

УДК 576.36

Выявление влияния компонент сплайсосомы на химио- и радио- резистентность у раковых клеток

К.С. Ануфриева^{1,2}, В.О. Шендер², Г.П. Арапиди^{1,2}

¹Московский физико-технический институт (государственный университет)

²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Химио- и радиотерапия один из главных компонентов лечения злокачественных опухолей, однако ее эффективность ограничена возникновением резистентности [1, 2]. Принимая во внимание тот факт, что чувствительные к химиопрепаратам опухолевые клетки составляют основную часть популяции, на которую воздействует лекарственный препарат, предполагается, что сигнальные молекулы, секретируемые этими клетками во внеклеточную среду, способствуют ускорению пролиферации соседних опухолевых клеток, а также приобретению ими более агрессивного фенотипа [3, 4]. Внимательно изучив большое количество работ, посвященных исследованию белков, секретируемых различными раковыми клетками во внеклеточную среду, мы заметили, что в этих секретах часто обнаруживаются различные белки сплайсосомы [5-8]. Мы задались вопросом, как и почему белки сплайсосомы могут попадать во внеклеточное пространство.

Проанализировав протеомы, полученные в нашей лаборатории, по асцитам пациенток с раком яичников, так и протеомы секретомов клеточных линий после радио- и химио- терапий, обнаружили повышенную представленность белков сплайсосомы после воздействия на раковые клетки радио- и химио- препаратов. Препараты, которые были использованы в наших протеомных исследованиях вызывают в клетках ДНК повреждения (двухцепочечные и одноцепочечные разрывы цепи ДНК, образование поперечных сшивок). Можно заметить, что именно сплайсинговые белки, которые мы обнаруживаем в раковых секретах после химиотерапии, кодируются сплайсинговыми генами, согласно работе [9] потеря которых вызывает самое высокое фосфорилирование гистона H2AX. То есть можно утверждать, что нехватка некоторых сплайсинговых белков воспринимается клеткой как сигнал ДНК поломки. То есть клетка, переправляя наружу сплайсинговые белки, может быстро реагировать на ДНК поломки.

Мы заинтересовались, что происходит с транскрипцией внутри раковых клеток после препаратов, вызывающие ДНК повреждения, в результате чего в межклеточном пространстве скапливаются белки сплайсосомы. Для этого были проведены мета-анализы по дифференциальной экспрессии генов с использованием метода гибридизации нуклеиновых кислот на микрочипах для более чем 80 клеточных линий различных видов рака после действия на них следующих видов воздействий: радиации, платиновых агентов, гипоксии, ингибиторов тирозинкиназ и топоизомераз. В результате этих мета-анализов мы показали, что после воздействия на раковые клетки агентов платинового ряда среди дифференциально пониженных генов присутствуют гены, входящие в пути сплайсосомы и гены, участвующих в регуляции клеточного цикла, в особенности М фазы, повышается экспрессия генов, ответственных за репарацию ДНК, участвующих в адаптивном ответе клетки и РНК транспорте. Проанализировав другие виды стрессовых воздействий на опухолевые клетки (радиация, ингибиторы топоизомеразы и тирозинкиназы, гипоксия) эффект оказался аналогичным. Особый интерес вызвало то, что кластер генов сплайсосомы был одним из значимо пониженных. Кроме того, понижалась экспрессия генов, связанных с клеточным циклом; повышалась экспрессия генов, связанных с репарацией ДНК и адаптацией клетки. Обратный эффект наблюдался после обработки раковых клеток препаратами группы таксанов: повышалась экспрессия генов сплайсосомы, генов, участвующих в клеточном цикле, а также генов, связанных с М фазой, РНК транспортом. Тест фишера для дифференциально -регулируемых генов и генов, потеря которых вызывает фосфорелирование гистона H2AX, показал, после обработки радиацией значимо уменьшается экспрессия сплайсосомальных генов, исчезновение которых ассоциировано с фосфорилированием гистона H2AX и ведет к остановке клеточного цикла. Мы объясняем наблюдаемый эффект, тем что для борьбы клетки со стрессовым воздействием ей необходимо остановить клеточный цикл и уменьшить представленность компонент ненужных для адаптации.

Для клеточных линии рака яичников после воздействия платиновых агентов был построен граф коэкспрессирующихся генов и при помощи двух алгоритмов кластеризации были найдены высоко связанные компоненты графа. В результате кластеризации мы обнаружили сплайсосомальные гены, которые коэкспрессируются совместно с генами TP53, BRCA1, которые являются драйверными для рака яичников. Это служит подтверждением того, что либо сплайсосомальные белки участвуют в регуляции ДНК репарации, либо белки ДНК репарации участвуют в процессе сплайсинга.

1. *Holohan, C., et al.*, Cancer drug resistance: an evolving paradigm // *Nat Rev Cancer*, 2013. 13(10): p. 714-26.
2. *Housman, G., et al.*, Drug resistance in cancer: an overview // *Cancers (Basel)*, 2014. 6(3): p. 1769-92.
3. *Obenauf, A.C., et al.*, Therapy-induced tumour secretomes promote resistance and tumour progression // *Nature*, 2015. 520(7547): p. 368-72.
4. *Huang, Q., et al.*, Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy // *Nat Med*, 2011. 17(7): p. 860-6.
5. *Shender, V.O., et al.*, Proteome-metabolome profiling of ovarian cancer ascites reveals novel components involved in intercellular communication // *Mol Cell Proteomics*, 2014. 13(12): p. 3558-71.
6. *Teng, P.N., et al.*, Identification of candidate circulating cisplatin-resistant biomarkers from epithelial ovarian carcinoma cell secretomes // *Br J Cancer*, 2014. 110(1): p. 123-32.
7. *Villarreal, L., et al.*, Unconventional Secretion is a Major Contributor of Cancer Cell Line Secretomes // *Molecular & Cellular Proteomics*, 2013. 12(5): p. 1046-1060.
8. *Wojtuszkiewicz, A., et al.*, Exosomes Secreted by Apoptosis-Resistant Acute Myeloid Leukemia (AML) Blasts Harbor Regulatory Network Proteins Potentially Involved in Antagonism of Apoptosis // *Mol Cell Proteomics*, 2016. 15(4): p. 1281-98.
9. *Paulsen, R.D., et al.*, A Genome-wide siRNA Screen Reveals Diverse Cellular Processes and Pathways that Mediate Genome Stability // *Molecular Cell*, 2009. 35(2): p. 228-239.