

Активация експресії гена *SPARC* на ранніх стадіях розвитку астроцитарних гліом

В. В. Дмитренко, К. О. Шостак, О. І. Бойко, О. Є. Симиренко,
І. С. Гундоров, О. В. Хоменко¹, В. Д. Розуменко¹, Т. А. Малишева¹,
М. І. Шамаєв¹, Ю. П. Зозуля¹, В. М. Кавсан

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

¹Інститут нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова АМН України
Вул. Мануїльського, 32, Київ, 04050, Україна

Зіставлення рівнів експресії генів у гліомах різного ступеню злоякісності і нормальному головному мозку за допомогою серійного аналізу генної експресії (SAGE) виявило різке підвищення рівня експресії гена SPARC (більш ніж у 5 разів, $p \leq 0,05$). Високий рівень експресії гена SPARC визначається як у диференційованих астроцитомах, так і в злоякісних гліальних пухлинах. Нозерн-гібридизація підтвердила результати SAGE і показала, що експресія гена SPARC підвищена в астроцитарних гліомах II–IV ступенів злоякісності порівняно з нормальним головним мозком. Майже в усіх зразках пухлин виявлено по два транскрипти гена SPARC розміром близько 2 і 3 тис. нуклеотидів. Довша мРНК синтезується переважно в пухлинних клітинах. Зміни експресії гена SPARC можуть відігравати певну роль в інвазії гліом та ангиогенезі цих пухлин. Зважаючи на різке підвищення рівня експресії цього гена в гліомах різного ступеня злоякісності та враховуючи дані літератури, можна припустити, що SPARC є одним із специфічних факторів інвазії. Він не може вважатися маркером зростаючої агресивності пухлини, яка корелює з пухлинною прогресією, оскільки експресія гена SPARC є значно вищою в пухлинах низького ступіню анаплазії (диференційованих астроцитомах), аніж високого (глоблостомах).

Ключові слова: астроцитома, гліома, ген SPARC, SAGE, експресія генів.

Вступ. Середній час життя пацієнтів з астроцитомами (астроцитома II ступеня злоякісності за класифікацією ВООЗ) становить приблизно 6–8 років, з анапластичними астроцитомами (астроцитома III ступеня злоякісності за класифікацією ВООЗ) — 3 роки, з глоблостомами (астроцитома IV ступеня злоякісності за класифікацією ВООЗ) — 12–18 місяців. Астроцитарні гліоми характеризуються високою інвазивністю. Паралельно з розповсюдженням по сусідніх ділянках злоякісні клітини мігрують до

віддалених частин мозку і можуть давати початок окремим пухлинам.

Таким чином, повне хірургічне видалення пухлини унеможливується. Міграція пухлинних клітин залежить від таких процесів, як деградація позаклітинного матриксу, клітинно-матриксні і міжклітинні взаємодії [1]. Зв'язок між клітинами та позаклітинним матриксом регулюється збалансованою взаємодією між адгезивними та антиадгезивними білками. Порушення нормальної експресії останніх може призвести до підвищення рівня клітинної міграції. Виявлення і дослідження генів, які активуються в астроцитомах і відповідають за інва-

© В. В. ДМИТРЕНКО, К. О. ШОСТАК, О. І. БОЙКО,
О. Є. СИМИРЕНКО, І. С. ГУНДОРОВ, О. В. ХОМЕНКО,
В. Д. РОЗУМЕНКО, Т. А. МАЛИШЕВА, М. І. ШАМАЄВ,
Ю. П. ЗОЗУЛЯ, В. М. КАВСАН, 2005

звність, повинні суттєво вдосконалити методи лікування гліальних пухлин людини, даючи потенційні генетичні маркери для діагностики та мішені для терапії пухлин.

Одним із підходів до виявлення змін експресії генів у пухлинах є серійний аналіз генної експресії (Serial Analysis of Gene Expression, SAGE). Ми використали цей метод для ідентифікації генів, які диференційно експресуються на різних стадіях розвитку астроцитарних гліом. Ген *SPARC* було знайдено серед генів, експресія яких активується уже в астроцитомах і залишається на високому рівні на подальших стадіях розвитку пухлини. Цей ген кодує мультифункціональний секретований кислий протеїн, багатий на цистеїн (*SPARC, secreted protein acidic and rich in cysteine*), який відомий також як остеонектин, або *BM40* [2] і відноситься до однієї групи антиадгезивних білків поряд із тенасцином та тромбоспондином [3, 4]. *SPARC* — глікопротеїн клітинного матриксу, він продукується у багатьох ембріональних клітинах та в тканинах, які піддаються ремоделюванню або відновленню. Взаємодії між клітиною і матриксом, у яких бере участь *SPARC* — прикріплення та відкріплення клітин, обмін базальних мембран, переміщення клітин, — є важливими компонентами у розвитку інвазивних та метастазуючих клітинних популяцій [5, 6].

Матеріали і методи. Хірургічні зразки гліальних астроцитом і нормального головного мозку (гістологічно нормальна тканина головного мозку, прилегла до пухлини, яка вимушено видалається разом з пухлиною під час операції) отримано з Інституту нейрохірургії ім. А. П. Ромоданова АМН України (Київ).

Виділення тотальні РНК і Нозерн-гібридизацію здійснювали, як описано в наших попередніх роботах [7, 8].

Профілі експресії генів в астроцитомах різних ступенів злоякісності і нормальному головному мозку порівнювали з використанням програми *SAGEmap* на веб-сайті <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE>.

Для попередньої оцінки експресії гена *SPARC* у нормальному головному мозку і в астроцитарних гліомах здійснено так званий «віртуальний Нозерн», який є одним із інструментів аналізу експресії генів на веб-сайті *SAGEmap* NCBI.

Клон *IMAGp998E214660*, який містить кДНК *SPARC*, отримано з бази даних Центру ресурсів

проекту «Геном людини» Німеччини (Resource Center/Primary DataBase, RZPD).

Результати і обговорення. Порівняння експресії генів в астроцитомах різних ступенів злоякісності і нормальному головному мозку за допомогою *SAGE* виявило ген *SPARC* серед генів з найрізкішим підвищенням рівня експресії (більш ніж у 5 разів, $p \leq 0,05$). «Віртуальний-Нозерн» показав, що експресія цього гена збільшується вже в астроцитомах II ступеня злоякісності (таблиця). Підвищення експресії гена *SPARC* може відбуватися в неопластичних астроцитах або в мікрогліальних клітинах (макрофагах), присутніх у пухлинах. Щоб розрізнити ці дві можливості потрібно звернути увагу на експресію гена в клітинних лініях гліобластом і, якщо в клітинних лініях рівень експресії гена теж високий, то цей ген напевне експресується в трансформованих клітинах (таблиця). З іншого боку, мРНК *SPARC* виявлено серед транскриптів, вміст яких зростає при диференціюванні моноцитів у макрофаги [9], тому дуже вірогідно, що ген *SPARC* експресується в астроцитарних пухлинах як у трансформованих клітинах, так і в макрофагах.

Для підтвердження результатів *SAGE* і отримання додаткової інформації експресію гена *SPARC* було проаналізовано в нормальному головному мозку та в астроцитарних гліомах II—IV ступеня злоякісності за допомогою Нозерн-гібридизації. Нозерн-аналіз показав, що експресія гена *SPARC* підвищена в астроцитарних гліомах порівняно з нормальним головним мозком (рис. 1 і 2). Загалом у нормальному головному мозку рівень експресії гена *SPARC* нижчий, ніж в астроцитарних гліомах, хоча в деяких зразках нормального головного мозку виявлено значний вміст мРНК *SPARC*. Потрібно відмітити, що зону, прилеглу до пухлини, лише з деякою умовністю можна назвати нормальним головним мозком, оскільки поодинокі пухлинні клітини здатні мігрувати від центра пухлини: значні кількості білка *SPARC* у поодиноких пухлинних клітинах, а також у реактивних астроцитах та в ендотеліальних клітинах новоутворених судин у цій зоні було знайдено за допомогою імуногістохімічного аналізу [10]. Крім того, в прилеглій до пухлини зоні активно проходять запальні процеси і вона містить реактивні астроцити, що може пояснювати високий вміст мРНК *SPARC* у деяких зразках «нормального головного мозку». У той же час результати *SAGE*, а також низький вміст

Віртуальний Нозерн для гена SPARC в астроцитомах («ярлик» ATGTGAAGAG)

SAGE-бібліотека	Кількість «ярликів» SPARC на 1 млн «ярликів» бібліотеки	Кількість «ярликів» SPARC у бібліотеці	Загальна кількість «ярликів» у бібліотеці
GSM2443 (H408) астроцитома II ступеня	11761	944	80265
GSM14739 (B_H563) астроцитома II ступеня	11708	1037	88568
GSM1732 (H127) астроцитома II ступеня	7067	576	81495
GSM2451 (H388) астроцитома II ступеня	5642	216	38634
GSM14767 (B_H833) гліобластома	4254	428	100600
GSM698 (H1043) пілоцитарна астроцитома	3610	278	77004
GSM14773 (B_R140) анапластична астроцитома	3478	413	118733
GSM745 (Ped_GBM1062) педіатрична гліобластома	3346	201	60069
GSM696 (GBM_H1110) гліобластома	3096	217	70087
GSM14776 (B_R927) анапластична астроцитома	3018	324	107344
GSM14768 (B_R336) гліобластома	2413	247	102322
GSM14765 (B_H530) астроцитома II ступеня	2108	216	102439
GSM14769 (B_R70) гліобластома	2098	208	99099
GSM715 (H_1126) астроцитома II ступеня	1991	35	17576
GSM704 (H54_EGFRvIII) клітинна лінія гліобластоми	1916	110	57400
GSM765 (pooled GBM) гліобластома	1906	118	61886
GSM14763 (B_H970) анапластична астроцитома	1551	166	106982
GSM713 (thalamus) нормальний головний мозок, таламус	1483	72	48548
GSM2578 (H154) астроцитома II ступеня	1381	96	69513
GSM14737 (B_H359) астроцитома II ступеня	1333	141	105764
GSM697 (H1020) анапластична астроцитома	1181	62	52479
GSM705 (H54_lacZ) клітинна лінія гліобластоми	1085	73	67236
GSM703 (H392) клітинна лінія гліобластоми	1041	60	57582
GSM701 (H247_normal) клітинна лінія гліобластоми	840	51	60663
GSM700 (H247_hyroxia) клітинна лінія гліобластоми	652	47	72031
GSM695 (BB542_normal_cerebellum) нормальний мозочок	679	40	58826
GSM763 (normal_pool(6th)) нормальний головний мозок	506	32	63208
GSM761 (normal_cerebellum) нормальний мозочок	136	7	51280
GSM676 (BB542_whitematter) нормальний головний мозок з більш ніж 95 % білої речовини	73	7	94876

мРНК SPARC у щурячому головному мозку (доріжка 2, рис. 1) і в зразку непухлиного головного мозку (доріжка 3, рис. 1 — хірургічний зразок, видалений під час операції травматичного пошкодження) свідчать на користь низького рівня експресії гена SPARC у нормальному головному мозку.

Майже в усіх зразках пухлин виявлено по два транскрипти гена SPARC розміром близько 2 і 3 тис. нуклеотидів. Менший за розміром мажорний транскрипт відповідає добре охарактеризованій в літературі мРНК довжиною 2133 нуклеотиди, більший (мінорний) транскрипт є результатом альтер-

нативного поліаденілювання первинного транскрипта, але обидва транскрипти кодують один і той же білок [2]. Пошук інших можливих альтернативних транскриптів гена SPARC, проведений у сучасних базах даних нуклеотидних послідовностей, виявив кДНК довжиною 3747 п. н. (кДНК FLJ44561, клон UTERU3008671 з бібліотеки кДНК матки, реєстраційний номер AK126525), яка частково комплементарна мРНК SPARC. Порівняння структури кДНК FLJ44561 з геномною нуклеотидною послідовністю гена SPARC показало, що вона повністю збігається з геномною ділянкою від початку 8-го

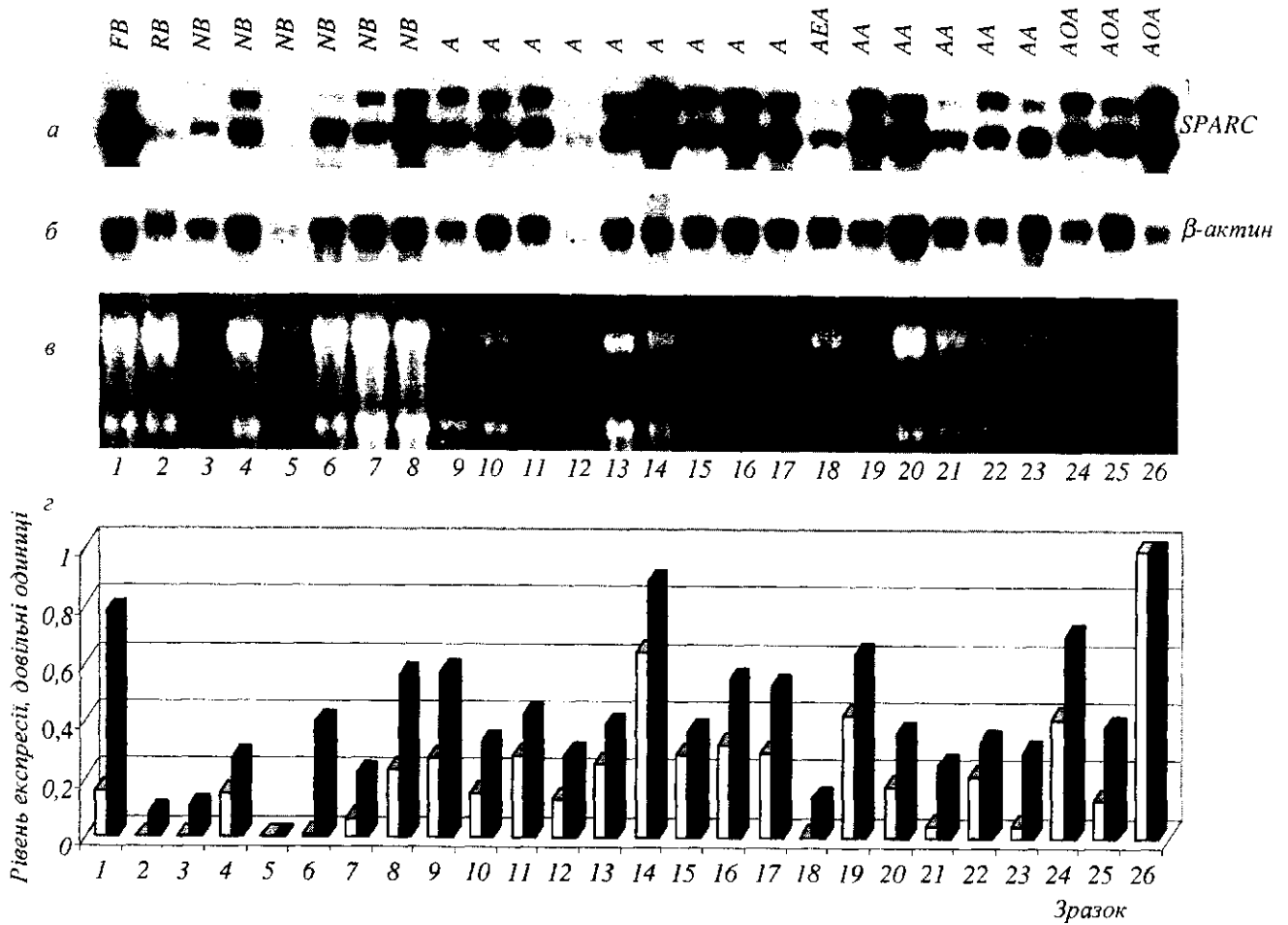


Рис. 1. Експресія гена *SPARC* у нормальних тканинах та в пухлинах головного мозку: *a* — Нозерн-гібридизація ³²P-міченої проби кДНК *SPARC* з панеллю РНК (тип тканин і вид пухлин позначено над кожною доріжкою блоту: *FB* — мозок ембріона людини; *RB* — мозок щура; *NB* — нормальний головний мозок людини; *A* — астроцитомі; *AA* — анапластична астроцитомі; *AEA* — анапластична епендіоастроцитомі; *AOA* — анапластична олігоастроцитомі); *b* — Нозерн-гібридизація цього ж блоту з контрольною пробою кДНК β -актину; *c* — фотографія агарозного гелю, забарвленого бромистим етидієм; *d* — діаграма, яка демонструє відносний рівень експресії мажорного, коротшого транскрипта (чорні стовпчики) та мінорного, довшого транскрипта (білі стовпчики)

інтрона гена до кінця останнього 10-го екзона гена. Той факт, що її кінець практично збігається з кінцем мажорного транскрипта, може свідчити на користь того, що ця кДНК є частиною ще більшого альтернативного транскрипта гена *SPARC*. Не виключено, однак, що даний клон є артефактом конструювання бібліотеки кДНК.

Вміст довшої мРНК (3 тис. нуклеотидів.) збільшений майже в усіх пухлинах порівняно з нормальним головним мозком. Якщо в деяких зразках нормального головного мозку співвідношення кількості великої і малої мРНК складає від 1:5 до 1:87 (у двох зразках більший транскрипт взагалі не детектується), то у всіх зразках астроцитом, за винятком однієї, це співвідношення дорівнює 1:1,3—

1:2,2. Можна відмітити дві групи в анапластичних астроцитомі: в одній співвідношення, як в астроцитомі (1:1,5—1:3), а в другій, — як у нормальному головному мозку (1:6—1:147). У всіх трьох анапластичних олігоастроцитомі вміст більшого транскрипта високий, і співвідношення кількості великої і малої мРНК становить 1:1,4—1:3. Гліобластоми також діляться на дві групи — у п'яти зразках довга мРНК майже не детектується, а в одному зразку вміст довгої мРНК високий (співвідношення 1:2,4).

Продукцію альтернативних транскриптів, які не детектуються у нормальних клітинах, але синтезуються в пухлинах, виявлено і для деяких інших генів. Зокрема, довга ізоформа мРНК тена-

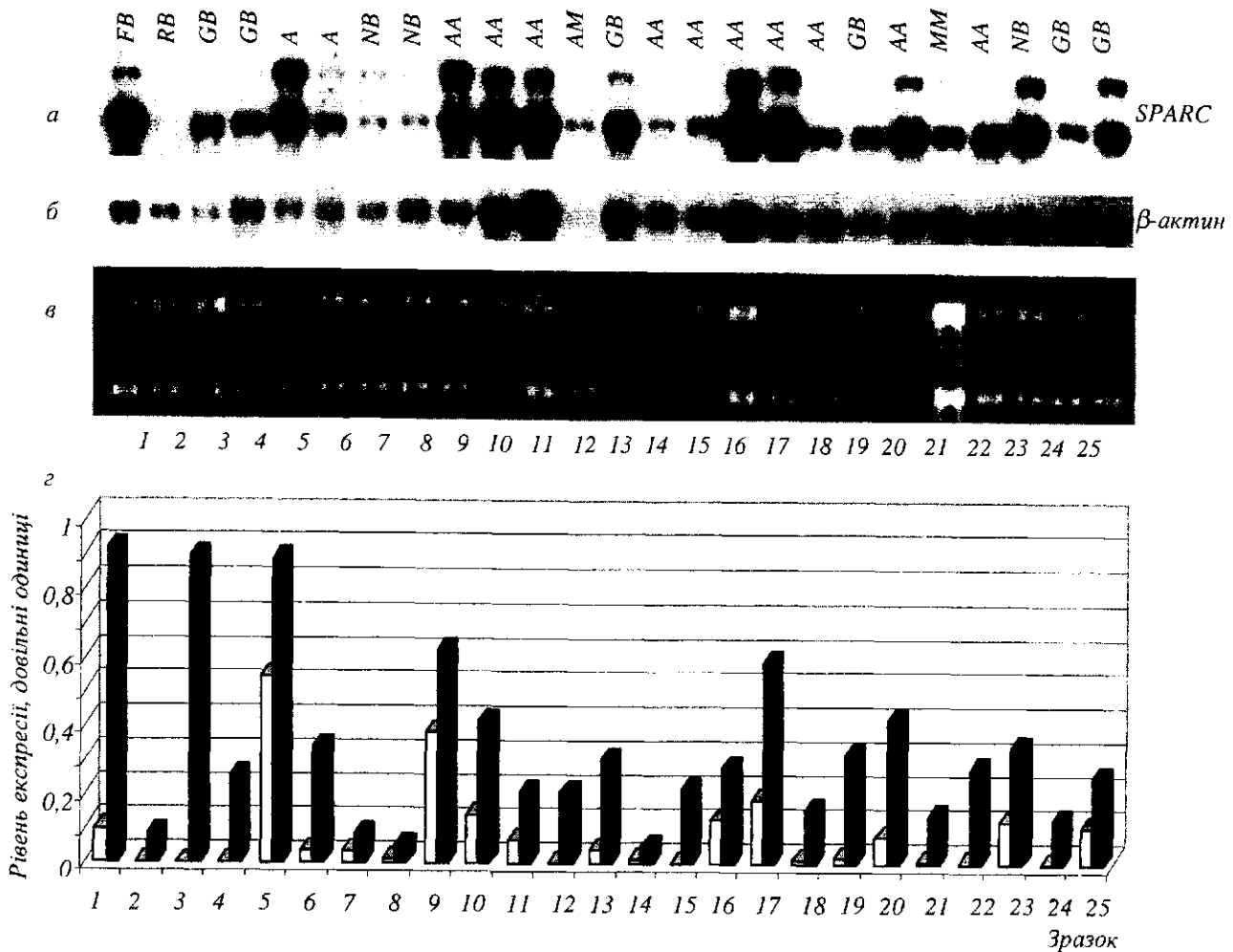


Рис. 2. Експресія гена *SPARC* у нормальних тканинах та в пухлинах головного мозку: *a* — Нозерн-гібридизація ^{32}P -міченої проби кДНК *SPARC* з панеллю РНК (тип тканин і вид пухлин позначено над кожною доріжкою блоту: *RB* — мозок щура; *G* — гліобластома; *A* — астроцитомата; *NB* — нормальний головний мозок людини; *AA* — анапластична астроцитомата; *AM* — анапластична менингіома; *MM* — менинготеліальна менингіома); *b* — Нозерн-гібридизація цього ж блоту з контрольною пробою кДНК β -актину; *c* — фотографія агарозного гелю, забарвленого бромистим етидієм; ϵ — діаграма, яка демонструє відносний рівень експресії мажорного, коротшого транскрипта (чорні стовпчики) та мінорного, довшого транскрипта (білі стовпчики)

цину синтезується частіше в пухлинних, ніж у нормальних тканинах, з яких вони походять [11].

Транскрипти більшого розміру генів креатинкінази В, малатдегідрогенази, субодиниці і NADH-убіквіноноксидоредуктази, селеніддикінази та гетероядерного рибонуклеопротеїду А1 знайдено виключно в олігоденрогліомах при порівнянні експресії цих генів у нормальному головному мозку та в пухлинах головного мозку різного походження [12]. І навпаки, альтернативний транскрипт меншого розміру онкогена *mdm2* синтезується переважно в астроцитарних пухлинах і його експресія корелює із ступенем злоякісності [13]. Раніше ми знайшли транскрипти більшого розміру в астроци-

томах III—IV ступеня злоякісності для двох генів — гена *HCgp-39* [8], який кодує хрящовий глікопротеїн з невизначеною функцією і експресія якого активується при запальних процесах у тканинах, що зазнають ремоделювання, та в деяких злоякісних пухлинах, а також гена *ZFM1* (неопубліковані дані), який кодує фактор транскрипції/сплайсингу і причетний до процесів переносу сигналу в клітинах та активації РНК [14]. Наявність пухлинспецифічних транскриптів генів дає можливість удосконалити діагностику злоякісних новоутворень.

SPARC/остеонектин — висококонсервативний, багатий на цистеїн антиадгезивний глікопротеїн,

який секретується в позаклітинний матрикс, може експресуватися в ендотелії у відповідь на певні ушкодження, пригнічує хід клітинного циклу, впливає на форму клітин та модулює взаємодії клітина—матрикс через зв'язування з компонентами позаклітинного матриксу [15]. *SPARC* відіграє певну роль у процесах, пов'язаних із від'єднанням клітин від позаклітинного матриксу, таких як міграція та проліферація [3, 16—17], він приєднується до PDGF і VEGF, знижуючи їхню мітотичну активність за рахунок виключення впізнавання їх рецепторами [18, 19]. Збільшення присутності *SPARC* індукуює продукцію колагену I через зростання експресії TGF- β і зменшення кількості bFGF [15], експресію матриксних металопротеїназ та інгібітора активатора плазміногену типу 1, що в свою чергу прискорюють деградацію базальних мембран і позаклітинного матриксу [20, 21]. Ці процеси стимулюють інвазію та формування метастазів у злоякісних новоутвореннях.

Можливо, синтез *SPARC*/остеонектину у відповідь на ушкодження та при перебудові тканин необхідний для того, щоб полегшити продукцію позаклітинного матриксу, який дозволить клітинам мігрувати, проліферувати і диференціюватися [15]. *SPARC* взаємодіє з колагенами [22] та вітронектином позаклітинного матриксу [23]. Вітронектин — складова базальних мембран судин мозку, одного з розповсюджених шляхів розвитку астроцитом. Взаємодія остеонектину з колагенами може відігравати певну роль в інвазії поодиноких клітин у паренхімі мозку. Таким чином, підвищена експресія *SPARC*, імовірно, надає астроцитом більш рухливого інвазивного характеру.

SPARC, секретований у позаклітинний простір, скоріш за все, впливає на клітинну адгезію і, як наслідок, ініціює опосередкований рецептором сигнал [24]. Подальші ефекти включають зміни цитоплазматичних компонентів, асоційованих з фокальними контактами, перерозподіл вінкуліну з точкової до дифузної локалізації, переміщення F-актину до периферії клітин [25], підвищення експресії колагенази, стромелізини і желатинази розміром 92 кДа [20] — ферментів, які беруть участь у деградації позаклітинного матриксу. Модулювальний вплив *SPARC* на взаємодію клітина—матрикс також може ініціювати міграцію пухлинних клітин при змінній експресії *SPARC* [22].

Для багатьох матриксно-клітинних білків було продемонстровано їхню роль у регуляції неопла-

стичного розвитку через вплив на формування нових судин — ангиогенез, що є необхідним для росту і розвитку більшості злоякісних новоутворень. Хоча пептид, який отримували при розщепленні *SPARC* матриксною металопротеїназою 3, проявляв ангиогенний ефект *in vivo* [26], інтактний *SPARC* інгібував мітогенну активність VEGF в ендотеліальних клітинах [27], тому роль *SPARC* в стимуляції або пригніченні ангиогенезу є до цього часу остаточно не з'ясованою і, можливо, залежить від співвідношення інтактного білка і його похідних пептидів у пухлинних клітинах. У різних видах пухлин *SPARC* експресується різними клітинами: в одних випадках — злоякісними, а в інших — клітинами, які його оточують, наприклад, клітинами строми в тироїдній карциномі [28] та в раку легень [29]. Підвищену експресію гена *SPARC* виявлено також у меланомі [30], при раку молочної залози [31], товстої кишки [32], стравоходу [33] і простати [34].

Таким чином, як показують наші результати та дані літератури [10, 35], *SPARC* має високий рівень експресії в астроцитомах, анапластичних астроцитомах та гліобластомах. При цьому кількість транскриптів варіює залежно від ступеня анаплазії пухлини та від того, з якої ділянки пухлини їх видалено. Наприклад, експресія гена *SPARC* є статистично більш значущою у пухлинах низького ступеня злоякісності (астроцитомах та анапластичних астроцитомах), ніж високого (гліобластомах). Навіть у межах однієї пухлини рівень експресії гена *SPARC* вищий у ділянках з нещільно розташованими великими клітинами астроцитарного фенотипу (притаманно астроцитомам), ніж у ділянках недиференційованих щільно розташованих клітин з високим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням (характерно для гліобластом). У мозку на межі з пухлиною високі рівні *SPARC* спостерігаються у клітинах зі злоякісним фенотипом, реактивних астроцитах та в ендотелії нових судин [10]. Експресія гена *SPARC* не є специфічною для якогось типу клітин і може бути сигналом неопластичної трансформації астроцитів.

Зміни експресії гена *SPARC* здатні відігравати подвійну роль у патології пухлин головного мозку — одну в ангиогенезі, а іншу — в інвазії пухлин. *SPARC* може бути скоріше специфічним маркером інвазії, ніж неспецифічним маркером зростаючої агресивності пухлини, яка корелює з пухлинною прогресією.

Роботу частково профінансовано Державним фондом фундаментальних досліджень, проект № Ф7.282-2001; Національною академією наук України в рамках програми «Новітні медико-біологічні проблеми та оточуюче середовище людини» та NATO Collaborative Linkage Grant No. 977284.

V. V. Dmitrenko, K. O. Shostak, O. I. Boyko, O. E. Simirenko, I. S. Gundorov, O. V. Khomenko, V. D. Rozumenko, T. A. Malisheva, M. I. Shamaev, Yu. A. Zozulya, V. M. Kavsan

Activation of the expression of SPARC gene occurring early in astrocytic glioma progression

Summary

Comparison of gene expression levels in astrocytic gliomas and human normal brain by SAGE revealed SPARC gene among those the expression of which increases most significantly (more than 5-fold, $p \leq 0.05$). High level of the SPARC gene expression was detected in differentiated astrocytomas as well as in malignant glial tumors. Northern hybridization confirmed the SAGE results and showed that the SPARC gene expression elevated in astrocytomas of grade II–IV as compared to human normal brain. Two SPARC transcripts of about 2 and 3 kb length were detected almost in all the tumour samples. A longer mRNA is synthesized preferentially in tumour cells. The SPARC gene expression changes may play a role in the gliomas invasion and their angiogenesis. SPARC gene seems to be a specific invasion factor in view of our results on substantial enhancement of its expression in the gliomas of different malignancy grades and the corresponding literature data. Since the SPARC expression level is much higher in the tumours of low grades (differentiated astrocytomas) than that in the tumours of high grade (glioblastomas) this gene can not be regarded as a specific marker of increasing tumor aggressiveness.

Key words: astrocytomas, gliomas, SPARC gene, SAGE, genes expression.

В. В. Дмитренко, Е. А. Шостак, О. И. Бойко, О. Е. Симиренко, И. С. Гундоров, А. В. Хоменко, В. Д. Розуменко, Т. А. Мальшева, М. И. Шамаев, Ю. А. Зозуля, В. М. Кавсан

Активация экспрессии гена SPARC на ранних стадиях развития астроцитарных глиом

Резюме

Сравнение уровней экспрессии генов в астроцитарных глиомах и нормальном головном мозге с помощью серийного анализа генной экспрессии (SAGE) выявило резкое повышение уровня экспрессии гена SPARC (более чем в 5 раз, $p \leq 0,05$). Высокий уровень экспрессии SPARC детектируется как в дифференцированных астроцитомах, так и в злокачественных глиальных опухолях. Нозерн-гибридизация подтвердила результаты SAGE и выявила, что экспрессия гена SPARC повышена в астроцитарных глиомах II–IV степеней злокачественности по сравнению с нормальным головным мозгом. Почти во всех образцах опухолей найдено по два транскрипта гена SPARC размером около 2 и 3 тыс. нуклеотидов. Длинная мРНК синтезируется преимущественно в опухолевых клетках. Изменения в экспрессии гена SPARC могут играть определенную роль в инвазии глиом и в ангиогенезе этих опухолей. Принимая во внимание значительное повышение уровня экспрессии этого гена в глиомах разной степени злокачественности, а также

данные литературы, можно предположить, что SPARC является одним из специфических факторов инвазии. Его нельзя считать маркером возрастающей агрессивности опухолей, коррелирующей с опухолевой прогрессией, потому что уровень экспрессии гена SPARC значительно выше в опухолях низкой степени анаплазии (дифференцированных астроцитомах), чем высокой (глиобlastомах).

Ключевые слова: астроцитома, глиома, ген SPARC, SAGE, экспрессия генов.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Rempel S. A. Molecular biology of central nervous system tumors // *Curr. Opin. Oncol.*—1998.—10.—P. 179—185.
2. Swaroop A., Hogan B. L. M., Franke U. Molecular analysis of the cDNA for human SPARC/osteonectin/BM-40: Sequence, expression, and localization of the gene to chromosome 5q31-q33 // *Genomics.*—1988.—2.—P. 37—47.
3. Sage E. H., Bornstein P. Extracellular proteins that modulate cell-matrix interactions // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 14831—14834.
4. Lane T., Sage E. H. The biology of SPARC, a protein that modulates cell-matrix interactions // *FASEB J.*—1994.—8.—P. 163—173.
5. Liotta L. A., Steeg P. S., Stetler-Stevenson W. G. Cancer metastasis and angiogenesis: an imbalance of positive and negative regulation // *Cell.*—1991.—64.—P. 327—336.
6. Wewer U. M., Albrechtsen R., Fisher L. W., Young M. F., Termine J. D. Osteonectin/SPARC/BM-40 in human decidua and carcinoma, tissues characterized by *de novo* formation of basement membrane // *Amer. J. Pathol.*—1988.—132.—P. 345—355.
7. Shostak K. O., Dmitrenko V. V., Garifulin O. M., Rozumenko V. D., Homenko O. V., Zozulya Y. P., Zehetner G., Kavsan V. M. Downregulation of putative tumor suppressor gene TSC-22 in human brain tumors // *J. Surg. Oncol.*—2003.—82.—P. 57—64.
8. Shostak K., Labunskyy V., Dmitrenko V., Malisheva T., Shamayev M., Rozumenko V., Zozulya Yu., Zehetner G., Kavsan V. HC gp-39 gene is upregulated in glioblastomas // *Cancer Lett.*—2003.—198.—P. 203—210.
9. Ishii M., Hashimoto S., Tsutsumi S., Wada Y., Matsushima K., Kodama T., Aburatani H. Direct comparison of GeneChip and SAGE on the quantitative accuracy in transcript profiling analysis // *Genomics.*—2000.—68.—P. 136—143.
10. Rempel S. A., Golembieski W. A., Ge S., Lemke N., Elisevich K., Mikkelsen T., Gutierrez J. A. SPARC: a signal of astrocytic neoplastic transformation and reactive response in human primary and xenograft gliomas // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.*—1998.—57.—P. 1112—1121.
11. Leprini A., Querze G., Zardi L. Tenascin isoforms: possible targets for diagnosis and therapy of cancer and mechanisms regulating their expression // *Respect. Develop. Neurobiol.*—1994.—2.—P. 117—123.
12. Xua X., Johb H. D., Pinb S., Schillera N. I., Prangec C., Burgera P. C., Schiller M. R. Expression of multiple larger-sized transcripts for several genes in oligodendrogliomas: potential markers for glioma subtype // *Cancer Lett.*—2001.—171.—P. 67—77.
13. Matsumoto R., Tada M., Nozaki M., Zhang C. L., Sawamura Y., Abe H. Short alternative splice transcripts of the mdm2 oncogene correlate to malignancy in human astrocytic neoplasms // *Cancer Res.*—1998.—58.—P. 609—613.
14. Zhang D., Paley A. J., Childs G. The transcriptional repressor

- ZFM1 interacts with and modulates the ability of EWS to activate transcription // *J. Biol. Chem.*—1998.—273.—P. 18086—18091.
15. Bradshaw A. D., Sage E. H. SPARC, a matricellular protein that functions in cellular differentiation and tissue response to injury // *J. Clin. Invest.*—2001.—107.—P. 1049—1054.
 16. Sage H., Tupper J., Bramson R. Endothelial cell injury *in vitro* is associated with increased secretion of an Mr 43,000 glycoprotein ligand // *J. Cell. Physiol.*—1986.—127.—P. 373—387.
 17. Sage H., Vernon R. B., Decker J., Funk S., Iruela-Arispe M. L. Distribution of the calcium-binding protein SPARC in tissues of embryonic and adult mice // *J. Histochem. and Cytochem.*—1989.—37.—P. 819—829.
 18. Brekken R. A., Sage E. H. SPARC, a matricellular protein: at the crossroads of cell-matrix communication // *Matrix Biol.*—2001.—19.—P. 816—827.
 19. Yan Q., Sage E. H. SPARC, a matricellular glycoprotein with important biological functions // *J. Histochem. and Cytochem.*—1999.—47.—P. 1495—1506.
 20. Tremble P. M., Lane T. F., Sage E. H., Werb Z. SPARC, a secreted protein associated with morphogenesis and tissue remodeling, induces expression of metalloproteinases in fibroblasts through a novel extracellular matrix-dependent pathway // *J. Cell. Biol.*—1993.—121.—P. 1433—1444.
 21. Hasselaar P., Loskutoff D. J., Sawdey M., Sage E. H. SPARC induces the expression of type 1 plasminogen activator inhibitor in cultured bovine aortic endothelial cells // *J. Biol. Chem.*—1991.—266.—P. 13178—13184.
 22. Sage E. H. Terms of attachment: SPARC and tumorigenicity // *Nat. Med.*—1997.—3.—P. 144—146.
 23. Rosenblatt S., Bassuk J. A., Alpers C. E., Sage E. H., Timpl R., Preissner K. T. Differential modulation of cell adhesion by interaction between adhesive and counter-adhesive proteins: characterization of the binding of vitronectin to osteonectin (BM40, SPARC) // *Biochem. J.*—1997.—324.—P. 311—319.
 24. Sage E. H. Secretion of SPARC by endothelial cells transformed by polyoma middle T oncogene inhibits the growth of normal endothelial cells *in vitro* // *Biochem. Cell. Biol.*—1992.—70.—P. 579—592.
 25. Murphy-Ullrich J. E., Lane T. F., Pallero M. A., Sage E. H. SPARC mediates focal adhesion disassembly in endothelial cells through a follistatin-like region and the Ca⁺⁺-binding EF-hand // *J. Cell. Biochem.*—1995.—57.—P. 341—350.
 26. Sage E. H., Reed M., Funk S. E., Truong T., Steadele M., Puolakkainen P., Maurice D. H., Bassuk J. A. Cleavage of the matricellular protein SPARC by matrix metalloproteinase 3 produces polypeptides that influence angiogenesis // *J. Biol. Chem.*—2003.—278.—P. 37849—37857.
 27. Kato Y., Lewalle J. M., Baba Y., Tsukuda M., Sakai N., Baba M., Kobayashi K., Koshika S., Nagashima Y., Franken F., Noel A., Foidart J. M., Hata R. I. Induction of SPARC by VEGF in human vascular endothelial cells // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—2001.—287.—P. 422—426.
 28. Takano T., Hasegawa Y., Miyauchi A., Matsuzuka F., Yoshida H., Kuma K., Hayashi N., Nakamori S., Amino N. Quantitative analysis of osteonectin mRNA in thyroid carcinomas // *Endocrine J.*—2002.—49.—P. 511—516.
 29. Koukourakis M. I., Giatromanolaki A., Brekken R. A., Sivridis E., Gatter K. C., Harris A. L., Sage E. H. Enhanced expression of SPARC/osteonectin in the tumor-associated stroma of non-small cell lung cancer is correlated with markers of hypoxia/acidity and with poor prognosis of patients // *Cancer Res.*—2003.—63.—P. 5376—5380.
 30. Ledda M. F., Adris S., Bravo A. I., Kairiyama C., Bover L., Chernajovsky Y., Mordoh J., Podhajcer O. L. Suppression of SPARC expression by antisense RNA abrogates the tumorigenicity of human melanoma cells // *Nat. Med.*—1997.—3.—P. 171—176.
 31. Gilles C., Bassuk J. A., Pulyaeva H., Sage E. H., Foidart J. M., Thompson E. W. SPARC/osteonectin induces matrix metalloproteinase 2 activation in human breast cancer cell lines // *Cancer Res.*—1998.—58.—P. 5529—5536.
 32. Porte H., Chastre E., Prevot S., Nordlinger B., Empereur S., Basset P., Chambon P., Gespach C. Neoplastic progression of human colorectal cancer is associated with overexpression of the stromelysin-3 and BM-40/SPARC genes // *Int. J. Cancer.*—1995.—64.—P. 70—75.
 33. Porte H., Triboulet J. P., Kotelevets L., Carrat F., Prevot S., Nordlinger B., DiGioia Y., Wurtz A., Comoglio P., Gespach C., Chastre E. Overexpression of stromelysin-3, BM-40/SPARC, and MET genes in human esophageal carcinoma: implications for prognosis // *Clin. Cancer Res.*—1998.—4.—P. 1375—1382.
 34. Jacob K., Webber M., Benayahu D., Kleinman H. K. Osteonectin promotes prostate cancer cell migration and invasion: a possible mechanism for metastasis to bone // *Cancer Res.*—1999.—1.—P. 4453—4457.
 35. Schultz C., Lemke N., Ge S., Golembieski W. A., Rempel S. A. Secreted protein acidic and rich in cysteine promotes glioma invasion and delays tumor growth *in vivo* // *Cancer Res.*—2002.—62.—P. 6270—6277.

УДК 577.21:577.214 +
+ 616-006.484:616-006.484.03:616-006.484.04
Надійшла до редакції 20.01.04