

УДК 577.171.6

**Е. П. Хвостова**<sup>1,2</sup>, **В. О. Пустыльняк**<sup>1,2</sup>, **А. А. Отпущенников**<sup>3</sup>,  
**Л. Ф. Гуляева**<sup>1,2</sup>, **И. Н. Крылова**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН  
ул. Тимакова, 2, Новосибирск, 630117, Россия

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет  
ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090, Россия

<sup>3</sup> Центральная клиническая больница СО РАН  
ул. Пирогова, 25, Новосибирск, 630090, Россия

E-mail: ivanovakatysha@mail.ru

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ И ПРОГРЕССИИ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ \*

Рак предстательной железы (РПЖ) занимает второе место по количеству выявления новых случаев (14 %) и шестое место (6 %) от общего числа летальных исходов от всех видов онкологических заболеваний у мужчин [1]. Опухоли предстательной железы (ПЖ) широко распространены, смертность от них чрезвычайно высока и продолжает увеличиваться. Прогрессирование РПЖ на фоне гормональной терапии является главной проблемой современной онкоурологии [2]. В связи с этим важны исследования молекулярных механизмов развития болезни, в том числе его гормон(кастрат)-резистентных форм, для поиска новых лекарственных мишеней.

Причины возникновения РПЖ многообразны и окончательно не выяснены. Установлено, что в трансформированных клетках ПЖ наблюдаются многочисленные изменения экспрессии генов, контролирующих пролиферативные процессы. В частности, регистрируется повышенный уровень

образования факторов роста и их рецепторов, активируются сигнальные каскады, ассоциированные с андрогеновым рецептором (AR) [3]. Кроме того, установлено, что эти пути играют важную роль в развитии кастрат-резистентных форм РПЖ. Все эти компоненты стимулируют пролиферацию, миграцию и метастатическую активность трансформированных клеток простаты.

В патогенезе РПЖ основное место отводится нарушению гормонального баланса, что является критическим в изменении активности и количества стероидных рецепторов, воспринимающих гормональные сигналы [4]. Несмотря на достигнутые успехи в лечении больных с РПЖ, основанные на снижении активности AR, большую проблему вызывает возникновение кастрат-резистентных форм рака через 2–3 года после начала терапии; при этом происходит реактивация активности AR [5]. В свою очередь, нерегулируемая активация рецепторов ведет к нерегулируемой экспрессии

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 гг. ГК 14.740.11.0930.

многих генов. Наиболее хорошо изученным геном-мишенью AR является ген KLK3 – кодирующий белок простат-специфичного антигена (ПСА), являющегося сериновой протеазой.

Мониторинг уровня ПСА в качестве маркера активности AR в настоящий момент имеет ключевую роль для диагностики РПЖ, мониторинга прогрессии опухоли и ответа на лечение [6]. Особое место среди генов-мишеней AR занимают гены, ответственные за рост и дифференцировку конкретной гормонозависимой ткани. В подавляющем числе опухолей ПЖ именно AR ответственен за стимуляцию пролиферации опухолевых клеток и является митогенным фактором, поддерживающим рост опухолей [7]. Показано, что активация AR может модулировать транскрипцию многих генов, часть из которых участвует в регуляции жизненного цикла клетки [8]. Так, генами-мишенями для AR являются ген гидроксистероиддегидрогеназы 17B8 (HSD17B8), отвечающий за регуляцию уровня эстрогенов и андрогенов; трансмембранного белка семейства 4 L6 (TM4SF1), регулирующего рост, развитие и деление клеток; гены циклин-зависимых киназ (Cdk1 и Cdk2); ген PMPA1, кодирующий простат-специфичный трансмембранный андроген-индуцируемый белок (Transmembrane prostate androgen-induced protein), который участвует в регуляции клеточного роста, гены факторов роста и многие другие [9–12]. Таким образом, постоянная активация AR под действием стероидов приводит к активации генов-мишеней, следствием чего является злокачественное перерождение в гормонозависимых тканях [13]. Такой, по современным представлениям, выглядит последовательность событий, приводящая к возникновению и распространению рака эндокринной системы, в том числе простаты [14].

Стероиды являются регуляторами контроля клеточной пролиферации в тканях-мишенях, что, возможно, играет основополагающую роль в патогенезе многих злокачественных опухолей человека [15]. Основными мужскими половыми гормонами, относящимися к семейству стероидных гормонов, являются андрогены [16]. В эмбриогенезе тестикулярные андрогены отвечают за формирование мужского фенотипа. В период полового созревания и в дальней-

шем андрогены играют основную роль в развитии и функционировании ПЖ, а также отвечают за вторичные половые признаки, такие как огрубление голоса, изменение костного скелета и мышечной массы, рост волос на теле по мужскому типу, поведенческие особенности [17]. Андрогены оказывают сильное анаболическое и антикатаболическое действие, повышают синтез белков и тормозят их распад, повышают утилизацию глюкозы клетками за счет повышения активности гексокиназы и других гликолитических ферментов, понижают уровень глюкозы в крови [18]. Биологическая активность андрогенов реализуется через AR и представлена цепью последовательных событий, включающих синтез тестостерона (Т), который осуществляется преимущественно в яичках, транспорт гормона в ткань-мишени и превращение тестостерона в более активный метаболит 5 $\alpha$ -дигидротестостерон (ДГТ). Последний, взаимодействуя с андрогеновым рецептором, активирует его транскрипционную активность [19]. Таким образом, AR является ключевой молекулой в восприятии гормонального сигнала и передачи его генами-мишеням. Любое нарушение в данном сигнальном пути может вызвать развитие РПЖ. Поэтому особую актуальность приобретает исследование структуры и функции AR.

*Структура и функции андрогенового рецептора.* Ген андрогенового рецептора локализован на X-хромосоме (Xq11-12), размер гена составляет 90 тыс. п. н. [20]. Он состоит из 8 экзонов, в которых закодировано 919 аминокислотных остатка. Андрогеновый рецептор экспрессируется в виде двух изоформ: основная – В, с молекулярным весом 110 кДа, и менее доминантная изоформа А – 80 кДа. Форма В отличается от А присутствием в структуре рецептора дополнительного модульного домена, так называемой «функции активации транскрипции», расположенного слева от регуляторного домена [21].

AR является лиганд-зависимым ДНК-связывающим фактором транскрипции, который при взаимодействии с промотором генов-мишеней координирует формирование транскрипционного комплекса [22]. В состав AR входят три структурно-функциональных домена (рис. 1). N-концевой домен, содержащий участок AF-1, обуславливает его основную транскрипционную актив-

ность за счет участия в гомодимеризации, взаимодействии с коактиваторами или корепрессорами (кодируется экзоном 1). ДНК-связывающий домен (DBD) отвечает за взаимодействия со специфичными последовательностями в промоторах генов мишеней (кодируется экзонами 2 и 3). С-концевой домен содержит лиганд-связывающий домен (LBD), отвечающий за связывание с лигандами (кодируется экзонами 4-8). Кроме того, в состав С-концевого домена входит участок AF-2, отвечающий за активацию транскрипционных функций рецептора [23]. Между ДНК-связывающим и лиганд-связывающим доменами располагается короткий петлевой (шарнирный) регион (H), который обеспечивает вращение DBD относительно LBD на 180°. Это свойство важно при взаимодействии димеров рецептора с асимметричными регуляторными последовательностями в промоторах генов, состоящими из прямых повторов нуклеотидов. Также этот участок формирует поверхность для взаимодействия с ко-регуляторами [24].

AR в неактивном состоянии всегда находится в цитоплазме (рис. 2). В ней рецепторы связаны с белками-шейперонами, предотвращающими его транспорт через ядерную мембрану [25]. Чаще всего в качестве шейперонов выступают белки теплового шока HSP40, 70 и 90. При поступлении андрогенов в цитоплазму AR связывается с гормоном и перемещается в ядро, где формирует гомодимер. В результате связывания с андрогеном, AF-2 мотив, а также, по край-

ней мере, еще три  $\alpha$ -спирали лиганд-связывающего домена формируют поверхность для взаимодействия с белками коактиваторами. Гомодимер AR связывается с энхансерным элементом в дистальной области промотора, который содержит симметричные (палиндромные) шестинуклеотидные повторы (Palindrome, Pal) или развернутые шестинуклеотидные повторы (Inverted Repeat, IR) 5'-TGTTCT-3', разделенные тремя парами оснований. Данная последовательность называется классическим андроген-чувствительным элементом (clARE). Андрогеновый рецептор, кроме того, способен взаимодействовать с прямыми повторами (Direct Repeat, DR) 5'-TGTTCT-3', которые входят в состав селективных чувствительных элементов [26].

*Коактиваторы и корепрессоры AR.* Активация транскрипции генов-мишеней AR сопровождается взаимодействием рецептора с коактиваторами (см. рис. 2). Данное взаимодействие, как правило, активируется связыванием лиганда-агониста с рецептором. Коактиваторы обладают плейотропным действием на транскрипцию генов – участвуют в формировании базального комплекса транскрипции, ремодулировании хроматина и конформационной перестройке самого рецептора. Следовательно, они могут играть важную роль в развитии и прогрессии РПЖ [27]. Установлено, что в присутствии белков коактиваторов, таких как ARA70 (Androgen Receptor Coactivator, 70 кДа), SRC-1 (Steroid Receptor Coactivator), SRC-2, SRC-3, и коин-

### AR ген



### AR белок



Рис. 1. Структура андрогенового рецептора: NTD – N-концевой домен; DBD – ДНК-связывающий домен; Hinge – петлевой домен; LBD – лиганд-связывающий домен

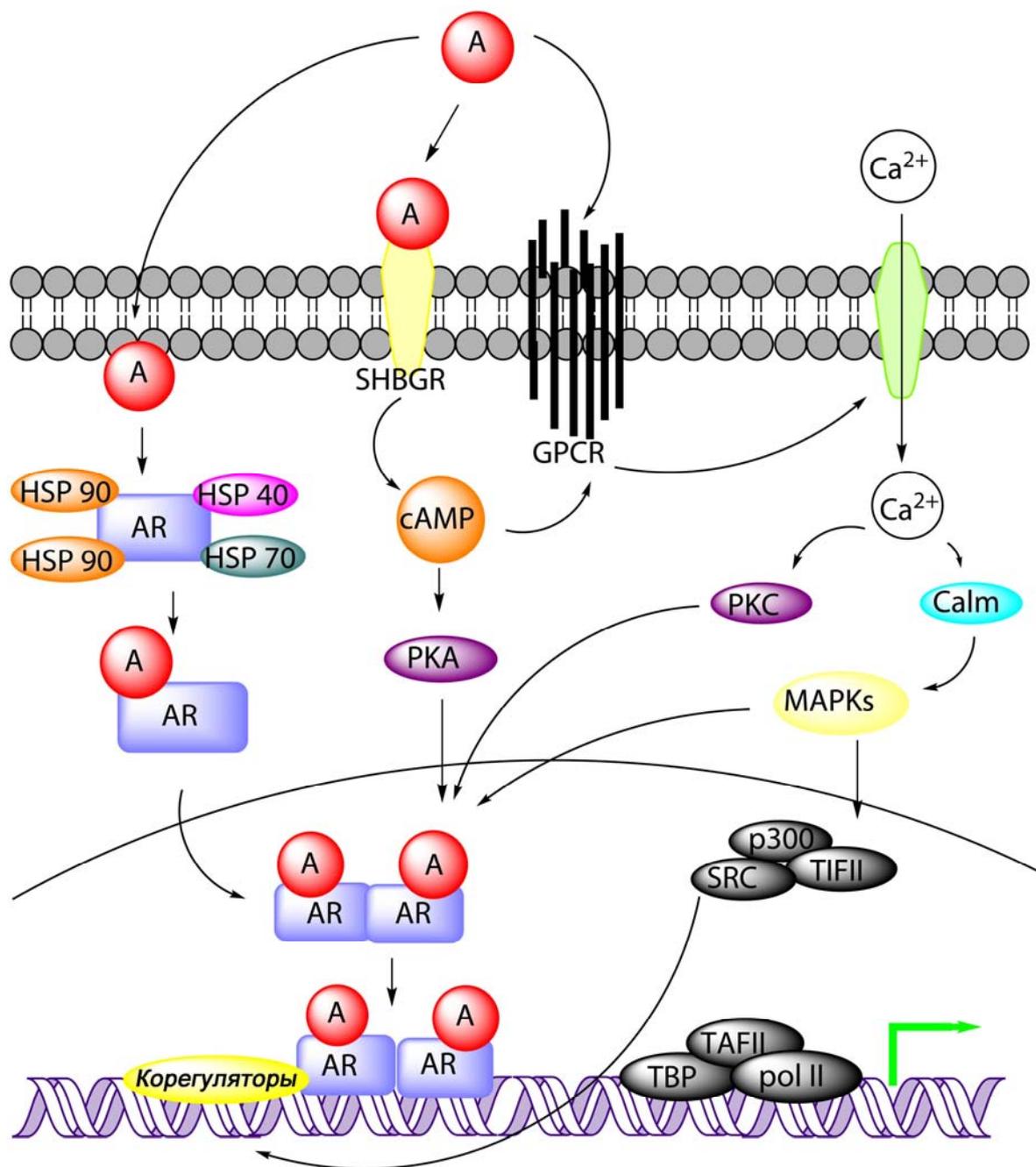


Рис. 2. Молекулярный механизм активации генов-мишеней андрогенового рецептора: А – андрогены; AR – андрогеновый рецептор; SHBG – рецептор глобулина, связывающего половые гормоны; GPCR – рецептор, сопряженный с G белком; PKA – протеин-киназа А; PKC – протеин-киназа С; MAPKs – митоген-активирующие протеин-киназы; Calm – кальмодулин-зависимая киназа; SRC, TIF2, p300 – коактиваторы; HSP 90, 70, 40 – белки теплового шока; TBP – белок, который связывается с последовательностью ТАТА; TAFII – TBP-ассоциированный фактор II; pol II – полимеразы II

теграторов p300 (коактиватор фактора транскрипции CREB, активирующегося цАМФ) наблюдается активация AR при низких концентрациях лиганда. Более того, взаимодей-

ствие AR с белками-коактиваторами может влиять на сродство рецептора к различным лигандам и активировать его транскрипционную активность. Установлено, что взаи-

модействие ARA70 с AR придает последнему способность к активации в присутствии антиандрогенов [28].

Таким образом, повышенная экспрессия коактиваторов может служить пусковым механизмом в канцерогенезе ПЖ. Обнаружены две формы ARA70 –  $\alpha$  и  $\beta$ . При гормон-резистентном РПЖ наблюдается повышенная экспрессия ARA70 $\beta$ . ARA70 $\alpha$  в отличие от  $\beta$ -формы участвует в подавлении клеточной пролиферации при раке простаты [29]. Белок ARA70 также способствует активации AR андрогенами, синтезирующимися в надпочечниках в физиологических концентрациях [30]. При аденокарциноме простаты показана гиперэкспрессия некоторых белков-коактиваторов. Например, белок SRC-1 имеет высокий уровень экспрессии в 50 % гормонозависимых опухолей простаты по сравнению с нормальной тканью ПЖ [31]. В тканях рефрактерного рака простаты повышенный уровень белка SRC-1 выявлен в 63 % изученных образцов. На фоне высокой экспрессии коактиватора SRC-3 наблюдается повышенный синтез ПСА [32].

В случае связывания с гидрофобным карманом лиганда-антагониста не происходит конформационного изменения молекулы рецептора или развивается неправильная ориентация AF-2 мотива на С-конце молекулы белка AR. В данном случае возможно формирование комплекса с корепрессором, в результате чего возникает ослабление транскрипционной активности рецептора. Следует отметить, что сниженный уровень экспрессии корепрессоров в клетке может привести к тому, что терапевтические антагонисты AR могут вызывать активирующий эффект [33].

*Амплификация гена AR* – ключевой момент в трансформации опухолей ПЖ от гормон-чувствительной к гормон-резистентной формам [34]. В одной трети опухолей ПЖ, резистентных к гормональной терапии, наблюдается амплификация гена AR, следствием чего является повышенная чувствительность к андрогенам, концентрация которых после химической или хирургической кастрации очень мала [13; 35]. В основном амплифицированная форма гена AR сохраняет первоначальную структуру. Однако в двух независимых исследованиях обнаружена мутация в позиции 683-го нуклеотида, приводящая к аминокислотной замене Gly на Ala. Наличие данной мутации не влияет

на способность рецептора активироваться различными андрогенами и антиандрогенами [36]. Кроме того, в опухолях с амплифицированным рецептором обнаружено наличие мутантного p53. Вероятно, мутация в данном гене, которая приводит к инактивации, может являться причиной амплификации гена AR [37]. Однако существует и альтернативное мнение: первичной является амплификация, а вторичной – инактивация p53 [38].

*Мутации гена AR.* В гене AR найдено большое количество мутаций. Известно более 660 мутаций, которые влияют на пролиферативные процессы в ПЖ и приводят к андроген нечувствительному синдрому. Большинство соматических мутаций обнаруживается в LBD рецептора (49 %) в районах между 670–678, 701–730 и 874–919-й аминокислотными остатками. Появление таких мутаций приводит к «неразборчивости» AR к лигандам. При этом мутации в LBD рецептора крайне редко встречаются в первичных опухолях, в то же время они достаточно часто встречаются при кастрат-резистентном раке (в 30 % случаев) [39]. В результате таких мутаций AR способен активироваться не только андрогенами, но и прогестероном, эстрогенами, кортизолом и другими гормонами и их метаболитами [40]. Более того, возникновение мутаций может приводить к тому, что известные антагонисты AR становятся способными активировать рецептор [41]. Данный факт может осложнять лечение лиц с РПЖ антагонистами AR.

Первой описана замена треонина на аланин в 877-й позиции (AR<sup>T877A</sup>), обнаруженная в клеточной линии рака простаты LNCaP (андроген-зависимая клеточная линия). Данная мутация изменяет размер, форму и свойства лиганд-связывающего кармана. Это приводит к тому, что даже неприродные лиганды связываются с рецептором и активируют его. Таким образом, мутация AR<sup>T877A</sup> приводит к усилению роста опухолевых клеток через абберантную активацию антиандрогенами, которые используются в лечении. Это объясняет андроген-независимый рост опухолей и рассматривается как основной механизм адаптации опухолевых клеток к низким концентрациям андрогенов после гормональной абляции [42].

Вторая точечная мутация, идентифицированная в клетках РПЖ, – это замена Leu

на His в 701-м положении. Данная мутация в гене AR часто встречается у пациентов с гормон-рефрактерным раком простаты. Эта же мутация в комбинации с AR<sup>T877A</sup> приводит к снижению чувствительности к андрогенам, но повышает отзывчивость на глюкокортикоиды (кортизон), который циркулирует в достаточно высокой концентрации для активации мутантных рецепторов. Таким образом, при андроген-независимом раке простаты за счет наличия мутаций наблюдается активация рецептора разнообразными лигандами, циркулирующими в крови [43].

Из восьми экзонов, входящих в состав гена AR, наиболее важным для риска развития РПЖ является первый. Именно этот экзон кодирует домен рецептора, ответственный за активацию транскрипции генов-мишеней, а последовательности [CAG] $n$  (может содержать  $n = 11-35$ , в норме – 21) и [GGN] $n$  ( $n = 10-31$ , в норме – 24) кодируют два полиморфных участка с аминокислотными последовательностями поли-Gln и поли-Gly соответственно [44]. Участок молекулы рецептора поли-Gln участвует в механизме транслокации AR, который изменяется в зависимости от длины последовательности [CAG] $n$ . Полиморфизм CAG-повторов в экзоне 1 AR является очень вариабельным. В зависимости от этнической принадлежности количество повторов может варьировать от 8 до 52. От количества повторов зависит и чувствительность рецептора к тестостерону, причем связь обратно пропорциональная: чем больше повторов, тем рецептор менее чувствителен [45]. Считается, что более короткий вариант ( $n < 20-22$ ) предрасполагает к возникновению карциномы ПЖ, так как увеличивает активность AR, что в итоге приводит к прогрессии РПЖ [46]. GGN-повтор изучен существенно хуже, но в некоторых исследованиях показано, что более короткий вариант связан со снижением уровня тестостерона в сыворотке крови. Кроме того, установлено, что делеция этой последовательности примерно на 30% снижает транскрипционную активность AR [47].

*Сплайсированные варианты AR.* Известно более 20 сплайсированных вариантов AR. Для андрогенового рецептора наиболее хорошо описаны подобные варианты AR3, AR4 и AR5, которые часто обнаруживают в резистентных клетках простаты [48]. У дан-

ных сплайсированных вариантов отсутствует LBD, однако они содержат N-концевой домен с участком AF-1 и DBD, которые и определяют конститутивную активность сплайсированных вариантов AR, необходимую для прогрессии раковых клеток ПЖ и возникновения резистентности к терапии [49]. Наиболее часто встречающимся вариантом является AR3, который обладает конститутивной транскрипционной активностью, не регулируемой андрогенами и антиандрогенами. ARv567 – еще один сплайсированный вариант, для которого характерно отсутствие 5, 6, 7-го экзонов. Наличие данного варианта свидетельствует о гормон-резистентности и метастатическом раке простаты. Имеются данные, предполагающие, что эта форма усиливает экспрессию нормального рецептора в отсутствие лиганда, действуя как конститутивно активный рецептор. Таким образом, наличие сплайсированных вариантов AR играет значительную роль в формировании кастрат-резистентного РПЖ и прогрессии заболевания [48].

*Негеномные эффекты андрогенов и посттрансляционная модификация AR.* Кроме классического механизма активации AR, андрогены также оказывают так называемые негеномные эффекты, которые осуществляются независимо от транскрипционных генетических процессов (см. рис. 2). Это, как правило, быстрые (от нескольких секунд до нескольких минут) стероид-опосредованные взаимодействия. Андрогены взаимодействуют с SHBG (Sex Hormone Binding Globulin) / SHBGR комплексом, тем самым активируют cAMP и PKA. Кроме того, за счет взаимодействия мужских половых гормонов с GPCR (G-Protein Coupled Receptor) происходит активация кальцевых каналов, что приводит к увеличению уровня внутриклеточного кальция Ca<sup>2+</sup> и, как следствие, к активации PKA (Protein Kinase A), PKC (Protein Kinase C) и MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase). Активация киназных каскадов приводит к фосфорилированию андрогенового рецептора, факторов транскрипции или коактиваторов, таких как SRC-1, SRC-3 и TIF2, запуская тем самым транскрипцию генов-мишеней.

Более того, активность AR может регулироваться посттрансляционными модификациями, вызванными не только андрогенами. Данный механизм активации характерен

для прогрессирующего или кастрат-резистентного рака простаты. В отсутствие лиганда андрогеновый рецептор может быть активирован факторами роста, кавеолином, тиреойдным гормоном, IL-6, что также приводит к стимулированию вторичных посредников [50]. Так, показано, что у больных с рефрактерным раком простаты уровень IL-6 повышен, что свидетельствует о его роли в прогрессии андроген-независимого рака простаты. IL-6 взаимодействует со своим рецептором, что приводит к активации MAPK-сигнального пути, следствием чего является фосфорилирование рецептора и его активация [51].

**Стероидогенез андрогенов.** Андрогены вырабатываются в основном в мужских половых железах – в интерстициальных клетках Лейдига семенников (95 %). Небольшое количество андрогенов образуется в коре надпочечников. Предшественником мужских половых гормонов служит холестерин, который либо поступает из плазмы в составе липопротеинов низкой плотности, либо синтезируется в самих железах из ацетил-КоА. Первые стадии стероидогенеза происходят в митохондриях. Транспорт холестерина до внешней мембраны митохондрий осуществляется белками StarD4 и StarD5 (Related Lipid Transfer Protein 4, 5), от внешней мембраны до внутренней – StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein). Меньшую роль во внутриклеточном транспорте холестерина играет транспортирующий белок SCP (Sterol-Carrier Protein) и его гомолог SCPx [52].

Ключевая роль в стероидогенезе принадлежит ферментам, относящимся к суперсемейству цитохрома P450 (CYP) и гидроксистероиддегидрогеназам (HSD) (рис. 3). Конверсия холестерина в прегненолон происходит в митохондриях, где локализован фермент CYP11A1. Это первая и лимитирующая стадия анаболизма стероидных гормонов [53]. Следующая реакция стероидогенеза, синтез дегидроэпиандростерона (ДГЭА) из прегненолона, осуществляется ферментом CYP17A1 (17 $\alpha$ -гидроксилаза / 17,20-лиаза). Этот фермент участвует также в образовании андростендиона из прогестерона. CYP17A1 является микросомальным ферментом, который экспрессируется на высоком уровне в надпочечниках и яичках.

Далее ДГЭА может быть конвертирован в андростендион и в дальнейшем в Т и ДГТ

при помощи гидроксистероиддегидрогеназ (HSD). Последний играет важную роль в периферических тканях. HSD не имеют гемовых групп, но используют в качестве кофакторов NADH+H<sup>+</sup> / NAD<sup>+</sup> и NADPH+H<sup>+</sup> / NADP<sup>+</sup> [54]. Исходя из закономерностей строения HSD разделяют на две группы: семейство дегидрогеназ / редуктаз короткой цепи (Short-Chain Dehydrogenase / Reductase, SDR) и семейство альдокеторедуктаз (Aldo-Keto Reductase, AKR) [55]. По механизму действия HSD разделяют на дегидрогеназы и редуктазы. Первые используют NAD<sup>+</sup> для окисления гидроксистероидов в кетостероиды, вторые – NADPH+H<sup>+</sup> для обратного процесса, восстановления кетостероидов в гидроксистероиды. Однако указанные ферменты могут катализировать как прямые, так и обратные реакции. Направление зависит от pH среды и концентрации указанных кофакторов [56].

Основным ферментом, превращающим андростендион в Т в клетках Лейдига, является 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа 3 (HSD17B3). В других клетках эту реакцию катализирует фермент альдо-кеторедуктаза 1 (AKR1C3). AKR1C3 в нормальной ПЖ локализуется в стромальных и эндотелиальных клетках [57]. ДГТ образуется в клетках-мишенях из Т при участии фермента 5 $\alpha$ -редуктазы (см. рис. 3). Известны две изоформы этого фермента – SRD5A1 и SRD5A2. SRD5A1 экспрессируется в коже волосистой части головы и других периферических тканях, тогда как SRD5A2 – в тканях мужской половой системы [56]. В крови здоровых мужчин содержание ДГТ в 2–6 раз ниже, чем Т, тогда как в тканях ПЖ наблюдается обратная ситуация [58]. Показано, что ДГТ непосредственно контролирует деление клеток и способствует пролиферации эпителия ПЖ, что может приводить к железистой гиперплазии простаты. Более того, ДГТ имеет гораздо большее сродство к AR ( $K_d$  тестостерона 10<sup>-9</sup> М,  $K_d$  ДГТ 10<sup>-11</sup> М).

Сульфонирование играет важную роль в регуляции концентрации различных биологически активных молекул, в том числе и стероидов. У человека баланс сульфонирования и десульфатирования необходим для регуляции активности и транспорта стероидных гормонов. Более того, сульфонирование продлевает время жизни этих соединений в плазме и тканях-мишенях. В сетчатой зоне коры надпочечников при участии фер-

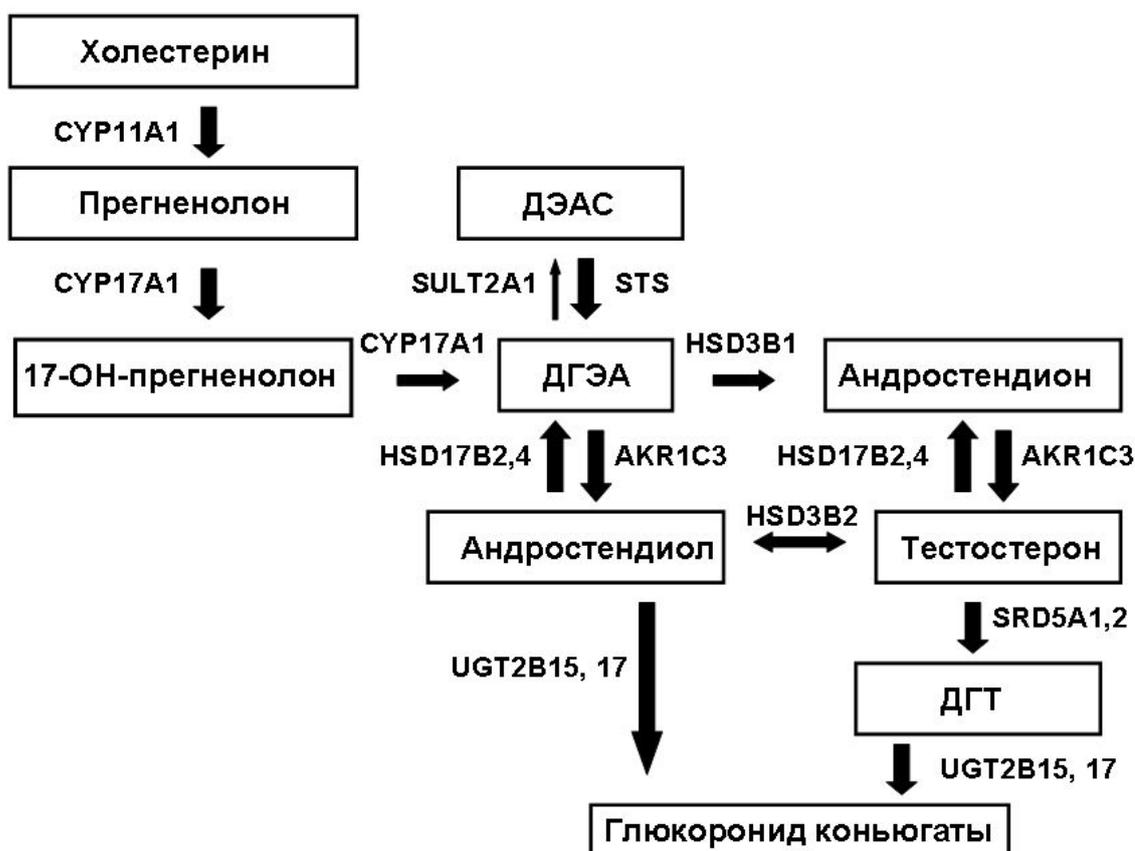


Рис. 3. Пути образования андрогенов в яичках и превращения андрогенов в периферических тканях: ДЭАС – дегидроэпиандростерон-сульфат; ДГТ – дигидротестостерон; ДГЭА – дегидроэпиандростерон; CYP11A1 – 20, 22-десмолаза; CYP17A1 – 17 $\alpha$ -гидроксилаза / 17,20-лиаза; HSD3B1, 2 – 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 1, 2; AKR1C3 – альдо-кеторедуктаза 1; HSD17B2,4 – 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа 2, 4; SRD5A1, 2 – 5  $\alpha$ -редуктазы; SULT2A1 – сульфотрансфераза 2A1; STS – стероидная сульфатаза; UGT2B15, 17 – уридиндифосфатглюкуронозил трансферазы 15, 17

мента сульфотрансферазы 2A1 (SULT2A1) синтезируется дегидроэпиандростерон-сульфат (ДЭАС), который обладает слабой андрогеновой активностью [59]. Количество циркулирующего в крови ДЭАС примерно в 100 раз выше уровня Т [60]. Отношение концентраций ДГЭА / ДЭАС в плазме коррелирует с повышенным риском развития РПЖ и других злокачественных новообразований. Следовательно, сульфаты стероидов являются как метаболитами, экскретируемыми из организма с мочой, так и важным источником потенциально активных стероидов.

Этот слабый андроген может конвертироваться в более активные стероиды во многих тканях, в том числе в простате, при помощи фермента стероидной сульфатазы

(STS). Несмотря на то, что количество образующегося таким образом Т невелико, в тканях-мишенях это может оказывать значительное влияние для поддержания и роста опухолевых клеток. ДЭАС в клетках простаты конвертируется в ДГЭА, который при помощи фермента 3 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы 1 (HSD3B1), экспрессируемой базальными эпителиальными клетками простаты, превращается в андростендион [61]. Отметим, что HSD3B1 не только принимает участие в биосинтезе Т, но может инактивировать ДГТ в самой железе. Из-за двойной активности фермента трудно определить, какие варианты участвуют в канцерогенезе простаты [62].

Основной реакцией в процессе деградации андрогенов является реакция глюкуро-

нидации. Сайтом глюкуронидации обычно является электрон-богатый нуклеофильный атом кислорода. Катализируют эту реакцию ферменты уридин дифосфатглюкуронозил трансферазы UGT2B15 и UGT2B17, которые входят в состав большого семейства UGT. В качестве кофактора эта реакция требует присутствия уридиндифосфоглюкуроновой кислоты. UGT локализуется в эндоплазматическом ретикулуме клеток печени и других тканей (почки, тонкий кишечник, селезенка, кожа, мозг и т. д.). Глюкуроновые конъюгаты являются полярными соединениями, которые легко экскретируются с мочой или желчью. Показано, что в клетках, имеющих сниженный уровень экспрессии генов UGT2B15 и UGT2B17, отмечается увеличение экспрессии генов-мишеней AR [63].

Изменение активности ферментов, участвующих в синтезе мужских половых гормонов, связано как с процессами образования первичных опухолей, так и с резистентностью РПЖ к гормональной терапии. Большое распространение получила теория локального синтеза андрогенов в тканях ПЖ *in situ*. Различная экспрессия ферментов биотрансформации и метаболизма стероидных гормонов в опухолях определяет успех в разработке таргетных противоопухолевых препаратов, основанных на ингибировании стероидогенных ферментов [64].

Показано, что активность фермента CYP17A1 в 17 раз выше при кастрат-резистентном РПЖ, чем при первичном [65]. Увеличение активности CYP17A1 может быть связано с повышенной экспрессией гена CYP17A1 в клетках кастрат-резистентного РПЖ [66]. Кроме того, в гене CYP17A1 обнаружена однонуклеотидная замена в 5'-нетранслируемом промоторном регионе (rs743572), ассоциированная не только с риском развития РПЖ, но и с резистентностью к таргетной терапии, которая направлена на ингибирование ферментативной активности CYP17A1 [67].

HSD17B3 в последнее время также рассматривается как потенциальная терапевтическая мишень для лечения РПЖ. Увеличение экспрессии гена HSD17B3 выявлено как при первичном раке, так и при его кастрат-резистентной форме [68].

Показано, что при РПЖ и гиперплазии ПЖ отмечается увеличение экспрессии генов, кодирующих ферменты синтеза андро-

генов, таких как AKR1C3 и SRD5A [69]. Увеличение экспрессии гена SRD5A2 приводит к увеличению концентрации ДГТ *in situ*. Лечение больных с РПЖ ингибиторами 5 $\alpha$ -редуктазы приводит к снижению уровня ПСА на 50 % [70]. Для гена SRD5A2 выявлено семь полиморфизмных вариантов. Наиболее существенными являются два из них – замена Ala<sup>49</sup>Thr, приводящая к увеличению активности фермента в 5 раз, и Val<sup>89</sup>Leu, приводящая к 30 % снижению активности фермента. Оба вида полиморфизма ассоциированы с риском возникновения РПЖ [71]. Таким образом, изменения активности ферментов в тканях ПЖ могут приводить к увеличению концентрации активных андрогенов *in situ*, что может повышать не только риск развития опухолевого заболевания в органе-мишени андрогенов, но и приводить к формированию его резистентных форм.

### Заключение

Развитие и функционирование ПЖ всецело определяется ее гормональной регуляцией. В случае злокачественного перерождения тканей ПЖ наблюдаются изменения как в системе метаболизма андрогенов, так и на уровне регуляции AR. К настоящему времени накоплено большое количество фактов, свидетельствующих о проблемах гормональной терапии лиц с РПЖ. Поиск путей возникновения резистентности РПЖ является необходимой составляющей практического решения проблем, связанных с патологией простаты. Дальнейшие исследования процессов регуляции метаболизма андрогенов и активации AR, возможно, позволят понять, являются ли эти процессы следствием или причиной возникновения и развития РПЖ и его резистентных форм.

### Список литературы

1. Jemal A., Bray F., Center M. M., Ferlay J., Ward E., Forman D. Global Cancer Statistics. CA: A Cancer Journal for Clinicians 4 FEB // CA Cancer J. Clin. 2011. Vol. 61, № 2. P. 69–90.
2. Preusser S., Putora P. M., Plasswilm L., Schmid H. P. Castration-Resistant Prostate Cancer: Surgical and Radio-Oncological Therapeutic Options // Urologe A. 2012. Vol. 51, № 1. P. 27–31.

3. *Dunn M. W., Kazer M. W.* Prostate Cancer // *Semin. Oncol. Nurs.* 2011. Vol. 27, № 4. P. 241–250.
4. *Vaucher L., Paduch D. A., Jichlinski P.* Testosterone and Prostate // *Med. Suisse.* 2011. Vol. 7, № 320. P. 2399–2400.
5. *Yuan X., Balk S. P.* Mechanisms Mediating Androgen Receptor Reactivation after Castration // *Urol. Oncol.* 2009. Vol. 27, № 1. P. 36–41.
6. *Ryan C. J., Smith A., Lal P., Satagopan J., Reuter V., Scardino P., Gerald W., Scher H.* Persistent Prostate-Specific Antigen Expression after Neoadjuvant Androgen Depletion: An Early Predictor of Relapse or Incomplete Androgen Suppression // *Urology.* 2006. Vol. 68, № 4. P. 834–839.
7. *Taplin M. E.* Androgen Receptor: Role and Novel Therapeutic Prospects in Prostate Cancer // *Expert. Rev. of Anticancer Ther.* 2008. Vol. 8, № 9. P. 1495–1508.
8. *Shiota M., Yokomizo A., Naito S.* Increased Androgen Receptor Transcription: A Cause of Castration-Resistant Prostate Cancer and a Possible Therapeutic Target // *Mol. Endocrinol.* 2011. Vol. 47, № 1. P. 25–41.
9. *Rotinen M., Celay J., Alonso M., Arrazola A., Encio I., Villar J.* Estradiol Induces Type 8  $17\beta$ -hydroxysteroid Dehydrogenase Expression: Crosstalk between Estrogen Receptor Alpha and C / EBPbeta // *J. Endocrinol.* 2009. Vol. 200, № 1. P. 85–92.
10. *Liu R., Zhou Z., Huang J., Chen C.* PMEPA1 Promotes Androgen Receptor-Negative Prostate Cell Proliferation through Suppressing the Smad3/4-c-Myc-p21 Cip1 Signaling Pathway // *J. Pathol.* 2011. Vol. 223, № 5. P. 683–694.
11. *Gregory C., Hamil K., Kim D., Hall S., Pretlow T., Mohler J., French F.* Androgen Receptor Expression in Androgen-Independent Prostate Cancer Is Associated with Increased Expression of Androgen-Regulated Genes // *Cancer Res.* 1998. Vol. 58, № 24. P. 5718–5724.
12. *Allioli N., Vincent S., Vlaeminck-Guillem V., Decaussin-Petrucci M., Ragage F., Ruffion A., Samarut J.* TM4SF1, a Novel Primary Androgen Receptor Target Gene Over-Expressed in Human Prostate Cancer and Involved in Cell Migration // *Prostate.* 2011. Vol. 71, № 11. P. 1239–1250.
13. *Jariwala U., Prescott J., Jia L., Barski A., Pregizer S., Cogan J., Arasheben A., Tilley W., Scher H., Gerald W., Buchanan G., Coetzee G., Frenkel B.* Identification of Novel Androgen Receptor Target Genes in Prostate Cancer // *Mol. Cancer.* 2007. Vol. 6. P. 6–39.
14. *Zhu M., Kyprianou N.* Androgen Receptor and Growth Factor Signaling Cross-Talk in Prostate Cancer Cells // *Endocr. Relat. Cancer.* 2008. Vol. 15, № 4. P. 841–849.
15. *Bosland M., Mahmoud A.* Hormones and Prostate Carcinogenesis: Androgens and Estrogens // *J. Carcinog.* 2011. Vol. 10. P. 33–34.
16. *Patrao M., Silva E., Avellar M.* Androgens and the Male Reproductive Tract: An Overview of Classical Roles and Current Perspectives // *Arq. Bras Endocrinol. Metabol.* 2009. Vol. 53, № 8. P. 934–945.
17. *Claessens F., Denayer S., Tilborgh N. van, Kerkhofs S., Helsen C., Haelens A.* Diverse Roles of Androgen Receptor (AR) Domains in AR-Mediated Signaling // *Nucl. Recept. Signal.* 2008. Vol. 6. E008.
18. *Moon J., Jin W. J., Kwak J., Kim H., Yun M., Kim J., Park S., Kim K.* Androgen Stimulates Glycolysis for de novo Lipid Synthesis by Increasing the Activities of Hexokinase 2 and 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase 2 in Prostate Cancer Cells // *Biochem. J.* 2011. Vol. 433, № 1. P. 225–233.
19. *Basu S., Tindall D.* Androgen Action in Prostate Cancer // *Horm. Cancer.* 2010. Vol. 1, № 5. P. 223–228.
20. *Gelmann E.* Molecular Biology of the Androgen Receptor // *Clin. Oncol.* 2002. Vol. 20, № 13. P. 3001–3015.
21. *Zeng R., Liu Z., Sun Y., Xu C.* Differential Expression and Function of AR Isoforms in Prostate Cancer // *Oncol. Rep.* 2012. Vol. 27, № 2. P. 492–498.
22. *McEwan I.* Intrinsic Disorder in the Androgen Receptor: Identification, Characterisation and Drugability // *Mol. Biosyst.* 2012. Vol. 8, № 1. P. 82–90.
23. *Axerio-Cilies P., Lack N., Nayana M., Chan K., Yeung A., Leblanc E., Guns E., Rennie P., Cherkasov A.* Inhibitors of Androgen Receptor Activation Function-2 (AF2) Site Identified through Virtual Screening // *Med. Chem.* 2011. Vol. 54, № 18. P. 6197–6205.
24. *Lavery D., Bevan C., Derek N., Charlotte L.* Androgen Receptor Signalling in Prostate Cancer: The Functional Consequences of Acetylation Bevan // *Biomed. Biotechnol.* 2011. Vol. 1.
25. *Schaufele F.* FRET Analysis of Androgen Receptor Structure and Biochemistry in

Living Cells // *Methods Mol. Biol.* 2011. Vol. 776. P. 147–166.

26. Lonergan P., Tindall D. Androgen Receptor Signaling in Prostate Cancer Development and Progression // *Carcinog.* 2011. Vol. 10. P. 20.

27. Chmelar R., Buchanan G., Need E., Tilley W., Greenberg N. Androgen Receptor Coregulators and their Involvement in the Development and Progression of Prostate Cancer // *Int. J. Cancer.* 2007. Vol. 120, № 4. P. 719–733.

28. Wang Y., Li J., Shao C., Shi C., Liu F., Yang Z., Qiu J., Li Y., Fu Q., Zhang W., Xue W., Lei Y., Gao J., Wang J., Gao X., Yuan J., Bao T., Zhang Y. Androgen Receptor Coregulators NOCR1, TIF2, and ARA70 May Account for the Hydroxyflutamide Insensitivity of Prostate Cancer Cells // *Cn. Ir. J. Med. Sci.* 2011. Vol. 180, № 4. P. 865–872.

29. Ligr M., Li Y., Zou X., Daniels G., Melamed J., Peng Y., Wang W., Wang J., Osterer H., Pagano M., Wang Z., Garabedian M., Lee P. Tumor Suppressor Function of Androgen Receptor Coactivator ARA70alpha in Prostate Cancer // *Am. J. Pathol.* 2010. Vol. 176, № 4. P. 1891–1900.

30. Peng Y., Li C., Chen F., Wang Z., Ligr M., Melamed J., Wei J., Gerald W., Pagano M., Garabedian M., Lee P. Stimulation of Prostate Cancer Cellular Proliferation and Invasion by the Androgen Receptor Coactivator ARA70 // *Am. J. Pathol.* 2008. Vol. 172, № 1. P. 225–235.

31. Agoulnik I., Weigel N. Coactivator Selective Regulation of Androgen Receptor Activity // *Steroids.* 2009. Vol. 74, № 8. P. 669–674.

32. Louie M., Yang H., Ma A. Androgen-Induced Recruitment of RNA Polymerase II to a Nuclear Receptor – p160 Coactivator Complex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. Vol. 100. P. 2226–2230.

33. Burd C., Morey L., Knudsen K. Androgen Receptor Corepressors and Prostate Cancer // *Endocr. Relat. Cancer.* 2006. Vol. 13, № 4. P. 979–994.

34. Lamont K., Tindall D. Minireview: Alternative Activation Pathways for the Androgen Receptor in Prostate Cancer // *Mol. Endocrinol.* 2011. Vol. 25, № 6. P. 897–907.

35. Lenthe G., Bergh J. P. van den, Hermus A., Huiskes R. The Prospects of Estimating Trabecular Bone Tissue Properties from the Combination of Ultrasound, Dual-Energy X-

ray Absorptiometry, Microcomputed Tomography, and Microfinite Element Analysis // *Bone Miner. Res.* 2001. Vol. 16, № 3. P. 550–555.

36. Heinlein C., Chang C. Androgen Receptor in Prostate Cancer // *Endocr. Rev.* 2004. Vol. 25, № 2. P. 276–308.

37. Koivisto P., Rantala I. Amplification of the Androgen Receptor Gene Is Associated with P53 Mutation in Hormone-Refractory Recurrent Prostate Cancer // *Pathol.* 1999. Vol. 187. P. 237–241.

38. Grossmann M., Huang H., Tindall D. Androgen Receptor Signaling in Androgen-Refractory Prostate Cancer // *Natl. Cancer Inst.* 2001. Vol. 93, № 22. P. 1687–1697.

39. Buchanan G., Greenberg N., Scher H., Harris J., Marshall V., Tilley W. Collocation of Androgen Receptor Gene Mutations in Prostate Cancer // *Clin. Cancer Res.* 2001. Vol. 7, № 5. P. 1273–1281.

40. Brooke G., Bevan C. The Role of Androgen Receptor Mutations in Prostate Cancer Progression // *Curr. Genomics.* 2009. Vol. 10, № 1. P. 18–25.

41. Steinkamp M., O'Mahony O., Brogley M., Rehman H., Lapensee E., Dhanasekaran S., Hofer M., Kuefer R., Chinnaiyan A., Rubin M., Pienta K., Robins D. Treatment-Dependent Androgen Receptor Mutations in Prostate Cancer Exploit Multiple Mechanisms to Evade Therapy // *Cancer Res.* 2009. Vol. 69, № 10. P. 4434–4442.

42. Niraula S., Tannock I. Broadening Horizons in Medical Management of Prostate Cancer // *Acta Oncol.* 2011. Vol. 1. P. 141–147.

43. Shiota M., Yokomizo A., Naito S. Increased Androgen Receptor Transcription: A Cause of Castration-Resistant Prostate Cancer and a Possible Therapeutic Target // *Mol. Endocrinol.* 2011. Vol. 47, № 1. P. 25–41.

44. Wijngaart D. van de, Molier M., Lusher S., Hersmus R., Jenster G., Trapman J., Dubbink H. Systematic Structure-Function Analysis of Androgen Receptor Leu701 Mutants Explains the Properties of the Prostate Cancer Mutant L701H // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285, № 7. P. 5097–5105.

45. Kumar R., Atamna H., Zakharov M., Bhasin S., Khan S., Jasuja R. Role of the Androgen Receptor CAG Repeat Polymorphism in Prostate Cancer, and Spinal and Bulbar Muscular Atrophy // *Life Sci.* 2011. Vol. 88, № 13–14. P. 565–571.

46. Palazzolo I., Gliozzi A., Rusmini P., Sau D., Crippa V., Simonini F., Onesto E., Bolzoni E., Poletti A. The Role of The Polyglutamine Tract in Androgen Receptor // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2007. Vol. 108, № 3–5. P. 245–253.
47. Lange E., Sarma A., Ray A., Wang Y., Ho L., Anderson S., Cunningham J., Cooney K. The Androgen Receptor CAG and GGN Repeat Polymorphisms and Prostate Cancer Susceptibility in African-American Men: Results from the Flint Men's Health Study // *J. Hum. Genet.* 2008. Vol. 53, № 3. P. 220–226.
48. Dehm S., Tindall D. Alternatively Spliced Androgen Receptor Variants // *Endocr. Relat. Cancer.* 2011. Vol. 18, № 5. P. 183–196.
49. Dehm S., Schmidt L., Heemers H., Vessella R., Tindall D. Splicing of a novel Androgen Receptor Exon Generates a Constitutively Active Androgen Receptor that Mediates Prostate Cancer Therapy Resistance // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68, № 13. P. 5469–5477.
50. Ponguta L., Gregory C., French F., Wilson E. Site-Specific Androgen Receptor Serine Phosphorylation Linked to Epidermal Growth Factor-Dependent Growth of Castration-Recurrent Prostate Cancer // *J. Biol. Chem.* 2008. Vol. 283, № 30. P. 20989–201001.
51. Ueda T., Mawji N., Bruchofsky N., Sadar M. Ligand-Independent Activation of the Androgen Receptor by Interleukin-6 and the Role of Steroid Receptor Coactivator-1 in Prostate Cancer Cells // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277, № 41. P. 38087–38094.
52. Rodriguez-Agudo D., Ren S., Hylemon P. Localization of StarD5 Cholesterol Binding Protein // *J. Lipid Res.* 2006. Vol. 47, № 6. P. 1168–1175.
53. Twiddy A., Leon C., Wasan K. Cholesterol as a Potential Target for Castration-Resistant Prostate Cancer // *Pharm. Res.* 2011. Vol. 28, № 3. P. 423–437.
54. Freeman M., Solomon K. Cholesterol and Prostate Cancer // *J. Cell. Biochem.* 2004. Vol. 91, № 1. P. 54–69.
55. Miller W., Auchus R. The Molecular Biology, Biochemistry, and Physiology of Human Steroidogenesis And Its Disorders // *Endocr. Rev.* 2011. Vol. 32, № 1. P. 81–151.
56. Penning T. Human Hydroxysteroid Dehydrogenases and Pre-Receptor Regulation: Insights into Inhibitor Design and Evaluation // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 2011. Vol. 125, № 1–2. P. 46–56.
57. Cai C., Balk S. Intratumoral Androgen Biosynthesis in Prostate Cancer Pathogenesis and Response to Therapy // *Endocr. Relat. Cancer.* 2011. Vol. 18, № 5. P. 175–182.
58. Li J., Ding Z., Wang Z., Lu J., Maity S., Navone N., Logothetis C., Mills G. Androgen Regulation of 5 $\alpha$ -Reductase Isoenzymes in Prostate Cancer: Implications for Prostate Cancer Prevention // *PLoS One.* 2011. Vol. 6, № 12. E28840.
59. Senggunprai L., Yoshinari K., Yamazoe Y. Selective role of Sulfotransferase 2A1 (SULT2A1) in the N-sulfoconjugation of Quinolone Drugs in Humans // *Drug. Metab. Dispos.* 2009. Vol. 37, № 8. P. 1711–1717.
60. Basu S., Tindall D. Androgen Action in Prostate Cancer // *Horm. Cancer.* 2010. Vol. 1, № 5. P. 223–228.
61. Almeida J., Conley A., Mathewson L., Ball B. Expression of Steroidogenic Enzymes during Equine Testicular Development // *Reproduction.* 2011. Vol. 141, № 6. P. 841–848.
62. Chang B., Zheng S., Hawkins G., Isaacs S., Wiley K., Turner A., Carpten J., Bleecker E., Walsh P., Trent J., Meyers D., Isaacs W., Xu J. Joint Effect of HSD3B1 and HSD3B2 Genes Is Associated with Hereditary and Sporadic Prostate Cancer Susceptibility // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62, № 6. P. 1784–1789.
63. Hu D., Mackenzie P. Forkhead Box Protein A1 Regulates UDP-glucuronosyltransferase 2B15 Gene Transcription in LNCaP Prostate Cancer Cells // *Drug. Metab. Dispos.* 2010. Vol. 38, № 12. P. 2105–2109.
64. Chumsri S., Howes T., Bao T., Sabnis G., Brodie A. Aromatase, Aromatase Inhibitors, and Breast Cancer // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2011. Vol. 125. P. 13–22.
65. Penning T. M. New Frontiers in Androgen Biosynthesis and Metabolism // *Cur. Opin. Endocrinol., Diabetes Obesit.* 2010. Vol. 17. P. 233–239.
66. Montgomery R., Mostaghel E., Vessella R., Hess D., Kalhorn T., Higano C., True L., Nelson P. Maintenance of Intratumoral Androgens in Metastatic Prostate Cancer: A Mechanism for Castration-Resistant Tumor Growth // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68, № 11. P. 4447–4454.
67. Wang F., Zou Y., Feng X., Su H., Huang F. CYP17 Gene Polymorphisms and Prostate Cancer Risk: A Meta-Analysis Based on 38 Independent Studies // *Prostate.* 2011. Vol. 71, № 11. P. 1167–1177.
68. Vasaitis T., Bruno R., Njar V. CYP17 Inhibitors for Prostate Cancer Therapy // *J. Ste-*

roid. *Biochem. Mol. Boil.* 2010. Vol. 125. P. 23–31.

69. *Dozmorov M., Azzarello J., Wren J., Fung K., Yang Q., Davis J., Hurst R., Culkin D., Penning T., Lin H.* Elevated AKR1C3 Expression Promotes Prostate Cancer Cell Survival and Prostate Cell-Mediated Endothelial Cell Tube Formation: Implications for Prostate Cancer Progression // *BMC Cancer*. 2010. Vol. 10. P. 672.

70. *Wako K., Kawasaki T., Yamana K., Suzuki K., Jiang S., Umezu H., Nishiyama T., Takahashi K., Hamakubo T., Kodama T.* Expression of Androgen Receptor through Andro-

gen-Converting Enzymes Is Associated with Biological Aggressiveness in Prostate Cancer // *J. Clinical. Pathology* 2008. Vol. 61. P. 448–454.

71. *Das K., Lorena P., Ng L., Lim D., Shen L., Siow W., Teh M., Reichardt J., Salto-Tellez M.* Differential Expression of Steroid 5alpha-Reductase Isozymes and Association with Disease Severity and Angiogenic Genes Predict their Biological Role in Prostate Cancer // *Endocr. Relat. Cancer*. 2010. Vol. 17, № 3. P. 757–770.

*Материал поступил в редколлегию 16.02.2012*