

УДК 575.224

О.Х. Хамдиева\*, Г.К. Закирьянова, З.М. Бияшева

Казахский Национальный Университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан

\*e-mail: azadahamdieva@gmail.com

**Участие C-Kit протоонкогена в развитии опухоли**

Приведен обзор литературы по вопросам взаимосвязи протоонкогена C-Kit с индукцией опухоли. В экспериментальных статьях показано, что C-Kit играет ключевую роль в возникновении опухоли. Мутации в этом гене вызывают специфическую экспрессию определенных генов, нарушают регуляцию клеточной дифференцировки, пролиферации и препятствуют клеточному апоптозу. Была обоснована ведущая роль c-Kit в развитии опухоли, что позволяет использовать его в качестве мишени в терапии рака.

**Ключевые слова:** протоонкоген c-Kit, лиганд c-Kit (Stem cell factor – SCF), пролиферация, онкология, терапия.

Хамдиева О. Х., Закирьянова Г. К., Бияшева З. М.

**C-Kit протоонкогенінің ісік дамуына қатысуы**

C-Kit протоонкогені ісік индукциясымен байланысу сұрақтарына арналған әдебиеттер шолуы келтірілген. C-Kit ісік пайда болуында маңызды рөл ойнайтынын эксперименталді мақалаларда көрсетілген. Бұл геннің мутациялары нақтылы гендердің ерекше экспрессияларына келтіреді, жасушалар дифференциасының регуляциясын, пролиферацияны бұзады және жасушалар апоптозына кедергі келтіреді. C-Kit ісік дамуындағы жетекші рөлі дәлелдеген, бұл оны обырдың терапиясында нысана ретінде пайдалануға мүмкіндік береді.

**Түйін сөздер:** протоонкоген c-Kit, лиганд c-Kit (Stem cell factor – SCF), пролиферация, онкология, терапия.

O.Kh. Khamdiyeva, G.K. Zakiryanova, Z.M. Biyasheva

**C-Kit proto-oncogene participation in tumor development**

The literature on the proto-oncogene C-Kit binding with the induction of tumor is given. In experimental papers is shown that C-Kit plays a main role in the tumor occurrence. Mutations in this gene cause specific expression of certain genes, disrupt the regulation of cellular differentiation, proliferation and inhibit cellular apoptosis. The leading role of c-Kit in the development of tumors was explained, it can be used as a target in cancer therapy.

**Keywords:** proto-oncogene c-Kit, c-Kit ligand (Stem cell factor – SCF), proliferation, oncology, therapy.

Протоонкоген c-Kit является трансмембранным тирозинкиназным рецептором III типа, имеет высокую степень гомологии с рецепторами тромбоцитарного фактора роста (PDGF) и колониестимулирующего фактора роста (CSF-1 или c-fms). C-Kit экспрессируется на гемопоэтических стволовых клетках, тучных клетках, гаметоцитах, меланоцитах, внутриэпителиальных лимфоцитах, внутрипротоках эпителия молочных желез и интестинальных клетках Кайала желудочно-кишечного тракта [1]. C-Kit является важным фактором для развития и поддержания жизнедеятельности этих типов клеток. Биологические эффекты c-Kit реализуются путем высокоспецифического связывания трансмембранного рецептора с лигандом. Лигандом c-Kit

является фактор стволовых клеток (Stem cell factor — SCF) – гемопоэтический цитокин, который играет важную роль в поддержании жизнеспособности гемопоэтических клеток, способствуя пролиферации, дифференциации клеток крови, а также регулируя их рост и развитие [2]. Недавние исследования показали, что аномальная экспрессия генов и аномальная экспрессия продуктов вызываются мутациями в c-Kit и являются ключевой причиной возникновения желудочно-кишечных стромальных опухолей [3]. Создание препаратов, для которых c-Kit рецептор является мишенью, способствуют развитию клинической диагностике и лечению рака.

**Обсуждение.** Структура c-Kit рецептора. Рецептор тирозинкиназы c-Kit (также называе-

мый рецептор фактора стволовых клеток или CD117) был обнаружен и описан немецким биохимиком Аксель Ульрих в 1987г. как клеточный гомолог вирусного онкогена *v-kit*, который был выделен в 1986 из ретровируса кошки [4]. Протоонкоген *c-Kit* локализуется на хромосоме 4q12, имеет общую длину 90 Кб. Протоонкоген *c-Kit* состоит из 21 экзона и кодирует 976 аминокислотных остатка. Внеклеточный домен *c-Kit* рецептора состоит из 519 аминокислот, трансмембранный домен из 23 аминокислот, и внутриклеточная часть из 433 аминокислот. Внеклеточный домен содержит 5 иммуноглобулиноподобных домена D1- D5 (рисунок 1), D1-D3 являются ключевым компонентом *c-Kit* при связывании с SCF, а D4 – D5 выполняют роль основного региона димеризации [5].

Внутриклеточный домен содержит домен тирозинкиназы, который разделен на 2 части. Одна часть киназного домена имеет важное значение для связывания АТФ, а другая часть необходима для передачи фосфатной группы, что приводит к активации киназы.

На рисунке 2 схематически показано, что 9 экзон кодирует внеклеточную область *c-Kit*,

который участвует в димеризации рецептора, 11 экзон кодирует около-мембранную область. Связывающий АТФ домен *c-Kit* кодируется 13 экзоном, а 17 экзон кодирует фосфотрансферазную область этого белка.

В силу альтернативного сплайсинга РНК у человека имеются четыре изоформы *c-Kit*. Две изоформы характеризуются отсутствием или присутствием остатка серина в области вставки киназы. Функция этого серина не известна. Разница между двумя другими изоформами связана с участком из четырех аминокислот, близко расположенном к плазматической мембране на внеклеточной стороне. Последние изоформы были изучены на молекулярном уровне и было выяснено, что они существенно различаются в способности индуцировать передачу сигнала [7].

*Сигнальный путь c-Kit рецептора.* Сигнальный путь *c-Kit* рецептора играет важную роль в регуляции синтеза эритроцитов, пролиферации лимфоцитов, развитии и функционировании тучных клеток, образовании меланина и образовании гамет. Специфическое связывание SCF вызывает гомологичную димеризацию и в даль-

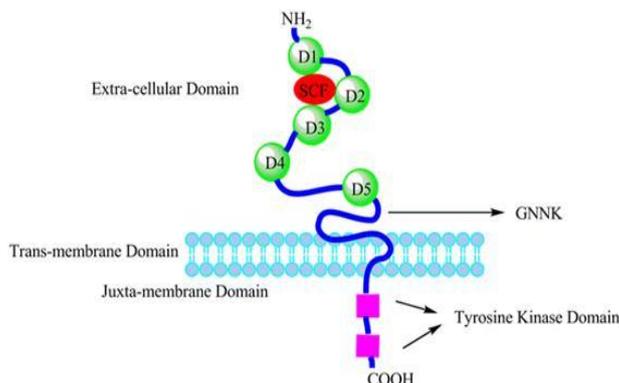


Рисунок 1 – Схематическое строение *c-Kit* [6]

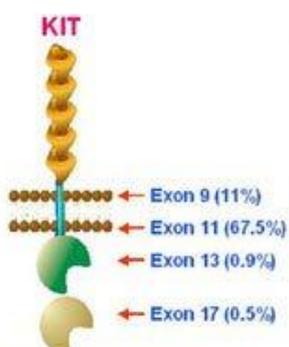


Рисунок 2 – Схематическое изображение *c-Kit* рецептора с указанием экзонов [6]

нейшем сигнальную трансдукцию. Впоследствии регулирует экспрессию гена, рост, пролиферацию и дифференцировку клеток.

Механизм активации с-Kit рецептора был изучен Сатору Юдзава и др. Связывание SCF с внеклеточным доменом с-Kit приводит к димеризации двух мономеров этого рецептора и тем самым к его активации. В результате активации с-Kit рецептора происходит аутофосфорилирование остатков тирозина в основном за пределами киназного домена и в киназном домене в положении 823 и 900 [8, 9.]. Аутофосфорилирование выполняет две функции: во-первых, увеличивает активность киназы, и во-вторых, создает высокое сродство взаимодействия гомологов 2 (SH2) Src белков или фосфотирозин-связывающего (PTB) домена [6, 10]. Белки, взаимодействующие с активированным рецептором могут затем, в свою очередь фосфорилироваться и инициировать передачу сигнала. Кроме фосфорилирования тирозина в с-Kit также фосфорилируется серин и треонин. Важность этого фосфорилирования не ясна в настоящее время. Тем не менее, в случае PKC-зависимого фосфорилирования S741 и S746 происходит торможение активности с-Kit тирозинкиназы, следовательно, создается отрицательная обратная связь [11].

*Участие с-Kit рецептора в развитии опухоли.* Роль с-Kit при образовании опухоли несколько неоднозначна. С одной стороны, несколько типов опухолей связаны с активацией с-Kit, экспрессией его лиганда или мутацией, либо это происходит через сверхэкспрессию. С другой стороны, есть опухоли, такие как рак молочной железы, рак щитовидной железы и меланомы, в котором прогрессия опухоли в злокачественную происходит одновременно с потерей экспрессии с-Kit. На самом деле, вынужденная экспрессия с-Kit в сильно метастатической меланоме приводит к с-Kit индуцированному апоптозу [12].

Мутации, нарушающие функцию тирозинкиназ и тем самым приводящие к возникновению рака, были известны еще в начале 1980-х годов. Активирующие мутации в этом гене, связанные с гастроинтестинальной стромальной опухолью желудка, тестикулярной семиномой, мастоцитозом, меланомой, острым миелоидным лейкозом.

Мутации часто происходят в мембране проксимального иммуноглобулин-подобного

домена (D5, 8 и 9 экзон), недалеко от мембранного домена (11 экзон) и домена тирозинкиназы (17 экзон). Мутации представляют собой делеции, точковые мутации, дупликации и инсерции, которые могут привести к активации с-Kit рецептора. Последние данные свидетельствуют о том, что мутации в экзоне 11 и в экзоне 17 могут уменьшить самоингибирование, что приведет к устойчивой активации с-Kit рецептора [13].

При желудочно-кишечных стромальных опухолях (GIST), мутации с-Kit наблюдаются примерно у 85% опухолей, и эти возникшие мутации активируют рецептор с-Kit, что и приводит к росту опухоли. Мутации с-Kit при GIST наиболее часто расположены в 11 экзоне, который кодирует около-мембранную область с-Kit. Этот регион ассоциируется в диком типе с-Kit киназным доменом, в котором происходит подавление активности тирозинкиназы. Мутации в этом регионе приводят к освобождению этого подавления и активации тирозинкиназы. Менее распространенные мутации происходят в 9 экзоне (кодирующей внеклеточную часть с-Kit) и в 17 экзоне (кодирующий киназный домен). Также при стромальных желудочно-кишечных опухолях (GIST) обнаружены повторение фрагментов Ala503 ~ Tyr502 и Ala502 ~ Phe506 [14].

Делеции или инсерции в экзоне 8 (либо отсутствует либо заменен Asp419) найдены при остром миелоидном лейкозе (AML). Почти все мутации, активирующие протоонкоген возникают на поверхности D5-D5 и эти мутации могут повысить сродство соседних D5-D5 доменов [15]. Кроме того, паракринная или аутокринная активация с-Kit рецептора может играть важную роль при многих других злокачественных заболеваниях человека, таких как рак яичников, мелкоклеточный рак легких и другие виды опухолей [16].

**Заключение.** В результате исследований, проведенных в последние десятилетия понимание молекулярных механизмов рака углубилось, и ясно, что множество опухолей сверхэкспрессируются и зависят от киназ. Это делает белки надсемейства киназ главной мишенью для терапии рака. Поэтому С-kit – подходящая мишень для дальнейшего развития лекарственных препаратов, которые могут найти применение при лечении множества злокачественных новообразований человека.

В силу разнообразных причин, нерегулярное развитие, нестабильный фенотип, сложные механизмы пролиферации и дифференцировки, несколько клеточных путей сигнальной трансдукции и другие особенности, осложняют лечение рака. При терапии однонаправленными препаратами ожидаемый результат достигается с трудом. Хотя многоцелевые препараты (действующие на большое количество мишеней) позволили сделать большой шаг вперед в терапии рака, при этом многие ингибиторы киназ блокируют нормальный путь передачи сигнала. В совокупности, низкотоксичные и многоцелевые противораковые препараты исследуются наиболее интенсивно. Кроме того G-богатые области c-Kit рецепторного промотора являются важной потенциальной мишенью при лечении рака.

Традиционная химиотерапия не достаточно эффективна при лечении многих видов рака из-за ее неспецифического блокирования деления опухолевых клеток и повреждения нормальных клеток. Также GIST у пациентов при полном удалении опухоли сохраняет высокую вероятность рецидива. Появление и развитие c-Kit антител, особенно моноклональных, способствует исследованию c-Kit рецептора при непрерывном механизме активации. Считается, что димеризация c-Kit рецептора тесно связана с его непрерывной активацией и, следовательно, рассматривается c-Kit рецептор-опосредованный опухолевый патогенез. Углубленное всестороннее исследование c-Kit рецептора в качестве мишени для терапии рака, характеризуется специфичностью и низкой токсичностью и становится все более актуальной.

#### Литература

- 1 Galli S.J., Zsebo K.M., Geissler E.N. The kit ligand, stem cell factor // *Adv Immunol.* – 1994. – Vol. 55. – P. 1-96.
- 2 Chen SQ, Xiong AQ. The progress and implication of stem cell factor // *Basic Medical Sciences and Clinics.* – 2002. – Vol. 22(5). – P. 385-390.
- 3 Antonescu CR. The GIST paradigm: lessons for other kinase-driven cancers // *J Pathol.* – 2011. – Vol. 223(2). – P. 251-261
- 4 Besmer P, Murphy JE, George PC, et al. A new acute transforming feline retrovirus and relationship of its oncogene v-kit with the protein kinase gene family // *Nature.* – 1986. – Vol. 320 (6061). – P.415-421
- 5 Lemmon MA, Ferguson KM. A new twist in the transmembrane signaling tool-kit // *Cell.* – 2007. – Vol. 130 (2). – P. 213-215
- 6 Jing Liang, Yan-Ling Wu, Bing-Jia Chen, Wen Zhang, Yoshimasa Tanaka and Hiroshi Sugiyama. The C-Kit Receptor-Mediated Signal Transduction and Tumor-Related Diseases // *International Journal of Biological Sciences.* – 2013. – Vol. 9(5). – P. 435-443
- 7 Voytyuk, O.; Lennartsson, J.; Mogi, A.; Caruana, G.; Courtneidge, S.; Ashman, L. K.; Ronnstrand, L. Src family kinases are involved in the differential signaling from two splice forms of c-Kit // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 9159-9166
- 8 Maulik, G.; Bharti, A.; Khan, E.; Broderick, R. J.; Kijima, T.; Salgia, R. Modulation of c-Kit/SCF pathway leads to alterations in topoisomerase-I activity in small cell lung cancer // *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* – 2004. – Vol. 23. – P. 237-251
- 9 L. Rönstrand Signal transduction via the stem cell factor receptor/c-Kit // *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.* – 2004. – Vol. 61. – P. 2535–2548
- 10 Pawson T. Protein modules and signalling networks // *Nature.* – 1995. – Vol. 373. – P. 573-580
- 11 Blume-Jensen, P.; Runnstrand, L.; Gout, I.; Waterfield, M. D.; Heldin, C. Modulation of kit/stem cell factor receptor –induced signaling by protein kinase C // *J. Biol. Chem.* – 1994. – Vol. 269. – P. 21793- 21802
- 12 Huang, S.; Luca, M.; Gutman, M.; McConkey, D. J.; Langley, K. E.; Lyman, S. D.; Bar-Eli, M. Enforced c-KIT expression renders highly metastatic human melanoma cells susceptible to stem cell factor-induced apoptosis and inhibits their tumorigenic and metastatic potential // *Oncogene.* – 1996. – Vol.13. – P. 2339-2347
- 13 Shen HQ, Tang YM, Yang SL, et al. Analysis of CD117 expression on leukemia cells // *Chinese Journal of Hematology.* – 2003. – Vol. 24(5). – P. 516-521
- 14 J. Lennartsson and L. Ronnstrand The Stem Cell Factor Receptor/c-Kit as a Drug Target in Cancer // *Current Cancer Drug Targets.* – 2006. – Vol.6. – P.561-571
- 15 Heinrich M, Blanke CD, Druker BJ, et al. Inhibition of KIT tyrosine kinase activity: a novel molecular approach to the treatment of KIT-positive malignancies // *J Clin Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 1692-1703
- 16 Krystal GW, Hines SJ, Organ CP. Autocrine growth of small cell lung cancer mediated by coexpression of c-kit and stem cell factor // *Cancer Res.* – 1996. – Vol. 56(2). – P.370-376