

UDC 577.215 + 616-006.6

## Пошук генів – потенційних маркерів агресивності і метастазування раку простати людини

Є. Е. Розенберг<sup>1</sup>, Т. Ю. Прудникова<sup>2</sup>, Г. В. Геращенко<sup>1</sup>,Е. В. Григор'єва<sup>2</sup>, В. І. Кашуба<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Державна ключова лабораторія молекулярної і клітинної біології, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, Україна, 03680

<sup>2</sup>Інститут молекулярної біології і біофізики СВ РАМН  
Вул. Тимакова, 2, Новосибірськ, РФ, 630117

y.e.rozenberg@imbg.org.ua

**Мета.** Дослідження рівня відносної експресії генів, які беруть участь у процесах канцерогенезу, в андроген-незалежній (АН) клітинній лінії PC3 порівняно з андроген-залежною (АЗ) лінією LNCaP для пошуку маркерів агресивності і метастазування раку простати (РП). **Методи.** Для дослідження рівня відносної експресії використано комерційний мікрочип 3T-ПЛР. **Результати.** З 84 вивчених генів 36 змінили рівні експресії у лінії PC3 у порівнянні з LNCaP більш ніж у 4 рази. Відмічено підвищення експресії генів ангіогенезу (PDGF, TGFβ1, THBS1), інвазивності і метастазування (MET, MMP1, PLAU) та анти-апоптичних факторів (BCL2, BCL2L1). Відібрано сім генів (MET, MMP1, PLAU, SERPINE1, EPDR1, TGFβ1, VEGFA) – потенційних маркерів агресивності і метастазування РП. **Висновки.** Найбільших змін при переході до АН типу РП зазнають гени інвазивності і метастазування, контролю клітинного циклу та апоптозу. Відібрані гени можуть бути потенційними маркерами процесів інвазивності і метастазування та потребують подальшого вивчення.

**Ключові слова:** молекулярний маркер, агресивність, метастазування, андроген-незалежний рак простати.

**Вступ.** Рівень простатоспецифічного антигену (ПСА) у сироватці крові широко використовують для діагностування раку простати (РП) у чоловіків [1]. Проте відсоток хибно-позитивних результатів є досить великим. Разом із визначенням ПСА РП гістологічно характеризують за шкалою Глісона. Для багатьох пацієнтів рівень ПСА і шкала Глісона є відносно інформативними показниками у прогнозуванні захворювання. Однак залишається багато випадків, коли прогноз перебігу хвороби є неточним та веде до непотрібних операцій. До того ж існуючі процедури скринінгу пухлин не дозволяють відрізнити латентні пухлини від тих, які з часом будуть прогресувати [2]. ПСА та шкала Глісона не дають змоги диферен-

ціювати андроген-залежні (АЗ) від більш агресивних андроген-незалежних (АН) пухлин, що на даний момент становить значну проблему у прогнозуванні і лікуванні пухлин простати. Метод андрогенної депривації, який призводить до зменшення чоловічих гормонів, застосовують при лікуванні РП. Зниження рівня андрогенів сприяє уповільненню росту пухлин простати. Проте певний відсоток таких пухлин втрачає регуляцію андрогенами і прогресує до типу АН. Таким чином, нині існує потреба у біомаркерах, які б дозволяли диференціювати агресивні пухлини і такі, що не потребують хірургічного втручання, а також АЗ та АН.

Мета цієї роботи полягала у порівняльному вивченні рівня експресії генів у двох клітинних лініях раку простати LNCaP і PC3 для пошуку потенцій-

них маркерів агресивності і метастазування. Для вивчення рівня експресії генів, асоційованих із розвитком пухлин, ми обрали дві клітинні лінії, які є моделями агресивного АН РП (РС3) та неагресивного АЗ РП (LNCaP) [3].

**Матеріали і методи.** *Культури клітин.* Клітинні лінії раку простати людини LNCaP і РС3 отримано з Каролінського Інституту (Швеція). Обидві клітинні лінії культивували в середовищі RPMI з додаванням 2 мМ L-глутаміну, 100 од. пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину та 10 % (об'єм до об'єму) ембріональної бичачої сироватки за температури 37 °С у середовищі 5 %-го CO<sub>2</sub>. Клітини збирали для аналізу з використанням трипсину/ЕДТА.

*Виділення тотальної РНК* з клітин проводили за допомогою набору RNAqueous Micro Kit («Applied Biosystems», США). Далі здійснювали обробку ДНК-азою («Fermentas», Литва) згідно з протоколом виробника. Концентрацію отриманої РНК вимірювали за використання набору Quant-iT Assay Kit («Invitrogen», США). Якість отриманої РНК перевіряли електрофорезом.

*Синтез першого ланцюга кДНК.* кДНК синтезували з 1–2 мкг тотальної РНК, застосовуючи набір First Strand cDNA Synthesis kit та оліго(dT)-праймери («Fermentas») відповідно до протоколу виробника.

*Визначення відносного рівня експресії генів.* Щоб встановити відносний рівень експресії мРНК у досліджуваних клітинних лініях використано експресійний мікрочип Cancer PathFinder RT2 Profiler PCR array PAHS-033 («SABioscience», США), SYBR Green PCR Master Mix («Fermentas»). Кількісну ПЛР у реальному часі (к-ЗТ-ПЛР) проводили на iCycler iQ5 Multicolor Detection System («Bio-Rad», США) згідно з протоколом виробника. Мікрочип містив 84 гени, пов'язані з клітинною проліферацією, ангиогенезом, клітинним циклом, апоптозом і метастазуванням.

Одержані дані перевіряли в програмі Excel-based PCR Array Data Analysis Software («SABioscience»). З отриманих значень порогових циклів розраховували зміни в експресії за методом  $\Delta\Delta C_t$ . Кожний пороговий цикл ампліфікації ( $C_t$ ) нормалізували за середнім пороговим циклом  $C_t$  п'яти генів «домашнього господарства» (*B2M*, *HPRT1*, *RPL13A*, *GAPDH*, *ACTB*).

*Статистичну обробку* результатів проводили за методикою, описаною раніше [4, 5].

**Результати і обговорення.** Аналіз отриманих величин відносної експресії 84 генів у клітинних лініях РП показав, що 36 генів змінили свої рівні експресії у клітинній лінії РС3 порівняно з LNCaP більш ніж у 4 рази – 10 генів набули підвищеного рівня експресії, 26 – зниженого. Значення відносної експресії представлені в табл. 1.

З-поміж 14 досліджених генів контролю клітинного циклу і репарації ДНК два гени підвищують експресію (*ATM*, *CDKN2A*), чотири – знижують (*BRCA1*, *CDC25A*, *S100A4*, *TP53*). Ген *ATM* кодує серин-протеїнову кіназу ATM – мутації в ньому сприяють збільшенню ризику розвитку РП [6]. Ген *CDKN2A* кодує циклін-залежний кіназний інгібітор 2A, який є геном – супресором росту пухлин. [7]. Ген *BRCA1* кодує білок схильності до утворення пухлин молочної залози 1-го типу. Делеції або мутації в цьому гені асоційовані з вищим ступенем РП за шкалою Глісона ( $\geq 8$ ) [8]. Ген *CDC25A* кодує подвійно специфічну фосфатазу. За деякими даними, рівень білкового продукту цього гена також значно підвищений у клітинних лініях РП, однак на рівні мРНК відмінностей не знайдено [9]. Ген *S100A4* кодує кальцій-зв'язувальний білок, зростання експресії якого асоційоване із збільшенням агресивності і метастазування при РП [10]. Нами показано зниження експресії гена *S100A4*, що, можливо, відображає відмінності саме між двома клітинними лініями РП. Ген *TP53* кодує білок p53 і здатний інгібувати ріст новоутворень. Його експресія знижена у багатьох видах пухлин [11]. Отже, у цій групі генів спостерігаємо підвищення експресії гена *ATM*, що сприяє росту пухлин простати, а також зниження експресії генів, які пригнічують ріст новоутворень (*BRCA1*, *TP53*). Це свідчить про можливий однаковий рівень експресії цих генів у клітинній лінії РС3 і пухлинах простати, а також про агресивний характер зазначеної лінії.

Серед 14 проаналізованих генів апоптозу і клітинного старіння шість підвищують експресію (*BAX*, *BCL2*, *BCL2L1*, *CASP8*, *TNFRSF10B*, *TNFRSF1A*). З-поміж них два анти-апоптичних гени (*BCL2*, *BCL2L1*) і чотири про-апоптичних (*BAX*, *CASP8*, *TNFRSF10B*, *TNFRSF1A*). Експресія гена *BCL2* підвищена в РП і сприяє переходу останнього до АН-

Таблиця 1

Гени зі змінами експресії більше, ніж у чотири рази, в клітинній лінії PC3 порівняно з клітинною лінією LNCaP

Сигнальний шлях	Ген	Підвищення рівня експресії, к. р.	Зниження рівня експресії, к. р.	Сигнальний шлях	Ген	Підвищення рівня експресії, к. р.	Зниження рівня експресії, к. р.
Контроль клітинного циклу і репарація ДНК	<i>ATM</i>	8,5980	–	Адгезія	<i>ITGA1</i>	4,2993	–
	<i>CDKN2A</i>	7,0323	–		<i>ITGA3</i>	13,1228	–
	<i>BRCA1</i>	–	4,8770		<i>ITGAV</i>	4,1526	–
	<i>CDC25A</i>	–	4,3050		<i>MTSS1</i>	25,1764	–
	<i>S100A4</i>	–	9,6867		<i>ITGB1</i>	11,4240	–
	<i>TP53</i>	–	13,4171		<i>MCAM</i>	–	14,0841
Апоптоз і клітинне старіння	<i>BAX</i>	6,7458	–	Ангіогенез	<i>EPDR1</i>	6,6993	–
	<i>BCL2</i>	38,8525	–		<i>PDGFB</i>	4,5127	–
	<i>BCL2L1</i>	13,4917	–		<i>TGFB1</i>	11,5035	–
	<i>CASP8</i>	4,6076	–		<i>THBS1</i>	6,4264	–
	<i>TNFRSF10B</i>	5,2927	–		<i>VEGFA</i>	4,0390	–
Сигнальна трансдукція і транскрипційні фактори	<i>TNFRSF1A</i>	4,1239	–	Інвазивність і метастазування	<i>MET</i>	9,6732	–
	<i>PIK3R1</i>	12,6758	–		<i>MMP1</i>	28,7203	–
	<i>ETS2</i>	–	4,8099		<i>MTA2</i>	7,4333	–
	<i>FOS</i>	–	68,8794		<i>NME4</i>	5,7120	–
	<i>NFKBIA</i>	–	5,2634		<i>PLAU</i>	28,3249	–
	<i>SNGG</i>	–	11,5996		<i>SERPINB5</i>	4,7371	–
	–	–	–		<i>SERPINE1</i>	6,0377	–
	–	–	–		<i>S100A4</i>	–	9,6867
	–	–	–		<i>TWIST1</i>	–	4,6460

Примітка. к. р. – кількість разів.

типу [12]. Експресія гена *BCL2L1* у пухлинах простати також підвищена і спричиняє резистентність до ліків [13]. Ген *BAX* кодує асоційований з *BCL2* білок X, який виконує про-апоптичні функції [14]. Поліморфізм гена *CASP8* пов'язують з переходом пухлин простати до АН стану [15]. Ген *TNFRSF10B* кодує рецептор факторів некрозу пухлин і є членом родини 10В. Ген *TNFRSF1A* також кодує рецептор факторів некрозу пухлин і входить до родини 1А. Обидва цих рецептори можуть зв'язуватися з каспазою 8 та запускати апоптоз [16]. У групі генів апо-

птозу і клітинного старіння можна відмітити значне підвищення експресії анти-апоптичних генів на фоні меншого зростання про-апоптичних. Це може відображати один із механізмів набуття пухлинами агресивного стану.

Один з 12 генів сигнальної трансдукції і транскрипційних факторів підвищує експресію (*PIK3R1*) і чотири – знижують (*ETS2*, *FOS*, *NFKBIA*, *SNGG*). Ген *PIK3R1* кодує регуляторну субодиницю альфа-фосфоінозитид-3-кінази. Експресія цього гена підвищена у злоякісних пухлинах простати і потрібна для

активації рецептора андрогенів [17]. Ген *ETS2* кодує гомолог пташиного онкогену E26 вірусу еритробластозу *v-ets* і входить до родини транскрипційних факторів ETS. Встановлено зниження експресії цього гена в локалізованих пухлинах простати, що можна пояснити «змаганням» за транскрипційну активацію з геном *ERG*, промоторна ділянка якого знаходиться в тій же області і транскрибується у протилежний бік [18]. Падіння експресії гена *FOS* свідчить про інгібування апоптозу [19]. Продукт гена *NFKBIA* є інгібітором сигнального шляху NF-κB і демонструє зниження експресії при розвиненому РП [20], що, ймовірно, засвідчує активацію цього шляху. Ген *SNCG* має знижену експресію у клітинній лінії PC3, як і в АН пухлинах простати [21].

Таким чином, у групі генів трансдукції і транскрипційних факторів відбувається зниження експресії генів, які кодують транскрипційні фактори (*ETS2*, *FOS*), а також гена *NFKBIA*, важливих для пригнічення росту пухлин, та підвищення експресії гена – активатора рецептора андрогенів. Це може свідчити про активацію шляху NF-κB та інгібування процесів апоптозу у клітинній лінії PC3.

Шість з-поміж 13 генів адгезії підвищують експресію (*ITGA1*, *ITGA3*, *ITGB1*, *ITGAV*, *EPDR1*, *MTSS1*) і один – знижує (*MCAM*). Ген *ITGA1* кодує субодиницю альфа-1-інтегрину. На клітинній лінії карциноми яєчників A2780/C10 та мишачих моделях показано підвищення експресії цього гена та його здатність посилювати ангиогенез і проліферацію клітин [22]. Ген *ITGA3* кодує субодиницю альфа-3-інтегрину, яка експресується клітинною лінією PC3 [23], а ген *ITGB1* – субодиницю бета-1-інтегрину. Встановлено, що його експресія підвищена в клітинній лінії PC3 як результат дії транскрипційних факторів при РП [24]. Ген *ITGAV* кодує субодиницю альфа-рецептора вітронектину. На ракових стовбурових клітинах простати виявлено здатність вітронектину стимулювати ріст пухлин за рахунок їхньої диференціації [25]. Ген *EPDR1* кодує епендимін-асоційований білок ссавців 1. Його ідентифіковано як надлишково експресований у клітинній лінії раку кишечнику [26]. Втім його роль у пухлинах простати вивчено недостатньо. Ген *MTSS1* кодує білок – супресор метастазів 1. На агресивних метастазуючих клітинних лініях DU145 і PC3 визначено

його здатність інгібувати ріст і міграцію клітин [27]. Ген *MCAM* кодує глікопротеїн клітинної адгезії MUC18. Збільшення його експресії в агресивних метастазуючих клітинних лініях раку простати і меланоми дають підставу припустити його участь у розвитку агресивних пухлин [28]. Проте в нашому дослідженні експресія цього гена при порівнянні двох клітинних ліній РП виявилася зниженою, що потребує подальшого вивчення.

У групі генів адгезії спостерігаємо підвищення експресії генів, які кодують інтегрини. Їхня експресія є не лише одним з характерних показників цієї клітинної лінії, але також може свідчити про активацію процесів проліферації і диференціації, які ними контролюються.

Серед 16 досліджених генів ангиогенезу чотири підвищують експресію (*PDGF*, *TGFB1*, *THBS1*, *VEGFA*). Ген *PDGF* кодує субодиницю В тромбоцитарного фактора росту. Він є маловивченим на відміну від рецептора цього ліганду, для якого знайдено кореляцію між підвищенням експресії і розвитком пухлин молочної залози [29]. Ген *TGFB1* кодує трансформуючий фактор росту бета 1. Роль цього гена в канцерогенезі є досить неоднозначною: існують дані про його інгібувальний вплив у клітинній лінії PC3 [30] та, навпаки, про посилення росту клітин PC3 [31]. Ген *THBS1* кодує тромбоспондин 1, який є інгібітором ангиогенезу, проте стимулює ріст клітин андроген-незалежної клітинної лінії PC3. Його експресія підвищена в PC3 [32], що підтверджується нашими даними. Ген *VEGFA* кодує судинний ендотеліальний фактор росту А. Трансформуючий фактор росту бета 1 посилює експресію *VEGFA*, що призводить до підвищення міграції клітин раку простати [33]. У групі генів ангиогенезу спостерігається збільшення експресії деяких генів, що потребує перевірки на зразках агресивних пухлин простати.

Сім з 16 генів інвазивності і метастазування підвищують експресію (*MET*, *MMP1*, *MTA2*, *NME4*, *PLAU*, *SERPINB5*, *SERPINE1*), два – знижують (*S100A4*, *TWIST1*). Ген *MET* кодує протоонкоген *met*. Зростання експресії цього гена пов'язують із розвитком АН типу РП [34]. Ген *MMP1* кодує матричну металопептидазу 1. Її експресія спричиняє посилення інвазивності раку шлунка [35]. Ген *MTA2*



кодує асоційований з метастазами білок MTA2, який на сьогодні є вивченим недостатньо. Хоча існують дані, що його підвищена експресія викликає естроген-незалежний ріст пухлин молочної залози [36]. Ген *NME4* кодує мітохондріальну кіназу нуклеозидфосфату. Підвищену експресію цього гена знайдено в зразках раку шлунка та товстого кишечника [37]. Гени *PLAU* і *SERPINE1* кодують активатор плазміногену урокіназного типу та його інгібітор. Як відомо, в агресивних клітинних лініях РП (DU145 і PC3) експресія *SERPINE1* знижується, однак підвищується експресія *PLAU* порівняно з нормальною лінією клітин PrEC та менш агресивною LNCaP [38], що ми, ймовірно, і спостерігаємо. Ген *SERPINE5* кодує інгібітор пептидази 5, який вважають здатним пригнічувати ріст пухлин молочної залози та простати через його делеції у цих видах раку [39]. Ген *TWIST1* кодує «твіст»-асоційований білок 1, що слугує одним з головних білків епітеліально-мезенхімального переходу та експресія якого підвищена в метастазуючому РП [40]. Зниження експресії цього гена в клітинній лінії PC3 відносно LNCaP в даному експерименті, можливо, відображає відмінності саме між двома клітинними лініями РП. Незначне зростання експресії *SERPINE1* і *SERPINE5* порівняно із суттєвим підвищенням експресії *PLAU*, а також збільшення експресії генів *MET* і *MMP1* дають підставу припустити посилення інвазивності клітинної лінії PC3.

Агресивні АН пухлини відрізняються від АЗ за ступенем інвазивності і метастазування, тому для пошуку потенційних біомаркерів нас цікавили саме гени, пов'язані з підвищенням агресивності, інвазивності і метастазування. Тому серед усіх генів зі зміненим рівнем експресії ми вибрали 14, які представлені в табл. 2. Для цих генів ми перевірили за літературою наявність секреції білка для пошуку можливих біомаркерів на рівні білка, що дає змогу визначити їх у біологічних рідинах. З них два гени (*BCL2*, *BCL2L1*) з групи апоптозу та клітинного старіння, два (*PIK3R1*, *FOS*) – з групи сигнальної трансдукції і транскрипційних факторів, два (*ITGA3*, *EPDR1*) – адгезії, два (*TGFBI*, *VEGFA*) – ангиогенезу, шість (*MET*, *MMP1*, *MTA2*, *NME4*, *PLAU*, *SERPINE1*) – інвазивності і метастазування. Сім генів мають білки, що секретуються, і можуть в подальшому роз-

Таблиця 2

Гени – потенційні біомаркери агресивності і метастазування

Білок секретується		Білок не секретується	
Ген	Підвищення рівня експресії, к. р.	Ген	Зниження рівня експресії, к. р.
<i>EPDR1</i>	6,6993	<i>BCL2</i>	35,8525
<i>MET</i>	9,6732	<i>BCL2L1</i>	13,4917
<i>MMP1</i>	28,7203	<i>FOS</i>	68,8794
<i>PLAU</i>	28,3249	<i>MTA2</i>	7,4333
<i>TGFBI</i>	11,5035	<i>NME4</i>	5,7120
<i>SERPINE1</i>	6,0377	<i>PIK3R1</i>	12,6758
<i>VEGFA</i>	4,0390	<i>ITGA3</i>	13,1228

Примітка. к. р. – кількість разів.

глядатися як маркери на рівні білка (*MET*, *MMP1*, *PLAU*, *SERPINE1*, *EPDR1*, *TGFBI*, *VEGFA*).

**Висновки.** Порівняння експресії 84 генів у клітинній лінії PC3 відносно лінії LNCaP показало зміни в експресії 36 генів. Серед генів контролю клітинного циклу і репарації ДНК, а також генів сигнальної трансдукції і транскрипційних факторів зафіксовано зниження експресії генів, здатних інгібувати ріст пухлин (*TP53*, *BRCA1*, *FOS*, *NFRBIA*, *SNCG*). Серед генів, які відповідають за апоптоз і клітинне старіння виявлено значне підвищення експресії анти-апоптичних генів (*BCL2*, *BCL2L1*). Крім того, спостерігається підвищення експресії про-апоптичних генів (*BAX*, *CASP8*), що може свідчити про переважаючі процеси інгібування апоптозу в клітинах PC3. Також відмічено підвищення експресії генів ангиогенезу (*PDGF*, *TGFBI*, *THBS1*, *VEGFA*) та інвазивності і метастазування (*MET*, *MTA2*, *MMP1*, *PLAU*, *NME4*), що підтверджує підвищення агресивності клітинної лінії PC3. Відібрано 14 генів, серед яких два (*BCL2*, *BCL2L1*) – з групи апоптозу і клітинного старіння, два (*PIK3R1*, *FOS*) – з групи сигнальної трансдукції і транскрипційних факторів, два (*ITGA3*, *EPDR1*) – адгезії, два (*TGFBI*, *VEGFA*) – ангиогенезу, шість (*MET*, *MMP1*, *MTA2*, *NME4*, *PLAU*, *SERPINE1*) – інвазивності і метастазування. Сім генів мають білки, що секретуються, і можуть в подальшому розглядатися як маркери агресивності і метастазування на рівні білка у біологічних рідинах (*MET*, *MMP1*, *PLAU*, *SERPINE1*, *EPDR1*, *TGFBI*, *VEGFA*).

Робота підтримана грантом Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації № 0111U005988.

E. E. Rosenberg<sup>1</sup>, T. Y. Prudnikova<sup>2</sup>, G. V. Gerashchenko<sup>1</sup>, E. V. Grigorieva<sup>2</sup>, V. I. Kashuba<sup>1</sup>

Search for genes – potential markers of aggressiveness and metastasis for human prostate cancer

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Molecular and Cellular Biology, Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine 150, Akademika Zabolotnoho Str., Kyiv, Ukraine, 03680

<sup>2</sup>Institute of Molecular Biology and Biophysics, SD RAMS 2, Timakova Str., Novosibirsk, Russian Federation, 630117

Summary

**Aim.** An investigation of the expression levels of 84 cancer-related genes, involved in the main molecular mechanisms of carcinogenesis, in androgen-independent (AI) cell line PC3 compared to androgen-dependent (AD) cell line LNCaP to find markers of the prostate cancer (PC) aggressiveness and metastasis. **Methods.** Commercial Q-PCR array was used to determine the genes expression levels. **Results.** Thirty six genes from the total 84 examined changed expression levels in PC3 cell line compared to LNCaP cell line by 4-fold or more times. Increased expression of the genes of angiogenesis (PDGF, TGFB1, THBS1), invasiveness and metastasis (MET, MMP1, PLAU) and anti-apoptotic factors (BCL2, BCL2L1) were detected. Seven genes (MET, MMP1, PLAU, SERPINE1, EPDR1, TGFB1, VEGFA) were selected as potential markers of the PC aggressiveness and metastasis. **Conclusions.** The expressions of the genes of invasiveness and metastasis, cell cycle control and apoptosis undergo the greatest changes during transition from AD to AI type of the prostate cancer. The selected genes could serve as potential markers of invasiveness, metastasis and require further investigation.

**Keywords:** molecular marker, aggressiveness, metastasis, androgen-independent prostate cancer.

Е. Э. Розенберг, Т. Ю. Прудникова, А. В. Геращенко, Э. В. Григорьева, В. И. Кашиба

Поиск генов – потенциальных маркеров агрессивности и метастазирования рака простаты человека

Резюме

**Цель.** Исследование уровня относительной экспрессии генов, вовлеченных в основные молекулярные механизмы канцерогенеза, в андроген-независимой (АН) клеточной линии PC3 по сравнению с андроген-зависимой (АЗ) линией LNCaP для поиска маркеров агрессивности и метастазирования рака простаты (РП). **Методы.** Для определения уровня относительной экспрессии использовали коммерческий ОТ-ПЦР микрочип. **Результаты.** Из 84 генов 36 изменили свою экспрессию в линии PC3 по сравнению с линией LNCaP больше, чем в 4 раза. Отмечено повышение экспрессии генов ангиогенеза (PDGF, TGFB1, THBS1), инвазивности и метастазирования (MET, MMP1, PLAU), анти-апоптотических факторов (BCL2, BCL2L1). Определены семь генов (MET, MMP1, PLAU, SERPINE1, EPDR1, TGFB1, VEGFA) – потенциальных маркеров агрессивности и метастазирования РП. **Выводы.** Наибольшим изменениям при переходе к АН типу РП подвергаются гены инва-

зивности и метастазирования, контроля клеточного цикла и апоптоза, которые могут служить потенциальными маркерами инвазивности и метастазирования и требуют дальнейшего исследования.

**Ключевые слова:** молекулярный маркер, агрессивность, метастазирование, андроген-независимый рак простаты.

REFERENCES

- Hogle W. Prostate cancer screening, risk, prevention and prognosis // Prostate Cancer / Ed. W. Hogle.–Pittsburgh: Oncology Nursing Society, 2009.–P. 19–33.
- Gumulec J., Masarik M., Krizkova S., Hlavna M., Babula P., Hrabec R., Rovny A., Masarikova M., Sochor J., Adam V., Eckschlager T., Kizek R. Evaluation of alpha-methylacyl-CoA race-mase, metallothionein and prostate specific antigen as prostate cancer prognostic markers // Neoplasma.–2012.–**59**, N 2.–P. 191–201.
- Tai S., Sun Y., Squires J. M., Zhang H., Oh W. K., Liang C. Z., Huang J. PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma // Prostate.–2011.–**71**, N 15.–P. 1668–1679.
- Geraschenko G. V., Bogatyrova O. O., Rudenko E. E., Kondratov A. G., Gordiyuk V. V., Zgonnyk Y. M., Voizianov O. F., Pavlova T. V., Zabarovsky E. R., Rynditch A. V., Kashuba V. I. Genetic and epigenetic changes of NKIRAS1 gene in human renal cell carcinomas // Exp. Oncol.–2010.–**32**, N 2.–P. 71–75.
- Rudenko E. E., Geraschenko G. V., Lapska Y. V., Bogatyrova O. O., Voizianov S. O., Zgonnyk Y. M., Kashuba V. I. Genetic and epigenetic changes of GPX1 and GPX3 in human clear-cell renal cell carcinoma // Biopolym. Cell.–2013.–**29**, N 5.–P. 395–401.
- Chiu Y. T., Liu J., Tang K., Wong Y. C., Khanna K. K., Ling M. T. Inactivation of ATM/ATR DNA damage checkpoint promotes androgen induced chromosomal instability in prostate epithelial cells // PLoS One.–2012.–**7**, N 12.–e 51108.
- Bhatia B., Multani A. S., Patrawala L., Chen X., Calhoun-Davis T., Zhou J., Schroeder L., Schneider-Broussard R., Shen J., Pathak S., Chang S., Tang D. G. Evidence that senescent human prostate epithelial cells enhance tumorigenicity: cell fusion as a potential mechanism and inhibition by p16INK4a and hTERT // Int. J. Cancer.–2008.–**122**, N 7.–P.1483–1495.
- Castro E., Goh C., Olmos D., Saunders E., Leongamornlert D., Tymrakiewicz M., Mahmud N. et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer // J. Clin. Oncol.–2013.–**31**, N 14.–P. 1748–1757.
- Chiu Y. T., Han H. Y., Leung S. C., Yuen H. F., Chau C. W., Guo Z., Qiu Y., Chan K. W., Wang X., Wong Y. C., Ling M. T. CDC 25A functions as a novel Ar corepressor in prostate cancer cells // J. Mol. Biol.–2009.–**385**, N 2.–P. 446–456.
- Kwon Y. W., Chang I. H., Kim K. D., Kim Y. S., Myung S. C., Kim M. K., Kim T. H. Significance of S100A2 and S100A4 expression in the progression of prostate adenocarcinoma // Korean J. Urol.–2010.–**51**, N 7.–P. 456–462.
- Vogelstein B., Lane D., Levine A. J. Surfing the p53 network // Nature.–2000.–**408**, N 6810.–P. 307–310.
- Lin Y., Fukuchi J., Hiipakka R. A., Kokontis J. M., Xiang J. Up-regulation of Bcl-2 is required for the progression of prostate cancer cells from an androgen-dependent to an androgen-independent growth stage // Cell Res.–2007.–**17**, N 6.–P. 531–536.
- Huerta-Yepez S., Baritaki S., Baay-Guzman G., Hernandez-Luna M. A., Hernandez-Cueto A., Vega M. I., Bonavida B. Contribution of either YY1 or BclXL-induced inhibition by the NO-do-

- nor DETANONOate in the reversal of drug resistance, both *in vitro* and *in vivo*. YY1 and BclXL are overexpressed in prostate cancer // *Nitric Oxide*.–2013.–**29**.–P. 17–24.
14. Tang Y. Q., Jaganath I., Manikam R., Sekaran S. D. Phyllanthus suppresses prostate cancer cell, PC-3, proliferation and induces apoptosis through multiple signalling pathways (MAPKs, PI3K/Akt, NFκB, and hypoxia) // *Evid. Based Complement Alternat. Med.*–2013.–**2013**.–P. 609581.
  15. Kesarwani P., Mandal R. K., Maheshwari R., Mittal R. D. Influence of caspases 8 and 9 gene promoter polymorphism on prostate cancer susceptibility and early development of hormone refractory prostate cancer // *BJU Int.*–2011.–**107**, N 3.–P. 471–476.
  16. Long Q., Johnson B. A., Osunkoya A. O., Lai Y. H., Zhou W., Abramovitz M., Xia M., Bouzyk M. B., Nam R. K., Sugar L., Stanimirovic A., Williams D. J., Leyland-Jones B. R., Seth A. K., Petros J. A., Moreno C. S. Protein-coding and microRNA biomarkers of recurrence of prostate cancer following radical prostatectomy // *Am. J. Pathol.*–2011.–**179**, N 1.–P. 46–54.
  17. Zhu Q., Youn H., Tang J., Tawfik O., Dennis K., Terranova P. F., Du J., Raynal P., Thrasher J. B., Li B. Phosphoinositide 3-OH kinase p85alpha and p110beta are essential for androgen receptor transactivation and tumor progression in prostate cancers // *Oncogene*.–2008.–**27**, N 33.–P. 4569–4579.
  18. Rostad K., Mannelqvist M., Halvorsen O. J., Oyan A. M., Bo T. H., Stordrange L., Olsen S., Haukaas S. A., Lin B., Hood L., Jonassen I., Akslen L. A., Kalland K. H. ERG upregulation and related ETS transcription factors in prostate cancer // *Int. J. Oncol.*–2007.–**30**, N 1.–P. 19–32.
  19. DU L., Wu W. A mimic of phosphorylated prolactin induces apoptosis by activating AP-1 and upregulating p21/waf1 in human prostate cancer PC3 cells // *Oncol. Lett.*–2012.–**4**, N 5.–P. 1064–1068.
  20. Miller S. C., Huang R., Sakamuru S., Shukla S. J., Attene-Ramos M. S., Shinn P., Van Leer D., Leister W., Austin C. P., Xia M. Identification of known drugs that act as inhibitors of NF-kappaB signaling and their mechanism of action // *Biochem. Pharmacol.*–2010.–**79**, N 9.–P. 1272–1280.
  21. Chen J., Jiao L., Xu C., Yu Y., Zhang Z., Chang Z., Deng Z., Sun Y. Neural protein gamma-synuclein interacting with androgen receptor promotes human prostate cancer progression // *BMC Cancer*.–2012.–**12**.–P. 593.
  22. Varma R. R., Hector S. M., Clark K., Greco W. R., Hawthorn L., Pendyala L. Gene expression profiling of a clonal isolate of oxaliplatin-resistant ovarian carcinoma cell line A2780/C10 // *Oncol. Rep.*–2005.–**14**, N 4.–P. 925–932.
  23. Dedhar S., Gray V., Robertson K., Saulnier R. Identification and characterization of a novel high-molecular-weight form of the integrin alpha 3 subunit // *Exp. Cell Res.*–1992.–**203**, N 1.–P. 270–275.
  24. Tozawa K. Activation of nuclear factor-kappa B and control of the expression of cell adhesion molecules in human prostate cancer cells // *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi*.–1996.–**87**, N 9.–P. 1082–1091.
  25. Hurt E. M., Chan K., Serrat M. A., Thomas S. B., Veenstra T. D., Farrar W. L. Identification of vitronectin as an extrinsic inducer of cancer stem cell differentiation and tumor formation // *Stem Cells*.–2010.–**28**, N 3.–P. 390–398.
  26. Nimmrich I., Erdmann S., Melchers U., Chtarbova S., Finke U., Hentsch S., Hoffmann I., Oertel M., Hoffmann W., Muller O. The novel ependymin related gene UCC1 is highly expressed in colorectal tumor cells // *Cancer Lett.*–2001.–**165**, N 1.–P. 71–79.
  27. Mustafa N., Martin T. A., Jiang W. G. Metastasis tumour suppressor-1 and the aggressiveness of prostate cancer cells // *Exp. Ther. Med.*–2011.–**2**, N 1.–P. 157–162.
  28. Wu G. J., Varma V. A., Wu M. W., Wang S. W., Qu P., Yang H., Petros J. A., Lim S. D., Amin M. B. Expression of a human cell adhesion molecule, MUC18, in prostate cancer cell lines and tissues // *Prostate*.–2001.–**48**, N 4.–P. 305–315.
  29. Paulsson J., Sjoblom T., Micke P., Ponten F., Landberg G., Heldin C. H., Bergh J., Brennan D. J., Jirstrom K., Ostman A. Prognostic significance of stromal platelet-derived growth factor beta-receptor expression in human breast cancer // *Am. J. Pathol.*–2009.–**175**, N 1.–P. 334–341.
  30. Al-Azayzih A., Gao F., Goc A., Somanath P. R. TGFβ1 induces apoptosis in invasive prostate cancer and bladder cancer cells via Akt-independent, p38 MAPK and JNK/SAPK-mediated activation of caspases // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*–2012.–**427**, N 1.–P. 165–170.
  31. Amatangelo M. D., Goodyear S., Varma D., Stearns M. E. c-Myc expression and MEK1-induced Erk2 nuclear localization are required for TGF-beta induced epithelial-mesenchymal transition and invasion in prostate cancer // *Carcinogenesis*.–2012.–**33**, N 10.–P. 1965–1975.
  32. Firlej V., Mathieu J. R., Gilbert C., Lemonnier L., Nakhle J., Gallou-Kabani C., Guarmit B., Morin A., Prevarskaya N., Delongchamps N. B., Cabon F. Thrombospondin-1 triggers cell migration and development of advanced prostate tumors // *Cancer Res.*–2011.–**71**, N 24.–P. 7649–7658.
  33. Darrington E., Zhong M., Vo B. H., Khan S. A. Vascular endothelial growth factor A, secreted in response to transforming growth factor-β1 under hypoxic conditions, induces autocrine effects on migration of prostate cancer cells // *Asian J. Androl.*–2012.–**14**, N 5.–P. 745–751.
  34. Maeda A., Nakashiro K., Hara S., Sasaki T., Miwa Y., Tanji N., Yokoyama M., Hamakawa H., Oyasu R. Inactivation of AR activates HGF/c-Met system in human prostatic carcinoma cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*–2006.–**347**, N 4.–P. 1158–1165.
  35. Bao W., Fu H. J., Jia L. T., Zhang Y., Li W., Jin B. Q., Yao L. B., Chen S. Y., Yang A. G. HER2-mediated upregulation of MMP-1 is involved in gastric cancer cell invasion // *Arch. Biochem. Biophys.*–2010.–**499**, N 1–2.–P. 49–55.
  36. Cui Y., Niu A., Pestell R., Kumar R., Curran E. M., Liu Y., Fuqua S. A. Metastasis-associated protein 2 is a repressor of estrogen receptor alpha whose overexpression leads to estrogen-independent growth of human breast cancer cells // *Mol. Endocrinol.*–2006.–**20**, N 9.–P. 2020–2035.
  37. Seifert M., Welter C., Mehraein Y., Seitz G. Expression of the nm23 homologues nm23-H4, nm23-H6, and nm23-H7 in human gastric and colon cancer // *J. Pathol.*–2005.–**205**, N 5.–P. 623–632.
  38. Hagelgans A., Menschikowski M., Fuessel S., Nacke B., Arneth B. M., Wirth M. P., Siegert G. Deregulated expression of urokinase and its inhibitor type 1 in prostate cancer cells: role of epigenetic mechanisms // *Exp. Mol. Pathol.*–2013.–**94**, N 3.–P. 458–465.
  39. Teoh S. S., Whisstock J. C., Bird P. I. Maspin (SERPINB5) is an obligate intracellular serpin // *J. Biol. Chem.*–2010.–**285**, N 14.–P. 10862–10869.
  40. Eide T., Ramberg H., Glackin C., Tindall D., Tasken K. A. TWIST1, a novel androgen-regulated gene, is a target for NKX3-1 in prostate cancer cells // *Cancer Cell Int.*–2013.–**13**, N 1.–P. 4.

Received 17.06.13