

КЛИНИКО-МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АСПЕКТЫ КАНЦЕРОГЕНЕЗА ЖЕЛУДКА

М.В. Немцова, доктор биологических наук, профессор

Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8

E-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

Рак желудка (РЖ) возникает в результате многоступенчатого процесса, который характеризуется прогрессирующим накоплением молекулярных изменений (как генетических, так и эпигенетических) в опухолевой клетке. РЖ является гетерогенным заболеванием. О различных генетических изменениях, которые приводят к появлению РЖ известно много, однако детальные его механизмы до сих пор остаются неизученными. Существуют 2 основных подтипа РЖ: интестинальный и диффузный, которые имеют морфологические, эпидемиологические и патогенетические отличия и характеризуются различным клиническим поведением. Понимание геномики этих подтипов РЖ должно привести к улучшению профилактики, ранней диагностики и к новой стратегии лечения заболевания. Представлены современные взгляды на молекулярный патогенез РЖ, рассмотрены основные этапы развития опухоли и основные гены, участвующие в этом процессе. Обсуждаются роль инфицирования *Helicobacter pylori* и вирусом Эпштейна–Барр, а также влияние полиморфных вариантов в ДНК генов, повышающих риск развития РЖ и возможные механизмы возникновения спорадического и наследственного РЖ. Для развития эффективных средств профилактики и лечения этого типа опухолей необходимо знание основных механизмов канцерогенеза желудка.

Ключевые слова: рак желудка, гены, экспрессия, мутации, полиморфизмы

CLINICAL AND MOLECULAR ASPECTS OF GASTRIC CANCEROGENESIS

M. V. Nemtsova

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
Trubetskaya St., 8, Moscow, Russian Federation, 119991

Gastric cancer (GC) arises through a multistep process characterized by the progressive accumulation of molecular alterations of tumor cells that is involving genetic and epigenetic mechanisms. GC is a very complex and heterogeneous disease, and although much has been learned about the different genetic changes eventually leading to its appearance, the detailed mechanisms still remain unclear. There are known two major GC histological subtypes, intestinal and diffuse, which being differed in morphology, epidemiology, pathogenesis are characterized by dissimilar clinical course. A better understanding of the genomics of these different subtypes of gastric adenocarcinoma should result in better prevention, earlier diagnosis and suggestion of new treatment strategies. In the lecture there are represented modern views on the molecular pathogenesis of GC, there are considered the main stages of tumor development and the main genes involved in this process. The lecture discusses the role of *H. pylori* infection and Epstein–Barr virus infection in the development of GC, as well as the influence of DNA polymorphisms in the genes that increase the risk of GC, and also possible mechanisms of the appearance of sporadic and hereditary GC. For the development of effective prevention and treatment modalities it is essential to unravel the basic mechanisms of gastric carcinogenesis.

Key words: gastric cancer, genes, expression, mutations, polymorphisms

Рак желудка (РЖ) представляет собой многофакторное заболевание, в патогенезе которого большое значение имеют как наследственные факторы, так и факторы окружающей среды, включая генетический фон организма, воздействие инфекционных агентов и пищевые привычки. Наиболее существенными факторами риска развития РЖ являются хронический атрофический гастрит, а также инфекция, вызванная *Helicobacter pylori*.

РЖ по классификации Лорена можно разделить на 2 группы: диффузный и интестинальный (кишечный) тип. Эти 2 типа имеют клинические, морфологические и эпидемиологические различия. Интестинальный (кишечный) тип чаще наблюдают у пожилых пациентов, с мультифокальным атрофическим гастритом, который затем переходит в интестинальную метапла-

зию или дисплазию. Диффузный тип распространен у молодых пациентов, протекает более агрессивно, его связь с гастритом и метаплазией неочевидна. Клинические различия этих 2 типов определяются различными молекулярными механизмами опухолевого развития и прогрессии [1].

На основании другой классификации опухоли желудка можно разделить на 3 типа [2]. К 1-му типу относятся опухоли диффузного типа по Лорену и перстневидноклеточный РЖ. Этот тип определяют как Е-кадгерин-(*CDH1*)-зависимый, причиной которого являются генетические и эпигенетические изменения Е-кадгерина. Ко 2-му типу относят дистально расположенные опухоли интестинального типа, связанные с атрофическим гастритом и инфекцией *H. pylori*, а к 3-му – проксимальные недиффузные опухоли карди-

ального или гастроэзофагеального происхождения, которые связаны с образом жизни, индуцируются ожирением и хроническим рефлюксом кислоты желудочного сока. Сегодня в мире растет частота опухолей именно этого типа.

РОЛЬ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ ПРИ КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ ЖЕЛУДКА

В настоящее время очевидно, что инфекция *H. pylori* напрямую связана с развитием РЖ. Наиболее изученным фактором, определяющим вирулентность *H. pylori*, является протеин CagA. Инфекция, вызванная CagA-положительным штаммом *H. pylori*, увеличивает риск развития рака (по сравнению с инфекцией, вызванной CagA-негативным штаммом *H. pylori*) [3]. При трансфекции в клетки-хозяина CagA-положительный штамм *H. pylori* индуцирует ответ по типу фактора роста в эпителиальных клетках желудка. Показано, что инфекция желудочного эпителия, вызванная CagA-положительным штаммом *H. pylori*, запускает абберантную экспрессию гена *AICD* (Activation-Induced Cytidine Deaminase), связанного с переключением класса иммуноглобулинов и повышением мутационного процесса в лимфоцитах. Неправильная экспрессия *AICD*, вызванная инфекцией *H. pylori*, может являться причиной накопления мутаций в слизистой оболочке желудка, что приводит к образованию опухоли. Другим геном вирулентности, участвующим в канцерогенезе, является ген вакуолизирующего цитотоксина (*vacA*), который индуцирует апоптоз эпителиальных клеток и подавляет местный иммунный ответ, вмешиваясь в активацию Т-лимфоцитов.

Хроническое воспаление способствует интенсивному обновлению тканей, что вызывает избыточную скорость пролиферации. Это приводит к более частым ошибкам репликации ДНК в митозе и, следовательно, повышению частоты генетических мутаций. Прямое мутагенное действие при инфицировании *H. pylori* показано на трансгенных моделях мышей. Кроме того, хроническое воспаление приводит к генетической нестабильности посредством образования активных форм кислорода и азота, которые могут напрямую повреждать геномную и митохондриальную ДНК. Оксид азота может запускать митохондриальный каскад апоптоза, что, возможно, играет важную роль в каскадной передаче клеточного сигнала при инфицировании *H. pylori*.

Вирус Эпштейна–Барр (ВЭБ) – вирус человека, который ассоциирован с различными злокачественными опухолями. Частота РЖ, ассоциированного с указанным вирусом, составляет до 5% всех случаев. Для ВЭБ-ассоциированного РЖ характерны: молодой возраст, преобладание пациентов мужского пола, проксимальная локализация, низкая частота вовлечения в процесс лимфатических узлов, существенная лимфоцитарная инфильтрация, «ажурное» распределение в слизистой оболочке желудка. Такие опухоли проявляются наличием специфического профиля белковой экспрессии, который характеризуется частой потерей экспрессии генов *p16* (*CDKN2A*), *SMAD4*, *FHIT* и *CD82* (*KAI-1*), но сохранением экспрессии генов *APC*, *DCC* и протеинов, связанных с репарацией ДНК [1].

Большинство ВЭБ-положительных опухолей желудка имеют молекулярный фенотип с высокой степенью метилирования опухолевой ДНК. Гиперметилирование CpG-островков промоторных участков генов, вовлеченных в канцерогенез, считается наиболее характерной аномалией РЖ, ассоциированной с ВЭБ. Точный механизм гиперметилирования в результате ВЭБ-инфекции пока не известен, но показано, что вирусный ген *LMP2A* активирует ДНК метилтрансферазу I в клетках организма-хозяина, способствуя метилированию ДНК, а также стимулирует экспрессию сурвинуина и активирует внеклеточные сигнальные пути киназы (ERK/MAPK1).

НАСЛЕДСТВЕННЫЙ РЖ

До недавнего времени единственной наследственной формой РЖ считался наследственный диффузный РЖ, который составляет примерно 1–3% всех опухолей желудка. К развитию этой формы рака приводят наследственные (герминальные) мутации в гене *CDH1* (*16q22.1*). Риск развития диффузного РЖ у носителей мутации составляет 70%. При диффузном типе РЖ малые перстневидноклеточные опухоли возникают *de novo* из стволовых клеток в зоне пролиферации, расположенной в шейке желудочных желез. У пациентов с слизистой оболочкой желудка (мукозе) может быть до нескольких сотен микроскопических очагов, состоящих из опухолевых клеток, что характерно для раннего наследственного диффузного РЖ.

Известно еще несколько наследственных синдромов с предрасположенностью к опухолям желудка, которые дополняют уже известные формы наследственного РЖ [4].

Хорошо охарактеризован наследственный синдром с предрасположенностью к РЖ, получивший название синдром Линча. Обычно он характеризуется появлением колоректального семейного рака и возникает при наследственных мутациях в генах системы репарации (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2*). Однако при синдроме Линча встречаются и семейные опухоли желудка, которые отличаются отсутствием инфекции *H. pylori*, проявляются в возрасте примерно 56 лет, относятся преимущественно к кишечному типу.

Синдром Ли–Фраумени является редким наследственным синдромом, при котором встречаются различные злокачественные опухоли, саркомы, рак молочной железы, лейкемия, опухоли мозга, коры надпочечников, а также РЖ. Причинами возникновения синдрома Ли–Фраумени являются герминальные мутации гена-супрессора *TP53*. Однако частота РЖ при этом редком синдроме составляет <4% всех возможных новообразований.

Синдром Пейтца–Егерса является редким аутосомно-доминантным заболеванием, которое характеризуется наследственными мутациями гена *STK11*. К основным клиническим характеристикам синдрома можно отнести полипоз желудочно-кишечного тракта и пигментацию губ, а также слизистой оболочки полости рта. У носителей наследственных мутаций гена

STK11 повышен риск развития опухолей различного типа, в том числе опухолей желудка.

РЖ также может выявляться у больных гастроинтестинальным полипозом, особенно ювенильным, при котором наследственные мутации определяются в генах *SMAD4* или *BMPRIA*. Почти у 24% пациентов с гастроинтестинальным ювенильным полипозом развивается РЖ, а опухолевые ткани определяются в 25% случаев превентивной резекции желудка.

С развитием различных типов рака, в том числе РЖ, связан синдром Коудена – гастроинтестинальный гамартозный полипоз, для которого характерно повреждение гена *PTEN*.

ОСНОВНЫЕ ГЕНЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РАЗВИТИИ СПОРАДИЧЕСКОГО РЖ

Развитие спорадической опухоли происходит в результате накопления в геноме клетки изменений, возникающих под действием наследуемых факторов и влиянием канцерогенов, приводя к нарушению его нормального функционирования.

Один из основных генов, определяющих канцерогенез желудка, – *CDH1*, кодирующий E-кадгерин, который является белком клеточной адгезии. Он экспрессируется в эпителиальной ткани и необходим для развития и дифференцировки эпителиальных клеток, а также поддержания архитектуры эпителиальных слоев. В опухолевых клетках мультифокального раннего диффузного РЖ экспрессия E-кадгерина очень низкая, что предполагает структурную потерю этого гена в опухоли или подавление его экспрессии под действием других механизмов. Эпигенетическая инактивация *CDH1* в результате метилирования его промоторной области является ранним событием в развитии РЖ. Паттерн метилирования, наблюдаемый при раннем диффузном раке, специфичен для каждого микрофокуса, что позволяет предположить независимое олигоклональное происхождение этого типа рака. Метилирование промотора определено в качестве основного механизма, подавления функции E-кадгерина при спорадическом диффузном РЖ; это доказывает, что дефицит E-кадгерина может инициировать диффузный тип РЖ.

Другим геном, значимым для развития РЖ, является ген-супрессор опухолевого роста *TP53*, который часто повреждается в опухолях человека. Приблизительно 60% всех случаев РЖ связаны с миссенс-мутациями одного из аллелей гена в сочетании с делецией 2-го аллеля, в результате чего происходит полная потеря его функции. Частота мутаций *TP53* в инвазивных карциномах желудка достигает 77%, а мутационный спектр в карциномах желудка очень широк [5]. Мутации гена *TP53* чаще выявляются в опухолях, локализованных в кардиальном отделе, чем в опухолях тела желудка, при этом чаще встречаются у пожилых пациентов.

Изменения гена *TP53* часто встречаются при предраковых поражениях (как в случае кишечной метаплазии, так и при диспластических поражениях). Выявление миссенс-мутаций гена *TP53* в аденомах желудка может служить одним из ключевых показателей злокачественной трансформации. В экспериментальных моделях по-

казано, что инфекция *H. pylori* у животных, дефицитных по *tp53*, быстро приводит к развитию диспластических повреждений желудка по сравнению с животными с сохранной функцией данного гена. Это подтверждает, что инфекция *H. pylori* и повреждения гена *TP53* могут совместно действовать в канцерогенезе желудка.

Еще один ген, играющий значительную роль в развитии РЖ, – *RUNX3* (1p36), который кодирует белок, относящийся к семейству транскрипционных факторов, содержащих Runt-домен. В слизистой оболочке желудка у мышей, дефицитных по *RUNX3*, обнаружили усиление пролиферации, подавление апоптоза, а также понижение чувствительности к трансформирующему фактору роста-β (TGFβ). Примерно в 45–60% опухолей желудка у человека происходит потеря экспрессии *RUNX3* в результате гемизиготных делеций и гиперметилирования промоторной области [1]. При инфекции *H. pylori*, а также при кишечной метаплазии и аденоме желудка показано гиперметилирование *RUNX3*, что подтверждает его роль в канцерогенезе желудка.

Еще одним из основных этапов канцерогенеза РЖ следует считать изменение функции гена *CDX2*, который кодирует специфический для кишечника фактор транскрипции и определяет развитие кишечных клеток, дифференцировку и поддержание кишечного фенотипа. Экспрессия *CDX2* в желудке модельных животных приводит к развитию кишечной метаплазии, а длительная кишечная метаплазия индуцирует развитие инвазивной карциномы у *CDX2*-трансгенных мышей [6]. Увеличение экспрессии *CDX2* выявлено при дисплазиях желудка высокой степени и при РЖ кишечного типа. Таким образом, можно предположить, что *CDX2* участвует в канцерогенезе желудка и его активация является ранним событием.

В развитии РЖ важную роль играет циклооксигеназа (COX-2), ген кодирует белок, участвующий в синтезе простагландинов, и не экспрессируется в нормальных тканях. Ген активирует свою экспрессию в ответ на действие провосполительных медиаторов и онкогенных стимуляторов типа цитокинов, факторов роста и некоторых онкогенов. Ген *COX-2* гиперэкспрессируется в карциноме желудка; считается, что его экспрессия индуцируется *H. pylori* [7]. Повышение экспрессии является ранним событием при канцерогенезе РЖ кишечного типа и предшествующих предраковых повреждениях.

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ РЖ

В процессе канцерогенеза гены-супрессоры опухолевого роста инактивируются посредством гиперметилирования CpG-островка, расположенного в их промоторных районах. Метилирование/деметилирование ДНК – наиболее распространенное молекулярное событие, характеризующее опухолевые клетки. Генные мутации и цитогенетические аномалии не настолько распространены в опухолях человека, как изменения метилирования ДНК. Аберрантное метилирование CpG-острочков генов может быть использовано в качестве диагностического и прогностического маркера для определения злокачественных клеток. Обратимость эпигенетических изменений делает их привлекатель-

ными объектами в плане воздействия на опухолевые клетки различных модуляторов, которые могут деметилировать ДНК и ингибировать гистондеацетилазу, что приводит к возобновлению экспрессии инактивированных генов. РЖ характеризуется высокой частотой aberrантного метилирования, опухоль часто имеет интенсивно метилированный фенотип CpG-островков [8]. В карциномах желудка показано большое число генов опухолевых супрессоров, экспрессия которых подавляется гиперметилированием CpG-островков, включая регуляторы клеточного цикла и апоптоза, гены, регулирующие инвазию и репарацию ДНК. К ним относятся такие гены, как *CDKN2A (p16)*, *P14 (ARF)*, *CDH1*, *MGMT*, *RASSF1*, *RUNX3* и *DLC1*, которые часто гиперметилированы при РЖ. Исследования эпигенетических изменений при РЖ до недавнего времени были направлены на изучение метилирования в одном или нескольких генах. В последнее время с использованием методик полногеномного поиска были выявлены новые гены, эпигенетически инактивированные при РЖ [9].

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ В ДНК ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ РЖ

Значительное количество исследований сегодня направлено на изучение полиморфных вариантов в ДНК различных генов как фактора, увеличивающего или снижающего риск развития опухолей различного типа. Генетический полиморфизм в ДНК генов имеет большое значение для процессов, связанных с развитием РЖ. К таким процессам относится защита слизистой оболочки желудка, воспалительная реакция в ответ на инфицирование *H. pylori*, противостояние канцерогенным воздействиям, антиоксидантная защита, процессы репарации ДНК и активность клеточной пролиферации.

Полиморфизмы генов *GSTT1*, *SULT1A1* и *EPXH1*, участвующих в активации и нейтрализации полициклических ароматических углеводородов, ассоциированы с повышенным риском развития РЖ. Определенные генотипы гена *NAT1* (1088 T>A, 1095 C>A), который отвечает за N-ацетилтрансферазную активность (катализирует ацетилирование и модификацию ароматических и гетероциклических канцерогенов), ассоциированы с повышением у носителей риска развития РЖ. Таким образом, очевидно, что канцерогены окружающей среды при определенном генетическом профиле организма могут инициировать развитие опухолей желудка.

В настоящее время хорошо изучены полиморфизмы генов, связанных с хроническим воспалительным процессом: интерлейкин (IL)-1 β и антагонист рецептора IL1 (IL1RN). IL1 β представляет собой ключевой провоспалительный цитокин, регулирующий экспрессию нескольких генов, участвующих в развитии реакции воспаления. Он является эндогенным ингибитором желудочной секреции и играет важную роль в инициации и усилении реакции воспаления в ответ на инфицирование *H. pylori*. Продукция IL1 β зависит от различных факторов, но основную роль играют генетические особенности. Установлено, что 2 полиморфизма в промоторном участке гена IL1 β в положении -31 и -511 ассоциированы с риском РЖ. У носителей аллеля IL1B31C более высокая концентрация IL1 β в плазме крови, чем у субъектов с генотипом IL1B дикого типа, а сочетание аллелей IL1B-31C/-511T связано со значительным повышением риска развития РЖ. Подобная ассоциация получена для гена IL1RN, существование 2/2 генотипа по повтору 86 оснований (VNTR), локализованному в промоторной области гена, приводит к снижению секреции желудочной кислоты и развитию хронической инфекции *H. pylori*, что повышает риск возникновения РЖ.

Полиморфизмы других важных молекул воспаления также имеют отношение к канцерогенезу желудка. Подтверждена роль генов, определяющих внутренний иммунный ответ, в частности TLRs, а функциональный полиморфизм toll-подобного рецептора 4 ассоциирован с развитием некардиального типа РЖ [10]. Аллельные варианты генов *TGFB1* и *TGFB2*, которые занимают центральное положение в сигнальных сетях, контролирующей рост и дифференцировку клеток, также ассоциированы с повышенным риском РЖ.

Полиморфизмы, определенные в трансмембранном домене *HER2/c-erbB2* (655 Ile>Val, A>G), и полиморфные варианты промоторного района *EGF* (61A/G) и *MMP-9* (-1562C/T) могут непосредственно повлиять на риск развития РЖ, а некоторые генотипы *MMP-9* связаны с повышением риска опухолевой инвазии и метастазирования.

Исследования SNP-чипов или использование полногеномного секвенирования (NGS) могут помочь понять роль наследственной составляющей в развитии многих опухолей желудка. Сегодня в распоряжении ученых есть точные биоинформатические базы и программы, позволяющие справиться с огромным объемом полученных данных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Jang B.G., Kim W.H. Molecular pathology of gastric carcinoma. *Pathobiology*. 2011; 78 (6): 302–10.
- Janjigian Y.Y., Kelsen D.P. Genomic dysregulation in gastric tumors. *J. Surg. Oncol.* 2013; 107 (3): 237–42.
- Tan I.B., Ng I., Tai W.M., Tan P. Understanding the genetic basis of gastric cancer: recent advances. *Expert. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 2012; 6 (3): 335–41.
- Uppal D.S., Powell S.M. Genetics. Genomics. Proteomics of Gastric Adenocarcinoma. *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2013; 42 (2): 241–60.
- Fenoglio-Preiser C., Wang J., Stemmermann G., Noffsinger A. TP53 and gastric carcinoma: a review. *Hum. Mutat.* 2003; 21 (3): 258–70.
- Bai Y., Yamamoto H., Akiyama Y. et al. Ectopic expression of homeodomain protein CDX2 in intestinal metaplasia and carcinomas of the stomach. *Cancer Lett.* 2002; 176 (1): 47–55.
- Menter D.G., Schilsky R.L., DuBois R.N. Cyclooxygenase-2 and cancer treatment: understanding the risk should be worth the reward. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (5): 1384–1390.
- Issa J.P. CpG island methylator phenotype in cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2004; 4 (12): 988–93.
- Jee C.D., Kim M.A., Jung E.J. et al. Identification of genes epigenetically silenced by CpG methylation in human gastric carcinoma. *Eur. J. Cancer.* 2009; 45 (7): 1282–93.
- Fukata M., Abreu M.T. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene.* 2008; 27 (2): 234–43.

Поступила 27 января 2015 г.