

И.Б. РОНИНСОН

Ингибиторы генетического перепрограммирования — НОВОЕ СЛОВО В ТЕРАПИИ РАКА

Ключевые слова: терапия рака, лекарственная устойчивость, метастазирование, транскрипционное перепрограммирование, CDK8, CDK19, ингибиторы киназ.
Key words:

© И.Б. Ронинсон, 2019



РОНИНСОН Игорь Борисович – профессор, руководитель Центра таргетной терапии и Программы трансляционной терапии опухолей Департамента создания лекарств и биомедицинских исследований Университета Южной Каролины (США). Лауреат ряда престижных научных премий, в том числе *Award for Meritorious Achievement in Cancer Research* Ассоциации исследований рака и премии Национального института рака (США). Автор и соавтор более 170 статей и 44 патентов

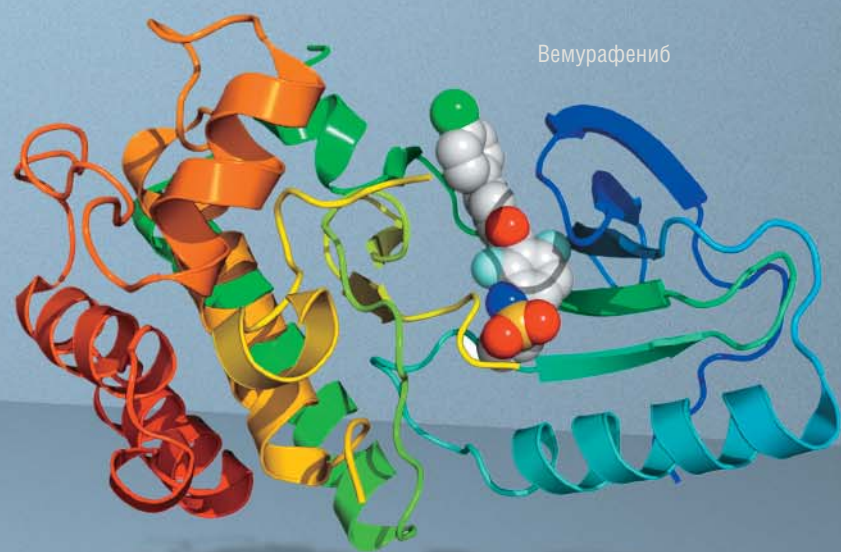
У рака есть ряд пугающих особенностей, которые порождают главные проблемы в борьбе с этой болезнью. Во-первых, раковые клетки – это все те же клетки организма, хотя и с измененным поведением. Во-вторых, они способны очень быстро меняться, приспосабливаясь к новым «нишам» при метастазировании и приобретая устойчивость к лекарствам при терапии. В-третьих, сам механизм возникновения рака в разных случаях также различен. В результате болезнь, как птица феникс, может возрождаться даже после самого жесткого лечения, рикошетом поражающего здоровые клетки и ткани. Автор этой статьи – молекулярный биолог с мировым именем, известный специалист в создании противоопухолевых лекарств и первооткрыватель гена множественной лекарственной устойчивости, и его команда обнаружили универсальный механизм, позволяющий злокачественной опухоли выживать в стрессовых условиях благодаря активации «спящих» генов. Более того: химические ингибиторы этого процесса созданы и уже проходят клинические испытания, что дает надежду намного повысить эффективность существующих методов борьбы с одной из самых грозных болезней современности

НАУКА БУДУЩЕГО

Эта публикация создана на основе лекции И.Б. Ронинсона, прочитанной в мае 2019 г. на площадке Образовательного центра «Сириус» (Сочи), где одновременно проходили два крупных научных мероприятия федерального значения: III Международная конференция «Наука будущего» и IV Всероссийский форум «Наука будущего – наука молодых». Первая конференция «Наука будущего» состоялась в 2014 г. в Санкт-Петербурге по инициативе ведущих мировых ученых, руководителей лабораторий, созданных по программе научных грантов Правительства РФ, а ее организатором выступило Министерство науки и высшего образования РФ.

«Наука будущего», начинавшаяся как конференция «мегагрантников», с течением времени трансформировалась в форум для презентации работы по модернизации отечественной науки. В 2019 г. в конференции приняли участие более 70 крупных российских и зарубежных ученых, а всего на площадке «Сириуса» собралось более 600 участников, включая научную молодежь: студентов старших курсов, магистрантов и аспирантов ведущих вузов, лауреатов премий для молодых ученых и др. Такой формат работы обеспечил тесное общение между учеными разных поколений, а также обмен опытом и знаниями между специалистами в разных научных дисциплинах.





Внутриклеточные мишени могут эффективно ингибироваться небольшими молекулами, которые легко синтезировать. Примером может служить вемурафениб, который используется для таргетной терапии меланомы с мутацией BRAF V600E. Меланома, одна из самых коварных опухолей, примерно в половине случаев вызывается генетической мутацией BRAF. *Creative Common*

Когда в конце прошлого века я начал вплотную заниматься вопросами лечения рака, все противоопухолевые лекарства были, как их сейчас называют, *конвенциональными*. Эти классические препараты действуют на некие молекулярные объекты, необходимые как нормальным, так и опухолевым клеткам. Другими словами, в рамках этого подхода нельзя создать лекарство, которое затрагивало бы только патологические клетки.

Механизм действия конвенциональных препаратов может быть направлен на повреждение ДНК или напрямую (это самые старые противораковые средства), или с помощью воздействия на ферменты топоизомеразы и на синтез нуклеотидов, а также на пертурбацию микротрубочек, составляющих цитоскелет клетки, то есть на универсальные мишени, необходимые для поддержания нормального клеточного цикла любой клетки. Причина, по которой такие лекарства хорошо работают именно в опухолевых клетках, состоит в том, что контроль за клеточным циклом у них изменен, поэтому они более чувствительны к нарушениям его критических стадий.

Конечно, такие препараты будут неизбежно опасны для пациента – все знают о последствиях химиотерапии. Главное здесь – создать лекарство, которое будет эффективным в определенный момент применения в максимально нетоксичной дозировке, что позволит уменьшить опасность для здоровых клеток. Важно, что эти лекарства несут улучшение, так как убивают патологические клетки так быстро, что опухоль не всегда успевает запустить механизм сопротивления. Примером успешного применения конвенциональных средств может служить терапия рака яичек, благодаря которой сегодня выздоравливает до 90% больных.

Но в последнее время подавляющее большинство новых лекарств направлено на конкретные мишени, которые необходимы в первую очередь именно опухолевым клеткам для выживания или поддержания клеточного цикла. Большая часть таких мишеней идентифицирована методами *геномики*, и этот процесс продолжается. Такие *таргетные*, целевые препараты представляют собой либо моноклональные антитела, либо «маленькие» молекулы химических соединений. К ним относятся ингибиторы различных ферментов, факторов роста, рецепторов, антагонисты гормонов и т. д.

Важно то, что таргетные препараты действуют только на определенные опухоли, которые несут мишени для этих лекарств. Поэтому использование таких препаратов всегда требует *персонализированной медицины*, то есть тщательного подбора пациентов. Примером может служить очень частое заболевание – *рак молочной железы*, который сегодня практически всегда лечится только с использованием персонализированного подхода.

Развитие большинства подвидов этого рака ассоциировано с женским гормоном *эстрогеном*, который связывается с пулом *эстрогеновых рецепторов* (ER) внутри раковых клеток, ускоряя их размножение. С другой стороны, принципиальным «драйвером» примерно 20–25% раков молочной железы служит *тирозинкиназа* HER2. Поэтому до начала лечения рака молочной железы необходимо сначала сделать молекулярный анализ маркеров, чтобы определить, производят ли опухолевые клетки эстрогеновые (либо зависимые от них прогестероновые) рецепторы. И если да, то такие пациенты лечатся таргетной гормональной терапией.

Если же в опухолях идентифицирован *амплифицированный* (многократно копированный) ген HER2, то этих пациентов лечат препаратами, направленными именно на этот белок: антителами (например, *трастузумабом*) либо маленькими молекулами-блокаторами (например, *лапатинибом*). Если же рак не относится к двум этим группам, то эти опухоли классифицируются как *тройной негативный рак молочной железы*. К сожалению, общего успешного метода лечения таких опухолей пока нет.

Геномный анализ – ключ к успеху

В наши дни стратегия лечения всех видов рака становится все более и более стандартной. Сначала у пациента берут образец опухоли для анализа на разные маркеры. С помощью методов *геномики* определяется наличие тех или иных мутаций; методами *транскриптомики* оценивается *экспрессия* (активность) генов; методами *протеомики* изучаются клеточные белки. В зависимости от этих результатов назначается лечение. Иногда это иммунотерапия. В случае химиотерапии нужно понять, какие именно характеристики опухоли конкретного пациента помогают ей расти и выживать.

Иногда мы используем уже имеющиеся лекарства, которые эффективно воздействуют на соответствующие мишени или, по крайней мере, одобрены для использования в этих целях. Или разрабатываем новые. В дальнейшем мы будем говорить только о разработке новых лекарств, которая сама по себе требует генетического анализа. Ниже постараюсь ответить на вопрос: «Почему?».

Вот хороший пример, почему нельзя создавать новые лекарства от рака вне рамок персонализированной медицины. В США в 2004 г. попала в тюрьму одна из самых популярных женщин 1990-х гг. – Марта Стюарт, владелица огромной продуктовой империи и собственного телевизионного шоу. Причиной послужило появление нового лекарства от рака – *цетуксимаба*, моноклонального антитела, воздействующего на трансмембранный рецептор тирозинкиназу EGFR, играющий важную роль в стимуляции роста опухоли, метастазировании и т. д. Компания *ImClone* провела первые клинические испытания на разных группах пациентов без индивидуального подбора. Результаты оказались неоднозначны, и Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) лекарство не одобрило. Генеральный директор компании и некоторые другие акционеры, в числе которых была Стюарт, продали свои акции еще до объявления решения, что является серьезным уголовным преступлением.

Несколькими годами позже вышла статья, где цетуксимаб был испытан против *рака прямой кишки*. Оказалось, что если у опухолевых клеток была онкогенная мутация K-Ras, что бывает примерно в половине всех случаев, то лекарство вообще не работало. Но в остальных случаях оно было очень



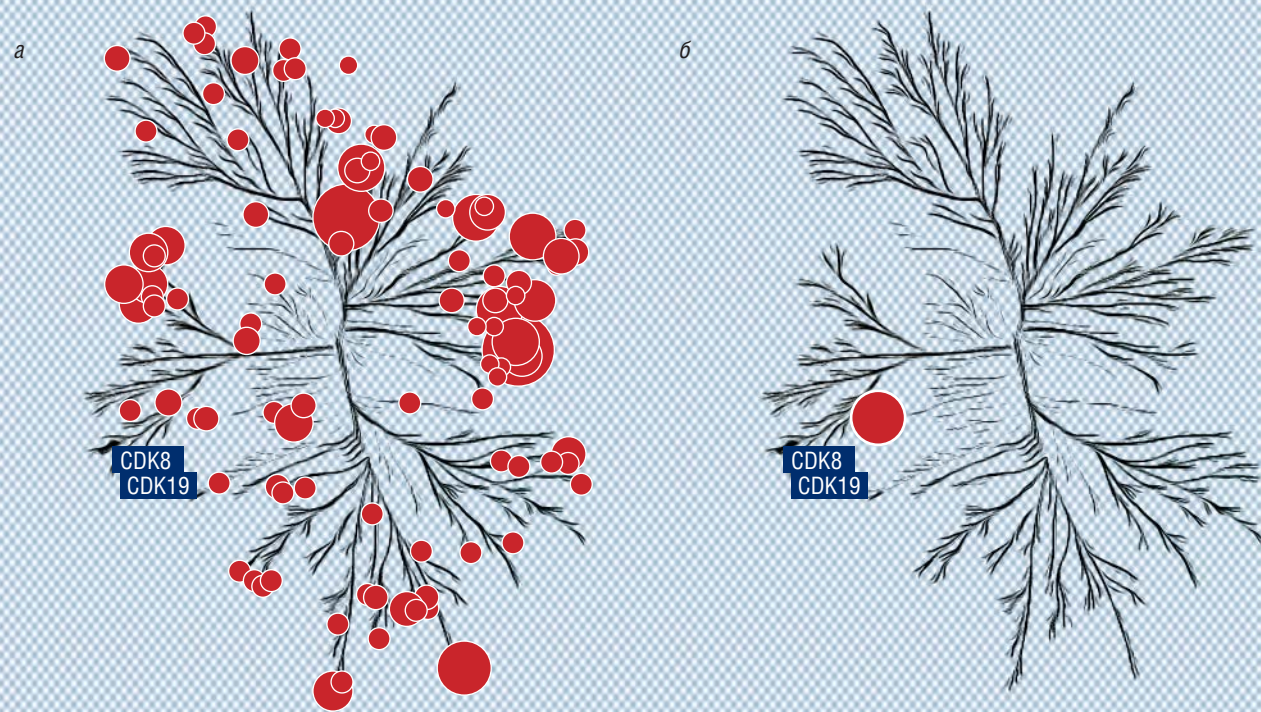
Игорь Ронинсон – студент биофака МГУ. 1970-е гг.

МОЙ ДЕД УМЕР ОТ РАКА

Я был в семье единственным ребенком. Мои мама и отец родились в Москве, куда их родители эмигрировали в начале прошлого века, оставив обширные семейные кланы в Украине и Белоруссии. Родителям повезло, так как одна оставшаяся часть нашей семьи была уничтожена в результате погрома в 1913 г., а другая – в 1941 г., во время Холокоста.

Я нежно любил моего дедушку по материнской линии, избежавшего погрома, и очень горевал, когда он умер от рака, – мне тогда было всего пять лет. Из-за русского названия этой болезни я представил себе страшного рака, который вытягивает жизнь из замечательных людей. Тогда уже я решил, что цель моей жизни – найти лекарство от этой болезни. К тому же моя мама получила докторскую степень по экспериментальной опухолевой патологии, и такие слова, как «рабдомиосаркома», были мне знакомы с детства.

Если бы не мой интерес к раку, я бы предпочел стать историком, а не биологом. Биология была моим самым нелюбимым предметом в школе и ассоциировалась с коллекционированием насекомых или сухих листьев. Но я принял как должное, что для моей цели изучение биологии необходимо, как, например, необходим визит к стоматологу.



На этой панели киназ – ферментов, регулирующих стабильность и активность многих белков, показано их блокирование с помощью химических ингибиторов транскрипции, вызванной повреждением ДНК. Лучший ингибитор (SNX14), полученный в результате высокопроизводительного скрининга, блокирует множество киназ (а). Ингибитор, полученный в результате химической модификации (SNX2-1-108), блокирует только две киназы – CDK8/19 (б). Именно эти ферменты участвуют в транскрипционном перепрограммировании поврежденных опухолевых клеток. Ингибированные киназы отмечены красным. (Porter *et al.*, 2012).

Опубликовано с разрешения PNAS

эффективным, и результаты исходных испытаний были бы совсем другими, если бы они проводились только на пациентах без мутации K-Ras. Это была первая демонстрация, что геномный анализ может быть ключом к успеху или провалу противоракового препарата.

Еще один пример относится к маленьким молекулам: сегодня мы можем синтезировать такие молекулы, способные очень селективно действовать на конкретный белок. В нашем случае это белок, который кодируется геном BRAF, – при меланоме кожи частота мутаций в этом гене составляет 30–70%. И создатели препарата *вемурафениб* предназначали его для больных именно с такой мутацией.

Поначалу результаты лечения *вемурафенибом* были потрясающие. Например, в течение 15 недель терапии у пациента с меланомой по всему телу удалось добиться почти полной ремиссии. Но спустя время опухоль вернулась. Почему? Потому что опухолевые клетки приобрели устойчивость к лекарству. И такая устойчивость, к сожалению, развивается практически у всех пациентов, которых лечат любыми таргетными препаратами, и у большинства больных, которых лечат конвенциональными препаратами.

Лекарственная устойчивость – в чем причина?

Как у раковых клеток появляется лекарственная устойчивость? Этот феномен связан с изменением экспрессии (активности) генов в клетках, поврежденных химио-, радио- или иммунотерапией. Другими словами, речь идет о перепрограммировании *транскрипции* – переносе генетической информации с ДНК на молекулу РНК.

С помощью методов транскриптомики мы обнаружили, что в поврежденных опухолевых клетках начинает активироваться множество генов, кодирующих белки, которые выходят из клетки и стимулируют рост и выживание других опухолевых клеток, способствуя появлению метастазов, а также формированию лекарственной устойчивости. Нам удалось обнаружить некие маленькие молекулы, которые подавляют этот процесс, разработав и применив систему физического высокопроизводительного скрининга, позволившую оценить более сотни тысяч различных химических соединений. В то время это была огромная работа – сейчас мы можем виртуально анализировать десятки миллионов

соединений при помощи новых компьютерных алгоритмов, что экономит время и уменьшает стоимость исследований.

По словам химиков, наши молекулы по структуре выглядели как ингибиторы *киназ* – ферментов, которые регулируют активность и стабильность огромного количества белков, исполняющих разные функции, в том числе участвующих в процессе транскрипции. Поэтому мы протестировали наши молекулы на большом (числом более 450) наборе этих ферментов, которые встречаются в организме человека. И оказалась, что наша самая лучшая молекула-ингибитор действительно «обезоруживает» огромное количество киназ.

Затем мы эту молекулу-«чемпионку» стали химически модифицировать. В какой-то момент оказалось, что ее активность при подавлении транскрипции, индуцированной повреждением ДНК, резко усилилась, а некоторые другие свойства исчезли. И когда мы протестировали эту модифицированную молекулу на той же самой панели киназ, то оказалось, что на этом мощном «древо» были ингибированы только два «цветка», соответствующих двум киназам (Porter *et al.*, 2012).

И вот здесь на сцену «с барабанным боем» выходит герой нашего романа – белок *CDK8* (*циклин-зависимая киназа 8*) и близко связанный с ним CDK19, которые были идентифицированы с помощью химической геномики. Оказалось, что именно эти белки являются мишенью, которую нужно ингибировать, чтобы воспрепятствовать «включению» в поврежденных клетках генов, связанных с формированием лекарственной устойчивости и метастазированием.

Белки CDK8 и CDK19 – практически «близнецы», они идентичны друг другу на 80%. Эти белки регулируют только транскрипцию и не имеют никакого отношения к регуляции клеточного цикла, как некоторые другие члены семейства циклин-зависимых киназ. Зато они взаимодействуют с рядом разных *транскрипционных факторов*, включая ассоциированные с раком (например, те же рецепторы эстрогена).

Но если вы спросите меня, что произойдет в любой клетке, если подавить в ней CDK8/19, то ответа не получите. Дело в том, что эффект этого ингибирования будет зависеть от контекста, то есть специфики клетки и ее генов. Ведь эти белки, как упоминалось выше, работают лишь в кооперации с другими факторами. Можно только сказать, что ингибирование мало повлияет на активность уже работающих генов. Но зато таким образом мы можем подавить активность генов, которые «проснулись» в клетке с помощью CDK8/19.

Но зачем нашему организму вообще нужны ферменты, регулирующие транскрипционное перепрограммирование? Чтобы ответить на этот вопрос, вспомним, когда у нас происходят изменения в программе транскрипции, – в процессе развития организма. Более

У меня в детстве, как и у многих, были герои, и некоторые из них – ученые. В их числе был легендарный советский вирусолог и иммунолог Лев Зильбер, который в 1937 г. открыл, что вирус сибирского энцефалита передается клещами. За это открытие он был «награжден» годами тюремного заключения в лагерях. Во время работы в лагерном диспансере Зильбер занимался, в меру своих возможностей, научными исследованиями. Он обнаружил, что некоторые опухоли у пойманных заключенными мышей содержали инфекционный агент, который проявлял канцерогенный эффект при пересадке другим особям. Это был вирус, как предполагал Зильбер, и обнаруживался он только в самых маленьких опухолях. В результате ученый сформулировал теорию, что рак может быть вызван вирусами, которые иницируют канцерогенез, но сами становятся неактивными в процессе роста опухоли. В 1940-х это была поразительно смелая концепция, далеко обогнавшая свое время.

В начале 1970-х я поступил на биофак МГУ, на специализацию по вирусологии. Учился я хорошо, но понимал, что у меня нет шансов устроиться на работу в хороший научно-исследовательский институт. Причина была простой. К примеру, мой молодой коллега, которому поручили возглавить новую лабораторию, как-то спросил меня: «Можешь ли ты порекомендовать своих хороших однокурсников, только, конечно, если они не евреи?», – нисколько не сомневаясь, что я должен принять это положение дел как естественное. Кстати, и моего отца по той же причине уволили из симфонического оркестра, где он работал.

Это стало последней каплей, которая убедила нашу семью после получения мною диплома предпринять рискованный шаг: просить разрешение на эмиграцию из СССР. В 1979 г., после двух лет мучительных ожиданий и длительного переезда, мы оказались в США. Так началась моя новая жизнь... В тот первый год в США после летней работы в Университете штата Мэриленд я познакомился с несколькими известными учеными, по чьим работам я учился в России. Это были нобелевские лауреаты Д. Натанс, Д. Балтимор, Ф. Шарп, С. Лурия и У. Гилберт, а также В. Ингрэм, первооткрыватель мутации серповидноклеточной анемии, который впоследствии стал научным руководителем моей диссертации, когда меня приняли в аспирантуру Массачусетского технологического института. Личные встречи с этими «живыми легендами» внушили мне уверенность, что и величайшие научные прорывы могут быть достигнуты простыми смертными

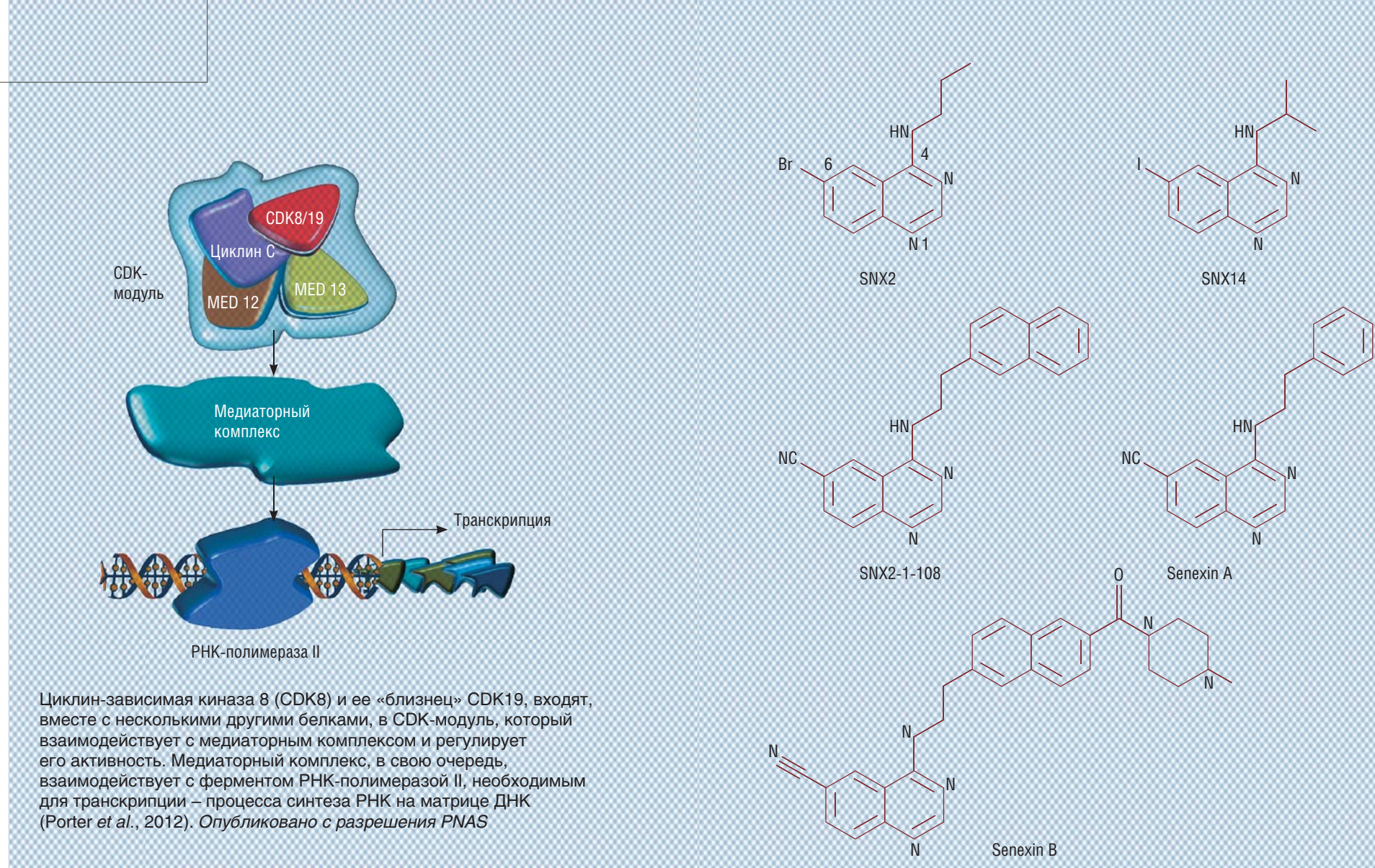
того, транскрипционное программирование играет в этом процессе критическую роль.

И действительно, если давать беременным мышам ингибитор CDK8/19, то развитие эмбрионов заблокируется. Когда же мы в течение 200 дней давали этот ингибитор взрослым мышам, то внешне с ними ничего не происходило, вес не менялся и т.д. Но когда тот же препарат давали животным, у которых был рак молочной или предстательной железы (в комбинации с гормональной терапией) либо в печени росли метастазы рака прямой кишки, то рост опухолей резко замедлялся.

К клиническим испытаниям

Мы протестировали большое количество уже известных противоопухолевых лекарств в комбинации с нашим ингибитором CDK8/19 и убедились, что таким образом практически всегда удается предотвратить возникновение лекарственной устойчивости или, по крайней мере, замедлить этот процесс. Дело осталось за малым: такие ингибиторы должны быть одобрены для практического применения. А для этого они должны работать как одиночные агенты, подавлять какие-то виды рака.

Чтобы обнаружить такие мишени, мы вновь обратились к геномике. Сейчас существуют специальные компьютерные программы, с помощью которых можно узнать, как активация конкретного гена отражается на выживании больного с определенным видом рака. С помощью одной из таких программ мы сделали подборку разных видов рака, для которых уровень CDK8/19 коррелирует с худшим прогнозом. В нее вошли, например, рак предстательной железы, рак шейки матки и аденокарциномы

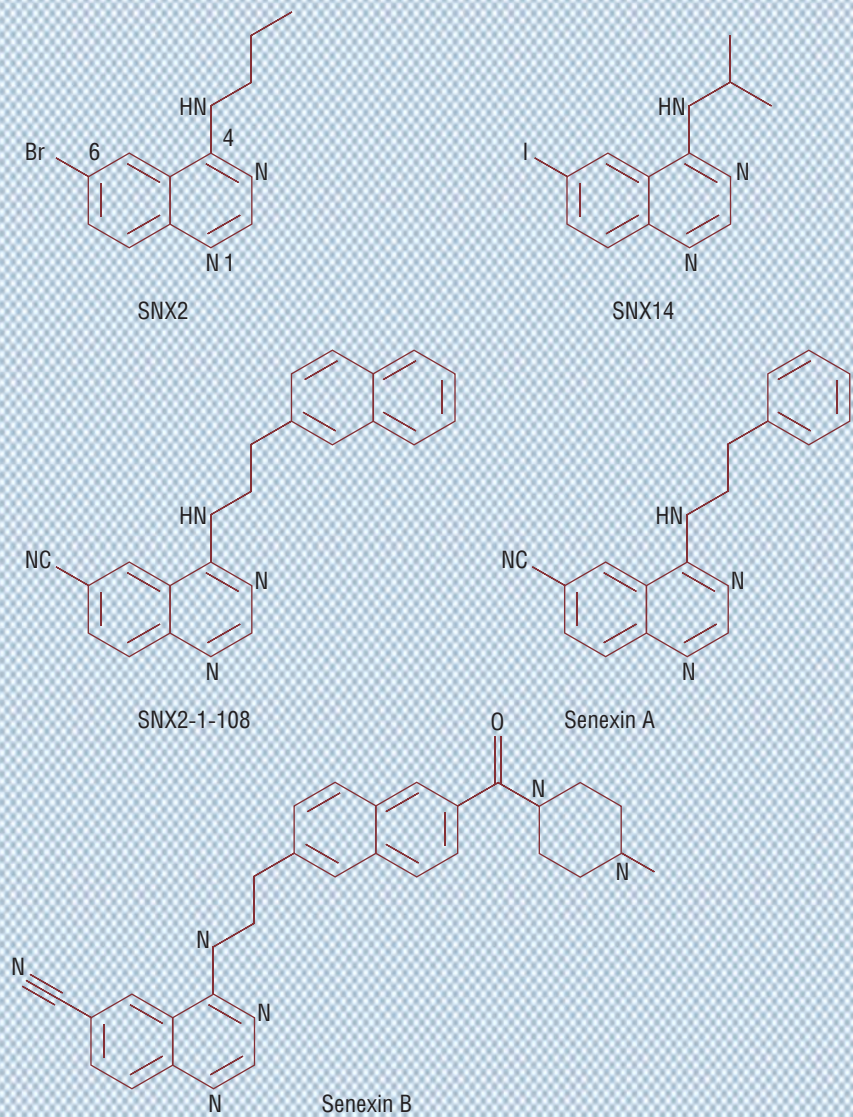


пищевода. Такие корреляции предполагают, что в этих случаях можно пользоваться нашими ингибиторами.

Показательная история связана с раками молочной железы и яичников. Мы получаем разные результаты, если разделяем этих больных на две группы: белые американцы и афроамериканцы. Среди белых CDK8/19 оказывает большой эффект при раке груди и очень слабый – при раке яичников. У афроамериканцев все с точностью наоборот. Это еще один наглядный пример, как важно для клинических испытаний предварительно проводить геномные исследования.

Мы сейчас сконцентрировались на двух видах рака. Первый – это *андроген-независимый рак предстательной железы* (андрогены – мужские гормоны). Как известно, общим методом лечения рака предстательной железы является антигормональная терапия. Когда рак развивается и прогрессирует, уровни CDK19 растут. К тому времени, когда опухоль приобретает независимость от андрогенов, он становится неизлечимым, и тогда же мы видим резкое увеличение экспрессии и CDK8, и CDK19.

В экспериментах на лабораторных мышах наш ингибитор CDK8/19, в комбинации с гормональной терапией, полностью подавлял рост опухоли, в которой был активен ген, кодирующий вариант андрогенового рецептора,



Серия ингибиторов CDK8/19, открытых с помощью высокопроизводительного скрининга с последующей химической модификацией: SNX2 – первая структура в серии, ингибирующая множество киназ; SNX14 – самая эффективная структура, ингибирующая большинство киназ; SNX2-108 – модифицированная структура, селективный ингибитор CDK8/19; Senexin A – модифицированная структура, селективный ингибитор CDK8/19 с биологической активностью. Senexin B – модифицированная структура, селективный ингибитор CDK8/19 и первый клинический кандидат на лекарство

к ингибитору CDK8/19, а другая часть – в чувствительных. Таким образом мы получили критерии, по которым можно судить, будут ли конкретные пациенты отвечать на наши лекарства.

Важно то, что острая миелоидная лейкемия относится к *орфанным*, то есть редким, заболеваниям, исследования которых и разработку соответствующих лекарств в США поддерживает государство. Это означает, что мы можем получить одобрение на наше лекарство гораздо быстрее, чем если бы речь шла о лечении широко распространенных заболеваний.

Раковые клетки, конечно, могут приобрести устойчивость к нашим ингибиторам транскрипционного перепрограммирования. Самым чувствительным к ним видом рака оказалась лейкемия. Поэтому мы провели селекцию, получив лекарственно устойчивые клетки лейкемии, и обнаружили некоторые вещи (пока не опубликованные), которые подсказывают нам, что нужно делать в таких случаях. То есть в принципе у нас уже есть обходная стратегия.

из-за которого этот рак становится устойчивым ко всем видам современного лечения. Животные при этом не теряли в весе и жили гораздо дольше.

Второй вид рака – это *лейкемия*, болезнь кровяной системы, в первую очередь *острая миелоидная лейкемия*. Это – единственный известный на сегодня рак, рост которого во многих случаях подавляется ингибиторами CDK8/19 не только у животных, но и в культуре ткани человека. Чтобы узнать, насколько хорошо пациенты будут реагировать на наше лекарство, мы вводили мышам раковые клетки, помеченные ферментом *люциферазой*, катализирующим реакцию, сопровождаемую биолюминесценцией. Оказалось, что у контрольных животных лейкемия распространяется по всему телу через шесть недель, а у животных, которые получали ингибитор CDK8/19, она почти не распространяется.

Мы протестировали большое количество образцов опухолевых клеток, взятых от больных лейкемией, и обнаружили, что около 40% из них высокочувствительны к ингибитору CDK8/19. Таким образом, если мы хотим начать лечение пациентов с лейкемией, нам в первую очередь нужно определить, для кого из них такая терапия будет эффективна. С помощью методов геномики и транскриптомики мы обнаружили несколько генов, часть которых наиболее активна в опухолевых клетках, устойчивых

НА ПУТИ К «СТАРОСТИ» РАКОВЫЕ КЛЕТКИ ДАЮТ ОПУХОЛИ НОВУЮ ЖИЗНЬ

Вся моя работа в области исследования рака проходила определенные фазы. Какое-то время я изучал один белок, потом много разных белков, потом снова один белок... Первый – белок MDR 1, который мы открыли в середине 1980-х гг., отвечает за важный механизм множественной устойчивости к лекарствам. Мы тогда спросили себя, почему опухолевые клетки, у которых обычно нет этого белка, вдруг начинают его интенсивно производить? И оказалось, что когда мы повреждаем эти клетки теми или иными лекарствами, то по крайней мере в некоторых из них активируется транскрипция соответствующего гена: на матрице ДНК идет синтез молекул РНК, по которым уже синтезируется сам этот белок.

Мы обнаружили это в начале 1990-х гг., и я много думал о том, как можно помешать этой индукции. Так и не найдя ответа, я переключился на другие вещи. Но в какой-то момент мы обнаружили, что химиотерапия и радиация вызывают в опухолевых клетках некоторый биологический ответ, который, как в то время думали, в них происходить не может. Речь идет о клеточном старении, биологической программе, согласно которой клетки перестают делиться, и с ними происходит ряд изменений. И оказалось, что многие клетки, которые не умирают в результате обработки большим количеством лекарств разных типов, входят в такое состояние.

Что это означает для раковых клеток? То, что клетки не делятся, это хорошо – опухоль не будет расти. На тот

момент, конец 1990-х гг., только-только начали использовать технологии транскриптомики, и мы решили померить геновую продукцию в таких «постаревших» клетках. Выяснилось, что часть генов в них подавляется, а часть, напротив, индуцируется. Первую группу составляли гены, связанные с пролиферацией (делением) клеток, что неудивительно, так как эти клетки не делились. А вот вторая группа представляла большой интерес. Многие из этих генов были ассоциированы с раком, а другие кодировали белки, которые могли воздействовать как на свою клетку, так и на соседние, помогая опухоли выживать, расти и метастазировать. Кроме того, мы обнаружили в этой группе много генов, которые были связаны с болезнями старения (Альцгеймера, артритом и др.).

Так как этот необычный ответ, по-видимому, вызывался повреждением ДНК, мы провели транскриптомный анализ на поврежденных клетках – еще до того, как они стали «старыми». И увидели, что во всех этих клетках активно идет перепрограммирование транскрипции. А в «старых» клетках все эти изменения в экспрессии генов уже как бы «заморожены», и они максимальны.

Еще мы обнаружили, что есть некий центральный ингибитор этого эффекта на транскрипцию – белок p21, который

Действие SNX631 – ингибитора CDK8/19, было проверено на лабораторных мышах с лейкемией. При непрерывном введении с пищей ингибитор практически полностью подавлял развитие болезни, что хорошо заметно благодаря использованию биолюминесцентной визуализации

не дает клеткам делиться в ответ на повреждение. Если p21 активировать сам по себе, мы увидим все те же изменения транскрипции, как и в поврежденных клетках. И механизм этого явления был совершенно не понятен, так как в то время никто не знал, какое отношение к транскрипции имеет этот белок. Знали только, что он связывается с разными циклин-зависимыми киназами, регуляторами клеточного деления

Я решил, что нужно найти ингибиторы, которые снимают влияние белка p21 на транскрипцию. Чтобы с их помощью понять, каким образом повреждение ДНК вообще и p21 в частности индуцируют транскрипционное перепрограммирование. Для этих целей я и создал компанию Senex. На основе p21 мы разработали систему высокопроизводительного скрининга, которая вывела нас на киназы CDK8/19. Мы нашли очень селективные ингибиторы против них и работаем с ними последние 9–10 лет. Кстати, выяснилось, что сам белок p21 стимулирует эти киназы, а они уже отвечают за транскрипционное перепрограммирование

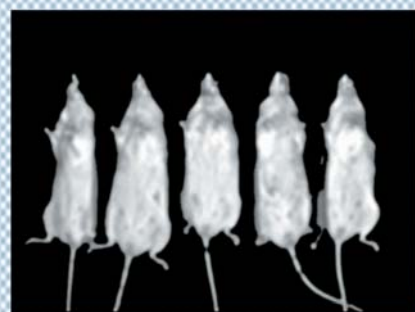
В любом случае устойчивость к этим ингибиторам возникает гораздо позднее, чем к другим лекарствам, потому что они сами подавляют ее развитие. Кроме того, при терапии рака никогда не используется одно лекарство, обычно их смесь. И если мы докажем, что в случае с конкретным раком (той же лейкемией) это лекарство существенно улучшает выживаемость пациентов, то его быстро одобряют для практического применения. А это означает, что его можно будет тестировать в комбинации с другими противораковыми средствами. И в этом случае мы ожидаем увеличение эффективности терапии.

Нужно отметить еще одну важную вещь: в некоторых случаях (например, при раке прямой кишки) наше лекарство действует селективно на метастатические опухоли, что совершенно уникально. Почему? Потому, что метастазы образуются там, где эти клетки расти не должны и им нужно приспособиться к этой «неправильной» ситуации, к стрессовым условиям. А приспособляются они как раз через транскрипционное перепрограммирование, «пробуждение» новых генов.

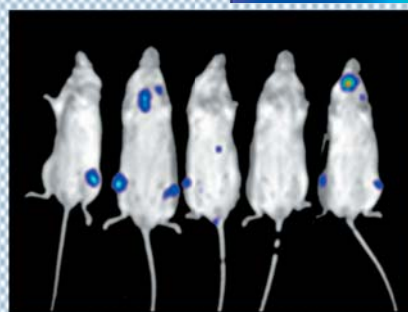
Созданием CDK8/19-ингибиторов занимается наша американская компания Senex в тесном сотрудничестве с российской компанией «Биокад» (BIOCAD, Санкт-Петербург), и эта коллаборация много значила для того прогресса, которого нам удалось достичь.

На поиск первых молекул, которые подавляли транскрипционное перепрограммирование, Senex потребовалось около шести лет. «Биокад» провел клинические испытания с первым лекарством-кандидатом, которое мы разработали уже в сотрудничестве с российскими учеными. Затем мы его доработали и через год-два планируем провести клинические испытания этой улучшенной версии. И я надеюсь, что к тому времени, когда нам удастся получить одобрение нашего лекарства и его можно будет использовать в комбинации с другими противораковыми лекарствами, таргетная терапия обретет новое дыхание.

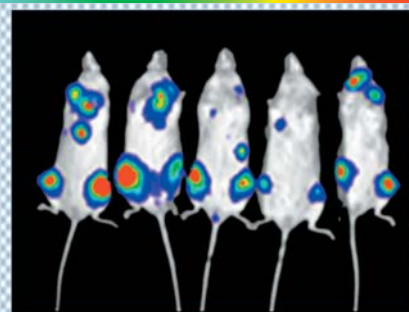
min max



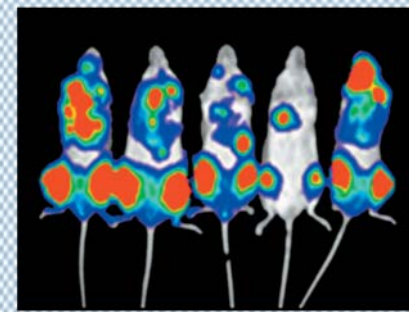
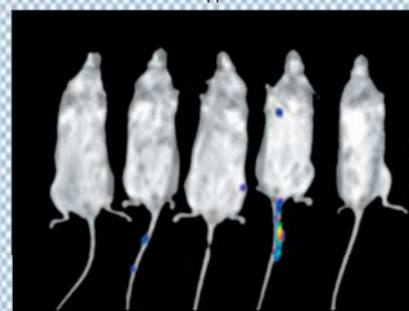
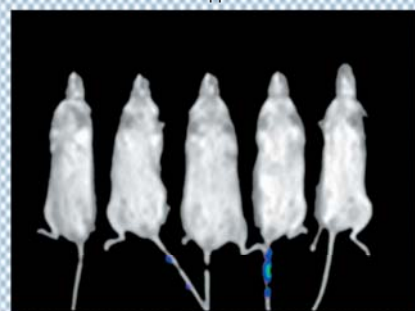
1 неделя



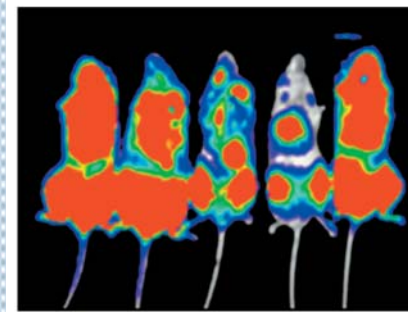
2 неделя



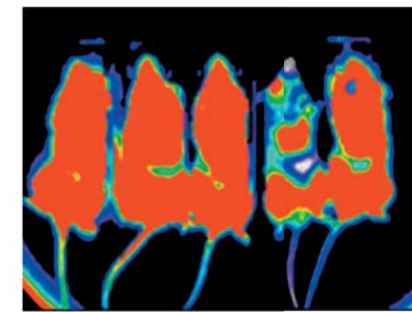
3 неделя



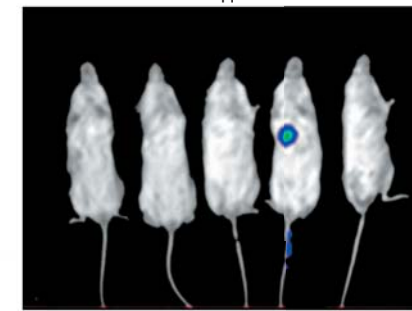
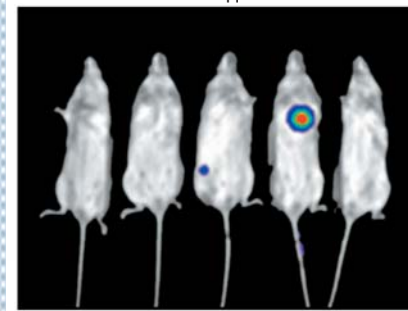
4 неделя



5 неделя



6 неделя



Редакция журнала обратилась к Александру Альбертовичу Штилю, руководителю лаборатории механизмов гибели опухолевых клеток НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, чтобы он рассказал о проблематике и месте, которое исследования транскрипционного программирования занимают в ряду работ по изучению молекулярной природы злокачественных новообразований и создания противоопухолевых лекарств. А.А. Штиль сотрудничает с И.Б. Ронинсоном с 1990-х гг., а в 2018 г. они организовали лабораторию молекулярной онкобиологии в Институте биологии гена Российской академии наук для выполнения мегагранта «Программирование транскрипции генов, опосредованное CDK8: биологические механизмы для медицины»

НОВЫЕ НАДЕЖДЫ В ОНКОЛОГИИ

Вряд ли можно назвать более сложную, противоречивую и многогранную область медицины, чем онкология. Сегодня и всегда рак представлял проблему для врачей и биологов, химиков и физиков, психологов и социологов. Среди болезней, и самых тяжелых это – нечто особенное; ничто не звучит так серьезно и тревожно. В этой области смыкаются глубокие интеллектуальные усилия с самоотверженными действиями, всеобщим терпением и надеждой... Действительно, в XX в. благодаря открытию противомикробных лекарств эпидемии отступили – можно ли ожидать, что подобная революция произойдет и в борьбе с раком?

Химия и биотехнология предлагают бесчисленное количество активных соединений, губительных для опухолевых клеток и, так или иначе, щадящих неопухолевые. В культуре клеток проблема в целом решается, но уже в организме мыши – сложнее: требуется вылечить экспериментальную опухоль, не убив ее «носителя». Снижаешь дозу препарата – переносимость улучшается, но и опухоль выживает – она «устроена» близко к норме. С микробами проще: они совсем не похожи на свои жертвы, и придумать противомикробное лекарство, не повреждающее ткани млекопитающих, задача выполнимая. Но в онкологии это не так... Или в опухолевых клетках все-таки можно найти нечто необходимое для них, но не столь важное для нормальных клеток, и использовать эту особенность для создания не общетоксичного, а прицельного противоопухолевого лекарства?

Такой подход – таргетный (от target – мишень) – получил развитие в последние 25 лет благодаря необычайно быстрому накоплению знаний о живой материи. Для расшифровки молекулярного устройства жизни опухолевые клетки – лучший объект. Оказывается, что механизм, существующий и в неопухолевой клетке наряду с другими, при злокачественной клеточной трансформации становится столь необходимым опухоли, что его подавление приводит к ее гибели при минимальном повреждении нормальных клеток.

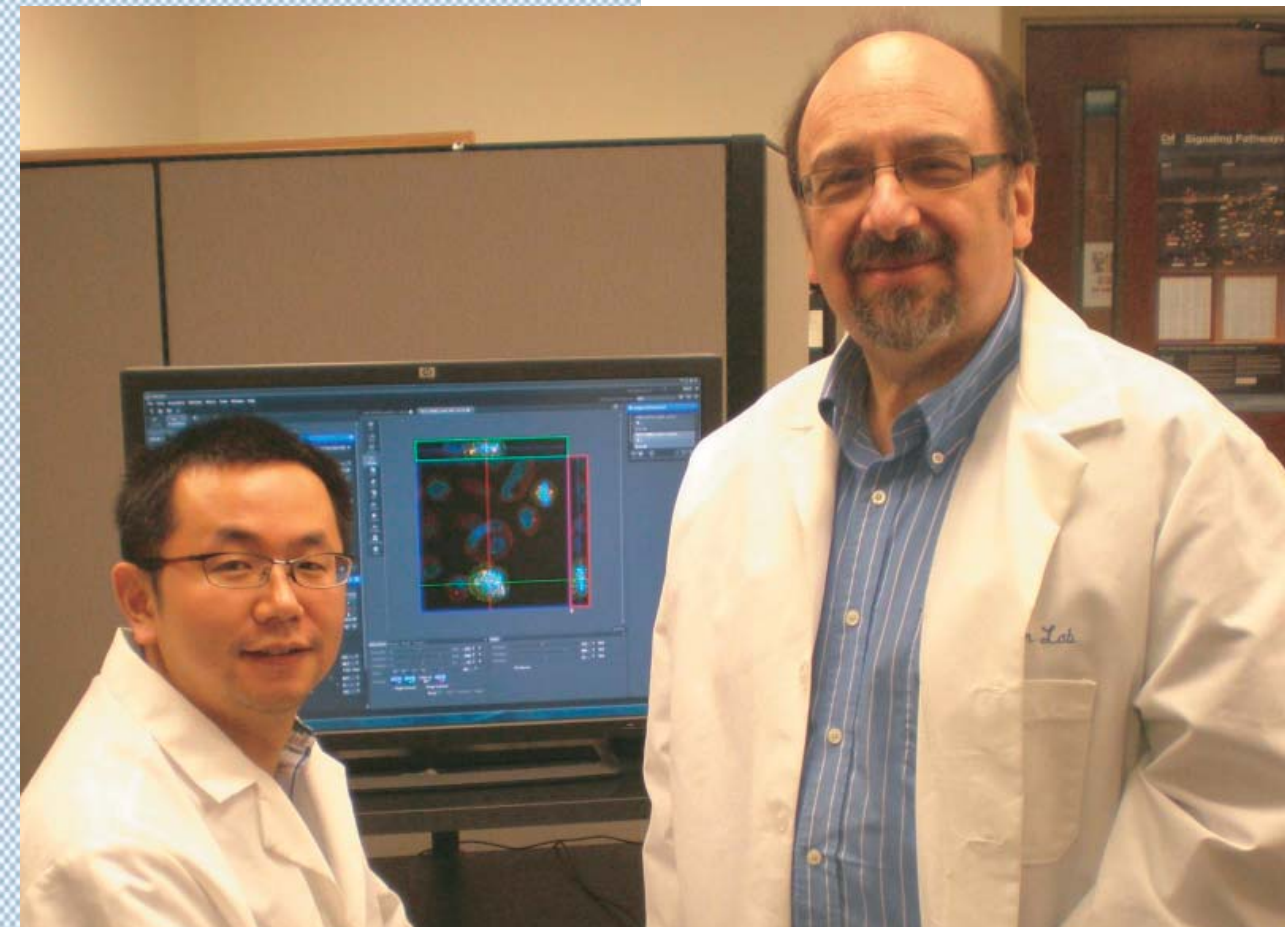
Гливек – ингибитор протеинкиназы Abl, обеспечивающей выживание опухолевым миелоцитам, – пример успешности мишень-направленной стратегии. Ингибиторы Abl полностью изменили ситуацию с хроническим миелоидным лейкозом – фатальным заболеванием системы крови. Увеличилась продолжительность жизни больных,

несопоставимым стало качество жизни: эти лекарства хорошо переносятся, таблетки можно принимать месяцами и годами. Так молекулярная биология нашла особенность, определяющую биологическую сущность болезни, – пока для отдельных видов опухолей.

Однако это лишь начало пути. Лекарства действуют, больные живут дольше, а опухолевые клетки борются за свое выживание. Чем точнее наш инструмент воздействия на молекулярную мишень, тем больше остается у опухоли обходных путей – она умело использует биологическую сложность строения живого и функциональную взаимозаменяемость механизмов... Но в таком случае мы должны подавить не один, а несколько таких механизмов, и притом тех, без которых нормальная клетка обойдется: нельзя повышать риск общей токсичности.

Продолжение поиска приводит к наиболее общим проблемам устройства клетки – транскрипции генов. Действительно, с нее все начинается – но разве она в опухолевых и неопухолевых клетках не одинакова? И снова молекулярная наука открывает новые возможности: близкие по структуре и функциям протеинкиназы CDK8 и CDK19 жизненно важны в особых ситуациях и вовсе не важны в других. Без этих киназ не обходятся клетки, в которых активируется транскрипция в ответ на внешние стимулы. Но не все клетки и не при любых стимулах: вновь общебиологические механизмы по-разному работают в каждом случае. Открытые в лаборатории Игоря Ронинсона сенексины – ингибиторы CDK8/19 – предотвращают рост отсевов рака прямой кишки в печени, но на интенсивность метастазирования не влияют – схожие процессы регулируются по-разному. А вот острый миелоидный лейкоз и отдельные формы рака предстательной железы оказываются «болезнями CDK8». Такая избирательность позволяет поставить вопрос о персонализированном лечении: сенексины показаны в конкретных клинических случаях.

Устойчивость опухолей к лекарствам – проблема, сопровождающая научный путь И. Ронинсона с первых шагов, от открытия структуры гена множественной лекарственной устойчивости. Логика исследований привела его к совершенно иному механизму – своеобразной регуляции транскрипции генов в становлении устойчивости в ответ на противоопухолевые лекарства. В экспериментах удается предотвратить развитие устойчивости к современным



препаратам и усилить их действие на опухолевые клетки. Сенексины получают новый объект, а онкология – новые надежды.

Но нельзя обольщаться: отменить жесткую химиотерапию вряд ли возможно, но прицельное «перепрограммирование» болезни расширит возможности помощи больным.

Я счастлив, что исследования И. Ронинсона пришли в Россию. Начата крупная работа с компанией «Биокад» и Институтом биологии гена РАН. Проект по-ронинсоновски масштабный, полифоничен. Как во всякой классической симфонии, три самостоятельные части образуют единство: биология развития, генетика и физиология клетки. Лейтмотив – роль особенного механизма транскрипции генов и возможности его подавления для лечения опухолей. У дирижера международный сводный оркестр, большой состав. Зал замер...

Д.м.н. А.А. Штиль (Москва)

Игорь Борисович Ронинсон с коллегой Мэнцзянь Чэном в лаборатории Университета Южной Каролины (США)

Литература

Chen M., Liang J., Ji H. et al. Cdk8/19 Mediator Kinases Potentiate Induction of Transcription by Nfκappab // Proc Natl Acad Sci USA. 2017. V. 114. N. 38. P. 10208–10213.

Liang J., Chen M., Hughes D. et al. Cdk8 Selectively Promotes the Growth of Colon Cancer Metastases in the Liver by Regulating Gene Expression of Timp3 and Matrix Metalloproteinases // Cancer Res. 2018. V. 78. N. 23. P. 6594–6606.

McDermott M.S., Chumanovich A.A., Lim C.U. et al. Inhibition of CDK8 mediator kinase suppresses estrogen dependent transcription and the growth of estrogen receptor positive breast cancer // Oncotarget. 2017. V. 8(8) P. 12558–12570.

Porter D.C., Farmaki E., Altiglia S. et al. Cyclin-dependent kinase 8 mediates chemotherapy-induced tumor-promoting paracrine activities // Proc Natl Acad Sci USA. 2012. V. 109. N. 34. P. 13799–13804.

Roninson I. Seeking favors from nature // Journal Cancer Biology & Therapy. 2005. V. 4. N. 7. P. 794–799.