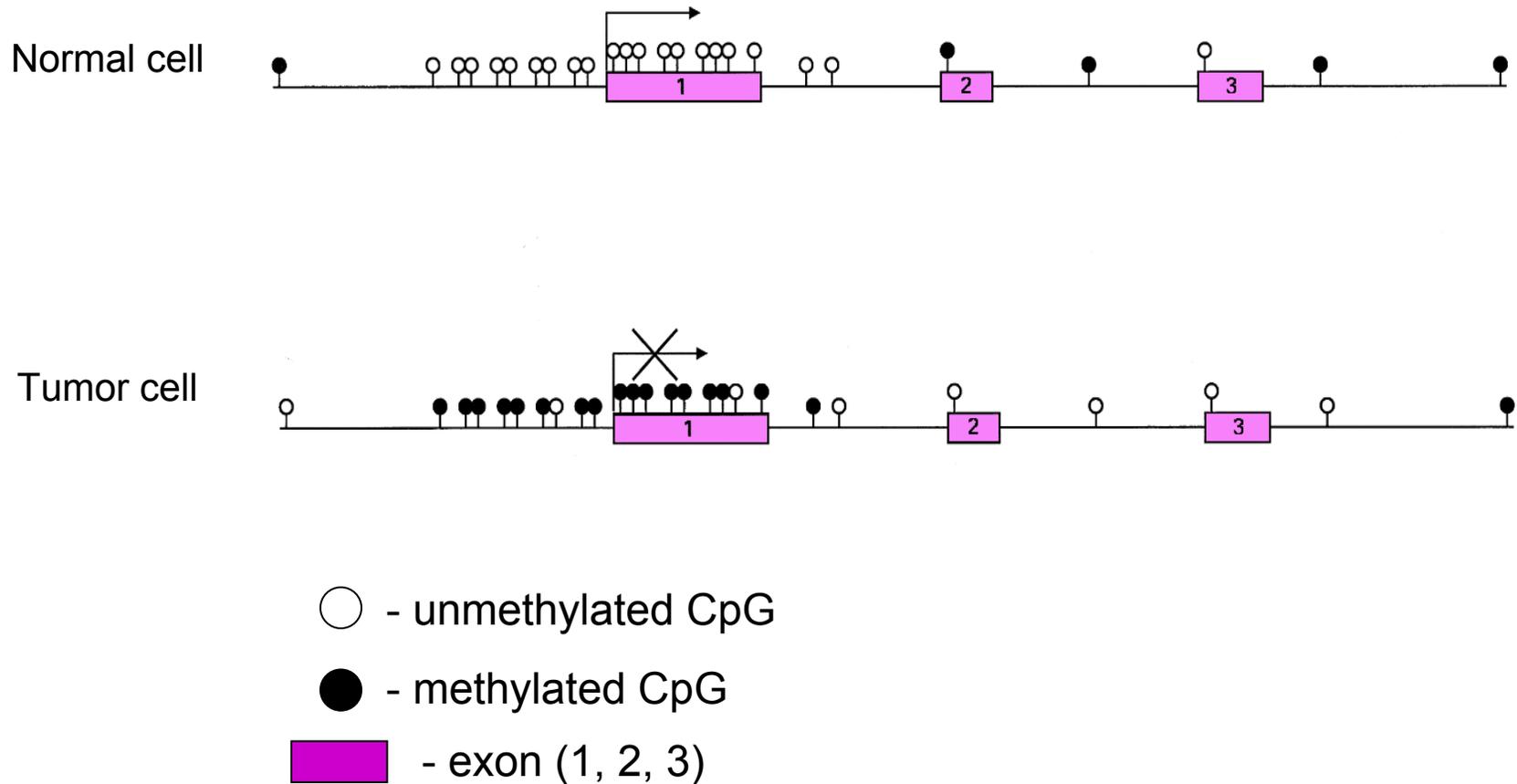
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИИ ХРОМАТИНА.

Гипоацетилирование гистонов гистоновыми деацетилазами (HDAC)

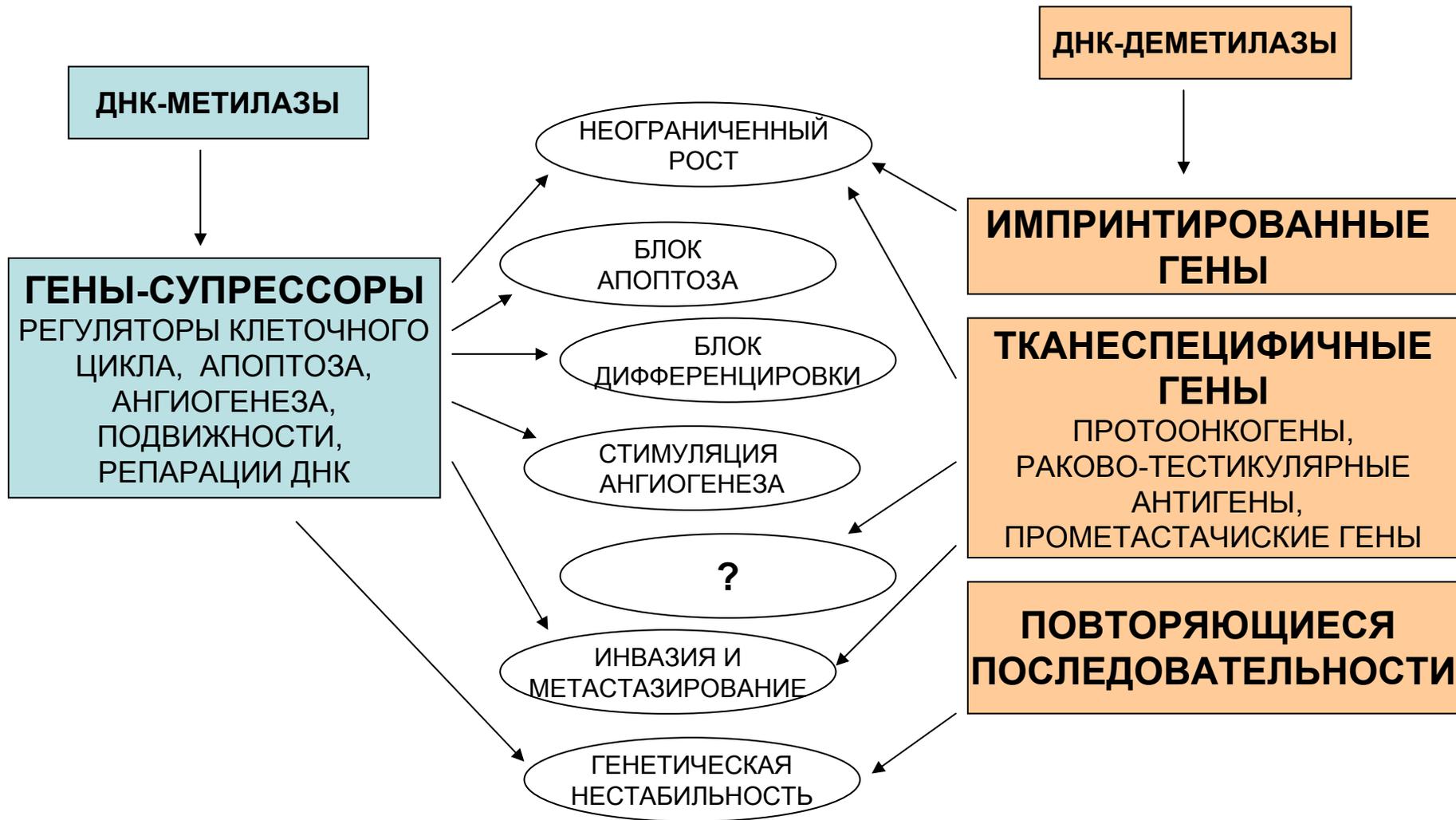
Метилирование лизина 9 в гистоне H3 – направлено против транскрипционных репрессоров хроматина

Метилирование ДНК в CpG островков – за счет взаимодействия с HDAC индуцирует ингибиторную конфигурацию хроматина.

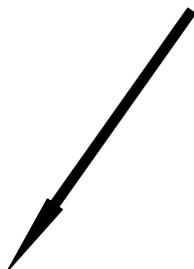
Alteration of DNA methylation in tumors



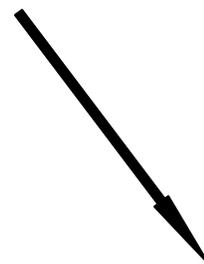
МИШЕНИ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ И ДЕМЕТИЛИРОВАНИЯ В ОПУХОЛЯХ



АБЕРРАНТНОЕ МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК В ОПУХОЛЯХ



Поиск генов, дифференциально метилированных в опухолевых и нормальных клетках



Выявление генов, *гипер-* или *гипометилированных* в опухолях определенного типа с высокой частотой



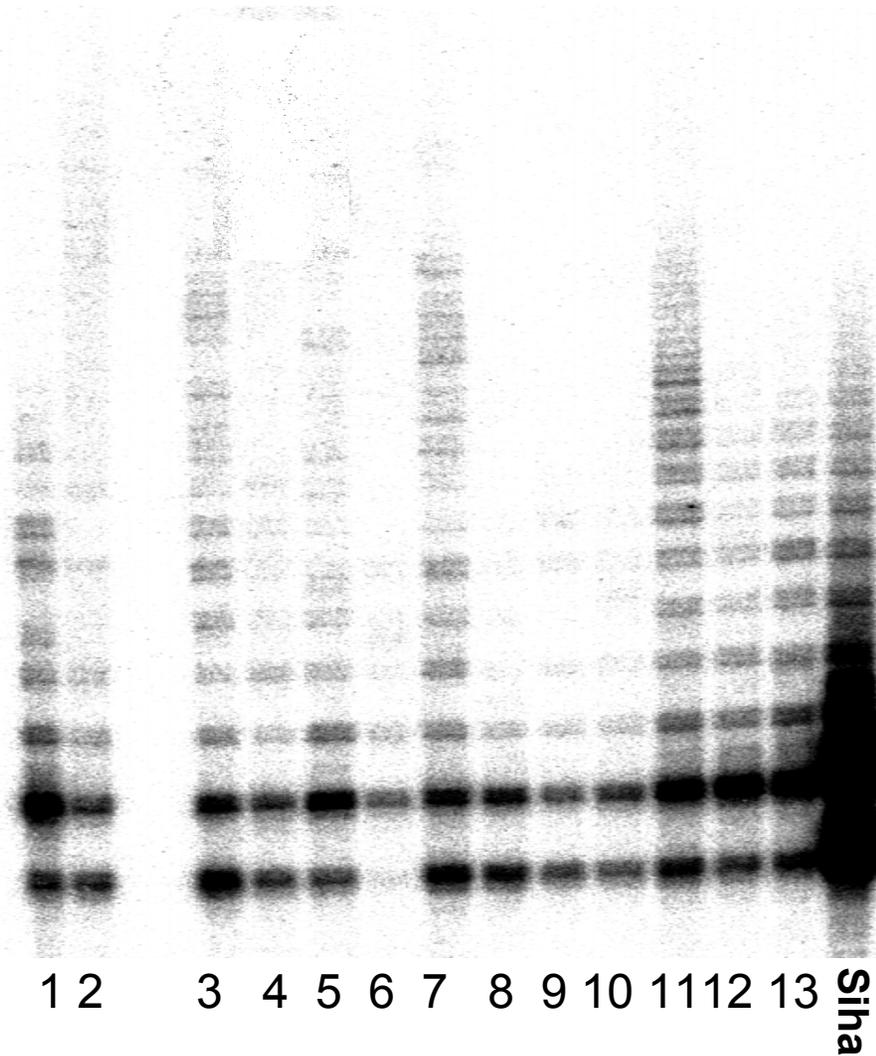
GENE METHYLATION PROFILE OF CERVICAL CANCER

№№	Sample	HPV		CpG-28	RAR-β2	TIMP-2	hMLH	FHIT	TIMP-3	E-cad
1	282	16	CIMP ++							
2	286	16								
3	289	18								
4	275	16								
5	234	18								
6	443	16								
7	276	16								
8	411	16	CIMP +							
9	235	16								
10	432	16								
11	456	18								
12	450	16								
13	250	16								
14	284	16								
15	429	16								
16	439	16								
17	448	16	CIMP -							
18	438	16								
19	444	16								
20	446	66								
21	434	16								
22	445	33								
23	431	16								
24	429	16								
25	290	16								
26	297	16								
27	458	16								
28	426	16								
29	442	33								
Frequency of methylation				9/29 31%	8/29 27%	13/29 45%	7/29 24%	6/29 29%	9/29 31%	12/29 41%

SPLICING

- Мутации в сайтах сплайсинга вызывают aberrantный сплайсинг, который часто выявляется в опухолях.
- Сплайсинг в опухолях включает в себя следующие варианты: использование альтернативных индивидуальных сайтов сплайсинга, вовлечение альтернативных экзонов и альтернативных интронов
- Альтернативный сплайсинг транскрипционных факторов (NRSF, андрогенный рецептор, ядерный коактиватор гормонов AIB1, хроматин ремоделирующий белок)
- Альтернативный сплайсинг трансмембранных белков - два варианта G-белков, FGFR1, РНК-связующий белок РТВ, белки, участвующие в клеточной адгезии - интегрины, CD 44
- Альтернативный сплайсинг секретируемых внеклеточных белков (активатор плазминогена, тенасцин С, фибронектин)

Теломеразная активность в интраэпителиальных неоплазиях шейки матки (CIN)



1. CIN II
2. CIN II, III
3. CIN II, III
4. CIN II
5. CIN III
6. CIN III
7. CIN II
8. myoma
9. myoma
10. normal epithelium
11. cancer "in situ"
12. CIN III
13. CIN II, III

Siha+RNaseA

Группа	мРНК hTERT				Активность теломеразы
	no del	α -del	β -del	$\alpha\beta$ -del	
Нормальный эпителий	50% (14/28)	18% (5/28)	75% (21/28)	14% (4/28)	28% (2/7)
CIN I	89% (8/9)	33% (3/9)	100% (9/9)	67% (6/9)	56% (5/9)
CIN II — CIN III	90% (28/31)	61% (19/31)	97% (30/31)	71% (23/31)	52% (13/25)

1. Биогенез и функции микроРНК: примеры участия в онкогенезе

