

УДК 577.2: 616-006

А.С. Исабекова*, В.Б. Огай

РГП «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан,

*e-mail: venerah07@mail.ru

Саморегуляция раковых стволовых клеток толстой кишки

Высокая смертность от рака толстой кишки и низкий процент полного выздоровления от рака связаны с существованием опухоли инициирующих раковых стволовых клеток (РСК). РСК обладают такими свойствами как выживаемость, отсутствие чувствительности к апоптозу. Эти свойства РСК способны регулировать аутокринным путем. В нашей работе была создана база данных по аутокринным стимуляторам РСК толстой кишки. Понимание защитных механизмов РСК поможет разработать эффективные методы элиминации этих клеток.

Ключевые слова: рак толстой кишки, раковые стволовые клетки, аутокринные стимуляторы, цитокины, ростовые факторы.

А.С. Исабекова, В.Б. Огай

Тоқ ішек бағаналы ісік жасушаларының өздігінен реттелуі

Тоқ ішек ісігінен өлім дәрежесінің жоғары болуы және ісіктен толық айығу үлесінің төмен болуы бағаналы ісік жасушаларымен (БІЖ) байланысты екені белгілі. БІЖ өміршеңдік, апоптозға сезімталдықтық болмауы сияқты қасиеттері бар. Бұл қасиеттерді БІЖ аутокринды жолмен реттей алады. Біздің жұмыста тоқ ішек БІЖ аутокринды реттеушілерінің мәліметтер базасы жасалды. БІЖ қорғаныс механизмдерін түсіну бұл жасушаларды жою әдістерін шығаруға көмектеседі.

Түйін сөздер: тоқ ішек ісігі, бағаналы ісік жасушалары, аутокринды реттеушілер, цитокиндер, өсу факторлары.

A.S. Issabekova, V.B. Ogay

Colon cancer stem cells self regulation

Colon cancer high death rate and low percentage of recovery depend on tumor initiating cancer stem cells (CSCs). CSCs have ability such as survival in stress condition, absence of sensitivity to apoptose. These properties CSCs can regulate by autocrine way. In our work it was created data base of colon CSCs autocrine inductors. Understanding of CSCs protection mechanisms help to develop effective elimination methods of these cells.

Keywords: colon cancer, cancer stem cells, autocrine inductors, cytokines, growth factors.

Рак толстой кишки входит в тройку самых распространенных онкозаболеваний во всем мире [1]. По смертности это заболевание стоит на четвертом месте (после рака легкого, желудка и печени) среди всех новообразований в мире [2, 3] и составляет примерно 33% летальных исходов в развивающихся странах [4]. В Америке, несмотря на достижения современной медицины, около 50 % случаев колоректального рака имеют рецидивы [5]. Возобновление рака, а также образование метастаз связывают с наличием опухоли индуцирующих раковых стволовых

клеток (РСК). Разработка эффективных методов борьбы против раковых стволовых клеток позволило бы излечить больных раком на поздних стадиях выявления. Стволовые раковые клетки обладают множеством защитных механизмов, у этих клеток существуют насосы для выведения лекарств, не имеют чувствительность к апоптозному сигналу, активируют эпителиально-мезенхимальную трансформацию. В данной работе составлена база данных по стимуляторам, которые выделяют раковые стволовые клетки для включения этих механизмов.

Материалы и методы

База данных по аутокринным индукторам раковых стволовых клеток толстой кишки были создана на основе анализа литературных данных за последние десять лет. Источниками статей были следующие базы данных: PubMed (www.pubmed.gov), BioMedCentral. На данный момент проанализировано более 100 статей по РСК толстой кишки.

Результаты и их обсуждения

Раковые стволовые клетки – это высоко туморогенные клетки, которые могут создавать фенокопии опухоли в иммунодефицитных мышах [6]. РСК выделяют ряд регуляторных факторов, которые поддерживают их рост и пролиферацию. В результате анализа литературных данных создана база данных по аутокринным регуляторам раковых стволовых клеток толстой кишки, которая включает 9 индукторов (EGF, IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IL-32, TGF- β) (таблица 1).

Во главе списка стоит EGF, который является основным из аутокринных стимуляторов рака толстой кишки в связи с воздействием на пролиферацию. Рецептор к EGF (EGFR) экспрессируется у 70-75% пациентов с этим заболеванием. На данный момент терапия на основе антител против EGFR рецептора является одной из эффективных и мало токсичных видов лечения на поздних стадиях рака толстой кишки. Для применения антител к EGFR необходимо удостовериться в отсутствии мутаций в гене KRAS, который является внутриклеточным звеном в EGF сигнальной системы. EGFR имеет 11 лигандов, основными из них считаются EGF и TGF α [7].

IL-1 α играет важную роль в прогрессировании опухоли и ангиогенезе при раке толстой кишки. Фактор детектируется в клеточных линиях рака толстой кишки с высоким потенциалом к метастазированию. Активация продукции IL-1 α происходит после индукции VEGF, TNF, IL-1, IL-6. **IL-1 receptor antagonist (IL-1ra)** является природным соединением, которое связывает IL-1, но не происходит активации рецептора. IL-1ra используется для лечения ревматоидного артрита. На зенографтных моделях было показано, что **IL-1ra может ингибировать рост, ангиогенез и метастазирование опухоли** [8].

Экспериментальные работы показали, что карциномы выделяют IL-4 и IL-10, которые изменяют чувствительность рецепторов смерти и на клеточную смерть индуцированной цитотоксичными лекарствами. Устойчивость раковых клеток толстой кишки к апоптозу обусловлена экспрессией антиапоптозных белков ассоциированных с аутокринной продукцией IL-4 [9]. Продукция IL-4 модулирует рецепторы смерти и чувствительность к апоптозу индуцированного химиотерапией. Феномен IL-4 не связан со стадией опухоли и наличия MSI [9]. Обработка опухоли анти-IL-4 антителами показало подавления экспрессии таких антиапоптозных белков как cFLIP, PED, Bcl-xL. Воздействие IL-22 на РСК приводит к синтезу IL-10 [10].

TGF- β имеет противоопухолевую активность через индукцию апоптоза. TGF- β индуцированный апоптоз обусловлен увеличением экспрессии Vim, который в свою очередь регулируется через RUNX3 [11]. У мышей с Runx3 $^{-/-}$ генотипом развивается рак эпителия желудка из-за отсутствия активности апоптоза, что сви-

Таблица 1 – Аутокринные регуляторы РСК толстой кишки

Фактор	Полное наименование	Действие
EGF	epidermal growth factor	Увеличивает популяцию CD133+ клеток
IL-1 α	Interleukin-1	Стимулирует рост, ангиогенез и метастазирование
IL-4	Interleukin-4	Повышает синтез анти-апоптозных белков, увеличивает выживаемость
IL-6	Interleukin-6	Активирует STAT3 и выживаемость РСК
IL-8	Interleukin-8	Участвует в активации генов <i>SOX2</i> , <i>OCT4</i> , <i>NANOG</i> и индуцирует пролиферацию, выживание и миграцию опухоли
IL-10	Interleukin-10	Стимулирует анти-апоптозные белки, активатор STAT3
IL-11	Interleukin-11	Активирует STAT3
IL-32	Interleukin-32	Активирует туморогенный эффект, стимулирует oct4
TGF- β	Transforming growth factor- β	Стимулирует противоопухолевую активность, активирует ЭМТ

детельствует об основной роли RUNX3 в TGF- β ассоциированной супрессии рака [12]. Онко-супрессорный TGF- β сигнальный путь антагонист Wnt сигнального пути. RUNX3 и T-cell factor 4 (TCF4) связывается друг с другом и формирует комплекс с β -catenin, таким образом участники TGF- β сигнального пути негативно регулируют экспрессию генов мишеней Wnt пути [13]. Противоопухольевую активность TGF- β проявляет только при кратковременном влиянии, при длительном воздействии TGF- β запускает эпителиально-мезенхимальную трансформацию. Ключевым процессом в метастазировании и малигнизации опухоли играет процесс эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ). Можно выделить ряд цитокинов, которые участвуют в ЭМТ: TGF β , EGF, HGF, FGF. ЭМТ одна из основных и начальных стадий инвазивности и метастазирования. Эпителиальные клетки, которые входят в ЭМТ теряют межклеточные адгезивные молекулы, полярность, приобретают мезенхимальный фенотип, подвижность и инвазивность. Во время ЭМТ Wnt, TGF β , FGF, EGF факторы приводят к активации транскрипционных репрессоров таких как ZEB1, Twist, Snail1 и 2, которые непосредственно или косвенно ингибируют экспрессию E-cadherin [14].

Генетические исследования показали, что IL-6 и IL-11 одинаково способны активировать STAT3 зависимый эпителиальную устойчивость к апоптозу, который индуцируется декстраном натрия сульфата [15]. IL-11 защищает от апоптоза, активатором которой является радиация. При генетическом дефекте рецептора к IL-11 –

IL-11R α развивается рак желудка [16]. IL-11 экспрессируется на эпителиальных и стромальных клетках кишечника, и транскрипционно активируется за счет STAT3 активации.

IL-8 участвует в прогрессировании рака, стимулируя ангиогенный ответ эндотелиальных клеток, привлекая нейтрофилы в область опухоли, индуцируя пролиферацию, выживание и миграцию опухоли. В клеточных линиях рака толстой кишки при помощи инкубации клеток с TGF- β или повышения экспрессии SNAIL индуцируется ЭМТ и происходит активация синтеза и секреции IL-8 [17]. В экспериментальных работах было выявлено, что SNAIL присоединяется к E3/E4 E-боксу в промоторной области IL-8 и запускает экспрессию гена. Эксперименты по выключению гена показали, что IL-8 играет важную роль в ЭМТ и стволовости раковых клеток. Блокирование сигнала IL-8 приводит к понижению экспрессии генов стволовых клеток, таких как SOX2, OCT4, NANOG [18].

В другой работе было показано, что у РСК, у которых наблюдается сверх экспрессия Oct4, активируется продукция IL-8 и IL-32. Антитела, нейтрализующие IL-8 и IL-32, блокируют опухолевый эффект, который был индуцирован высокой экспрессией Oct4. Эти данные подтверждают, что IL-8 и IL-32 играют значимую роль в поддержании свойств РСК [19].

Таким образом, РСК обладают несколькими альтернативными путями, которые обеспечивают такие качества как устойчивость к апоптозу, пролиферативную активность, активацию ЭМТ.

Литература

- 1 Земляной В.П., Трофимова Т.Н., Непомнящая С.Л. др. Современные методы диагностики и оценки степени распространенности рака ободочной и прямой кишки // Практическая онкология. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 71-80.
- 2 Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // Int J Cancer. – 2010. – Vol. 127, № 12. – P. 2893-2917.
- 3 Bray F., Ren J.S., Masuyer E. et al. Global estimates of cancer prevalence for 27 sites in the adult population in 2008 // Int J Cancer. – 2012. – doi: 10.1002/ijc.27711.
- 4 Cunningham D., Atkin W., Lenz H.J. et al. Colorectal cancer // The Lancet. – 2010. – Vol. 375, № 9719. – P. 1030-1047.
- 5 Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance // Nat Rev Cancer. – 2005. – Vol. 5, № 4. – P. 275-284.
- 6 Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B. et al. Cancer stem cells—perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on cancer stem cells // Cancer Res. – 2006. – Vol. 66. – P. 9339-44.
- 7 A.M. Krasinskas. EGFR Signaling in Colorectal Carcinoma // Pathology Research International. – 2011. – Vol. 2011. – ID 932932.
- 8 Lewis A.M., Varghese S., Xu H. et al. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment // Journal of Translational Medicine. – 2006. – Vol. 4, № 48. – doi:10.1186/1479-5876-4-48.
- 9 Todaro M., Alea M.P., Stefano A.B.D. et al. Colon Cancer Stem Cells Dictate Tumor Growth and Resist Cell Death by Production of Interleukin-4 // Cell Stem Cell. – 2007. – Vol. 1. – P. 389-402.

- 10 Zenewicz L.A., Flavell R.A. IL-22 and inflammation: leukin' through a glass onion // *Eur J Immunol.* – 2008. – Vol. 38. – P. 3265-3268.
- 11 Yano T., Ito K., Fukamachi H. et al. The RUNX3 tumor suppressor upregulates Bim in gastric epithelial cells undergoing transforming growth factor β -induced apoptosis // *Mol Cell Biol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 4474–88.
- 12 Li Q.L., Ito K., Sakakura C. et al. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer // *Cell.* – 2002. – Vol. 109. – P. 113–24.
- 13 Ito K., Lim A.C., Salto-Tellez M. et al. RUNX3 attenuates β -catenin/T cell factors in intestinal tumorigenesis // *Cancer Cell.* – 2008. – Vol. 14. – P. 226–37.
- 14 Spaderna S., Schmalhofer O., Wahlbuhl M. et al. The transcriptional repressor ZEB1 promotes metastasis and loss of cell polarity in cancer // *Cancer Res.* – 2008. – Vol. 68. – P. 537–544.
- 15 Waldner M.J., Foersch S., Neurath M.F. Interleukin-6 – A Key Regulator of Colorectal Cancer Development // *Int. J. Biol. Sci.* – 2012. – Vol. 8. – P.1248-1253.
- 16 Wang R.J., Peng R.Y., Fu K.F. et al. Effect of recombinant human interleukin-11 on expressions of interleukin-11 receptor alphachain and glycoprotein 130 in intestinal epithelium cell line-6 after neutron irradiation // *World J Gastroenterol.* – 2006. – Vol. 12. – P. 3055-3059.
- 17 Bates R.C., DeLeo M.J., Mercurio A.M. The epithelial–mesenchymal transition of colon carcinoma involves expression of IL-8 and CXCR-1-mediated chemotaxis // *Exp. Cell Res.* – 2004. – Vol. 299, № 2. – P. 315–324.
- 18 Hwang W.L., Yang M.H., Tsai M.L. et al. SNAIL regulates interleukin-8 expression, stem cell-like activity, and tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells // *Gastroenterology.* – 2011. – Vol. 141, №1. – P. 279–291.
- 19 Chang C.-J., Chien Y., Lu K.-H. et al. Oct4-related cytokine effects regulate tumorigenic properties of colorectal cancer cells // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* – 2011. – Vol. 415, № 2. – P. 245–251.