

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

**КЛОНАЛЬНО-ИНВАЗИВНЫЕ И ОПУХОЛЕ-СТВОЛОВЫЕ ОСНОВЫ ФОРМИРОВАНИЯ
ВНУТРИОПУХОЛЕВОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ
РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Е.В. Денисов^{1,2}, Т.С. Герашенко^{1,2}, Д.Н. Паутова²

Научные руководители: профессор, д.б.н. Н.В. Чердынцева, профессор, д.м.н., В.М. Перельмутер

¹Томский НИИ онкологии

²Томский государственный университет

Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634050

E-mail: dnsv.ev@gmail.com

**CLONAL INVASIVE AND CANCER STEM ASPECTS OF DEVELOPMENT OF INTRATUMOR
MORPHOLOGICAL HETEROGENEITY IN BREAST CANCER**

E.V. Denisov^{1,2}, T.S. Gerashchenko^{1,2}, D.N. Pautova²

Scientific Supervisors: Prof., Dr. N.V. Cherdyntseva, Prof., Dr. V.M. Perelmuter

¹Tomsk Cancer Research Institute

²Tomsk State University

5th Kooperativny Str., Tomsk, 634050, Russia

E-mail: dnsv.ev@gmail.com

Annotation. In the present study, we aimed to study the contribution of clonal evolution, cancer invasion, and cancer stem cells (CSC) to development of intratumor morphological heterogeneity in breast cancer. In particular, we analyzed chromosome aberrations, expression of cell adhesion genes and the presence of CSC in different morphological structures: tubular, alveolar, solid, trabecular structures and discrete groups of tumor cells. It was found that the formation of intratumor morphological heterogeneity in breast cancer was not related to clonal evolution of tumor cells, but can be associated with cancer invasion and CSC. Morphological structures showing high variability in chromosome aberrations within the same type are not specific subclones (subpopulations) of tumor cells, but can be the patterns of invasive growth or the differentiated descendants of CSC.

Внутриопухолевая морфологическая гетерогенность присуща многим злокачественным новообразованиям и вовлечена в опухолевую прогрессию и результативность лечения заболеваний [1]. В опухолях молочной железы морфологическая гетерогенность представлена наличием пяти различных типов опухолевых структур: тубулярных, альвеолярных, трабекулярных, солидных структур и дискретных групп опухолевых клеток. Разные типы морфологических структур отличаются друг от друга не только своей формой и количеством содержащихся в них опухолевых клеток, но также рядом генетических особенностей, что позволяет заключить об их принадлежности к различным клеточным популяциям опухоли молочной железы [1]. В настоящее время исследования механизмов формирования внутриопухолевой морфологической гетерогенности РМЖ немногочисленны. Однако предложен ряд гипотез причин развития внутриопухолевой гетерогенности в целом, которые могут быть справедливы и для РМЖ. В частности, рассматривается роль клональной эволюции и опухолевых стволовых клеток

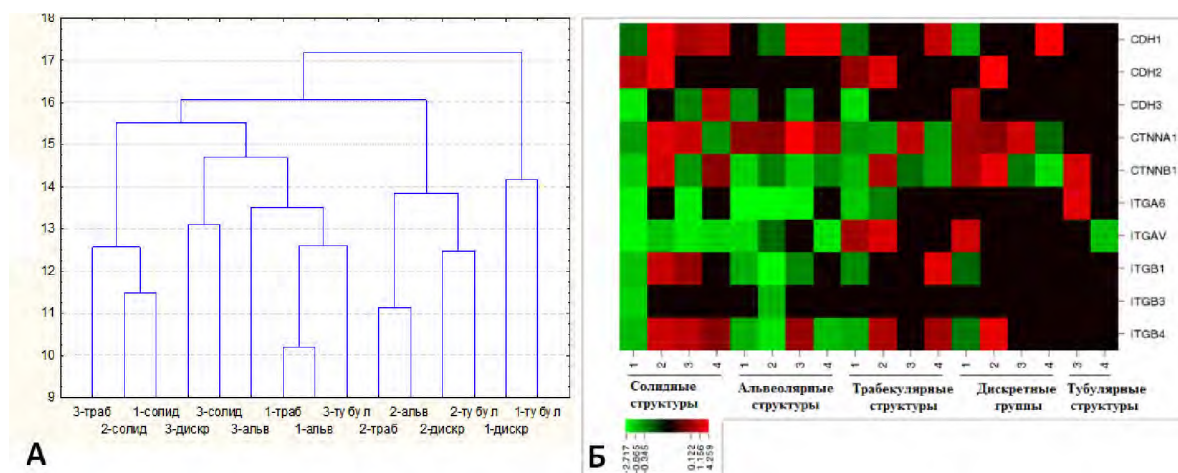
«ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК»

(ОСК) в поддержании внутриопухолевого разнообразия [1,2]. Кроме того, отводится большое внимание вкладу опухолевой инвазии в формирование различных морфологически-обособленных структур [3]. Таким образом, целью настоящего исследования было изучение вклада клональной эволюции, ОСК и опухолевой инвазии в развитие внутриопухолевой морфологической гетерогенности РМЖ.

В исследовании использовался опухолевый материал, полученный в ходе оперативного лечения 10 больных РМЖ. Различные морфологические структуры были получены из срезов свежемороженой опухоли молочной железы (n=4) с помощью лазерной микродиссекции. Микродиссектированный материал использовался для полногеномной амплификации и получения ДНК (PicoPLEX WGA, Rubicon, США), а также для выделения РНК (RNeasy Plus Micro Kit, Qiagen, США). ДНК служила матрицей для постановки микроматричной сравнительной геномной гибридизации (SurePrint G3 ISCA V2 CGH 8X60K, Agilent, США) с целью детекции хромосомных aberrаций. РНК использовалась для количественной ПЦР в режиме реального времени (TaqMan) с целью определения уровня экспрессии генов клеточной адгезии: *CDH1*, *CDH2*, *CDH3*, *CTNNA1*, *CTNNB1*, *ITGA6*, *ITGAV*, *ITGB1*, *ITGB3*, *ITGB4*, вовлеченных в процессы опухолевой инвазии. Фиксированные опухолевые образцы использовались для иммунофлюоресцентного анализа содержания опухолевых стволовых клеток. Использовались антитела к цитокератину 19 (CK19, клон A53-B/A2.26, Alexa Fluor (R) 647, Novus Biologicals, США), CD44 (клон IM7, FITC, Abcam, США) и CD24 (клон SN3, Abcam, США).

Показана значительная вариабельность хромосомных нарушений для различных типов морфологических структур. Различия в количестве и типе aberrаций детектировались между разными типами структур. Морфологические структуры одного типа отличались по хромосомным нарушениям как в пределах разных регионов одной опухоли, так и между различными опухолями молочной железы. Не было идентифицировано специфических хромосомных нарушений для каждого типа структур. Кластеризация морфологических структур была уникальной для каждого из изученных случаев, зависела от опухолевого региона или не носила какой-либо закономерный характер (Рис. 1А). Филогенетический анализ также подтвердил либо локальную, либо хаотичную природу формирования различных морфологических структур.

Рис. 1. Кластерный анализ различных морфологических структур 3-х участков одной опухоли



молочной железы по хромосомным нарушениям (А) и экспрессия в них генов клеточной адгезии (Б).

«ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ НАУК»

Количество экспрессирующихся генов клеточной адгезии снижалось в ряду: солидные – альвеолярные – трабекулярные структуры – дискретные группы опухолевых клеток (Рис. 1Б). Процент ОСК различался между разными типами морфологических структур. ОСК преимущественно располагались в солидных и альвеолярных структурах и полностью отсутствовали в тубулярных структурах (Таблица 1).

Таблица 1

Процент стволовых опухолевых клеток в различных морфологических структурах рака молочной железы

	% ОСК				
	Альвеолярные структуры	Тубулярные структуры	Трабекулярные структуры	Солидные структуры	Дискретные группы опухолевых клеток
Mean	7,8500	0	1,5889	10,3714	2,8857
SD	6,53190	0	2,05088	9,64619	2,21166
p	-	0,0317	0,028	0,074	0,043
Примечания: 1. ОСК, опухолевые стволовые клетки. 2. Mean, среднее значение. 3. SD, стандартное отклонение. 4. p, уровень значимости. Сравнение с альвеолярными структурами.					

Таким образом, в ходе проведенных работ было установлено, что формирование внутриопухолевой морфологической гетерогенности рака молочной железы не связано с клональной эволюцией опухолевых клеток, но может быть сопряжено с опухолевой инвазией и ОСК. Морфологические структуры, демонстрируя высокую вариабельность хромосомных нарушений в пределах одного типа, не являются специфическими субклонами (субпопуляциями) опухолевых клеток, но могут быть проявлением инвазивного роста опухоли или дифференцированными потомками ОСК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Геращенко 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. Marusyk A., Almendro V., Polyak K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? // Nat Rev Cancer. – 2012. – Vol. 12. – P. 323-334.
3. Friedl P., Locker J., Sahai E. et al. Classifying collective cancer cell invasion // Nat Cell Biol. – 2012. – Vol. 14 – P. 777-783.