© К.П. Хансон, Е.Н. Имянитов, 2000
УДК 618.11-006.6:575.113

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА РАКА ЯИЧНИКОВ

НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова МЗ РФ, Санкт-Петербург

Чл.-кор. РАМН, проф. К.П. Хансон, канд. мед. наук Е.Н. Имянитов

Опухоли яичников занимают одно из лидирующих мест в структуре онкологических заболеваний репродуктивной сферы у женщин. Более того, так как рак яичников (РЯ) обычно диагностируется лишь на поздних стадиях, он является основной причиной смертельных исходов в онкогинекологии.

Опухоли яичников занимают одно из лидирующих мест в структуре онкологических заболеваний репродуктивной сферы у женщин. Более того, так как рак яичников (РЯ) обычно диагностируется лишь на поздних стадиях, он является основной причиной смертельных исходов в онкогинекологии.

Факторы риска РЯ включают возраст, отсутствие родов, а также многочисленные причины, определяемые факторами окружающей среды. Наследственным факторам еще десять лет назад не придавали особого значения, хотя отдельные указания на существование семейной предрасположенности к данному заболеванию появились довольно давно; однако на сегодняшний день роль генетической конституции в патогенезе РЯ не вызывает сомнений [22].

В настоящее время достоверно установлено, что причиной злокачественной трансформации клеток является накопление разнообразных мутаций, локализованных, в частности, в онкогенах и генах-супрессорах. Онкогены кодируют белки, играющие важную роль в процессах позитивной регуляции клеточного деления и дифференцировки; если их экспрессия избыточна или протекает в измененном виде, то это индуцирует неконтролируемую пролиферацию клеток. Гены-супрессоры, называвшиеся до недавнего времени антионкогенами, ответственны за синтез белков, осуществляющих негативный контроль клеточного деления или индукцию апоптоза. В противоположность онкогенам, функционально значимые мутации в супрессорных генах носят инактивирующий характер [1]. Установлено, что при раке яичников, как и в случае других опухолей, накапливаются генетические повреждения, которые лежат в основе прогрессивной трансформации доброкачественных или пограничных опухолей в злокачественные карциномы [17]. Существует значительное число онкогенов и генов-супрессоров, которые вовлечены в патогенез и прогрессию опухолей яичников. Эти гены могут быть разделены на несколько категорий в зависимости от того, участвуют ли они в образовании спонтанных либо же генетически обусловленных опухолей, а также в зависимости от выполняемых в клетке функций.

В данном обзоре будет рассмотрена роль онкогенов и генов-супрессоров в развитии спорадического и наследственного РЯ.

Соматические мутации

Одним из наиболее изученных онкогенов, активация которого достаточно часто обнаруживается в РЯ, является ген **K-ras.** Продукт гена K-ras относится к классу G-белков и участвует в самых разнообразных аспектах регуляции клеточных процессов. Характер мутаций в гене K-ras зависит от гистологического типа и локализации опухоли яичников. Так, мутации K-ras встречаются значительно чаще в муцинозных по сравнению с немуцинозными РЯ, что позволяет обсуждать перспективность данного теста для дифференциальной диагностики. Другой онкоген, к которому привлечено в последние годы пристальное внимание – это c-**erbB2/HER2**, кодирующий мембранный гликопротеид семейства рецепторов эпидермального фактора роста. Амплификация и/или гиперэкспрессия данного гена наблюдается в 10–50% РЯ. Во многих работах показано, что активация c-erbB2/HER2 указывает на неблагоприятный прогноз течения РЯ. Однако существуют и противоположные данные, поэтому практическая значимость c-erbB2/HER2-тестирования остаётся спорной [8].

Существенное место в патогенезе РЯ принадлежит супрессорному гену **p53**. Данный ген локализован в геноме человека на коротком плече хромосомы 17, в локусе 17p13.1. Он кодирует ядерный фосфопротеид, состоящий из 393 аминокислот и выполняющий регуляторную роль в цикле клеточного деления. Продукт гена p53 также отвечает за апоптотическое самоустранение клеток, получивших критические повреждения ДНК. Инактивация p53 наблюдается примерно в половине опухолей РЯ. Необходимо отметить, что мутации p53 довольно редко встречаются в пограничных

опухолях, а если и обнаруживаются, то это сочетается с атипией, увеличенной митотической активностью, микроинвазией и наличием признаков карциномы яичников. Наконец, участие p53 в репарации ДНК и **апоптозе** указывает на возможную роль его мутаций в развитии резистентности опухолей к химиотерапии. В частности, установлена корреляции между инактивацией p53 и отсутствием ответа РЯ на препараты цисплатины. В настоящее время рассматривается целесообразность внедрения тестирования нарушений p53 в клиническую практику; предполагается, что РЯ, обладающие мутацией упомянутого гена, имеют изменённый спектр химиочувствительности, следовательно, сведения о статусе p53 должны приниматься в расчёт при выборе цитостатиков. Однако данные подобного рода носят отрывочный характер и нуждаются в более убедительном экспериментальном подтверждении [13, 19]. Причастность **генов апоптоза** к патогенезу РЯ не ограничивается p53. В частности, амплификация онкогена c-myc в карциномах яичника была установлена ещё в 80-х годах. Следует заметить, что хотя в первоначальных работах частота этого события достигала 30%, современные исследования демонстрируют значительно меньшие цифры. Со степенью апоптоза, и, как следствие, с прогнозом заболевания, коррелирует также гиперэкспрессия антиапоптотического гена bcl-2 [11, 23].

Нарушения в различных **генах клеточного цикла**, по-видимому, могут иметь весьма сходные функциональные проявления. Известно, что регуляция клеточного цикла находится под контролем белкового комплекса, состоящего из циклинов и циклин-зависимых киназ (Cdk). Описано пять основных классов циклинов (A, B, C, D, E), функционирующих в клетках млекопитающих. Циклины C, D1-3 и E реализуют переход из G в S-фазу клеточного цикла, в то время как циклины A и B1-2 выступают в качестве регуляторов перехода клеток к митозу. Гетеродимеры, состоящие из циклинов и Cdk, осуществляют свои контрольные функции, взаимодействуя с другими белками клеточного цикла, в частности, с pRB-продуктом гена ретинобластомы. Наряду с этим, открыта большая группа генов, выполняющих функцию Cdk-ингибиторов (Cki), к которым относятся p21/WAF1, P16/INK4A, P15/INK4B и др. Считается, что аберрантная экспрессия перечисленных генов способна нарушать клеточную пролиферацию, что вносит значительный вклад в развитие и прогрессию опухолей. В самом деле, активирующие события в генах циклинов и Cdk имеют онкогенный эффект, в то время как Cki выступают как гены-супрессоры. Нарушения в системе циклинов, Cdk и Cki, продемонстрированы для многих опухолей, в том числе и для РЯ [7]. Однако сведения о причастности регуляторов митоза к молекулярному патогенезу РЯ носят пока отрывочный характер и нуждаются в подтверждении.

В последние годы внимание широкого круга специалистов, в том числе и онкологов, привлечено к ферменту **теломеразе.** Основная функция теломераз состоит в препятствовании укорочению теломер (концевых участков хромосом) в процессе деления клеток, что обеспечивает неограниченный резерв пролиферации последних. Теломеразная активность присутствует исключительно в половых клетках, постоянных клеточных линиях и в опухолях, но не в нормальных клетках [3, 10]. Установлено, что при многих типах опухолей наличие активной теломеразы коррелирует с неблагоприятным прогнозом. Теломеразная активность обнаруживается в 92% карцином яичника, в 17% пограничных опухолей и не выявляется в аденомах. При этом следует заметить, что наиболее высокая активность фермента обнаруживается в низкодифференцированных карциномах [14].

Практически для всех РЯ характерно присутствие обширных **делеций генетического материала.** Считается, что делеции участков хромосом отражают инактивацию локализованных на них супрессорных генов, причём в большинстве случаев последние остаются неидентифицированными. Делеции при РЯ могут носить как обширный (например, утрата хромосомы 17), так и ограниченный характер (в частности, потеря терминального участка короткого плеча хромосомы 1) [9]. Наиболее часто делеции затрагивают хромосомы 1, 3, 5, 6, 8, 11, 13, 16, 17, 22, и X [1].

Роль генного полиморфизма в патогенезе рака яичников

Сведения о взаимосвязи между особенностями метаболизма эстрогенов и риском возникновения гормонозависимых опухолей, в частности рака молочной железы, яичников и эндометрия, можно на сегодняшний день считать твердо установленными. Предполагается, что подобный эффект эстрогенов связан с их стимулирующим действием на процессы клеточной пролиферации в упомянутых органах. Эстрогены образуются путем конверсии андрогенов, в результате сложной цепи биохимических преобразований. Именно поэтому некоторые полиморфные варианты генов, продукты которых участвуют в синтезе андрогенов и эстрогенов, могут несколько увеличивать риск новообразований репродуктивной сферы. В частности, к кандидатам относятся гены группы цитохрома p450 (CYP1A1, CYP17 и CYP19). Например, ген CYP19 кодирует фермент ароматазу, занимающую ключевую позицию на пути превращения андрогенов в эстрогены, т. е. катализирует реакцию, лимитирующую скорость процесса в целом. В популяционных исследованиях установлено, что полиморфизм CYP19 может быть ассоциирован с повышенным риском рака молочной железы, однако его роль в патогенезе РЯ пока не изучалась [18].

Значительный интерес представляют гены, ответственные за метаболизм эндогенных и экзогенных канцерогенов. Одним из наиболее важных классов химических канцерогенов, широко распространенных в окружающей среде, является группа полициклических ароматических углеводородов (ПАУ). В метаболизме ПАУ ключевая роль принадлежит ферментам группы цитохрома p450 (CYP2E1, CYP1A1 и CYP2D6), хинон-оксиредуктазам (NQ1), глутатион-S-трансферазам (GSTP1, GSTM1, GSTT1) и эпоксид-гидроксилазам (EPH-alpha). Полиморфизм этих генов может участвовать в формировании риска целого рядя новообразований. Их роль в отношении РЯ детально не изучалась. Однако данная область исследований представляется весьма перспективной, так как влияние ферментов метаболизма канцерогенов на органы репродуктивной сферы может быть связано не только с активацией/инактивацией агентов экзогенного происхождения, но и с модификацией кинетики биосинтеза и распада стероидных гормонов [6].

Молекулярная генетика наследственного рака яичников

Хотя семейные раки яичника достаточно редки, их

молекулярная генетика изучена значительно лучше по сравнению со спонтанными опухолями. Эпидемиологические исследования и анализ семейной истории РЯ позволили выявить, что около 10% случаев эпителиального РЯ обусловлены передаваемыми в поколениях генетическими изменениями [2, 4, 5]. В настоящее время описаны две независимые формы наследственного РЯ:

1. Синдром рака молочной железы и яичников (breast-ovarian cancer syndrome), на который приходится 90–95% всех случаев наследственного РЯ.

2. ∠⇓, ассоциированный с высокой семейной встречаемостью рака толстой кишки и раком эндометрия (5–10% случаев) (Lynch syndrome I).

Ранее также предполагалось, что существует третий, независимый тип манифестации наследственного РЯ, который не ассоциирован с опухолями других органов. Однако генетический анализ установил, что данная форма семейного заболевания ассоциирована с геном BRCA1, т. е. является разновидностью синдрома рака молочной железы и яичников. Наконец, роль генетического фактора подозревалась в патогенезе проявления инвазивного РЯ у очень молодых женщин (до 30 лет); тем не менее, недавно проведенные детальные исследования не подтвердили взаимосвязи подобных случаев с наследственной предрасположенностью [20].

Успехи молекулярной генетики привели к разработке методик прямого обнаружения случаев наследственного РЯ (табл.).

Как показывает генетический анализ, большинство случаев наследственного РЯ связано с врождёнными мутациями гена **BRCA1** (табл.). Ген BRCA1 состоит из 22 кодирующих экзонов, расположенных на хромосоме 17q12-21 и занимающих около 100 kbp [12]. Многочисленные исследования показывают, что мутации в BRCA1 приводят не только к высокому риску развития РЯ в течение жизни, но и накладывают особенности на его клиническое течение. У носительниц повреждённого BRCA1 зачастую наблюдается необычно ранний возраст возникновения РЯ, отмечаются первично-множественные опухоли с вовлечением как яичников, так и молочной железы. И, наконец, семейный анамнез подобных пациенток характеризуется наличием большого числа случаев рака молочной железы и яичников у кровных родственников.

Мутации BRCA1 распределены по гену случайным образом, без выраженных «горячих точек», причем до 80% из них проявляются в виде стоп-кодона или сдвига рамки считывания. Характер мутаций свидетельствует о принадлежности BRCA1 к генам-супрессорам. Интересно отметить, что специфическая мутация 185delAG присутствует у 1% представительниц популяции евреев-ашкенази. Некоторые другие мутации гена BRCA1 встречаются относительно часто у женщин Голландии, Бельгии и скандинавских стран. В России подобные исследования пока единичны и охватывают небольшое число пациенток с семейной наследственной предрасположенностью к РМЖ и РЯ.

Нарушения гена **BRCA2** выявлены в семьях, где не было обнаружено связи синдрома рака молочной железы и яичников с мутациями в гене BRCA1. Ген BRCA2 локализован на хромосоме 13q12-13, состоит из 26 кодирующих экзонов и располагается на участке ДНК длиной 70 kbp. Мутации BRCA2, подобно BRCA1, рассеяны по всей длине гена и не проявляют склонности к накоплению в каких-либо "горячих точках". По своим функциям BRCA2 также относится к генам-супрессорам опухолевого роста. Степень повышения риска опухолей при наличии наследственных повреждений в BRCA2 несколько ниже по сравнению с пенетрантностью аномалий BRCA1. В отличие от BRCA1, мутации BRCA2 могут носить соматический характер и выявляться на поздних стадиях спорадического РЯ. Характер распределения мутаций BRCA2 в популяции также имеет некоторую этнико-генетическую специфику; так, у упоминавшихся выше евреев-ашкенази встречаемость делеции 617delT достигает 1,4%. В целом, эпидемиологические исследования показывают, что около 3–4% всех случаев РЯ связаны с мутациями гена BRCA2 [21].

В связи с изложенным, вполне естественно встает вопрос о функции белков, кодируемых генами BRCA1 и BRCA2. Заметим, что данный аспект проблемы нельзя считать окончательно выясненным. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что продукты генов BRCA1 и BRCA2 принимают участие в различных клеточных процессах, главным образом связанных с активацией транскрипции и репарацией ДНК. Например, показано, что клетки с инактивированным геном BRCA2 характеризуются повышенной чувствительностью к мутагенам и более интенсивно накапливают хромосомные повреждения [15].

Синдром неполипозного семейного рака толстой кишки (HNPCC, hereditary non-polyposis colorectal cancer) в сочетании с РЯ и раком эндометрия (Lynch syndrome I) определяется наличием наследственного дефекта в каком-либо из пяти известных генов, **MSH2, MLH1, MSH6, PMS2 или PMS1** (табл.). Хотя мутации описаны во всех этих генах, большинство (90%) случаев HNPCC связаны с нарушениями генов MSH2 и MLH1. Белки, кодируемые этими генами, участвуют в процессах репарации ДНК (mismatch repair, MMR), и потеря их функции приводит к специфической форме генетической нестабильности – так называемой «микросателлитной нестабильности». Таким образом, MMR гены выполняют функцию классических генов-супрессоров опухолевого ро-

Таблица. Молекулярно-генетические детерминанты наследственного рака яичников (Boyd, 2000)

Синдромы	Гены	Хромосомная локализация генов	Удельная встречаемость в пределах синдрома (в %) *
Рак молочной железы и яичников	BRCA1	17q21	75-90
	BRCA2	13q12	10-25
	неизвестен	?	<5
Наследственный неполипозный рак толстой кишки (HNPCC)	MSH2	2p22-p21	30-35
	MSH1	3p21	30-35
	MSH6	2p16-p15	5
	PMS2	7p22	<5
	PMS1	2q31-q38	<1
	неизвестен	?	30

ста. Микросателлитная нестабильность обнаруживается также при многих видах спорадических опухолей, никак не связанных с синдромом HNPCC. Остается неясным, каким образом микросателлитная нестабильность способствует возникновению опухолей яичников, эндометрия и других органов на фоне HNPCC синдрома. Микросателлитные последовательности распространены по длине всего генома и локализованы преимущественно в его некодирующих зонах. Однако нуклеотидные повторы представлены также и в кодирующих регионах некоторых генов (TGF-beta, BAX); по-видимому, соматические мутации в последних, сопровождающиеся инактивацией соответствующих продуктов, могут приводить к активации процессов пролиферации, инвазии и метастазирования [16].

В заключение остановимся коротко на том, какое клиническое значение имеют данные о наследственной природе определенной группы опухолей яичников. Накопленные к настоящему времени результаты клинических исследований не дают еще полного представления об особенностях течения и прогнозе наследственного РЯ. Первоначальное заключение о более благоприятном течении РЯ у носителей BRCA-1 мутаций, хотя и получило ряд подтверждений, оказалось весьма спорным при проведении дальнейших, более детальных исследований. В то же время не вызывает сомнений, что BRCA-1-ассоциированный РЯ морфологически относится к серозному типу и диагностируется обычно у более молодых женщин. Кроме того, создается впечатление, что в случае BRCA мутаций опухоли проявляют несколько большую чувствительность к химиотерапии. Последняя их особенность, по-видимому, связана с той ролью, которую BRCA-белки выполняют в репарации поврежденной ДНК, вызванных, в частности, химиопрепаратами. В самом деле, установлено, что приобретенная клетками РЯ человека резистентность к цитостатикам коррелирует с возрастанием экспрессии генов BRCA.

И, наконец, идентификация мутаций в генах наследственных раковых синдромов имеет решающее значение для превентивной медицины. Предполагается, что лабораторные генетические тесты позволят сфокусировать мероприятия, направленные на раннюю диагностику новообразований, именно на тех лицах, которые в них больше всего нуждаются. В частности, обнаружение зародышевых мутаций, ассоциированных с семейным РЯ, свидетельствует о необходимости учащённых ультразвуковых обследований органов брюшной полости, пристального внимания за состоянием молочных желёз и т. д. В некоторых случаях целесообразно ставить вопрос о профилактической овариэктомии и мастэктомии. В настоящее время проходят испытания химиопрофилактических лекарственных препаратов, действие которых направлено на снижение индивидуального риска развития новообразований. Следует заметить, что широкому внедрению лабораторной диагностики семейных раковых синдромов препятствует чрезвычайно высокая себестоимость соотвествующих молекулярно-генетических тестов, однако последняя имеет постоянную тенденцию к снижению [2].

Подводя краткий итог данному обзору, можно заключить, что в последние годы наши знания о молекулярных механизмах туморогенеза яичников существенно изменились. Хотя многие детали этого сложнейшего процесса остаются не до конца ясными, стало очевидным, что формируются научные основы повышения эффективности диагностики и лечения данной группы злокачественных новообразований.

Литература

1. Имянитов Е.Н., Калиновский В.П., Князев П.Г. и др. Молекулярная генетика опухолей человека// Вопр. онкол., 1998.–Т. 43.– № 1.–С. 95–101.

2. Имянитов Е.Н., Хансон К.П. Молекулярные аспекты патогенеза первично-множественных опухолей// Росс. онкол. журн.–1998.–№ 5.–С. 47–51.

3. Оловников А.М. Принцип маргенотомии в матричном синтезе полинуклеотидов. Доклад АН СССР, 1971.–Т. 201.–С. 1496–1499.

4. Bewtra C., Watson P., Conwas T. et al. Hereditary ovarian cancer: a clinicopathological study. Int. J. Gynecol. Pathol., 1993, v. 11.–P. 180–187.

5. Boyd J. Hereditary ovarian cancer: Molecular genetics and clinical implication. ASCO Educational Book, 2000.–P. 531–540.

6. Carrier J., Mangard C.M., Le Mevel B., Bignon L.J. Allelotype influence at GSTM1 locus on breast cancer susceptibility. Br.J.Cancer, 1999, v.79, pp 346-351

7. Cordon-Cardo C. Mutation of cell gene regulators. Biological and clinical implications for human neoplasia. Am. J. Pathol., 1995, v. 47, p. 545-560.

8. Imyanitov E.N., Chernitsa O.I., Serova O.M., Knyazev P.G. Rare occurrence of amplification of HER-2 (erbB-2/neu) oncogene in ovarian cancer patients. Eur. J. Cancer, 1992, v. 28A, p. 1300.

9. Imyanitov E.N., Birrell G.W., Filippovich I. et al. Frequent loss of heterozygosity at 1p36 in ovarian adenocarcinomas but the gene encoding p73 is unlikely to be the target. Oncogene, 1999, v. 18, 4640-4642.

10. Kim N.W., Piatystew M.A., Prowse KR. et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer. Science, 1994, v. 266, p. 2011-2015.

11. McMenamin M.E., O'Neil A., Gaffhey E. Extent of apoptosis in ovarian serous carcinoma: relation to mitotic and proliferation indices, p53 expression and survival. J. Clin. Pathol., 1997, v. 50, p. 242-246.

12. Miki L., Swensen J., Shattuck-Edens D. et al. A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. Science, 1994, v. 266, p. 66-71.

13. Milner B.J., Allan L.A., Eccles D.M. et al. p53 mutation is a common genetic event in ovarian carcinoma. Cancer Res., 1993, v. 53, p. 2128-2132.

14. Murakami J., Nayai N., Ohauta K. et al. Telomerase activity in ovarian carcinomas. Cancer, 1997, v. 80, p. 1085-1092.

15. Patel K.J., Yu V.P., Lee H. et al. Involvement of BRCA2 in DNA repair. Mol.Cell, 1998, v. 1, p. 347-357.

16. Peltomaki P., Vasen H.F.A. Mutations predisposing to hereditary non-polyposis colorectal cancer: Database and results of a collaborative study. Gastroenterol., 1997, v. 113, p. 1146-1158.

17. Powell D.E., Puls L., Raqell I. Current concept in epithelial ovarian tumours: does benign to malignant transformation occur? Human Pathol., 1992, v. 23, p. 846-847.

18. Sasano H., Harada N. Intratumoral aromatase in human breast, endometrial and ovarian malignancies. Endocr.Rev., 1997, v. 19, p. 593-607.

19. Shelling A.N. Role of p53 in drug resistance in ovarian cancer. Lancet, 1997, v. 349, p. 744-745.

20. Stratton I.F., Thompson D., Bobrow L. The genetic epidemiology of early-onset epithelial ovarian cancer. A population-based study. Am. J.Hum.Genet., 1999, v. 65, p. 1725-1732.

21. Takahashi H., Chiw H.C., Bandero C.A. et al. Mutations of the BRCA2 gene in ovarian carcinoma. Cancer Res., 1996, v. 56, p. 2738-2741.

22. Van den Berfhe H., Dal Cin P. Some aspects of ovarian tumours. Europ. J. Obst. Gynecol. Reproduct. Biol., 1998, v. 81, p. 283-287.

23. Yamasuki F., Tokunara O., Susimori H. Apoptotic index in ovarian carcinomas: correlation with clinicopathologic factors and prognosis. Gynecol.Oncol., 1997, v. 66, p. 439-448.