

УДК 616–006.61–07:575.112

ОСОБЕННОСТИ ИНТЕРАКТОМА МЕЖГЕННЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ПРИ РАКЕ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА**А.А. Демидова¹, В.П. Омельченко², Г.В. Антоненко¹, В.А. Лысенко¹, А.С. Мелихов¹**¹ Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия² Донской государственный технический университет, Ростов-на-Дону, Россия

Анализ межгенных и белок-белковых взаимоотношений, сигнальных путей при различной патологии может осуществляться с помощью современных информационных технологий. Для российских ученых при изучении межбелковых связей и сигнальных путей доступны информационные возможности автоматизированного анализа, разработанные компаниями GeneGo (США), Ariadne Genomics (США), Biobase (Германия), Biomax (Германия), Algodign, (США) и другие. Применение биоинформационных и когнитивных технологий хотя и требует развития у специалистов системного мышления, информационной культуры, универсальных знаний, понимания технологических достижений, но предоставляет актуальную ценную информацию и позволяет разрабатывать эффективные таргетные лекарственные пути воздействия на патогенетические звенья заболевания.

Взаимодействуя друг с другом, гены и их продукты образуют сложные сети взаимодействий внутри клеток – интерактом. Интерактом – это карта биологически значимых молекулярных взаимосвязей. В настоящее время признание получила точка зрения, что связь между интерактомом и фенотипом дает более ценную информацию, чем генотипа и фенотипа, поскольку предполагает разработку лекарственного воздействия на болезнь.

В канцерогенезе злокачественных новообразований ключевым является накопление генетических и эпигенетических изменений в клетках, изменение белкового синтеза и формирование злокачественного фенотипа. В последнее десятилетие была разработана методика выделения функционального интерактома рака, которая интегрирует сведения из баз полногеномных ассоциаций, соматических мутаций и фармакологических мишеней [6].

Целью работы явилось выявить особенности интерактома генов при раке слизистой оболочки полости рта (СОПР).

Анализ дифференциальной экспрессии генов общедоступных наборов данных для плоскоклеточного рака полости рта (GEO accession: GSE156208) проводили с использованием пакета «GEOquery» в среде «R studio». Визуализацию белок-белковых взаимодействий осуществляли с использованием программного обеспечения «Cytoscape» и базы данных «STRING» [5]. Оценку причастности исследуемых генов к сигнальным путям проводили с использованием базы данных «DAVID». Дополнительно значимость изменения экспрессии генов оценивалась с использованием данных проекта «TCGA» [6]. Потенциальные терапевтические агенты, направленные на взаимодействие с белками исследуемых генов выявляли с помощью базы данных «DGIdb» [1].

Проведенный анализ позволил идентифицировать в общей сложности 181 дифференциально-экспрессированных генов (ДЭГ) по сравнению с условно здоровой тканью. Среди общего количества выявленных ДЭГ 95 генов имели повышенную экспрессию, а 86 генов сниженную экспрессию относительно уровня в условно здоровой ткани.

Онтология генов (ГО) в категории биологические процессы (БП) обеспечивает систему для того, чтобы иерархически классифицировать гены или генные продукты к условиям, организованным в структуре графа. Биологические процессы подразумевают описание клеточной или физиологической роли, выполняемой геном, скоординированным с другими генами. Генное обогащение онтологии массива данных микрочипов выявило 20 терминов по критерию «биологические процессы» для ДЭГ с повышенной экспрессией (включая клеточную адгезию), и 14 терминов ГО-БП для ДЭГ с пониженной экспрессией (включая процессы окисления-восстановления).

На основании анализа базы данных STRING, идентифицировано 104 пары белок-белковых взаимодействий среди выявленных ДЭГ. Взаимодействующие компоненты (в данном случае белки) называются узлами (nodes), а взаимодействия между узлами отображаются линиями и называются ребрами (edges). Узлы, к которым сходится много ребер, называются хабами (hubs).

Установлено 14 наиболее плотных узлов со степенью связывания большей или равной 5, включающих ген матриксной металлопептидазы 1 (MMP1) (также известную как интерстициальная коллагеназа), семейство которых демонстрируют частую дифференциальную экспрессию при плоскоклеточном раке СОПР и могут выступать потенциальными биомаркерами или мишенями (Bates), кератин 6A (KRT6A) и интерлейкин 8 (IL8, CXCL8). Известно, что сверхэкспрессия CXCL8 усиливает миграцию мононуклеарных клеток, тогда как подавление CXCL8 ингибирует миграцию и инвазию мононуклеаров через базальную мембрану. CXCL8 влияет на множественные процессы, вовлеченные в прогрессирование опухоли и идентифицируется как потенциальная терапевтическая мишень (Christofakis).

С помощью подключаемого модуля MCODE в программном обеспечении Cytoscape выявлены основные модули в белковой сети: модуль 1 (оценка MCODE = 8,6) и модуль 2 (оценка MCODE=3,5). Были проанализированы функции каждого модуля. Анализ обогащения пути показал, что модуль 1 состоит из 42 узлов и 102 ребер, которые в основном связаны с метаболизмом лекарств, в том числе платины. Модуль 2 состоит из 9 узлов и 14 ребер. Принадлежность данного модуля к сигнальным путям характеризуется следующими чертами: отражает метаболизм глутатиона, химический канцерогенез, устойчивость к лекарствам на основе платины, IL-7 сигналинг и сигнальный путь HIF1A. С использованием программного обеспечения cytoHubba, определены десять генов с более высокой степенью связности (хаб-гены): матриксная металлопротеиназа 1 (MMP1, кератин 6A (KRT6A), интерлейкин 8 (CXCL8), малый пролин-богатый пептид 8 (SPRR1B), кератин 16 (KRT16), малый пролин-богатый пептид 1A (SPRR1A), интерлейкин 7 (IL7), гипоксия-индуцированный фактор 1-альфа (HIF1A), интегрин-субъединица 2A (ITGA2), интегрин-субъединица 6A (ITGA6).

Анализ коэкспрессии генов десяти хаб-генов, выполненный базой данных STRING, показал, что эти гены могут активно взаимодействовать друг с другом, образуя два кластера взаимодействий.

Выявленные хаб-гены могут играть важную роль при развитии плоскоклеточного рака СОПР, участвуя в ряде биологических процессов. Среди таковых – интегриновые взаимодействия клеточной поверхности, VEGFR1 сигналинг, сигнальные события, опосредованные протеогликаном и синдеканом, бета-1-интегрин взаимодействия с клеточной поверхностью.

С ориентиром на 5 хаб-генов, были подобраны 23 противоопухолевых препарата для возможного лечения плоскоклеточного рака СОПР. Перспективными мишенями для этих препаратов являлись IL8, HIF1A и MMP1. Следует отметить, что лефлуномид и ацетат медроксипрогестерона воздействуют одновременно на IL8 и MMP1. Медроксипрогестерон снижает уровни MMP1 и IL8 [4], как и в случае с лефлуномидом [3]. Кроме того, ингибирующее воздействие оказывают маримастат, батимастат и приномастат против MMP1 [2]. Против HIF1A прямым ингибитором выступает нитроглицерин по данным исследования My Cancer Genome Clinical Trial.

Идентифицированная сеть межгенных и межбелковых взаимодействий при раке СОПР отмечает большую перспективу MMP1, IL8 и HIF1A как потенциальных мишеней при лечении плоскоклеточного рака данной локализации.

Литература

Freshour S.L. Integration of the Drug–Gene Interaction Database (DGIdb 4.0) with open crowdsource efforts. *Nucleic acids research*. 2021; 49 (D1): D1144–D1151.

Heath E.I., Grochow L.B. Clinical potential of matrix metalloprotease inhibitors in cancer therapy. *Drugs*. 2000 May; 59(5): 1043–55.

Kulich W.C., Mur E., Aglas F., Niksic F., Czerwenka C. Inhibitory effects of leflunomide therapy on the activity of matrixmetalloproteinase-9 and the release of cartilage oligomeric matrix protein in patients with rheumatoid arthritis. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2006 Mar–Apr; 24(2): 155–60.

Lockwood C.J., Paidas M., Krikun G., Koopman L.A. et al. Inflammatory cytokine and thrombin regulation of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 expression in first trimester human decidua. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2005 Aug; 90(8): 4710–5.

Szklarczyk D. STRING v11: protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic acids research*. 2019; 47(D1): D607–D613.

Tomczak K., Czerwińska P., Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemporary oncology*. 2015; 19(1A): A68.