

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Национальный исследовательский Томский политехнический университет
Национальный исследовательский Томский государственный университет
Томский государственный архитектурно-строительный университет
Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК

Сборник научных трудов
XII Международной конференция студентов и молодых ученых

21–24 апреля 2015 г.

PROSPECTS OF FUNDAMENTAL SCIENCES DEVELOPMENT

XII International Conference of students and young scientists

21–24 April, 2015

Томск 2015

УДК 50(063)
ББК 20л0
П27

Перспективы развития фундаментальных наук [Электронный П27 ресурс] : сборник трудов XII Международной конференция студентов и молодых ученых (Томск, 21–24 апреля 2015 г.) / Томский политехнический университет. – Томск : Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 1556 с.

ISBN 978-5-4387-0560-4

Сборник содержит труды участников XII Международной конференции студентов и молодых учёных «Перспективы развития фундаментальных наук». Включает доклады студентов и молодых ученых, представленные на секциях «Физика», «Химия», «Математика», «Биология и медицина», «Наноматериалы и нанотехнологии», «Технология», «Конкурс архитектурных работ», «IT-технологии и электроника».

Предназначен для студентов, аспирантов, молодых ученых, преподавателей в области естественных наук и высшей математики.

УДК 50(063)
ББК 20л0

Редакционная коллегия

И.А. Курзина, доктор физико-математических наук, доцент ТПУ.
Г.А. Воронова, кандидат химических наук, доцент ТПУ.
С.А. Поробова, инженер ТГАСУ.

ISBN 978-5-4387-0560-4

© ФГАОУ ВО НИ ТПУ,
электронный текст, 2015

**РАЗЛИЧНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ:
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ВКЛАДА В ОПУХОЛЕВУЮ
ПРОГРЕССИЮ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ХИМИОТЕРАПИИ**

Т.С. Геращенко^{1,2}, Д.Н. Паутова²

Научный руководитель: с.н.с., к.б.н. Е.В. Денисов

¹ Томский НИИ Онкологии, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный 5, 634050

² Национальный исследовательский Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36, 634050

E-mail: T_gerashenko@list.ru

**DIFFERENT CELLULAR POPULATIONS OF BREAST CANCER: MOLECULAR GENETIC
MECHANISMS OF CONTRIBUTION TO TUMOR PROGRESSION AND CHEMOTHERAPY
RESISTANCE**

T.S. Gerashchenko^{1,2}, D.N. Paytova²

Scientific Supervisor: Senior researcher, PhD, E.V. Denisov

¹ Tomsk Cancer Research Institute, Russia Tomsk, 5th Kooperativny Street, 634050

² Tomsk State University, Russia, Tomsk, Lenin Str., 36, 634050

E-mail: T_gerashchenko@list.ru

***Annotation.** Breast cancer (BC) shows significant intratumor morphological heterogeneity, which is represented by five types of cellular (morphological) structures: tubular, alveolar, trabecular, solid structures, and discrete groups of tumor cells. Intratumor morphological heterogeneity was found to contribute to BC lymph node metastasis and chemoresistance. In the present study, we aimed to identify genes, which expression in different cellular structures could contribute to metastasis and drug resistance.*

Рак молочной железы (РМЖ) характеризуется значительным внутриопухолевым разнообразием клеточного состава. В опухолях инвазивной карциномы молочной железы (80% всех случаев РМЖ) описаны 5 различных морфологических структур: альвеолярные, тубулярные, трабекулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток. В ранее проведенных исследованиях показаны генетические отличия между морфологическими структурами, позволяющие отнести их к различным клеточным популяциям опухоли молочной железы [1]. Известно, что наличие в пределах одной опухоли различных клеточных популяций связано с опухолевой прогрессией и химиорезистентностью. Согласно собственным данным, опухоли молочной железы с альвеолярными структурами характеризуются повышенным потенциалом лимфогенного метастазирования. Наличие в опухоли альвеолярных и трабекулярных структур, наряду с повышенным общим морфологическим разнообразием опухоли, связано с плохим ответом на неoadьювантную химиотерапию [1]. Какие именно молекулярные факторы обуславливают дифференциальный вклад различных морфологических популяций в прогрессию РМЖ и эффективность лечения, в настоящее время не известно. Таким образом, целью настоящего исследования было изучение экспрессионных особенностей различных морфологических структур опухолей молочной

«ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК»

железы и идентификация возможных маркеров, вовлеченных в химиорезистентность и опухолевую прогрессию заболевания.

Различные морфологические структуры были получены из свежемороженых опухолевых образцов 6 пациенток с помощью технологии лазерной микродиссекции PALM (Carl Zeiss, Германия). Из структур была выделена мРНК с помощью набора RNeasy Micro Plus Kit (Qiagen) и оценен показатель целостности РНК (RIN) с помощью системы автоматического электрофореза 2200 TapeStation (Agilent). Для количественной ПЦР в режиме реального времени (TaqMan) мРНК подвергалась обратной транскрипции (кДНК), лигированию и полнотранскриптомной амплификации с помощью набора QuantiTect Whole Transcriptome (Qiagen, США). Амплифицированная кДНК использовалась для анализа экспрессии генов лекарственной устойчивости: *ABC* транспортеров - *ABCB1*, *TAP2*, *ABCC1*, *ABCC3*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*; генов монорезистентности - *TOP1*, *TOP2A*, *TYMS*, *TUBB3*; гена системы трансформации ксенобиотиков - *GSTP1*, а также генов ростовых факторов - *TNF α* , *TGF β* , *VEGF α* , *LOX*, *M-CSF*, *GM-CSF*, *HIF1A*, *SDF*. Для микроматричного экспрессионного анализа мРНК подвергалась обратной транскрипции и полнотранскриптомной амплификации (Ovation PicoSL WTA System V2, Nugen), мечение кДНК проводилось помощью красителя Cy3 (SureTag DNA Labeling Kit, Agilent). Полученные образцы гибридизовались на микроматрицах SurePrint G3 v2 8x60k (Agilent), результаты сканирования подвергались гридингу, биоинформатическая обработка проводилась с помощью пакета программ R и расширения LIMMA. Результаты экспрессионного анализа стандартизировались относительно нормальных протоков молочной железы. Подсчет уровня экспрессии, определяемого с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени, велся относительно гена-рефери *ACTB*.

Количественный ПЦР анализ показал, что различные морфологические структуры демонстрировали специфический профиль активности генов лекарственной устойчивости и факторов роста (рис. 1). Под активностью мы подразумевали количество генов, экспрессирующихся в определенных морфологических структурах. Наибольшая активность генов *ABC* транспортеров была характерна для трабекулярных структур, генов монорезистентности - для трабекулярных и солидных структур. Почти все морфологические структуры демонстрировали экспрессию гена системы трансформации ксенобиотиков - *GSTP1*, а активность гена *TUBB3* практически во всех структурах была повышена. Интересно, что экспрессия гена *ABCB1* была замечена только в трабекулярных, гена *ABCG2* – в трабекулярных структурах и дискретных группах опухолевых клеток. Известно, что *ABCB1* и *ABCG2* являются ключевыми *ABC* транспортерами, участвующими в переносе широкого спектра химиопрепаратов из опухолевой клетки во внеклеточную среду и играют основную роль в формировании лекарственной устойчивости многих опухолей [2]. В целом, альвеолярные и тубулярные структуры характеризовались самой низкой активностью генов лекарственной устойчивости, напротив, высокая экспрессия была характерна для трабекулярных структур ($p < 0.05$). Высокая экспрессия генов *ABC* транспортеров лекарственных средств, характерная для трабекулярных структур, вероятно, обуславливает их вклад в химиорезистентность опухолей молочной железы, показанный ранее нами [1].

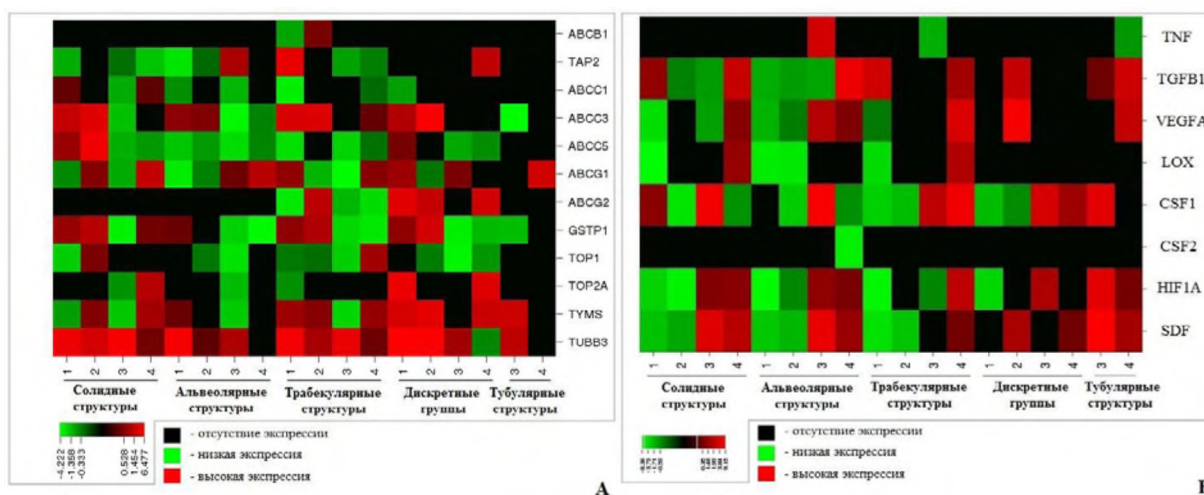


Рис. 1. Экспрессия генов лекарственной устойчивости (А) и генов факторов роста (Б) в различных морфологических структурах РМЖ

Активность генов факторов роста, напротив, в наибольшей степени была характерна для альвеолярных структур и снижалась в ряду: альвеолярные – солидные – трабекулярные структуры – дискретные группы клеток ($p < 0.05$). Таким образом, ранее установленная связь альвеолярных структур с лимфогенным метастазированием может объясняться их участием в повышенной продукции факторов роста, рекрутировании костномозговых клеток-предшественников и создании преметастатических ниш.

Микроматричный экспрессионный анализ показал повышенную экспрессию специфических кластеров генов в альвеолярных структурах: *NIPAL2*, *ANKRD54*, *FCN2*, *FCRLB*, *PRPF40B* и в дискретных группах опухолевых клеток: *LOC100507165*, *SNORA16B*, *ENG*, *LOC100507979*, *CCL2*. Вклад альвеолярных структур в формирование лекарственной устойчивости, вероятно, связан повышенной экспрессией вышеупомянутого кластера генов. Однако, данная гипотеза требует подтверждения в дальнейших исследованиях.

Наличие в опухоли молочной железы альвеолярных и трабекулярных структур ассоциировано с плохим прогнозом заболевания. Повышенная активность генов *ABC* транспортеров в трабекулярных структурах, вероятно, объясняет их вклад в лекарственную устойчивость, а повышенная активность генов факторов роста, участвующих в формировании преметастатических ниш, в альвеолярных структурах может быть связана с их вовлеченностью в лимфогенное метастазирование. Поиск молекулярных маркеров альвеолярных структур, обеспечивающих их вклад в формирование лекарственной устойчивости, будет предметом дальнейших исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Герашенко Т.С., Денисов Е.В., Литвяков Н.В. и др. Внутриопухолевая гетерогенность: природа и биологическое значение // Биохимия. – 2013. – Т. 18, Вып. 11. – С. 1531-1549
2. Stavrovskaya A.A. Stromskaya T.P. Transport proteins of the ABC family and multidrug resistance of tumor cells // Biochemistry (Mosc). – 2008. – Vol. 73. – P. 592 – 604.