МикроРНК: половые гормоны, гормональный канцерогенез, гормоночувствительность опухолевой ткани

А. М. Малек[1, 2], Л. М. Берштейн[1]

[1]ФГБУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68;
[2]Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова»; Россия, 188300, Ленинградская обл., Гатчина, Орлова роща

Контакты: *Анастасия Валерьевна Малек anastasia@malek.com*

Половые гормоны, регулируя нормальные физиологические процессы большинства тканей и органов, традиционно считаются одним из ключевых факторов развития и прогрессии опухолей органов репродуктивной системы. В течение последних лет стала очевидной значимость системы посттранскрипционного контроля генной экспрессии, опосредуемой короткими одноцепочечными молекулами РНК, так называемыми микроРНК, в регуляции нормальных физиологических процессов и в патогенезе многих заболеваний, включая онкологические. В представленном обзоре обсуждается взаимосвязь между двумя в определенном смысле самостоятельными регуляторными системами – половыми гормонами и микроРНК. Взаимоотношения этих систем рассматриваются в контексте двух онкологических заболеваний – рака молочной железы (РМЖ) и рака предстательной железы (РПЖ).
Кратко освещается история исследований роли половых гормонов в патогенезе РМЖ и РПЖ, более подробно представлены современные данные о биогенезе и биологической роли микроРНК. В клетках гормоночувствительных тканей половые гормоны регулируют работу микроРНК-аппарата регуляции генной экспрессии двумя известными путями: специфично, влияя на активность отдельных молекул микроРНК, и неспецифично, изменяя эффективность биогенеза микроРНК и активность цитоплазматического РНК-белкового комплекса. С учетом работы такой регуляторной сети существенно расширяются представления о биологических эффектах половых гормонов в физиологических условиях. Злокачественная трансформация приводит к искажению регуляторных эффектов половых гормонов, что отражается и усиливается регулируемой ими системой посттранскрипционного контроля генной экспрессии, опосредуемой микроРНК. К числу наиболее исследованных и клинически значимых примеров этого феномена относится утрата чувствительности к влиянию половых гормонов, на фоне чего клетки приобретают способность к активной пролиферации без гормональной стимуляции за счет подключения коллатеральных сигнальных путей и ростовых факторов. Этот феномен отчасти опосредуется микроРНК, и как следствие, к обсуждению привлекаются современные экспериментальные данные, указывающие на причастность микроРНК к формированию феномена гормональной резистентности клеток РМЖ и РПЖ. Представления о возможной первичной роли нарушений функций микроРНК в процессе опухолевой трансформации и искажения механизмов гормональной регуляции основаны на меньшем количестве проведенных и опубликованных исследований. В целом, в соответствии с основной биологической ролью микроРНК, их таргетное воздействие на функции половых гормонов в основном опосредуется взаимодействием с различными участками матричной РНК (мРНК) соответствующих гормональных рецепторов и ведет к угнетению синтеза последних. В итоге действие многих микроРНК конвергируется на одной молекуле мРНК, что в большинстве случаев приводит к подавлению сигнальных каскадов, индуцируемых половыми гормонами.
Анализ фундаментальных аспектов дополнен обзором клинически значимых проблем, в решении которых должна учитываться взаимосвязь половых гормонов и микроРНК. Коротко обсуждаются перспективы развития и внедрения в клиническую практику методов диагностики, прогнозирования и оптимизации терапии опухолевых заболеваний гормоночувствительных тканей на основе сведений о микроРНК и их связях с обсуждаемыми проблемами.

Ключевые слова: *микроРНК, половые гормоны, канцерогенез, эстрогены, прогестерон, андрогены, гормоночувствительность, гормональная резистентность, рак, рак предстательной железы, рак молочной железы*

DOI: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.004–012

MicroRNA: sex steroids, hormonal carcinogenesis, hormonal sensitivity of tumor tissue

A.V. Malek[1, 2], L.M. Bershtein[1]

[1]N.N. Petrov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochniy, St. Petersburg, 197758, Russia;
[2]National Research Centre "Kurchatov Institute", B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute; Orlova roshcha, Gatchina, Leningrad region, 188300, Russia

Sex hormones, regulating normal physiological processes of most tissues and organs, are considered to be one of the key factors in the development and progression of the reproductive system cancer. Recently, the importance of the system for post-transcriptional control of gene expression mediated by short single-stranded RNA molecules (microRNA) became evident. This system is involved in regulation of normal physiological processes and in the pathogenesis of many diseases, including cancer. In review we discuss the relationship between the two regulatory systems – sex hormones and microRNAs. The relationship of these systems is considered in the context of two tumors – breast and prostate cancer.
In particular, the history of research on the role of sex hormones in the pathogenesis of breast cancer and prostate cancer is briefly covered. Additionally, modern scientific data on the biogenesis and biological role of microRNAs are presented in more detail. In the cells of the hor-

mone-sensitive tissues, sex hormones regulate the microRNA-mediated machinery of gene expression control by two known ways: specifically, affecting the activity of individual microRNA molecules and non-specifically by altering the efficiency of microRNA biogenesis and activity of RNA-induced silencing complex. This downstream regulatory network substantially enhances biological effects of sex hormones at physiological conditions. Malignant transformation leads to a distortion of the regulatory effects of sex hormones that crucially influence the system of microRNA-regulated post-transcriptional control of gene expression. The most established and clinically significant example of such phenomenon is the loss of sensitivity of cells to the regulatory action of these hormones. As a consequence, cancer cells acquire the ability to active proliferation without stimulation with sex hormones. This effect is partly mediated by microRNAs. Also, relevant experimental data indicating the involvement of microRNAs in the phenomenon of breast cancer and prostate cancer cells hormone resistance are discussed in the review.

Conception of the possible primary role of microRNAs in the process of malignant transformation and distortion of hormonal regulation is based on a smaller number of scientific reports. In general, in accordance with the main biological role of microRNAs, latter may affect sex hormones function via interaction with the mRNAs of hormone receptors and inhibition of their synthesis. As a result, the effect of many microRNA is converging on the single mRNA, results in suppression of corresponding protein function and, in the end, leads to inhibition of regulatory cascade downstream of sex steroids.

Finally, the analysis of the fundamental aspects of sex hormones – microRNA interplay is supplemented by brief overview of clinically significant problems. The prospects for development and introduction into clinical practice innovative methods of diagnosis, prediction and optimization of therapy of breast and prostate cancers are discussed as well.

Key words: *microRNA, sex hormones, carcinogenesis, estrogens, progesterone, androgens, hormonal sensitivity, hormonal resistance, cancer, prostate cancer, breast cancer*

Введение: половые гормоны и опухолевый рост

Половые гормоны (ПГ) в той или иной степени регулируют функции большинства тканей и органов, оказывая наиболее существенное влияние на клетки органов репродуктивной системы. Злокачественная трансформация этих клеток сопровождается нарушениями гормональной регуляции ключевых факторов клеточного гомеостаза: метаболического статуса, пролиферативной активности, генной экспрессии и других. Являются ли сдвиги гормональной регуляции независимым канцерогенным фактором или только следствием генетических аномалий в гормонозависимых клетках? Этот вопрос пока не имеет однозначного ответа, а возможно, он просто некорректен. Как минимум патогенетическая роль ПГ имеет исторические доказательства: хирургическая кастрация в качестве средства лечения рака молочной железы (РМЖ) (George Beatson, 1890) и рака предстательной железы (РПЖ) (Charles Huggins, 1941) практиковалась на протяжении многих лет. На начальных этапах тактика, направленная на устранение стимулирующего эффекта эстрогенов на клетки опухоли молочной железы (или андрогенов на клетки опухоли предстательной железы соответственно) формировалась отчасти эмпирически, что объясняет многие исходные неудачи. К настоящему времени представления о природе канцерогенного действия ПГ существенно расширились [1]. Описание ключевых этапов биосинтеза стероидов и молекулярных механизмов их внутриклеточных эффектов определило возможность создания ряда противоопухолевых фармакологических препаратов, направленно блокирующих стимулирующее действие половых стероидов [2].

Тем не менее, с учетом несомненных успехов, гормональная терапия опухолей гормонозависимых органов не всегда приводит к желаемым результатам. В большинстве случаев исходно гормоночувствительных опухолей постепенное прогрессирование заболевания сопровождается развитием резистентности к (анти-)гормональной терапии, т. е. формированием феномена относительной независимости клеток опухоли от гормональной стимуляции [2–4]. Причины и механизмы развития гормональной рефрактерности клеток, исходно находившихся под контролем половых стероидов, активно исследуются. Логичным кажется предположение о вовлечении в процесс других регуляторных систем, вторичное гормонозависимое или параллельное (гормононезависимое) искажение работы которых может имитировать действие гормонов и/или обеспечивать независимость клеток от «внешней» гормональной стимуляции. Накопление данных о биологических функциях некодирующих РНК, в частности так называемых микроРНК (microRNA, miRNA), подготовило почву для исследования возможного влияния этой группы регуляторных молекул на внутриклеточные эффекты ПГ. Согласно результатам недавних исследований, взаимозависимые искажения регуляторных функций ПГ и профиля микроРНК играют значимую патогенетическую роль в развитии РМЖ и РПЖ [5–7].

МикроРНК: структура, биогенез, функции

МикроРНК – это короткая (20–24 нуклеотида) одноцепочечная молекула РНК, участвующая в процессе посттранскрипционной регуляции работы генов. В геноме млекопитающих микроРНК транскрибируются с определенных участков (генов) РНК-полимеразой II в виде длинных молекул, формирующих вторичные структуры типа петель или «шпилек». Такая молекула называется при-микроРНК (primary, pri-miRNA), и обычно в ее состав входят последовательности нескольких зрелых микроРНК (т. е. она имеет полицистронную структуру). В ядре при-микроРНК взаимодействует с так называемым микропроцессор-

ным комплексом, состоящим как минимум из 20 различных белковых молекул, включая РНКазу III (Drosha), ряд обязательных протеинов (DGCR8) и вспомогательных факторов. В результате работы этого ферментативного комплекса образуется несколько микроРНК-предшественников – пре-микроРНК (precursor miRNA, pre-miRNA), имеющих длину около 70 нуклеотидов и 2 комплементарных «плеча», формирующих «шпильку» [8]. Пре-микроРНК распознается транспортными белками (Exportin-5), которые транспортируют ее из ядра в цитоплазму. Там под действием РНКазы III (Dicer) происходит формирование коротких двухцепочечных РНК-фрагментов, так называемых малых интерферирующих РНК (small interfering RNA, siRNA). Эти молекулы обладают определенной устойчивостью к ферментативной деградации, и их синтетические аналоги часто используются в экспериментальных исследованиях процесса РНК-интерференции. В естественных условиях двухцепочечная РНК диссоциирует на две комплементарные молекулы микроРНК. Одна из них, зрелая микроРНК (guide strand), связывается с протеином из семейства Argonaute (AGO), включается в состав цитоплазматического РНК-белкового комплекса (RNA-induced silencing complex, RISC) и определяет таргетность его воздействия на молекулы матричной РНК (мРНК) в цитоплазме клетки [9]. Вторая молекула (passenger strand) обычно деградирует. Механизм формирования активного комплекса RISC привлекает к себе постоянное внимание [10]. Считается, что обе комплементарные молекулы микроРНК (их обозначают как p3 и p5) теоретически могут взаимодействовать с AGO, а основным фактором, определяющим выбор функциональной молекулы (guide strand), является термодинамическая асимметричность дуплекса [11].

В составе RISC зрелые молекулы микроРНК обеспечивают его специфическое взаимодействие с комплементарными участками мРНК, что ведет к блокаде трансляции или деградации мРНК. При этом одна молекула микроРНК может взаимодействовать с несколькими мРНК, что обеспечивает возможность ко-регуляции функциональных групп генов. К настоящему времени описано более 2500 различных микроРНК (miRBase: www.mirbase.org, версия 21). Предполагается, что под их контролем находится около 60 % всех протеин-кодирующих генов [12]. Искажение работы системы микроРНК-зависимого посттранскрипционного контроля генов, определяющих активность пролиферации и апоптотическую готовность [13], метаболический статус [14], взаимодействие с межклеточным матриксом и адгезивные характеристики [15], происходит в процессе злокачественной трансформации и усугубляется в ходе прогрессии опухоли.

Существенно при этом, что транскрипция примикроРНК, многоступенчатый внутриклеточный биогенез микроРНК и формирование микроРНК-содержащего комплекса (RISC), в свою очередь, регулируются многими факторами, включая ПГ [6].

Воздействие эстрогенов на биогенез и функции микроРНК применительно к проблеме рака молочной железы

Рецепторы ПГ – эстрогенов (ERα, ERβ), андрогенов (AR) и прогестерона (PR) входят в группу так называемых гормональных ядерных рецепторов (наряду с группами ассоциированных с метаболизмом и орфанных ядерных рецепторов). Стероидные рецепторы способны непосредственно взаимодействовать с определенными участками геномной ДНК и активировать/блокировать транскрипцию таргетных генов [16]. Аналогичным образом опосредуется и один из основных известных путей гормонозависимой регуляции транскрипции генов, кодирующих микроРНК [6]. Например, в экспериментальном исследовании было показано, что ERα активируют транскрипцию и биогенез ряда микроРНК (miR-18a, miR-19b, miR-20b). В физиологических условиях эти микроРНК ингибируют экспрессию ERα, т.е. формируют классическую «петлю» отрицательной обратной связи. Судя по тому, что уровень ERα-регулируемых микроРНК в клетках ERα-позитивного РМЖ выше, чем в клетках ERα-негативного рака [17], регуляторная «петля» более активна при наличии в клетке ERα. Этот феномен может иметь отношение к формированию состояния эстрогенной ауто- или парастимуляции клеток ERα-негативного РМЖ.

В другой работе была дана оценка эстроген-индуцированным параллельным изменениям профилей внутриклеточных микроРНК и мРНК в клетках РМЖ (линия MCF-7) [18]. Показано, что эстрадиол изменяет транскрипционную активность генов около трех десятков микроРНК, что на посттранскрипционном уровне потенциально изменяет экспрессию более тысячи протеин-кодирующих генов. В этом исследовании было также отмечено, что эстрадиол стимулирует экспрессию как проонкогенных (miR-21, miR-103, miR-107), так и онкосупрессорных (let-7 family, miR-98, miR-17-5p, miR-200) молекул, причем конечный биологический эффект действия эстрадиола на клетки РМЖ отчасти определяется балансом ERα и ERβ. Еще одним примером является эстроген-зависимое подавление микроРНК 515-5p (miR-515-5p), которое сопровождается усилением пролиферативной активности клеток РМЖ [19]. В целом анализ опубликованных экспериментальных данных свидетельствует о разнонаправленных изменениях профиля микроРНК, индуцируемых эстрогенами, в клеточных линиях РМЖ, причем конечный эффект этих изменений определяется многими факторами и пока трудно предсказуем.

Влияние эстрогенов прослеживается и на этапах посттранскрипционного созревания микроРНК. При этом обнаруживаемые изменения обычно касаются не отдельных молекул микроРНК, а определенных этапов биогенеза внутриклеточных микроРНК в це-

лом. Так, ERα прямо взаимодействует с компонентами «микропроцессорного» комплекса в ядре клетки, ингибируя превращение при-микроРНК в пре-микроРНК [20]. Экспрессия Exportin-5 – транспортной молекулы, обеспечивающей перенос пре-микроРНК из ядра в цитоплазму, усиливается под действием эстрадиола и прогестерона [21]. Аналогичный эффект эти половые стероиды оказывают на цитоплазматическую РНКазу Dicer [21], причем экспрессия данного ключевого для биогенеза микроРНК фермента оказалась более высока в клетках ERα-позитивного РМЖ по сравнению с ERα-негативными клетками [22, 23].

Эстрадиол регулирует также экспрессию компонентов RISC, который обеспечивает функциональную активность зрелых микроРНК и определяет в целом эффективность работы системы посттранскрипционного контроля экспрессии генов. Наблюдается зависимость уровня экспрессии белков, входящих в состав RISC, от эстроген-рецепторного статуса клеток РМЖ [23, 24]. В целом очевидно наличие связи между эстрогенной стимуляцией и активностью системы посттранскрипционного контроля экспрессии генов в клетках РМЖ при участии микроРНК, хотя имеющиеся данные пока не позволяют определить направленность и конечный биологический эффект этого феномена.

Воздействие андрогенов на биогенез и функции микроРНК в рамках проблемы рака предстательной железы

В норме андрогены регулируют экспрессию микроРНК в ткани предстательной железы, благодаря чему контролируются многие структурные и функциональные особенности клеток простаты [25]. За последние годы проведен ряд исследований изменения профиля экспрессии микроРНК в клетках РПЖ [26–28], что позволило продемонстрировать роль микроРНК в опосредовании проканцерогенных эффектов андрогенов [29]. В частности, среди андроген-регулируемых микроРНК участие в поддержании опухолевого роста в клетках предстательной железы экспериментально доказано для miR-21 [30], miR-125b [31], miR-141 [29, 32], miR-27a [33]. Например, повышенный уровень miR-21 приводит к активации пролиферации клеток РПЖ как при сохраненной андрогенной стимуляции, так и после прекращения таковой [30]. Аналогичный эффект имела активация экспрессии miR-125b, причем андроген-независимая стимуляция пролиферации клеток РПЖ сопровождалась угнетением экспрессии проапоптотического фактора Bak1 [31]. В целом андрогены в клетках РПЖ стимулируют каскад микроРНК-опосредованных пробластомогенных реакций, которые могут продолжаться после прекращения андрогенной стимуляции и иметь непосредственное отношение к феномену гормонорезистентности при РПЖ.

Анализ ряда публикаций позволяет, как и в случае РМЖ и ER, предположить наличие так называемых регуляторных «петель», координирующих экспрессию AR и андроген-зависимых микроРНК. Например, в работе S. Mishra et al. [34] описано снижение уровня miRNA-21 после блокады AR и его повышение – после стимуляции AR в нормальных и трансформированных клетках эпителия простаты. С другой стороны, введение в AR-негативные клетки РПЖ (линия PC-3) синтетической копии miRNA-21 активировало продукцию клетками AR (мРНК и белок) и позволяло наблюдать эффекты активации этих рецепторов (усиление синтеза простатспецифического антигена). Аналогичный феномен «взаимостимуляции» AR и miRNA-27a был описан в исследовании C. E. Fletcher et al. [33]. В обоих случаях исследователи предполагали, что микроРНК стимулирует транскрипцию AR опосредованно – путем посттранскрипционного угнетения экспрессии факторов, ингибирующих синтез AR (miRNA-21/PTEN; miRNA-27a/PHB).

Логичным, хотя не подтвержденным клиническими данными предположением является участие описанных регуляторных «петель» в формировании феномена андрогенной аутостимуляции клеток РПЖ при снижении уровня циркулирующего гормона. Этот феномен, опосредованный кофактором угнетения AR-транскрипции – прогибитином (prohibitin, PHB), исследовался в качестве причины развития так называемой гормон-рефрактерной стадии РПЖ в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [35]. Авторы работы не исследовали роль микроРНК, но результаты проведенных ими экспериментов подкрепляют гипотетическую связь между AR-регулируемыми микроРНК, микроРНК-регулируемыми факторами контроля AR-транскрипции, ростом концентрации внутриклеточных AR и гормональной рефрактерностью РПЖ.

В контексте оценки роли андрогенной стимуляции микроРНК в процессе развития РПЖ следует отметить, что для формирования определенных опухоль-специфических признаков клеток необходимо совместное участие AR и микроРНК. Например, одновременная активация AR на фоне повышения уровня miR-21 приводит к резкому угнетению экспрессии рецепторов TGFBR2 (TGFβ receptor II), тогда как действие лишь одного фактора (либо микроРНК, либо андрогена) не вызывает этого эффекта. В результате клетки РПЖ становятся резистентны к действию TGFβ, что способствует поддержанию активной пролиферации [34]. Такой способ «двойного контроля» может и определять специфичность действия андрогенов на клетки РПЖ, и способствовать формированию опухоль-специфических характеристик клеток простаты.

Следствием андрогенной стимуляции является не только повышение уровня определенных внутриклеточных микроРНК, но и их секреция в составе экзосом во внеклеточное пространство. Например, андроген вызывает активацию экспрессии miR-141 в клетках РПЖ *in vitro* (LNCaP, VCaP) и *in vivo* [29]. С другой стороны, в ряде независимых исследований повышение уровня этой микроРНК было показано

в плазме больных РПЖ [36, 37]. С учетом роли экзосомальной микроРНК в процессе опухолевой диссеминации [38], андроген-регулируемые сдвиги профиля экспрессии микроРНК клетками РПЖ могут иметь значение в процессе формирования отдаленных метастазов [39].

Углубленная оценка функциональной взаимосвязи андрогенов и микроРНК в клетках РПЖ дана в обзорной статье C. E. Fletcher et al. [5], где приведен перечень 13 микроРНК, андроген-зависимость которых была показана в двух и более независимых исследованиях. С учетом общего количества известных микроРНК, относительно малое число достоверно вовлеченных в обсуждаемый процесс молекул говорит о том, что стимуляция AR в клетках РПЖ вызывает весьма характерные изменения микроРНК-профиля. Интересным представляется исследование W. Mo et al. [40], проследивших динамику изменений микроРНК-профиля после стимуляции клеток РПЖ дигидротестостероном, представляющим собой активный метаболит тестостерона. Оказалось, что существует два отчетливо определяемых «пика» флюктуации профиля микроРНК – через 1 ч и через 8 ч после воздействия гормона. Причем ограниченное число микроРНК «отвечало» сразу и только сразу, т. е. через 1 ч. МикроРНК, имеющие два «пика» стимуляции андрогеном, преобладали как среди активируемых, так и среди ингибируемых микроРНК. В то же время существенное число микроРНК реагировало лишь через 8 ч после воздействия андрогена, причем второй «пик» нередко был более отчетливо выраженным, чем первый. Следуя логике авторов, можно предположить, что первый «пик» обусловлен непосредственным эффектом AR на транскрипцию микроРНК генов. Соответственно, второй «пик» – это результат действия белков, трансляция которых была «скорректирована» молекулами микроРНК – мишенями первичной стимуляции. Экстраполяция этих наблюдений на клиническую ситуацию, где нет «точки» начала действия гормона, приводит к выводу о преобладании не прямых, а опосредованных реакций клеток РПЖ в ответ на действие андрогенов. То есть андроген-зависимые изменения профиля микроРНК в клетках РПЖ конкретного пациента, скорее всего, лишь отчасти определяются непосредственной активностью AR как ядерного рецептора, причем даже с учетом существования набора коактиваторов и корепрессоров AR-опосредуемой транскрипции (см. ниже и [41]). Существенное значение могут иметь «вторичные», «третичные» и т. д. регуляторные эффекты андрогенов, в значительной степени опосредованные микроРНК.

Кроме специфической стимуляции/ингибирования отдельных молекул микроРНК, андрогены оказывают определенное влияние на биогенез микроРНК в целом. Так, активность некоторых компонентов «микропроцессорного» ядерного комплекса (РНКазы III Drosha, p68) регулируется андрогенами [33, 42]. Интересно, что активность одного из основных ферментов микроРНК-процессинга – РНКазы III Drosha – активируется AR в клетках РПЖ [33], но ингибируется ERα в клетках РМЖ [20], что, несмотря на определенное сходство [2], свидетельствует и о несомненных различиях между гормон-опосредованными процессами, лежащими в основе этих двух онкологических заболеваний. В целом, как и применительно к роли ER в случае РМЖ, представленные в литературе данные о гормональной регуляции биогенеза микроРНК и активности микроРНК-содержащего комплекса RISC многочисленны, но разнородны. Пока трудно точно определить, какой конечный функциональный эффект (активация или угнетение) оказывают андрогены на аппарат посттранскрипционной регуляции экспрессии генов в клетках РПЖ.

Роль микроРНК в регуляции половых гормонов и функционирования их рецепторов

Выше рассматривались эффекты, которые оказывают ПГ на профиль экспрессии и биогенез микроРНК. Как отмечалось, специфическое регуляторное воздействие ПГ имеет дивергентный характер, так как опосредуется взаимодействием одной рецепторной молекулы (ERα, ERβ или AR) с промоторными регионами многих микроРНК генов. Кроме того, такое взаимодействие может как активировать, так и подавлять транскрипцию микроРНК генов. В соответствии с основной биологической ролью микроРНК их таргетное воздействие на функции ПГ опосредуется взаимодействием с различными участками мРНК соответствующих гормональных рецепторов и ведет к угнетению их синтеза. В итоге действие многих микроРНК конвергируется на одной молекуле мРНК (ERα, ERβ или AR) и в большинстве случаев приводит к подавлению сигнального каскада, индуцируемого ПГ.

В данном отношении заслуживает внимания оригинальная методика (protein lysate microarray technology), позволившая определить взаимодействующие пары микроРНК–мРНК и оценить их функциональный эффект. С помощью этой технологии, разработанной сотрудниками Университета Турку под руководством проф. Olli Kallioniemi, были получены наиболее полные данные о спектре молекул микроРНК, непосредственно взаимодействующих с мРНК и ингибирующих синтез рецепторов ПГ – ERα [43] и AR [44]. Основные результаты были дополнены рядом исследований, выполненных традиционными методами и сфокусированных на отдельных молекулах микроРНК. В табл. 1 перечислены микроРНК, регулирующие на посттранскрипционном уровне экспрессию ERα. В представленном списке лишь одна молекула, miR-27a, активирует экспрессию гена *ERα*. Этот эффект не является результатом взаимодействия miR-27a с мРНК, а опосредуется цепочкой ядерных факторов (ZBTB10, Sp1, Sp4) [45, 46].

Таблица 1. *МикроРНК, регулирующие активность ERα*

МикроРНК	Изменение активности рецептора	Источник
let-7	↓	[47]
miR-9	↓	[43]
miR-22	↓	[43, 48]
pri-miR-17-92 (miR-18a, miR-19b, miR-20b)	↓	[17, 43]
miR-27a	↑	[45, 46]
miR-93	↓	[43]
miR-130a/b	↓	[43]
miR-145	↓	[49]
miR-181a/c/d	↓	[43]
miR-193b	↓	[43]
miR-206	↓	[43, 50, 51]
miR-219	↓	[43]
miR-221–222	↓	[43, 52]
miR-301	↓	[43]
miR-302c	↓	[43]
miR-372	↓	[43]
miR-373	↓	[43]
miR-517a/c	↓	[43]

Согласно многолетним клиническим наблюдениям, активация ERα стимулирует пролиферацию клеток РМЖ. Есть основания предполагать, что конечный эффект действия большинства микроРНК, угнетающих экспрессию ERα, будет иметь противоопухолевый характер. Большинство экспериментальных исследований подтверждают эту гипотезу, открывая перспективы разработки новых противоопухолевых средств на основе микроРНК. Тем не менее имеются и исключения из этого «правила», помимо уже упомянутой miR-27a. Как обсуждалось ранее, одна молекула микроРНК может ингибировать сразу несколько мРНК, причем конечный эффект такого мультитаргетного воздействия может отличаться от последствий угнетения синтеза лишь ERα. Например, miR-221–222, кроме взаимодействия с мРНК ERα, параллельно ингибируют экспрессию FOXO3 и BIM. С учетом онкосупрессорных функций этих молекул, конечным эффектом действия miR-221–222 на клетки РМЖ оказывается усиление пролиферации [53].

Стабильность молекулы мРНК AR также находится под контролем микроРНК. В табл. 2 перечислены микроРНК, непосредственно взаимодействующие с AR мРНК, и несколько микроРНК, взаимоотношения которых с AR носят опосредованный характер. Как и в случае РМЖ, все представленные в табл. 2 микроРНК (за исключением miR-27a) прямо или косвенно угнетают активность AR, что может указывать на вероятность терапевтического применения этих молекул.

Таблица 2. *МикроРНК, регулирующие активность AR*

МикроРНК	Изменение активности рецептора	Источник
let-7c (косвенно, через c-Myc)	↓	[54]
miR-9	↓	[44]
miR-34	↓	[44, 55]
miR-17-5p (косвенно, через p300/CBP)	↓	[56]
miR-27a (косвенно, через PHB)	↑	[33]
miR-124	↓	[57]
miR-135b	↓	[44]
miR-141 (косвенно, через SHP)	↓	[32]
miR-185	↓	[44, 58]
miR-205	↓	[59]
miR-297	↓	[44]
miR-299-3p	↓	[44]
miR-331-3p (косвенно, через ErbB2)	↓	[60]
miR-371-3p	↓	[44]
miR-421	↓	[44]
miR-449a/b	↓	[44]
miR-488	↓	[61]
miR-634	↓	[44]
miR-654-5p	↓	[44]

В дополнение к описанным выше механизмам взаиморегуляции микроРНК и ПГ, следует упомянуть несколько работ, в которых исследовались функции так называемых РНК-активаторов стероидных рецепторов (steroid receptor RNA activator, SRA) [62, 63]. Это класс «не протеин-кодирующих» РНК, которые регулируют транскрипционную активность ядерных рецепторов, в частности ER и AR. С другой стороны, недавние исследования показали, что компоненты RISC (PACT, TRBP, Dicer) непосредственно взаимодействуют не только с микроРНК, но и с регуляторными ядерными РНК – SRA [64]. На основе пока ограниченных данных можно предполагать, что компоненты RISC в комплексе с микроРНК могут ингибировать синтез рецепторов ПГ в цитоплазме клетки, но в комплексе с РНК типа SRA способны повышать

транскрипционную активность ПГ в ядре. Эти исследования указывают на многокомпонентный и многоуровневый характер взаимосвязи двух регуляторных систем: стероидных гормонов и регуляторных РНК, что имеет прямое отношение не только к процессам физиологического характера, но и к проблеме опухолевого роста.

МикроРНК и гормонорезистентность карцином молочной и предстательной желез

Естественная история (или natural history, как принято выражаться в последнее десятилетие) этих двух заболеваний приводит к тому, что в определенном смысле изначально, а чаще в процессе лечебных мероприятий опухолевый процесс переходит в состояние нечувствительности (резистентности) к гормонотерапии. Современная литература дает немало примеров вовлечения микроРНК в формирование феномена резистентности, что касается как РМЖ, так и РПЖ [65–68]. Не приходится сомневаться в дальнейшем развитии этого направления исследований, в том числе и в отношении совершенствования имеющихся способов лекарственного воздействия.

Заключение

История гормонотерапии онкологических заболеваний – это десятилетия проб и ошибок, постепенно приводивших к немалым достижениям и более точным клиническим рекомендациям. Например, в лечении РМЖ последовательно применялись хирургическая и лучевая кастрация, андрогены, антиэстрогены, ингибиторы ароматазы и т. д. Важным этапом стало понимание роли ER, оценка вариантов рецепторного статуса РМЖ и определение связи между конкретным рецепторным фенотипом и оптимальной тактикой гормонотерапии. Со временем методы гормонотерапии становились менее агрессивны, более избирательны и в итоге более эффективны. Активное исследование роли микроРНК при РМЖ и РПЖ ведется лишь в течение нескольких лет. Накопленные описательные и экспериментальные данные довольно обширны, но пока фрагментарны и не формируют ясной картины взаимодействия микроРНК, ПГ и рецепторов последних. Попытка анализа доступных в настоящее время сведений, предпринятая в этом обзоре, дает основание предположить, что методы диагностики, прогнозирования и лечения опухолей гормонозависимых тканей (включая преодоление резистентности к гормонотерапии) на основе микроРНК войдут в клиническую практику в обозримом будущем. В отличие от этапа внедрения самых первых методов гормонотерапии, существующая методология анализа, профайлинга, синтеза соответствующих ингибиторов и аналогов (анти-микроРНК и микроРНК-миметиков) создает предпосылки для более быстрого, чем ранее, прогресса.

Целью этого краткого заключительного раздела обзора является попытка представить основные направления развития и перспективы применения диагностических и лечебных методов на основе микроРНК в столь важной в медицинском и социальном плане области, каковой представляется проблема РМЖ и РПЖ. В частности, наряду с расширением терапевтического потенциала на основе синтетических микроРНК (анти-микроРНК, микроРНК-миметики) [69], микроРНК-подходы дают возможность оптимизировать и методы гормоно- и химиотерапии [70, 71]. Немалое значение исследование микроРНК может приобрести в отношении оценки прогноза новообразований гормонозависимых тканей [72]. Наконец, важным элементом прикладного рассмотрения данной проблемы представляется оценка профиля экспрессии микроРНК с диагностической целью в биопсийном материале, а также в циркуляции (крови или моче), т. е. в составе экзосом, у больных РПЖ и РМЖ [73, 74], что может оказаться полезным для раннего разграничения гормоночувствительных и гормонорезистентных случаев этих заболеваний. Нельзя исключить и перспективность уже частично апробированной модификации гормоночувствительности и гормонорезистентности опухолевой ткани под влиянием антидиабетического бигуанида метформина, что может реализоваться и путем вовлечения микроРНК и ассоциированных с ними молекул [75, 76].

ЛИТЕРАТУРА

1. Берштейн Л. М. Гормональный канцерогенез. СПб.: Наука, 2000. 199 с. [Berstein L. M. Hormonal carcinogenesis. St. Petersburg: Science, 2000. 199 p. (In Russ.)].
2. Risbridger G. P., Davis I. D., Birrell S. N. et al. Breast and prostate cancer: more similar than different. Nat Rev Cancer 2010;10(3):205–12.
3. Roop R. P., Ma C. X. Endocrine resistance in breast cancer: molecular pathways and rational development of targeted therapies. Future Oncol 2012;8(3):273–92.
4. Красильников М. А., Щербаков А. М. Сигнальные пути, регулируемые эстрогенами, и их роль в опухолевой прогрессии: новые факты и направления поиска. Успехи молекулярной онкологии 2014;1(1):18–26. [Krasil'nikov M.A., Shcherbakov A.M. Estrogen-dependent signaling pathways and their role in the tumor progression: progress and perspectives. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2014;1(1):18–26. (In Russ.)].
5. Fletcher C. E., Dart D. A., Bevan C. L. Interplay between steroid signalling and microRNAs: implications for hormone-dependent cancers. Endocr Relat Cancer 2014;21(5):R409–29.
6. Cochrane D. R., Cittelly D. M., Richer J. K. Steroid receptors and microRNAs: relationships revealed. Steroids 2011;76(1–2):1–10.

7. Ottaviani S., de Giorgio A., Harding V. et al. Noncoding RNAs and the control of hormonal signaling via nuclear receptor regulation. J Mol Endocrinol 2014;53(2):R61–70.
8. Gregory R. I., Yan K. P., Amuthan G. et al. The Microprocessor complex mediates the genesis of microRNAs. Nature 2004;432(7014):235–40.
9. Finnegan E.F., Pasquinelli A.E. MicroRNA biogenesis: regulating the regulators. Crit Rev Biochem Mol Biol 2013;48(1):51–68.
10. Kawamata T., Tomari Y. Making RISC. Trends Biochem Sci 2010;35(7):368–76.
11. Kawamata T., Seitz H., Tomari Y. Structural determinants of miRNAs for RISC loading and slicer-independent unwinding. Nat Struct Mol Biol 2009;16(9):953–60.
12. Friedman R. C., Farh K. K., Burge C. B. et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. Genome Res 2009;19(1):92–105.
13. Kavitha N., Vijayarathna S., Jothy S. L. et al. MicroRNAs: biogenesis, roles for carcinogenesis and as potential biomarkers for cancer diagnosis and prognosis. Asian Pac J Cancer Prev 2014;15(18):7489–97.
14. Pulito C., Donzelli S., Muti P. et al. microRNAs and cancer metabolism reprogramming: the paradigm of metformin. Ann Transl Med 2014;2(6):58.
15. Ibrahim S. A., Hassan H., Gotte M. MicroRNA regulation of proteoglycan function in cancer. FEBS J 2014;281(22):5009–22.
16. Gadaleta R. M., Magnani L. Nuclear receptors and chromatin: an inducible couple. J Mol Endocrinol 2014;52(2):R137–49.
17. Castellano L., Giamas G., Jacob J. et al. The estrogen receptor-alpha-induced microRNA signature regulates itself and its transcriptional response. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106(37):15732–7.
18. Bhat-Nakshatri P., Wang G., Collins N. R. et al. Estradiol-regulated microRNAs control estradiol response in breast cancer cells. Nucleic Acids Res 2009;37(14):4850–61.
19. Pinho F. G., Frampton A. E., Nunes J. et al. Downregulation of microRNA-515-5p by the estrogen receptor modulates sphingosine kinase 1 and breast cancer cell proliferation. Cancer Res 2013;73(19): 5936–48.
20. Yamagata K., Fujiyama S., Ito S. et al. Maturation of microRNA is hormonally regulated by a nuclear receptor. Mol Cell 2009;36(2):340–7.
21. Nothnick W. B., Healy C., Hong X. Steroidal regulation of uterine miRNAs is associated with modulation of the miRNA biogenesis components Exportin-5 and Dicer1. Endocrine 2010;37(2):265–73.
22. Cochrane D. R., Cittelly D. M., Howe E. N. et al. MicroRNAs link estrogen receptor alpha status and Dicer levels in breast cancer. Horm Cancer 2010;1(6): 306–19.
23. Cheng C., Fu X., Alves P. et al. mRNA expression profiles show differential regulatory effects of microRNAs between estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative breast cancer. Genome Biol 2009;10(9):R90.
24. Adams B. D., Claffey K. P., White B. A. Argonaute-2 expression is regulated by epidermal growth factor receptor and mitogen-activated protein kinase signaling and correlates with a transformed phenotype in breast cancer cells. Endocrinology 2009;150(1):14–23.
25. Narayanan R., Jiang J., Gusev Y. et al. MicroRNAs are mediators of androgen action in prostate and muscle. PloS One 2010;5(10):e13637.
26. Porkka K. P., Pfeiffer M. J., Waltering K. K. et al. MicroRNA expression profiling in prostate cancer. Cancer Res 2007;67(13):6130–5.
27. Ambs S., Prueitt R. L., Yi M. et al. Genomic profiling of microRNA and messenger RNA reveals deregulated microRNA expression in prostate cancer. Cancer Res 2008;68(15):6162–70.
28. Ozen M., Creighton C. J., Ozdemir M. et al. Widespread deregulation of microRNA expression in human prostate cancer. Oncogene 2008;27(12):1788–93.
29. Waltering K. K., Porkka K. P., Jalava S. E. et al. Androgen regulation of micro-RNAs in prostate cancer. Prostate 2011; 71(6):604–14.
30. Ribas J., Ni X., Haffner M. et al. miR-21: an androgen receptor-regulated microRNA that promotes hormone-dependent and hormone-independent prostate cancer growth. Cancer Res 2009;69(18):7165–9.
31. Shi X. B., Xue L., Yang J. et al. An androgen-regulated miRNA suppresses Bak1 expression and induces androgen-independent growth of prostate cancer cells. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104(50):19983–8.
32. Xiao J., Gong A. Y., Eischeid A. N. et al. miR-141 modulates androgen receptor transcriptional activity in human prostate cancer cells through targeting the small heterodimer partner protein. Prostate 2012;72(14):1514–22.
33. Fletcher C. E., Dart D. A., Sita-Lumsden A. et al. Androgen-regulated processing of the oncomir miR-27a, which targets Prohibitin in prostate cancer. Hum Mol Genet 2012;21(14):3112–27.
34. Mishra S., Deng J. J., Gowda P. S. et al. Androgen receptor and microRNA-21 axis downregulates transforming growth factor beta receptor II(TGFBR2) expression in prostate cancer. Oncogene 2014;33(31):4097–106.
35. Dart D. A., Brooke G. N., Sita-Lumsden A. et al. Reducing prohibitin increases histone acetylation, and promotes androgen independence in prostate tumours by increasing androgen receptor activation by adrenal androgens. Oncogene 2012;31(43):4588–98.
36. Brase J. C., Johannes M., Schlomm T. et al. Circulating miRNAs are correlated with tumor progression in prostate cancer. Int J Cancer 2011;128(3):608–16.
37. Zhang H. L., Qin X. J., Cao D. L. et al. An elevated serum miR-141 level in patients with bone-metastatic prostate cancer is correlated with more bone lesions. Asian J Androl 2013;15(2):231–5.
38. Rana S., Malinowska K., Zoller M. Exosomal tumor microRNA modulates premetastatic organ cells. Neoplasia 2013;15(3):281–95.
39. Valadi H., Ekstrom K., Bossios A. et al. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. Nat Cell Biol 2007;9(6):654–9.
40. Mo W., Zhang J., Li X. et al. Identification of novel AR-targeted microRNAs mediating androgen signalling through critical pathways to regulate cell viability in prostate cancer. PloS One 2013;8(2):e56592.
41. Daniels G., Jha R., Shen Y. et al. Androgen receptor coactivators that inhibit prostate cancer growth. Am J Clin Exper Urol 2014;2(1):62–70.
42. Clark E. L., Coulson A., Dalgliesh C. et al. The RNA helicase p68 is a novel androgen receptor coactivator involved in splicing and is overexpressed in prostate cancer. Cancer Res 2008;68(19):7938–46.
43. Leivonen S. K., Makela R., Ostling P. et al. Protein lysate microarray analysis to identify microRNAs regulating estrogen receptor signaling in breast cancer cell lines. Oncogene 2009;28(44):3926–36.
44. Ostling P., Leivonen S. K., Aakula A. et al. Systematic analysis of microRNAs targeting the androgen receptor in prostate cancer cells. Cancer Res 2011;71(5):1956–67.
45. Mertens-Talcott S. U., Chintharlapalli S., Li X. et al. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. Cancer Res 2007;67(22):11001–11.
46. Li X., Mertens-Talcott S. U., Zhang S. et al. MicroRNA-27a indirectly regulates estrogen receptor {alpha} expression and hormone responsiveness in MCF-7 breast cancer cells. Endocrinology 2010;151(6):2462–73.
47. Zhao Y., Deng C., Wang J. et al. Let-7 family miRNAs regulate estrogen receptor alpha signaling in estrogen receptor positive breast cancer. Breast Cancer Res Treat 2011;127(1):69–80.
48. Pandey D. P., Picard D. miR-22 inhibits estrogen signaling by directly targeting the estrogen receptor alpha mRNA. Mol Cell Biol 2009;29(13):3783–90.
49. Spizzo R., Nicoloso M. S., Lupini L. et al. miR-145 participates with TP53 in a death-

promoting regulatory loop and targets estrogen receptor-alpha in human breast cancer cells. Cell Death Differ 2010;17(2):246–54.
50. Iorio M. V., Ferracin M., Liu C. G. et al. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. Cancer Res 2005;65(16):7065–70.
51. Kondo N., Toyama T., Sugiura H. et al. miR-206 expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human breast cancer. Cancer Res 2008;68(13):5004–8.
52. Zhao J. J., Lin J., Yang H. et al. MicroRNA-221/222 negatively regulates estrogen receptor alpha and is associated with tamoxifen resistance in breast cancer. J Biol Chem 2008;283(45):31079–86.
53. Di Leva G., Gasparini P., Piovan C. et al. MicroRNA cluster 221-222 and estrogen receptor alpha interactions in breast cancer. J Natl Cancer Inst 2010;102(10):706–21.
54. Nadiminty N., Tummala R., Lou W. et al. MicroRNA let-7c suppresses androgen receptor expression and activity via regulation of Myc expression in prostate cancer cells. J Biol Chem 2012;287(2):1527–37.
55. Kashat M., Azzouz L., Sarkar S. H. et al. Inactivation of AR and Notch-1 signaling by miR-34a attenuates prostate cancer aggressiveness. Am J Transl Res 2012;4(4):432–42.
56. Gong A. Y., Eischeid A. N., Xiao J. et al. miR-17-5p targets the p300/CBP-associated factor and modulates androgen receptor transcriptional activity in cultured prostate cancer cells. BMC Cancer 2012;12:492.
57. Shi X. B., Xue L., Ma A. H. et al. Tumor suppressive miR-124 targets androgen receptor and inhibits proliferation of prostate cancer cells. Oncogene 2013;32(35):4130–8.
58. Qu F., Cui X., Hong Y. et al. MicroRNA-185 suppresses proliferation, invasion, migration, and tumorigenicity of human prostate cancer cells through targeting androgen receptor. Mol Cell Biochem 2013;377(1–2):121–30.
59. Hagman Z., Haflidadottir B. S., Ceder J. A. et al. miR-205 negatively regulates the androgen receptor and is associated with adverse outcome of prostate cancer patients. Br J Cancer 2013;108(8):1668–76.
60. Epis M. R., Giles K. M., Barker A. et al. miR-331-3p regulates ERBB-2 expression and androgen receptor signaling in prostate cancer. J Biol Chem 2009;284(37):24696–704.
61. Sikand K., Slaibi J. E., Singh R. et al. miR 488* inhibits androgen receptor expression in prostate carcinoma cells. Int J Cancer 2011;129(4):810–9.
62. Lanz R. B., Razani B., Goldberg A. D. et al. Distinct RNA motifs are important for coactivation of steroid hormone receptors by steroid receptor RNA activator (SRA). Proc Natl Acad Sci USA 2002;99(25):16081–6.
63. Hube F., Guo J., Chooniedass-Kothari S. et al. Alternative splicing of the first intron of the steroid receptor RNA activator (SRA) participates in the generation of coding and noncoding RNA isoforms in breast cancer cell lines. DNA Cell Biol 2006;25(7):418–28.
64. Redfern A. D., Colley S. M., Beveridge D. J. et al. RNA-induced silencing complex (RISC) Proteins PACT, TRBP, and Dicer are SRA binding nuclear receptor coregulators. Proc Natl Acad Sci USA 2013;110(16):6536–41.
65. Garcia-Becerra R., Santos N., Diaz L. et al. Mechanisms of resistance to endocrine therapy in breast cancer: focus on signaling pathways, miRNAs and genetically based resistance. Int J Mol Sci 2012;14(1):108–45.
66. Ward A., Shukla K., Balwierz A. et al. MicroRNA-519a is a novel oncomir conferring tamoxifen resistance by targeting a network of tumour-suppressor genes in ER+ breast cancer. J Pathol 2014;233(4):368–79.
67. Li F., Mahato R. I. MicroRNAs and drug resistance in prostate cancers. Molecular pharmaceutics 2014;11(8):2539–52.
68. Ottman R., Nguyen C., Lorch R., Chakrabarti R. MicroRNA expressions associated with progression of prostate cancer cells to antiandrogen therapy resistance. Mol Cancer 2014;13:1.
69. Di Leva G., Piovan C., Gasparini P. et al. Estrogen mediated-activation of miR-191/425 cluster modulates tumorigenicity of breast cancer cells depending on estrogen receptor status. PLoS Genet 2013;9(3):e1003311.
70. Zhao Y., Deng C., Lu W. et al. let-7 microRNAs induce tamoxifen sensitivity by downregulation of estrogen receptor alpha signaling in breast cancer. Mol Med 2011;17(11–12):1233–41.
71. Gan R., Yang Y., Yang X. et al. Downregulation of miR-221/222 enhances sensitivity of breast cancer cells to tamoxifen through upregulation of TIMP3. Cancer Gene Ther 2014;21(7):290–6.
72. Tuomarila M., Luostari K., Soini Y. et al. Overexpression of microRNA-200c predicts poor outcome in patients with PR-negative breast cancer. PloS One 2014;9(10):e109508.
73. Dijkstra S., Birker I. L., Smit F. P. et al. Prostate cancer biomarker profiles in urinary sediments and exosomes. J Urol 2014;191(4):1132–8.
74. Малек А. М., Берштейн Л. М., Филатов М. В. и др. Система экзосомальных межклеточных коммуникаций и ее роль в процессе метастатической диссеминации. Вопросы онкологии 2014;60(4):429–36. [Malek A. M., Berstein L. M., Filatov M. V. et al. System of exosomal intercellular communications and its role in metastatic dissemination process. Voprosy onkologii = Oncology Issues 2014;60(4): 429–36. (In Russ.)].
75. Blandino G., Valerio M., Cioce M. et al. Metformin elicits anticancer effects through the sequential modulation of DICER and c-MYC. Nature Commun 2012;3:865.
76. Avci C. B., Harman E., Dodurga Y. et al. Therapeutic potential of an anti-diabetic drug, metformin: alteration of miRNA expression in prostate cancer cells. Asian Pac J Cancer Prev 2013;14(2):765–8.