



Экспрессия транскрипционных, ростовых факторов и компонентов АКТ/м-TOR сигнального пути в ткани папиллярного рака щитовидной железы

© Л.В. Спирина^{1,2*}, С.Ю. Чижевская¹, И.В. Кондакова¹

¹ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск, Россия; ²ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет», Томск, Россия

Обоснование. Развитие рака щитовидной железы связано с изменением экспрессии молекулярных маркеров, к которым относят транскрипционные и ростовые факторы, а также компоненты АКТ/м-TOR сигнального каскада.

Цель исследования — сравнение экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B p65 и p50, HIF-1 α , HIF-2 α , ростовых факторов VEGF, CAIX и VEGFR2, а также компонентов АКТ/м-TOR сигнального пути в ткани папиллярного рака (ПРШЖ) и доброкачественных опухолей щитовидной железы.

Материал и методы. В исследование были включены 40 больных с ПРШЖ (7 мужчин, 33 женщины) в возрасте от 33 до 66 лет (средний возраст 52,0 $\pm$ 2,6 года) на стадии T1-4N0-2M0. Группа сравнения представлена 22 пациентами (4 мужчины, 18 женщин) в возрасте от 38 до 66 лет (средний возраст 53,0 $\pm$ 4,4 года) с доброкачественными опухолями щитовидной железы. Экспрессию NF- κ B p65 и p50, HIF-1 α , HIF-2 α , ростовых факторов VEGF, CAIX и VEGFR2, а также компонентов АКТ/м-TOR сигнального пути определяли методом ПЦР в реальном времени.

Результаты. В ткани ПРШЖ повышен уровень мРНК NF- κ B и HIF-2 α , а также мРНК протеинкиназы АКТ и PTEN. Экспрессия гена c-Raf в ткани ПРШЖ, напротив, была в 2,1 раза ниже, чем в доброкачественных опухолях. В ткани рака выявлены многочисленные положительные ассоциации между транскрипционными и ростовыми факторами, а также между компонентами АКТ/м-TOR сигнального каскада. Экспрессия PTEN коррелировала с уровнем мРНК ядерного фактора NF- κ B, что является косвенным признаком дисрегуляции сигнальных систем в ткани ПРШЖ.

Заключение. Для ПРШЖ характерна активация экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B и HIF-2 α , протеинкиназы АКТ и фосфатазы PTEN, на фоне снижения уровня мРНК c-Raf.

Ключевые слова: папиллярный рак щитовидной железы, транскрипционные факторы, ростовые факторы, компоненты АКТ/м-TOR сигнального пути.

Expression of transcription and growth factors and the AKT/m-TOR signaling pathway components in papillary thyroid cancer

© Liudmila V. Spirina^{1,2*}, Svetlana Yu. Chigevskaya¹, Irina V. Kondakova¹

¹Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia; ²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Background: The molecular mechanism of thyroid cancer development is associated with changes in expression of transcription factors and growth factors accompanied by modified level of the AKT/m-TOR components.

Aims. The aim of study was to determine NF- κ B p65, NF- κ B p50, HIF-1 α , HIF-2 α , VEGF, CAIX, VEGFR2 expression and mRNA level of the AKT/m-TOR signaling pathway components in papillary thyroid cancer compared to those in benign lesions.

Material and methods: Forty patients aged 33–66 years with T1-4N0-2M0 papillary thyroid cancer (7 males and 33 females) were enrolled in the study. The mean age was 52.0 $\pm$ 2.6 years. The comparison group included patients with benign lesions of thyroid tissue (4 males and 18 females) aged 38–66 years (mean age, 53.0 $\pm$ 4.4 years). Expression levels of NF- κ B p65, NF- κ B p50, HIF-1 α , HIF-2 α , VEGF, CAIX, VEGFR2, and the AKT/m-TOR signaling pathway components were determined by RT-PCR using specific primers.

Results: Increased expression of transcription factors NF- κ B and HIF-2 α was found in papillary thyroid cancer. The levels of AKT and PTEN mRNA were elevated in transformed tissues. c-Raf expression was reduced 2.1-fold in cancer compared to that in thyroid tissues with benign lesions. Multiple positive correlations were revealed between transcription and growth factors and the AKT/m-TOR signaling pathway components in cancer. An association between PTEN expression and the NF- κ B mRNA level was revealed, being a sign of deregulation in the signaling cascade in cancer tissues.

Conclusions: Overexpression of NF- κ B, HIF-2 α , AKT, PTEN and reduction of c-Raf expression is typical of thyroid papillary cancer.

Keywords: papillary thyroid cancer, transcription factors, growth factors, AKT/m-TOR signaling pathway components.

На долю рака щитовидной железы приходится 1–1,5% всех онкологических заболеваний. Разработка новых подходов к диагностике и прогнозированию развития этого вида рака является чрезвычайно актуальным в последние десятилетия, что связано с постоянно увеличивающимися темпами прироста заболеваемости. Так, за период с 2004 по 2014 г. прирост заболеваемости населения России раком щитовидной

железы составил 18,47%, что позволяет отнести этот рак к самой распространенной злокачественной опухоли эндокринных желез [1].

Развитие злокачественных новообразований щитовидной железы связано с активацией транскрипционных и ростовых факторов. Ключевыми среди них являются транскрипционный фактор NF- κ B, играющий основную роль в процессах онкогенеза [2–4], а

также ядерный фактор HIF, который способствует образованию ростового фактора VEGF и карбоангидразы IX, определяющих неопластический ангиогенез. Эти события активируют АКТ/m-TOR сигнальный каскад и лежат в основе роста и распространения опухоли [5].

Гиперактивация АКТ/m-TOR сигнального пути — характерный признак большинства раковых клеток и, по-видимому, играет ключевую роль в механизмах опухолевой трансформации клеток и прогрессии опухолей [6]. К значимым компонентам этого пути относят протеинкиназы АКТ, c-Raf, GSK-3, PDK1, а также m-TOR, ее субстраты p70-S64 и E-BP1. Активность данного сигнального каскада регулируется белком-онкосупрессором PTEN.

В опухолях эндокринных органов АКТ/m-TOR сигнальный путь изучен менее чем в опухолях другой локализации [7]. Существуют множественные зависимости между уровнями молекулярных маркеров, что отражает интенсивность патологических процессов и может влиять на прогноз заболевания. Однако вклад молекулярных показателей, связанных с активацией транскрипционных, ростовых факторов и компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути, определяющих особенности папиллярного рака щитовидной железы (ПРЩЖ), практически не исследован.

Цель исследования — сравнение экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B p65 и p50, HIF-1 α , HIF-2 α , ростовых факторов VEGF, CAIX и VEGFR2, а также компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути в ткани ПРЩЖ и в доброкачественных опухолях щитовидной железы.

Материал и методы

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одномоментное сплошное контролируемое исследование.

Критерии соответствия

В исследование включали пациентов с верифицированным ПРЩЖ в стадии T1-4N0-2M0 в возрасте от 30 до 70 лет при условии добровольного подписания информированного согласия. В группу контроля включали пациентов с доброкачественными образованиями щитовидной железы сопоставимого возраста при том же условии. Критериями исключения были возраст старше 70 лет, диссеминированный рак щитовидной железы, наличие тяжелой сопутствующей патологии, наличие первично-множественных опухолей других локализаций, отказ пациента от участия в протоколе.

Условия проведения

Исследование проводилось в Научно-исследовательском институте онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН.

Описание медицинского вмешательства

Объемы диагностики и лечения больных соответствовали рекомендуемым алгоритмам по диагностике и лечению злокачественных новообразований, утвержденным министерством здравоохранения РФ (2007), и клиническим рекомендациям по диагностике и лечению рака щитовидной железы (2014) [8, 9].

Пациентам с патологией щитовидной железы было проведено оперативное лечение в объеме гемитиреоидэктомии или тиреоидэктомии. На втором этапе лечения при наличии метастазов в лимфатических узлах больные получали терапию радиоактивным йодом. Материалом для исследования явилась опухолевая и гистологически неизменная ткань щитовидной железы, полученная от больных обеих групп после оперативного вмешательства. Образцы тканей замораживали и хранили при -80°C .

Основной исход исследования

Определяли экспрессию NF- κ B p65 и p50, HIF-1 α , HIF-2 α , ростовых факторов VEGF, CAIX и VEGFR2, а также компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути в ткани ПРЩЖ и в доброкачественных опухолях щитовидной железы.

Анализ в подгруппах

В ходе исследования были сформированы две группы:

- в группу А вошли пациенты с ПРЩЖ в стадии T1-4N0-2M0;
- в группу Б вошли пациенты с доброкачественными новообразованиями щитовидной железы.

Методы регистрации исходов

РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНКазу I («Qiagen», Германия). На спектрофотометре NanoDrop-2000 («Thermo Scientific», США) оценивали концентрацию и чистоту выделения РНК. Концентрация РНК колебалась от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280 = 1.95—2.05; A260/A230 = 1.90—2.31. Целостность РНК оценивалась с помощью капиллярного электрофореза на приборе TapeStation («Agilent Technologies», США) и набора R6K ScreenTape («Agilent Technologies», США). RIN составил 5.6—7.8.

Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler («Bio-Rad», США). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора m-MuLV-RN («БиоЛаб-микс», Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue («БиоЛаб-микс», Россия), 300 нМ прямого и обратного прай-

Таблица 1. Последовательность праймеров проб исследованных генов

Ген	Ампликон	Последовательность
<i>CAIX</i> NM_001216.2	217 п.н.	F 5'-GTTGCTGTCTCGCTTGGAA-3' R 5'-CAGGGTGTCTCAGAGAGGGTGT-3'
<i>HIF-1α</i> NM_001243084.1	188 п.н.	F 5'-CAAGAACCTACTGCTAATGCCA-3' R 5'-TTTGGTGAGGCTGTCCGA-3'
<i>EPAS1</i> NM_001430.4	265 п.н.	F 5'-TGGAGTATGAAGAGCAAGCCT-3' R 5'-GGGAACCTGCTCTTGCTGT-3'
<i>NFKB1</i> NM_00116 5'412.1	144 п.н.	F 5'-CGTGTAAACCAAGCCCTAAA-3' R 5'-AACCAAGAAAGGAAGCCAAGT-3'
<i>RELA</i> NM_00114 5'138.1	271 п.н.	F 5'-GGAGCACAGATACCACCAAGA-3' R 5'-GGGTTGTTGTTGGTCTGGAT-3'
<i>PTEN</i> NM_001304717.2	136 п.н.	F 5'-GGGAATGGAGGGAATGCT-3' R 5'-CGCAAACAACAAGCAGTA-3'
<i>VEGFA</i> NM_00102 5'366.2	316 п.н.	F 5'-AGGGCAGAATCATCACGAA-3' R 5'-TCTTGCTCTATCTTTCTTTGGTCT-3'
<i>KDR</i> NM_0022 5'3.2	306 п.н.	F 5'-AACACAGCAGGAATCAGTCA-3' R 5'-GTGGTGTCTGTGTATCGGA-3'
<i>4EBP1</i> NM_00409 5'3	244 п.н.	F 5'-CAGCCCTTTCTCCCTCACT-3' R 5'-TTCCCAAGCACATCAACCT-3'
<i>AKT1</i> NM_001014431.1	181 п.н.	F 5'-CGAGGACGCCAAGCAGTA-3' R 5'-GTCATCTTGGTCAGGTGGTGT-3'
<i>C-RAF</i> NM_002880.3	152 п.н.	F 5'-TGGTGTGTCCTGCTCCCT-3' R 5'-ACTGCCTGCTACCTTACTTCCT-3'
<i>GSK3β</i> NM_0011461 5'6.1	267 п.н.	F 5'-AGACAAGGACGCGCAGCAA-3' R 5'-CTGGAGTAGAAGAATAACGCAAT-3'
<i>70S kinase alpha</i> NM_001272042.1	244 п.н.	F 5'-CAGCACAGCAAATCCTCAGA-3' R 5'-ACACATCTCCCTCTCCACCTT-3'
<i>m-TOR</i> NM_0049 5'8.3	160 п.н.	F 5'-CCAAAGGCAACAAGCGAT-3' R 5'-TTCACCAAACCGTCTCCAA-3'
<i>PDK1</i> NM_001278 5'49.1	187 п.н.	F 5'-TCACCAGGACAGCCAATACA-3' R 5'-CTCCTCGGTCACTCATCTTCA-3'
<i>GAPDH</i> NM_0012 5'6799.2	138 п.н.	F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3' R 5'-GCAACAATATCCACTTTACAGA-3'

Примечание. NM — номер последовательности РНК в NCBI Nucleotide Database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>); F — прямой праймер; R — обратный праймер.

меров и 50 нг кДНК. Двухшаговая программа амплификации включала 1 цикл — 94 °С, 10 мин — предварительная денатурация; 40 циклов — 1 шаг 94 °С, 10 с и 2 шаг 20 с — при 60 °С. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>) (табл. 1).

В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), и уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по $2^{-\Delta\Delta Ct}$ по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену *GAPDH*.

Этическая экспертиза

Проведение данной работы одобрено локальным этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол №5 от 24.04.15).

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическую обработку результатов проводили

с применением пакета программ Statistica 8.0. Результаты определения экспрессии генов представлены как среднее значение $\pm$ ошибка среднего. Значимость различий оценивали с помощью критерия Манна—Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Существование связи между показателями определяли с использованием корреляционного анализа, силу связи между переменными оценивали, рассчитывая коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r).

Результаты

Участники исследования

В группу А были включены 40 больных (7 мужчин, 33 женщины) с ПРЩЖ в возрасте от 33 до 66 лет (средний возраст $52,0 \pm 2,6$ года) со стадией опухолевого процесса T1-4N0-2M0. Группа Б представлена 22 больными (4 мужчины, 18 женщин) в возрасте от 38 до 66 лет (средний возраст $53,0 \pm 4,4$ года) с доброкачественными новообразованиями щитовидной железы. У всех больных диагноз был морфологически верифицирован.

Таблица 2. Экспрессия транскрипционных и ростовых факторов в ткани фолликулярной аденомы и папиллярного рака щитовидной железы ($\bar{X} \pm SD$)

Показатель, усл. ед.	Доброкачественные новообразования щитовидной железы ($n=22$)	ПРЩЖ ($n=40$)
NF- κ B p65	0,17 $\pm$ 0,09	1,48 $\pm$ 0,38* $p=0,041$
NF- κ B p50	0,79 $\pm$ 0,63	4,44 $\pm$ 1,89* $p=0,036$
HIF-1 α	0,40 $\pm$ 0,16	2,94 $\pm$ 1,30
HIF-2 α	0,44 $\pm$ 0,25	2,33 $\pm$ 0,63* $p=0,042$
VEGF	0,63 $\pm$ 0,26	3,70 $\pm$ 1,71
VEGFR2	3,67 $\pm$ 2,37	2,37 $\pm$ 0,97
CAIX	5,15 $\pm$ 4,49	2,30 $\pm$ 0,95

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении с доброкачественными новообразованиями.

Таблица 3. Экспрессия AKT, c-Raf, GSK-3 β , PDK1, PTEN, m-TOR и ее субстратов в ткани фолликулярной аденомы и папиллярного рака щитовидной железы ($\bar{X} \pm SD$)

Показатель, усл. ед.	Доброкачественные новообразования щитовидной железы, ($n=22$)	Папиллярный РЩЖ ($n=40$)
AKT	0,38 $\pm$ 0,18	3,28 $\pm$ 2,12* $p=0,041$
c-Raf	3,13 $\pm$ 2,16	1,53 $\pm$ 0,93* $p=0,048$
GSK-3 β	2,95 $\pm$ 2,19	2,87 $\pm$ 1,98
PDK1	0,88 $\pm$ 0,28	1,85 $\pm$ 1,29
PTEN	0,46 $\pm$ 0,23	3,73 $\pm$ 1,89* $p=0,037$
m-TOR	5,23 $\pm$ 4,47	2,02 $\pm$ 1,29
p70-S6	5,02 $\pm$ 4,50	0,88 $\pm$ 0,35
4E-BP1	0,65 $\pm$ 0,29	1,62 $\pm$ 1,12

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении с доброкачественными новообразованиями.

Основные результаты исследования

В табл. 2 представлены уровни мРНК изучаемых показателей в ткани доброкачественных новообразований и ПРЩЖ. В ткани ПРЩЖ выявлено увеличение экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B p65 и p50 в 8,7 ($p=0,041$) и 5,6 раза ($p=0,036$) соответственно, а также ядерного фактора HIF-2 α в 5,3 раза ($p=0,042$) по сравнению с тканью доброкачественных новообразований.

Экспрессия ростового фактора VEGF, его рецептора VEGFR2 и CAIX в ткани ПРЩЖ не отличалась от таковой в ткани доброкачественных опухолей железы.

На следующем этапе исследования была изучена экспрессия компонентов AKT/m-TOR сигнального пути (AKT, c-Raf, GSK-3 β , PDK1 и PTEN) в ткани новообразований щитовидной железы (табл. 3). В ткани ПРЩЖ отмечено увеличение уровня мРНК протеинкиназы AKT в 8,6 раза ($p=0,041$) на фоне компенсаторного роста уровня мРНК PTEN в 8,1 раза ($p=0,037$). При этом экспрессия гена c-Raf в ткани ПРЩЖ была в 2,1 раза ($p=0,048$) ниже, чем в ткани доброкачественных опухолей. Однако экспрессия протеинкиназы m-TOR, ее субстратов p70-S6 кина-

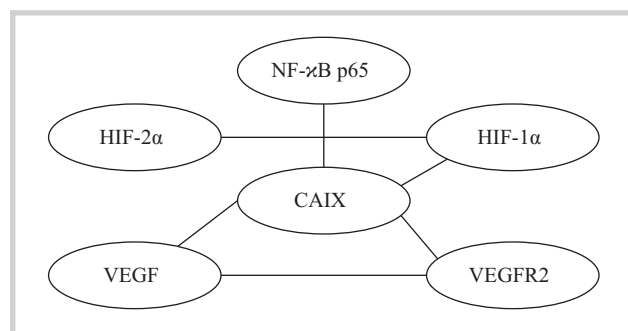


Рис. 1. Взаимосвязи между транскрипционными и ростовыми факторами при папиллярном раке щитовидной железы. Линиями обозначены прямые связи между молекулярными маркерами.

зы и 4E-BP1 не отличалась от таковой в ткани доброкачественных опухолей (см. табл. 3).

Корреляционный анализ обнаружил многочисленные связи между изучаемыми молекулярными маркерами в ткани ПРЩЖ (рис. 1). Выявлена положительная связь между экспрессией NF- κ B p65, VEGFR2 ($r=0,7$; $p < 0,05$), CAIX ($r=0,8$; $p < 0,05$), HIF-1 α ($r=0,6$; $p < 0,05$) и HIF-2 α ($r=0,6$; $p < 0,05$); между VEGFR2 и VEGF ($r=0,5$; $p < 0,05$), CAIX ($r=0,6$; $p < 0,05$) и HIF-1 α

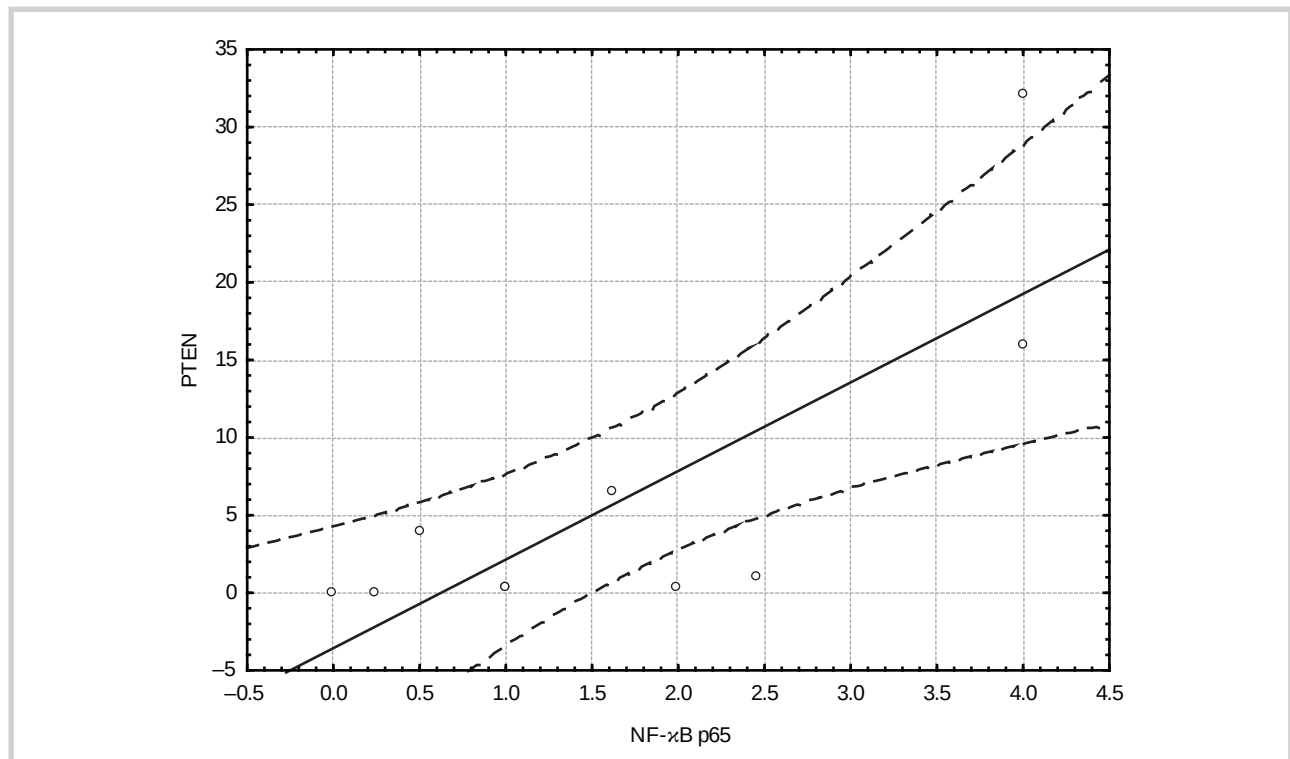


Рис. 2. График рассеяния между экспрессией PTEN и экспрессией NF-κB p65.

($r=0,7$; $p<0,05$); а также положительная связь между экспрессией VEGF, CAIX ($r=0,6$; $p<0,05$) и HIF-2α ($r=0,7$; $p<0,05$) и прямая зависимость между экспрессией HIF-1α, CAIX ($r=0,7$; $p<0,05$) и HIF-2α ($r=0,6$; $p<0,05$). Эти взаимозависимости между транскрипционными и ростовыми факторами являются основой молекулярных механизмов развития опухоли.

В ткани ПРЩЖ обнаружена прямая зависимость между экспрессией PTEN, c-Raf ($r=0,6$; $p<0,05$) и 70-S6 ($r=0,8$; $p<0,05$), а также между m-TOR и PDK1 ($r=0,7$; $p<0,05$), что указывает на наличие системы регуляции между киназами и их ингибиторами.

Обнаружены ассоциации между экспрессией онкосупрессора PTEN с транскрипционными факторами NF-κB p65 ($r=0,76$; $p<0,05$) и NF-κB p50 ($r=0,72$; $p<0,05$) (рис. 2, 3), характеризующие особенности функционирования сигнальных каскадов. Экспрессия NF-κB p65 коррелировала также с экспрессией PDK1 ($r=0,71$; $p<0,05$), а NF-κB p50 — с c-Raf ($r=0,76$; $p<0,05$).

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Экспрессия транскрипционного фактора HIF-1 в ткани ПРЩЖ связана с прогнозом заболевания и определяет исход патологического процесса [10, 11]. В нашем исследовании показано, что к молекулярно-биологическим характеристикам данной опухоли

также можно отнести повышение экспрессии HIF-2, NF-κB p65 и NF-κB p50. Эти изменения приводят к модификации экспрессии компонентов АКТ/m-TOR сигнального каскада.

Обсуждение основного результата исследования

В ткани ПРЩЖ отмечено повышение экспрессии протеинкиназы АКТ — одного из ключевых компонентов АКТ/m-TOR сигнального каскада. Это объясняется преобладанием в клетках опухоли анаболических процессов. Имеются сведения, что в ткани рака щитовидной железы увеличивается содержание АКТ [12, 13]. Иными словами, рост экспрессии гена АКТ сопровождается увеличением количества его белкового продукта.

Негативным регулятором активности АКТ/m-TOR сигнального пути является фосфатаза PTEN. Мы отметили рост уровня ее мРНК при ПРЩЖ. Полагают, что развитие и прогрессирование данной патологии происходят на фоне мутационных изменений гена *PTEN*, что является одной из причин развития раковых синдромов (синдром Cowden) и связано с формированием функционально неполноценного белка. В исследовании S. Veg и соавт. [14] показано снижение содержания PTEN в 24,5% образцов ПРЩЖ, однако при проведении флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) дефект гена *PTEN* был зафиксирован только в 4,8% образцов.

Мы нашли снижение уровня мРНК c-Raf в ткани ПРЩЖ, что может быть связано с ингибирующим

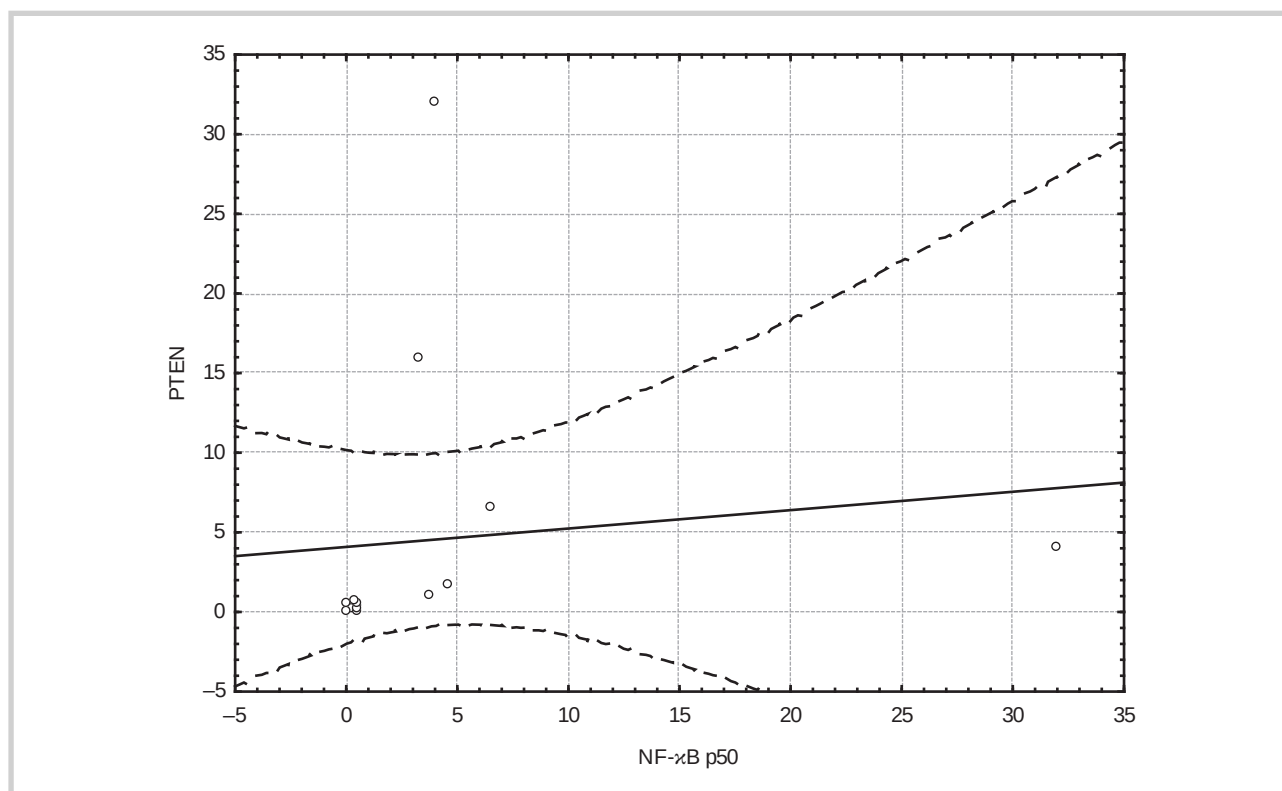


Рис. 3. График рассеяния между экспрессией PTEN и экспрессией NF-κB p50.

действием киназы АКТ. В литературе [15] имеются данные об экспрессии протеинкиназы c-Raf в ткани ПРЩЖ. Стоит отметить, что в этой работе связь между экспрессией c-Raf и активностью АКТ/m-TOR сигнального каскада не изучалась.

Известно, что ядерный фактор NF-κB может влиять на экспрессию ростового фактора VEGF как непосредственно, так и путем регуляции транскрипции ядерного фактора HIF-1α [16, 17]. Связь между экспрессией HIF-1α и HIF-2α, CAIX, VEGFR2 и между экспрессией HIF-2α и HIF-1α, VEGF также можно объяснить способностью HIF-1α и HIF-2α усиливать транскрипцию генов. Подобные сведения имеются в работах последних лет [18, 19]. Также показана совместная регуляция экспрессии VEGF, его рецептора и CAIX, что является свидетельством эффективной регуляции ангиогенеза.

В ткани ПРЩЖ выявлена связь между экспрессией m-TOR и PDK1, что указывает на роль PDK1 в активации протеинкиназы АКТ, субстратом которой является m-TOR [6]. Связь экспрессии фосфатазы PTEN и p70-S6 киназы объясняется, вероятно, регуляцией активности АКТ/m-TOR сигнального пути онкосупрессором PTEN [20]. Прямая зависимость между уровнем мРНК c-Raf и экспрессией PTEN показывает, что данная фосфатаза может также влиять на активность MAPK сигнального каскада, который

принимает участие в регуляции пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток [10, 11].

Особое значение имеет обнаруженная нами положительная связь между экспрессией ядерных факторов NF-κB p65 и NF-κB p50 с PTEN. В исследованиях К. Vasudevan [21] показано, что активация транскрипционной активности данного ядерного фактора происходит в условиях супрессии PTEN и выраженной активности киназ изучаемого сигнального каскада. К ним относят c-Raf и PDK1. Потеря функциональной активности онкосупрессора PTEN приводит к усилению экспрессии NF-κB за счет активации АКТ/m-TOR сигнального каскада [22]. Высокий уровень мРНК фосфатазы PTEN является косвенным доказательством измененной активности данного онкомаркера, что приводит к еще большей активности АКТ.

Заключение

В настоящем исследовании установлены важные молекулярно-биологические характеристики ПРЩЖ. К ним относятся высокая экспрессия транскрипционных факторов NF-κB и HIF-2α, протеинкиназы АКТ и фосфатазы PTEN, а также низкий уровень мРНК c-Raf. Особенности экспрессии транскрипционных и ростовых факторов, а также компонентов

АКТ/m-TOR сигнального пути могут влиять на течение заболевания, определяя эффективность лечения. Полученные данные имеют значение как для фундаментальной, так и для клинической онкологии.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа проведена при поддержке ФГБУ Томский национальный медицинский центр РАН.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов: Л.В. Спирина — определение экспрессии изучаемых показателей, подготовка статьи к публикации; С.Ю. Чижевская — формирование групп исследования; И.В. Кондакова — координация исследования, общее руководство. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность) / Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Петровой Г.В. // М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — Филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России; 2017. [Kaprin AD, Starinsky VV, Petrova GV, Editors. *Zlokachestvennye novoobrazovaniya v Rossii v 2015 (zabolevaemost' i smernost')*. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena — Filial FGBU «NMIRTS» Minzdrava Rossii; 2017. (In Russ.)].
2. Spirina LV, Usynin YA, Kondakova IV, et al. The Akt-MTOR signalling pathway in kidney cancer tissues. *Aip Conf Proc*. 2015; 1688:080004. doi: 10.1063/1.4936067
3. Спирина Л.В., Усынин Е.А., Кондакова И.В., и др. Влияние таргетной терапии на содержание транскрипционных, ростовых факторов, протеинкиназы TOR и активности внутриклеточных протеиназ у больных диссеминированным раком почки. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2015. — Т. 60. — № 6. — С. 768—772. [Spirina LV, Usynin EA, Kondakova IV, et al. Effect of target therapy on the content of transcription and growth factors, protein kinase TOR, and activity of intracellular proteases in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Bull Eksp Biol Med*. 2015;60(6):768-772. (In Russ.)].
4. Спирина Л.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А., и др. Экспрессия МРНК и содержание Nf-kB, Hif-1, Hif-2, Vegf, Vegfr2 и арбоангидразы Ix при метастазировании рака почки. *Молекулярная биология*. — 2017. — Т. 51. — № 2. — С. 372—377. [Spirina LV, Usynin EA, Yurmazov ZA, et al. Transcription factors Nf-kB, Hif-1, Hif-2, growth factor Vegf, Vegfr2 and carboanhydrase Ix mRNA and protein level in the development of kidney cancer metastasis. *Molecular Biology*. 2017;51(2):372-377. (In Russ.)]. doi: 10.7868/S0026898417020197
5. Tanaka TN, Alloju SK, Oh DK, et al. Thyroid cancer: molecular pathogenesis, tyrosine kinase inhibitors, and other new therapies. *Am J Hematol Oncol*. 2015;11(4):5-9.
6. Robbins HL, Hogue A. The Pi3k/Akt pathway in tumors of endocrine tissues. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6:188. doi: 10.3389/Fendo.2015.00188
7. Dodd KM, Yang J, Shen MH, et al. MTORC1 Drives Hif-1 α and Vegf-a signalling via multiple mechanisms involving 4e-Bp1, S6k1 and Stat3. *Oncogene*. 2015;34(17):2239-2250. doi: 10.1038/onc.2014.164
8. Бельцевич Д.Г., Ванушко В.Э., Мельниченко Г.А., и др. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению дифференцированного рака щитовидной железы у взрослых. Проект. Редакция 2016 г. // *Эндокринная Хирургия*. — 2015. — Т. 9. — № 3. — С. 7—17. [Bel'tseovich DG, Vanushko VE, Mel'nichenko GA, et al. Russian clinical practice guidelines for diagnosis and treatment of differentiated thyroid cancer. *Endocrine Surgery*. 2015;9(3):7-17. (In Russ.)]. doi: 10.14341/Serg201537-14
9. *Клинические рекомендации по диагностике и лечению рака щитовидной железы*. / Под ред. Алиевой С.Б., Алымова Ю.В., Мудунова А.М., и др. — М. 2014. Доступно по <http://www.Oncology.ru/Association/Clinical-Guidelines/2014/56.Pdf>. Ссылка активна на 22.09.14. [Alieva SB, Alymov YuV, Mudunov AM, Editors. *Clinical recommendations for the diagnosis and treatment of thyroid cancer*. Ed by Podvyaznikov SO, Kropotov MA. Moscow. 2007. (In Russ)]. Dostupno po: <http://www.Oncology.ru/Association/Clinical-Guidelines/2014/56.Pdf>. Accessed 22.09.14
10. Magnon C, Opolon P, Ricard M, et al. Radiation and inhibition of angiogenesis by canstatin synergize to induce HIF α -mediated tumor apoptotic switch. *J Clin Invest*. 2007;117(7):1844-1855. doi: 10.1172/jci30269
11. Burrows N, Babur M, Resch J, et al. Hypoxia-inducible factor in thyroid carcinoma. *J Thyroid Res*. 2011;2011:762905. doi: 10.4061/2011/762905
12. Vasko V. Akt activation and localisation correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. *J Med Genet*. 2004;41(3):161-170. doi: 10.1136/jmg.2003.015339
13. Krzeslak A, Pomorski L, Lipinska A. Expression, localization, and phosphorylation of Akt1 in benign and malignant thyroid lesions. *Endocr Pathol*. 2011;22(4):206-211. doi: 10.1007/s12022-011-9177-4
14. Beg S, Siraj AK, Jehan Z, et al. PTEN loss is associated with follicular variant of middle eastern papillary thyroid carcinoma. *Br J Cancer*. 2015;112(12):1938-1943. doi: 10.1038/bjc.2015.169
15. Lee J, Jeong S, Park JH, et al. Aberrant expression of cot is related to recurrence of papillary thyroid cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(6):E548. doi: 10.1097/Md.0000000000000548
16. Alverdi V, Hetrick B, Joseph S, Komives EA. Direct observation of a transient ternary complex during kappabalpha-mediated dissociation of Nf-Kappab from DNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(1):225-230. doi: 10.1073/Pnas.1318115111
17. Potoyan DA, Zheng W, Komives EA, Wolynes PG. Molecular stripping in the Nf-Kappab/Ikappab/DNA genetic regulatory network. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(1):110-115. doi: 10.1073/Pnas.1520483112
18. Liu YM, Ying SP, Huang YR, et al. Expression of HIF-1 α and HIF-2 α correlates to biological and clinical significance in papillary thyroid carcinoma. *World J Surg Oncol*. 2016;14(1):30. doi: 10.1186/S12957-016-0785-9
19. LV Y, Sun Y, Shi T, et al. Pigment epithelium-derived factor HAS a role in the progression of papillary thyroid carcinoma by affecting the Hif1 α -Vegf signaling pathway. *Oncol Lett*. 2016;12(6):5217-5222. doi: 10.3892/Ol.2016.5316
20. Chalhoub N, Baker SJ. PTEN and the Pi3-kinase pathway in cancer. *Annu Rev Pathol*. 2009;4:127-150. doi: 10.1146/Annurev.Pathol.4.110807.092311
21. Vasudevan KM, Gurumurthy S, Rangnekar VM. Suppression of PTEN expression by Nf-B prevents apoptosis. *Mol Cell Biol*. 2004;24(3):1007-1021. doi: 10.1128/Mcb.24.3.1007-1021.2004
22. Koul D, Takada Y, Shen R, et al. PTEN enhances TNF-induced apoptosis through modulation of nuclear factor-Kappab signaling pathway in human glioma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;350(2):463-471. doi: 10.1016/J.Bbrc.2006.09.077

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

*Спирина Людмила Викторовна — д.м.н. [Liudmila V. Spirina, MD, PhD]; адрес: Россия, 634050, Томск, пер. Кооперативный, д. 5 [address: 5 Kooperativny street, Tomsk, 634050, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5269-736X>; eLibrary SPIN: 1336-8363; e-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru

Чижевская Светлана Юрьевна — д.м.н. [Sventlana Yu. Chizhevskaya, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2974-4778>; eLibrary SPIN: 9561-3382; e-mail: sch@oncology.tomsk.ru

Кондакова Ирина Викторовна — д.м.н., проф. [Irina V. Kondakova, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0907-4615>; eLibrary SPIN: 9338-4149; e-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

ИНФОРМАЦИЯ

Рукопись получена: 05.09.2017. Одобрена к публикации: 11.03.2018.

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Спирина Л.В., Чижевская С.Ю., Кондакова И.В. Экспрессия транскрипционных, ростовых факторов и компонентов АКТ/m-TOR сигнального пути в ткани папиллярного рака щитовидной железы. // *Проблемы эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — № 4. — С.208-215. doi: 10.14341/probl9310

TO CITE THIS ARTICLE:

Spirina LV, Chigevskaya SYu, Kondakova IV. Expression of transcription, growth factors and components of AKT/m-TOR signaling pathway in papillary thyroid cancers. *Problems of Endocrinology*. 2018;64(4):208-215. doi: 10.14341/probl9310