

Ниязова Р.Е., Атамбаева Ш.А.,  
Пыркова А.Ю., Иващенко А.Т.

**Ассоциации miRNA и mRNA  
генов, участвующих в развитии  
немелкоклеточного рака легких**

Изучено связывание miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии различных субтипов немелкоклеточного рака легких человека. Разработана компьютерная программа предсказывающая с высокой достоверностью сайты связывания miRNA с mRNA генов. Программа рассчитывает отношение  $\Delta G/\Delta G_m$ , значение достоверности, определяет область расположения сайта microRNA в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), белок-кодирующей части (CDS) или 3'-нетранслируемом участке (3'UTR). Поиск генов-мишеней для miRNA проводили по программе MirTarget. Созданы базы генов, участвующих в развитии плоскоклеточного рака и крупноклеточной карциномы. Выявлены miRNA эффективно связывающиеся с mRNA этих генов мишеней. Установлены специфические ассоциации miRNA с mRNA генов повышено и пониженно экспрессирующихся при плоскоклеточном раке легких. Среди участвующих в ассоциации miRNA с mRNA наибольшее число генов мишеней установлено для уникальных miRNA: miR-1273g-3p, miR-1273h-5p, miR-1273f, miR-1322, miR-1285-5p, miR-619-5p. Полученные результаты влияния miRNA на экспрессию генов, участвующих в онкогенезе, служат основой разработки методов ранней диагностики субтипов немелкоклеточного рака легких.

**Ключевые слова:** miRNA, mRNA, ген, немелкоклеточный рак легких, субтипы.

Atambayeva S.A., Niyazova R.Y.,  
Pyrkova A.Y., Ivashchenko A.T.

**Associations of miRNAs with  
mRNAs of genes participating  
in the development of non-small  
cell lung cancer**

The binding of miRNAs with mRNAs of genes involved in the development of various subtypes of human lung cancer was studied. A computer program predicted miRNAs binding sites with genes mRNAs with high reliability was developed. The program calculates the ratio of  $\Delta G/\Delta G_m$ , the reliability value, the location of the microRNA binding site in the 5'-untranslated region (5'UTR), in the protein coding portion (CDS) or in the 3'untranslated region (3'UTR). A search of miRNAs target genes was calculated with the MirTarget program. It was created a database of genes involved in the development of lung squamous cell carcinoma and large cell carcinoma. It were identified miRNAs which effectively bind to mRNAs of target gene. It were established associations of specific miRNAs with mRNAs of genes increased and reduced-expressed in squamous cell lung cancer. Among the miRNAs involved in the associations with mRNAs, the largest number of target genes was found for unique miRNAs: miR-1273g-3p, miR-1273h-5p, miR-1273f, miR-1322, miR-1285-5p, miR-619-5p. The obtained results of the effect of miRNAs on the expression of genes involved in oncogenesis may serve as a basis for the development of early diagnosis methods of lung cancer subtypes.

**Key words:** miRNA, mRNA, gene, non-small cell lung cancer, subtypes.

Ниязова Р.Е., Атамбаева Ш.А.,  
Пыркова А.Ю., Иващенко А.Т.

**Өкпенің ұсақ емес жасушалы  
обыр дамуына қатысатын  
гендердің mRNA және  
miRNA-дың ассоциациялары**

Адам өкпесінің ұсақ емес жасушалы обырдың түрлі субтиптерінің дамуына қатысатын гендердің mRNA-мен miRNA-дың байланысуы зерттелген. Гендердің mRNA-мен miRNA-дың байланысу сайттарын жоғары анықтықпен көрсететін компьютерлік бағдарлама зертханада өңделді. Бағдарлама  $\Delta G/\Delta G_m$  қатынасты, анықтық мөнін, microRNA сайттың 5'-транслирленбейтін учаскіде (5'UTR), белок-кодтайтын бөлігінде (CDS) немесе 3'-транслирленбейтін учаскіде (3'UTR) орналасуын анықтайды. miRNA-ның нысана гендерін MirTarget бағдарлама бойынша іздестірдік. Жалпақжасушалы және іріжасушалы карциноманың дамуына қатысатын гендердің базалары құрастырылған. Осы гендердің mRNA-мен эффективті байланысатын miRNA-лар анықталған. Өкпенің жалпақжасушалы обыры кезінде жоғары және төмен экспрессиялайтын гендердің mRNA-мен miRNA-дың арнайы ассоциациялары анықталған. Ассоциацияларға қатысатын mRNA-мен miRNA-дың ең жоғары нысана гендердің саны келесі уникалды miRNA-лар үшін анықталған: miR-1273g-3p, miR-1273h-5p, miR-1273f, miR-1322, miR-1285-5p, miR-619-5p. miRNA-дың онкогенезге қатысатын гендер экспрессиясына әсер ету бойынша алынған нәтижелер ұсақ емес жасушалы обырдың субтиптерін ерте диагностикалау әдістерін өңдеу үшін негіз болып келеді.

**Түйін сөздер:** miRNA, mRNA, ген, өкпенің ұсақ емес жасушалы обыр, субтиптер.

**АССОЦИАЦИИ MIRNA  
И MRNA ГЕНОВ,  
УЧАСТВУЮЩИХ  
В РАЗВИТИИ  
НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО  
РАКА ЛЕГКИХ****Введение**

Согласно данным статистики, по состоянию на 1 января 2015 года на онкологическом учете состоит 150436 казахстанцев, в то время как в 2013 году эта цифра составляла 146404. Рост численности заболеваемости связан с увеличением выявления онкологических пациентов на ранних стадиях. Смертность от рака в стране составляет 17000 человек ежегодно. Онкология стоит на втором месте в списке причин смертности. Для осознания сложности проблемы диагностики рака легких необходимо дать краткий анализ имеющихся представлений о гетерогенности рака легких, в том числе субтипов немелкоклеточного рака легких (non small cell lung cancer, NSCLC). Рак легких – злокачественное новообразование, происходящее из эпителиальной ткани бронхов различного калибра. Во всем мире рак легких является самой частой причиной смерти от злокачественных новообразований как у мужчин, так и у женщин. У 60 – 70% пациентов при морфологическом исследовании опухоли диагностируют плоскоклеточный рак (SCC), аденокарциному (AC) и крупноклеточный рак (LCC), традиционно объединяемые в группу немелкоклеточного рака легких [1-3].

В основном (70-80%) NSCLC выявляется при значительном местнорегионарном распространении и наличии отдалённых метастазов. Приблизительно 40% больных находятся в стадии IV-IIIА и длительная (пятилетняя) выживаемость их составляет только 9-38% и зависит от стадии заболевания. В 80% случаев злокачественное образование начинает формироваться в периферийных структурах из неороговевающего эпителия. Именно поэтому раннее развитие опухоли протекает практически бессимптомно: новообразование, расположенное в легочной ткани, не оказывает механических воздействий на сосуды и бронхи. Крупноклеточный рак легких имеет крайне негативный прогноз, обусловленный ранним и массивным метастазированием при достаточно медленном росте первичной опухоли. При NSCLC метастазы могут поражать головной мозг, надпочечники, кости и печень. К причинам, которые могут провоцировать развитие NSCLC, относят неблагоприятную экологическую ситуацию и воздействие вредных веществ на специальных произ-

водствах. Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома в настоящее время рассматривается как гистологический вариант высокодифференцированного NSCLC с признаками нейроэндокринной дифференцировки и иммуногистохимических нейроэндокринных маркеров. К классу крупноклеточных карцином относят несколько вариантов, включая крупноклеточную нейроэндокринную и базалоидную карциномы, которые характеризуются неблагоприятным прогнозом. И, наконец, идентифицирован новый класс рака легких, характеризующийся широким спектром клеточной дифференцировки (от эпителиальной до мезенхимальной), получивший название карциномы с плеоморфными, саркоматоидными или саркоматозными элементами. Иммуногистохимический метод и электронная микроскопия являются ценными методами диагностики и субклассификации гистологических подтипов, однако большинство опухолей легких могут быть классифицированы при использовании только световой микроскопии. Кроме общей категории крупноклеточных карцином известно несколько необычных вариантов, включая крупноклеточную нейроэндокринную карциному, базалоидную карциному, лимфоэпителиомоподобную, светлоклеточную и крупноклеточную карциному с рабдоидным фенотипом. Базалоидная карцинома также рассматривается и как вариант плоскоклеточного рака, и, редко, аденокарцинома может проявлять признаки базалоидной карциномы; однако базалоидная карцинома без вышеперечисленных признаков рассматривается как вариант крупноклеточного рака. Профиль экспрессии генов при LCC слабо отличим от профиля экспрессии генов при AC, но хорошо отличим при SCC. LCC составляет небольшой процент (9,8%) случаев немелкоклеточного рака легких. Поскольку молекулярно-генетические основы развития LCC остаются недостаточно изученными, отсутствует специфическая диагностика и целевая терапия этого субтипа рака легких, то представляется важным установить имеется ли специфичность в связывании miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии субтипа LCC. Для достоверной специфической диагностики субтипов и подсубтипов рака легких необходимо установление ассоциаций нескольких пар miRNA с mRNA.

Плоскоклеточный рак легких – это злокачественная опухоль, происходящая из плоских клеток эпителия. Плоскоклеточный рак является одной из гистологических разновидностей рака легких. Плоскоклеточный рак наряду с адено-

карциномой – одна из наиболее частых злокачественных эпителиальных опухолей легких. У 2/3 больных плоскоклеточный рак относится к центральной форме рака легких и поражает крупные бронхи, реже трахею. Свыше 85% таких опухолей локализируются в сегментарных и субсегментарных бронхах. Оставшаяся часть относится к периферической форме рака. Плоскоклеточный рак лёгких по гистологическому типу различают: ороговевающий – характерен формированием раковых жемчужин и образованием многими клетками кератина; неороговевающий – отличается митозами и полифонизмом клеток; низкодифференцированный плоскоклеточный рак имеет большое количество митозов, полигональных и веретенообразных клеток, лишь некоторые отдельные из них содержат кератин. Плоскоклеточный рак лёгких клинически может проявляться разнообразно. На первой и второй стадии специфические симптомы могут и вовсе отсутствовать. Диагностировать плоскоклеточный рак лёгких, как и другую его разновидность достаточно сложно. Проблема диагностики заболевания состоит в схожести симптомов с заболеваниями верхних дыхательных путей, пневмонией, туберкулёзом и абсцессами лёгких. По этой причине выявляют его в половине случаев слишком поздно, на последних стадиях [4].

Одним из путей совершенствования прогнозирования результатов лечения рака легких является комплексное изучение на современном уровне ряда индивидуальных морфологических, молекулярно-генетических и иммунологических характеристик опухоли, влияющих на ее рост, дифференцировку, метастатическую активность, а так же на способность иммунной системы реагировать на антиген. В последние годы стало очевидным, что возникновение и прогрессия опухоли во многом связаны со структурными особенностями клеточного генома и его мутациями. С каждым годом увеличивается число публикаций посвященных изучению свойств miRNA, которые участвуют во многих ключевых процессах протекающих в организме эукариот [5]. В последние годы выявлены новые miRNA, обладающие уникальными свойствами. Установлено, что каждая из этих miRNA имеет несколько сот генов-мишеней с высокой степенью связывания с их mRNA [6-8]. Данные об экспрессии разных типов RNA в клетках показывают, что транскрипты miRNA составляют более 50% от всего числа изученных видов RNA, что свидетельствует о важной роли этих молекул [9]. Многие miRNA регулируют экспрессию

генов участвующих в онкогенезе [10-15]. Например, изменения концентрации miRNA наблюдается при развитии рака легких [10, 11], молочной железы [12], органов желудочно-кишечного тракта [13] и рака других локализаций [14, 15]. Некоторые miRNA проявили себя как онкогены [16] или онкосупрессоры [17].

В связи с этим нами изучены характеристики связывания miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии различных субтипов немелкоклеточного рака легких человека.

## Материалы и методы

Все нуклеотидные последовательности mRNA генов заимствовали из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нуклеотидные последовательности miR-574-5p и miR-574-3p получены из базы miRBase (<http://www.mirbase.org>). Программа RNAHybrid использовалась для поиска сайтов связывания, свободной энергии связывания ( $\Delta G$ ) и схемы их взаимодействия. Величину  $\Delta G/\Delta G_m$  использовали в качестве сравнительного количественного критерия силы взаимодействия miRNA с mRNA, где  $\Delta G_m$  равна энергии связи miRNA с полностью комплементарной ей нуклеотидной последовательностью. Программа E-RNAhybrid рассчитывает отношение  $\Delta G/\Delta G_m$ , значение достоверности, определяет область расположения сайта microRNA в 5'-нетранслируемом участке (5'UTR), белок-кодирующей части (CDS) или 3'-нетранслируемом участке (3'UTR). Поиск генов-мишеней для miRNA проводили по программе MirTarget [8]. Для поиска miRNA, онкогенов, онкосупрессоров и других сведений о процессах онкогенеза использованы разработанные в лаборатории программы: программы miRAFinder и GeneAFinder для поиска информации по microRNA и генам; программы TmiRUSite и TmiROSite для поиска нуклеотидных фрагментов mRNA с сайтами связывания и кодируемых ими аминокислотных последовательностей [18, 19].

## Результаты и их обсуждение

Наши исследования показывают, что в качестве маркеров для диагностики крупноклеточной карциномы лёгких и плоскоклеточного рака лёгких можно использовать ассоциации miRNA и генов, участвующих в апоптозе и клеточном цикле. mRNA генов *CDH1*, *CCND1*, *E2F3*, *E2F4*, *TP53*, участвующих в клеточном цикле являются мишенями для ряда miRNA

(таблицы 1-3). Каждый из всех генов мишеней для miRNA может значительно изменить скорость клеточного цикла. mRNA генов апоптоза *TP63*, *BCL2*, *CDKN2A*, *PIK3CA*, *CASP8*, *CFLAR*, *FOXO3*, *SFN* являются мишенями для ряда miRNA (таблицы 1-3). Все эти гены существенно определяют эффективность апоптоза. Установлены связи между несколькими парами miRNA и mRNA 13 генов, участвующих в развитии субтипа LCC (таблица 1).

**Таблица 1** – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии LCC

Ген	Характеристики связывания miRNA
<i>ASCL1</i>	miR-1281, 328-5, 91; miR-5739, 138-5, 92; miR-6817-3p, 1933-C, 92; miR-6878-3p, 4490-3, 91; miR-4317, 3821-C, 90; miR-23a-3p, 3820-C, 90; miR-4271, 153-5, 90; miR-1279, 7196-3, 90; miR-3652, 1173-C, 90.
<i>ACTA2</i>	miR-6834-3p, 608-C, 92.
<i>CDH1</i>	miR-7160-3p, 185-C, 91; miR-1273g-3p, 3269-3, 90; miR-1273h-5p, 3303-3, 91
<i>CEACAM5</i>	miR-1285-5p, 3476-3, 93.
<i>CHGA</i>	miR-6779-5p, 704-C, 90; miR-4487, 808-C, 90; miR-6886-3p, 1337-C, 93; miR-4290, 1510-C, 90.
<i>DSC3</i>	miR-1268a, 5025-3, 94; miR-1273g-3p, 4920-3, 95; miR-4255, 4941-3, 90; miR-566, 5011-3, 92; miR-576-3p, 4240-3, 90.
<i>HTRA1</i>	miR-4792, 253-C, 90.
<i>KRT5</i>	miR-4459, 1896-c, 90.
<i>KRT7</i>	miR-4505, 107-5, 90; miR-6842-3p, 502-c, 90.
<i>NAPSA</i>	miR-3665, 1755-3, 90; miR-4276, 1615-3, 95; miR-4314, 1236-3, 93.
<i>SEMA3B</i>	miR-2861, 2276-C, 96.
<i>TP63</i>	miR-1273f, 1694-C, 96; miR-1322, 1400-C, 90; miR-6127, 1689-C, 90
<i>TTF1</i>	miR-619-5p, 2732-C, 91.
Примечание. Во втором столбце последовательно указаны: miRNA, начало позиции сайта связывания miRNA в mRNA (нт), величина $\Delta G/\Delta G_m$ (%); -5, -C и -3 – сайты локализованы в 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно.	

Известно, что классическими иммуногистохимическими маркерами LCC являются гены *TTF1*, *p63*, *CK5*, *CK7*, дополнительными маркерами – гены *NAPSA*, *DSC3*. Повышенная экспрессия в опухолевых клетках была ранее показана для генов *TTF1*, *CEACAM5*, *NAPSA*, *CK18*, *FOSL1*, *S100A2*, *NSPC*, пониженная экспрессия для гена *CSTA*.

**Таблица 2** – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов повышенно экспрессирующихся при SCC

Ген	Характеристики связывания miRNA
ARHGDI5	miR-4256, 1973-3, 91; miR-593-3p, 59-5, 90
BCL2	miR-1343-5p, 605-с, 90
CCND1	miR-4291, 630-с, 90; miR-4481, 1893-3, 91; miR-4535, 157-5, 93; miR-4731-3p, 507-с, 91; miR-574-5p, 2594-3, 93; miR-6865-3p, 1349-3, 91; miR-877-3p, 1020-с, 93
CDH3	miR-1273h-3p, 412-5, 92; miR-1285-5p, 459-5, 92; miR-130-3, 469-5, 93; miR-1322, 1958-C, 90
DLGAP5	miR-5585-5p, 2703-C, 91
E2F3	miR-1279, 848-C, 90; miR-1281, 376-C, 91
E2F4	miR-426-5, 851-C, 90; miR-6791-3p, 159-C, 91; miR-7704, 79-C, 93
FBXW7	miR-3162-3p, 2136-с, 91
FZD3	miR-28, miR-205
FGFR1	miR-324-3p, 1317-C, 91; miR-4270, 3486-3, 91; miR-4279, 4949-3, 93; miR-428-5, 4825; 90; miR-4311, 3625-3, 91; miR-4736, 1909-C, 92; miR-509-5, 4758-3, 93; 4838-3, 91; miR-619-5p, 4899-3, 95; 4764-3, 93; miR-6784-5p, 3516-3, 91; miR-6886-3p, 31-5; 91
HOXD3	miR-3656, 1306-с, 92; miR-6133, 522-с, 90
MKI67	miR-302e, 7024-с, 90; miR-4275, 2131-с, 90; miR-615-3p, 4203-с, 90.
NOTCH1	miR-1271-5p, 1241-с, 91; miR-3656, 8454-3, 90; miR-4252, 2482-с, 92; miR-4736, 75-с, 90; miR-486-3p, 6090-с, 91.
PIK3CA	miR-1297, 493-C, 90; miR-4426, 96-C, 90; miR-5096, 6410-3, 98; miR-619-5p, 6336-3,93
RPS6KA3	miR-28, miR-205
SOX2	miR-3181, 1272-C, 91; miR-319-5, 1337-C, 92; miR-4271, 340-5, 90; miR-4281, 353-5, 92; miR-4488, 1284-C, 90; miR-6124, 336-5, 90.
S100A1	miR-7150, 424-3, 94.
TP53	miR-1227-5p, 647-с, 92; miR-1273c, 2296-3, 91; miR-1273g-3p, 2316-3, 91; miR-1273h-5p, 2350-3, 91; miR-1285-3p, 2300-3, 95; miR-4314, 2518-3, 91.
TP63	miR-1273f, 1694-C, 96; miR-1322, 1400-C, 90; miR-6127, 1689-C, 90
VEGFA	miR-1281, 2269-3, 91; miR-4258, 1725-с, 92; miR-4279, 344-5, 91; miR-6086, 3212-3, 91; miR-6852-3p, 2887-3, 93.

Примечание. Во втором столбце последовательно указаны: miRNA, начало позиции сайта связывания miRNA в mRNA (нт), величина  $\Delta G/\Delta G_m$  (%); -5, -C и -3 – сайты локализованы в 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно.

**Таблица 3** – Характеристики связывания miRNA с mRNA генов пониженно экспрессирующихся при SCC

Ген	Характеристики связывания miRNA
ACSL1	miR-4258, 8-5, 94; miR-4441, 2311-3; 90
AXIN2	miR-3656, 1719-C, 92; 230-3, 90; miR-4488,1766-C, 94
CACNA2D2	miR-1178-5p, 3843-3, 91; miR-1273f, 4229-3, 90; miR-3178, 3441-C, 90; miR-4281, 2-5, 92; miR-450-5, 3439-C, 92; miR-574-5p, 4665-3, 93; miR-6131, 3513-3, 90
CASP8	miR-1273g-3p, 1879-3, 96; 185-5, 96; miR-130-3, 2603-3, 93; 2579, 93; miR-5585-5p, 1959-3, 91; 1935-3, 91; miR-5684, 1873-3, 90; 1849-3, 90; miR-619-5p, 2487-3, 93; 2463-3, 93; miR-619-5p, 193-5, 91
CCNB1	miR-4291, 151-5, 90
CDC6	miR-1273g-3p, 2286-3, 93; miR-566, 2376-3, 90; miR-5684, 2280-3, 92; miR-6833-3p, 102-5, 90
CFLAR	miR-1273g-3p, 3273-3, 96; 3245-3, 96; 3666-3, 96; miR-1285-5p, 5272-3, 91; 6176-3, 91; 5244-3, 91; 6148-3, 91; 5665-3, 91; 6569-3, 91; miR-4258, 4567-3, 92; 4539-3, 92; 4960-3, 92; miR-4261, 2095-3, 90; 2067-3, 90; 2488-3, 90; miR-4430, 4613-3, 92; 4585-3, 92; 5006-3, 92; miR-509-5, 5931-3, 91; 5903-3, 91; 6324-3, 91; miR-5096, 2033-3,92; 4732-3, 91; 2005-3, 92; 2426-3, 92; 4704-3, 91; 5125-3, 91; miR-5684, 3267-3, 90; 3239-3, 90; 3660-3, 90; miR-619-5p, 1959-3, 95; 5937-3, 95; 1931-3, 95; 5909-3, 95; 2352-3, 95; 6330-3, 95
CX3CL1	miR-1587, 1473-3, 91; miR-4261, 927-C, 90; 3063-3, 90; miR-4524b-3p, 906-C, 90
EGF	miR-1279, 634-C, 90; miR-613-3, 3313-C, 90
FOXO3	miR-4258, 188-5, 90; miR-4327, 1647-C, 90; miR-5096, 6037-3, 96; miR-5585-3p, 6104-3, 91; miR-619-5p, 6097-3, 96; miR-93-5, 557-C, 92
MAD2L1	miR-444-3, 376-C, 91
PPP1R3A	miR-297, 3985-3, 92
PRKAG3	miR-4267, 271-C, 93; miR-4456, 219-C, 93; miR-4516, 1032-C, 91; miR-463-5, 71-C, 90; miR-4664-5p, 326-C, 90; miR-4749-5p, 487-C, 92; miR-550a-3-5p, 1428-C, 90; miR-6870-5p, 1555-3, 90
PRKCB	miR-1321, 440-C, 93; miR-3201, 6572-3, 90; miR-4297, 5124-3, 90; miR-445-5, 7092-3, 90; miR-4466, 122-5, 91; miR-574-5p, 7058-7086-5 (15), 91-95; miR-609, 7363-3, 90
RUNX1	miR-3656, 1430-5; 90; miR-366-5, 2767-C, 92; miR-4430, 2815-C, 90; miR-4508, 59-5, 90; miR-466, 5459-3, 95; 5455-3, 91; miR-4792, 2754-C, 90; miR-6071, 1692-C, 92; miR-6852-3p, 811-5, 91
SFN	miR-466, 1189-1199 (6)-3, 91; miR-6846-5p, 838-3, 91
SMAD4	miR-1273f, 4344-3, 92; miR-1273g-3p, 4311-3, 95; miR-1972, 4551-3, 90; miR-319-5, 3385; 90; miR-5579-5p, 5307-3, 90; miR-574-5p, 7743-7755 (7)-3, 91

Примечание. Во втором столбце последовательно указаны: miRNA, начало позиции сайта связывания miRNA в mRNA (нт), величина  $\Delta G/\Delta G_m$  (%); -5, -C и -3 – сайты локализованы в 5'UTR, CDS и 3'UTR, соответственно.

Нами найдены сайты связывания miRNA с mRNA с величиной  $\Delta G/\Delta G_m$  равной 90% и более для генов *ASCL1*, *ACTA2*, *CDH1*, *CEACAM5*, *CHGA*, *HTRA1*, *SEMA3B*, *TTF1*, экспрессия которых изменяется при LCC. Сайты связывания изученных miRNA локализованы в 5'UTR (14%), CDS (59%) и 3'UTR (27%) mRNA. Наибольшее количество сайтов связывания с высоким сродством выявлено в CDS mRNA генов-мишеней. Уникальные miRNA miR-1273g-3p, miR-1273h-5p, miR-1273f, miR-1322, miR-1285-5p, miR-619-5p имеют сайты связывания с mRNA генов *CDH1*, *DSC3*, *TP63*, *CEACAM5*.

По экспрессии онкобелков в качестве прогностических факторов для плоскоклеточного рака легких особое внимание обращают на себя p53, Vcl-2, VEGF, MKI67. P53 регулирует прохождение клетки по митотическому циклу, требуется для активации некоторых форм апоптоза, и его мутации могут быть связаны с агрессивностью течения заболевания и устойчивостью опухоли к химиотерапии. Выявлен более короткий период общей и безрецидивной выживаемости больных NSCLC с экспрессией мутантного p53. Высокая степень экспрессии мутантного p53 коррелировала с низкой дифференцировкой NSCLC. Vcl-2 – белок, ингибирующий апоптоз. Имеются противоречивые данные о влиянии Vcl-2 на выживаемость больных NSCLC. Показано, что в опухолях больших размеров с метастазами в регионарные лимфатические узлы и низкой степенью дифференцировки выявлялся высокий уровень Vcl2. VEGF – сосудистый фактор роста эндотелия – считается одним из важнейших индукторов опухолевого ангиогенеза. Экспрессия VEGF в плоскоклеточном раке легких обратно коррелировала с общей выживаемостью пациентов и была выше в случаях выявления метастазов в лимфатические узлы. Уровень экспрессии MKI67 – маркер пролиферативной активности. Иммуноокрашивание MKI67 значительно чаще

присутствует в клетках поздней G1, S, G2 и M фазах клеточного цикла. Уровень MKI67 коррелирует со степенью дифференцировки опухоли.

Для типа SCC выявлены 39 генов с четко установленной экспрессией в тканях опухоли, профиль которой отличается для разных генов (таблицы 2, 3). Выявлены 22 генов, для которых наблюдается повышенная экспрессия при SCC. Показана повышенная экспрессия транскрипционных факторов семейства *E2F* (*E2F3* и *E2F4*), *SOX2*, *TP63* при SCC. Понижена экспрессия транскрипционных факторов *ASCL1*, *FOXO3*, *PRKCB*, *RUNX1*, *SMAD4*. Гены *TOP2A*, *CCNB1*, *MELK*, *MAD2L1*, *SFN*, *CDC6*, *ASPM*, *TOPBP1* имели выраженную пониженную экспрессию при SCC. Одной из потенциальных молекулярных мишеней при плоскоклеточном раке легких является *FGFR1*. Опухолевые супрессоры *DLG1* и *DLGAP5* повышено экспрессировались, *TGFBR2*, *CDKN2A* подавлялись при SCC.

Гены апоптоза и клеточного цикла *BCL2*, *CDKN2A*, *CCND1*, *PIK3CA* имели повышенную экспрессию, а гены *CASP8*, *CFLAR*, *FOXO3*, *MAD2L1*, *SFN*, *SMAD4* имели пониженную экспрессию при SCC.

mRNA генов *CCND1*, *CDH3*, *FGFR1*, *PIK3CA*, *TP53*, *TP63* являются мишенями для miR-574-5p, miR-1273h-3p, miR-1285-5p, miR-1322, miR-619-5p, miR-5096, miR-1273c, miR-1273g-3p, miR-1273h-5p, miR-1273f, miR-1322. Приведенные в таблицах 1 – 3 данные по этим miRNA и их генам мишеням позволяют сформировать ассоциации miRNA и их генов в мишеней для диагностики субтипов немелкоклеточного рака легких.

В результате исследования взаимодействия miRNA с mRNA генов, участвующих в развитии различных субтипов немелкоклеточного рака легких, выявлены ассоциации miRNA и их генов которые являются основой разработки метода ранней диагностики субтипов немелкоклеточного рака легких.

## References

- 1 Travis W., Brambilla E., Mueller-Hermelink H., Harris C. World health organization classification of tumors. Pathology and genetics: tumors of the lung, pleura, thymus and heart // World health organization. – Geneva, 2004. – P. 341.
- 2 Тажединов И. Современные аспекты развития ядерной медицины в онкологии Казахстана // Общие вопросы диагностики и лечения в онкологии. Материалы Съезда онкологов и радиологов Казахстана. – Алматы, 2014. – 143с.
- 3 Koyi H., Hillerdal G., Branden E. A prospective study of a total material of lung cancer from a county in Sweden 1997-1999: gender, symptoms, type, stage, and smoking habits // Lung Cancer. – 2002. – Vol. 36. – P. 39.
- 4 Visbal A.L., Williams B.A., Nichols F.C. et al. Gender differences in non-small-cell lung cancer survival: an analysis of 4,618 patients diagnosed between 1997 and 2002 // The Annals of Thoracic Surgery. – 2004. – Vol. 78. – P. 209–215.
- 5 Li Q., Li X., Guo Zh., et al. MicroRNA-574-5p was pivotal for TLR9 signaling enhanced tumor progression via down-regulating checkpoint suppressor 1 in human lung cancer // Plos One. – 2012. – Vol. 7. – e48278.

- 6 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva S. Binding sites of mir-1273 family on the mRNA of target genes // *Biomed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 620530.
- 7 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva Sh. The properties of binding sites of miR-619-5p, miR-5095, miR-5096 and miR-5585-3p in the mRNAs of human genes // *Biomed Research International*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 720715.
- 8 Ivashchenko A., Berillo O., Pyrkova A., Niyazova R., Atambayeva Sh. MiR-3960 binding sites with mRNA of human genes // *Bioinformation*. – 2014. – Vol. 10(7). – P. 423-427.
- 9 Cheng Q., Yi B., Wang A., Jiang X. Exploring and exploiting the fundamental role of microRNAs in tumor pathogenesis // *Onco Targets Ther*. – 2013. – Vol. 6. – P. 1675-1684.
- 10 Guz M., Rivero-Muller A., Okon E., et al. MicroRNAs-role in lung cancer // *Disease Markers*. – 2014. – Vol. 2014. – P. 218169.
- 11 Gao Y., Gao F., Ma J.L., et al. The potential clinical applications and prospects of microRNAs in lung cancer // *Journal of Onco Targets and Therapy*. – 2014. – Vol. 7. – P. 901-906.
- 12 Waters P.S., Dwyer R.M., Brougham C., et al. Impact of tumour epithelial subtype on circulating microRNAs in breast cancer patients // *Plos one*. – 2014. – Vol. 9(3). – e90605.
- 13 Zhang X., Wei J., Zhou L., et al. A functional BRCA1 coding sequence genetic variant contributes to risk of esophageal squamous cell carcinoma // *Carcinogenesis*. – 2013. – Vol. 34(10). – P. 2309-2313.
- 14 Chan W.L., Yuo C.Y., Yang W.K., Hung S.Y., Chang Y.S., Chiu C.C., Yeh K.T., Huang H.D., Chang J.G. Transcribed pseudogene  $\psi$ PPMIK generates endogenous siRNA to suppress oncogenic cell growth in hepatocellular carcinoma // *Nucleic Acids Research*. – 2013. – Vol. 41(6). – P. 3734-3747.
- 15 Li X., Chen Y.T., Jossen S., Mukhopadhyay N.K., Kim J., Freeman M.R., et al. MicroRNA-185 and 342 inhibit tumorigenicity and induce apoptosis through blockade of the SREBP metabolic pathway in prostate cancer cells // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8. – No. 8. – e70987.
- 16 He L., Thomson J.M., Hemann M.T., Hernando-Monge E., Mu D., Goodson S., Powers S., Cordon-Cardo C., Lowe S.W., Hannon G.J., et al. A microRNA polycistron as a potential human oncogene // *Nature*. – 2005. – Vol. 435. – P. 828-833.
- 17 Griffiths-Jones S., Enright A.J., Farazi T.A. et al. MicroRNA research // *The 2008 Collection booklet: Exiqon*. – 2008. – P. 36.
- 18 Berillo O., Regnier M., Ivashchenko A.T. miRAFinder and GeneAFinder scripts: large-scale searching for microRNA and related information in indexed literature abstracts // *Bioinformation*. – 2014. – Vol. 10(8). – P. 539-543.
- 19 Berillo O., Regnier M., Ivashchenko A.T. TmiRUSite and TmiROSite scripts: searching for mRNA fragments with microRNA binding sites and their encoded for amino acid sequences // *Bioinformation*. – 2014. – Vol. 10(7). – P. 472-473.