

ISSN 2782-3806
ISSN 2782-3814 (Online)
УДК 616.37-006.6

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И ПУТИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

**Солоницын Е. Г., Сейфединова С. Ш., Калинина О. В.,
Фрейлихман О. А.**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научный центр мирового уровня «Центр персонализированной медицины», Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Солоницын Евгений Геннадьевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава
России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия,
197341.
E-mail: sevgen@mail.ru

Статья поступила в редакцию 06.04.2023
и принята к печати 10.05.2023.

РЕЗЮМЕ

Рак поджелудочной железы (РПЖ) является агрессивным заболеванием с высоким уровнем летальности, нуждающимся в новых диагностических и терапевтических подходах. В последние годы, ввиду развития молекулярно-генетических методов, появилось большое количество данных о генетических и эпигенетических изменениях, происходящих при РПЖ, определен ландшафт данного заболевания. Также прояснились генетические факторы, лежащие в основе многоступенчатого онкогенеза в предраковых новообразованиях поджелудочной железы. Данный обзор освещает пути канцерогенеза в поджелудочной железе, а также молекулярно-генетические процессы, лежащие в его основе.

Ключевые слова: кисты поджелудочной железы, рак поджелудочной железы.

Для цитирования: Солоницын Е.Г., Сейфединова С.Ш., Калинина О.В., Фрейлихман О.А. Молекулярно-генетические основы и пути канцерогенеза в поджелудочной железе. *Российский журнал персонализированной медицины.* 2023;3(3):91-98. DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-3-91-98.

MOLECULAR GENETIC BASES AND PATHWAYS OF CARCINOGENESIS IN THE PANCREAS

Solonitsyn E. G., Seyfedinova S. Sh., Kalinina O. V., Freylikhman O. A.

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Russia

Corresponding author:

Solonitsyn Evgeny G.,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: sevgen@mail.ru

Received 06 April 2023; accepted 10 May 2023.

ABSTRACT

Pancreatic cancer is a highly aggressive disease with a high mortality rate in need of innovative diagnostic and therapeutic approaches. In recent years, due to the development of molecular genetic methods a large amount of data has appeared on the genetic and epigenetic alterations that occur in pancreatic cancer, and the genetic landscape of this disease has been determined. Additionally, the genetic factors underlying the multistep carcinogenesis in precursor lesions of the pancreas have been clarified. This review highlights the pathways of carcinogenesis in the pancreas, as well as the molecular genetic processes underlying it.

Key words: pancreatic cancer, pancreatic cysts.

For citation: Solonitsyn EG, Seyfedinova SSh, Kalinina OV, Freylikhman OA. Molecular genetic bases and pathways of carcinogenesis in the pancreas. Russian Journal for Personalized Medicine. 2023;3(3):91-98. (In Russ.) DOI: 10.18705/2782-3806-2023-3-3-91-98.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Большая часть злокачественных опухолей поджелудочной железы представлена протоковой аденокарциномой, которая является одним из самых летальных видов злокачественных новообразований поджелудочной железы (ПЖ). 90 % протоко-

вых аденокарцином диагностируются на поздней стадии после того, как они распространились за пределы поджелудочной железы, при этом системные метастазы обнаруживаются более чем в 50 %.

Рак поджелудочной железы (РПЖ) возникает из-за неинвазивных предраковых поражений, которые излечимы при достаточно раннем обнаруже-

нии и лечении. Предраковые новообразования поджелудочной железы невероятно распространены, и их распространенность увеличивается с возрастом. В настоящее время актуальны три основных пути канцерогенеза в поджелудочной железе: из интраэпителиальных неоплазий (PanINs) и кистозных неоплазий: внутрипротоковых папиллярных муцинозных неоплазий (IPMN) и муцинозных кистозных неоплазий (MCN).

Объем данных о происходящих при РПЖ генетических изменениях, доступный для изучения благодаря секвенированию нового поколения, дает обширную информацию, позволяющую дополнять и переосмысливать представления о канцерогенезе опухолей ПЖ. Такие исследования позволяют более точно описать геномный ландшафт этого заболевания и молекулярные изменения, лежащие в основе многоступенчатого онкогенеза в предраковых поражениях. В то же время большое количество информации порождает рост противоречий во взглядах на этот сложный и многостадийный процесс.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ РАКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Наиболее частыми генетическими изменениями при раке ПЖ являются соматические мутации и мутации в генах-супрессорах опухолей. Ключевая роль отводится четырем драйверным генам: *KRAS* (~ 90 %), *TP53* (50–74 %), *CDKN2A* (46–60 %) и *SMAD4* (31–38 %) [3], которые модулируют инициацию и прогрессирование опухоли. При этом процессу свойственно постепенное, ступенчатое прогрессирование, отмеченное предсказуемыми последовательными изменениями этих генов-драйверов.

Приблизительно 90 % случаев рака ПЖ независимо от стадии имеют активирующие различные онкогенные мутации *KRAS* [4]. Мутации гена *KRAS* приводят к активации сигнальных путей (RAS-RAF и PI3K-AKT), регулирующих клеточный цикл, и, тем самым, к различным функциональным последствиям.

Тем не менее, мутации *KRAS*, являясь необходимыми, недостаточны для развития рака ПЖ. Другие гены, в том числе *TP53*, *CDKN2A* и *SMAD4*, также часто участвуют в онкогенезе и метастазировании рака ПЖ. Инактивация *TP53*, встречающаяся в 50–74 % случаев рака ПЖ, нарушает распознавание повреждений ДНК и блокирует остановку клеточного цикла, позволяя клеткам обходить контрольные точки клеточного цикла и уклоняться от апоптотических сигналов [5]. Мутации в *CDKN2A*, которые могут привести к нарушению регуля-

ции циклин-зависимыми киназами (CDK) *CDK4* и *CDK6* контрольных точек клеточного цикла и, таким образом, к нарушению регуляции клеточного цикла в целом с последующим канцерогенезом, обнаруживаются примерно в 46–60 % случаев рака ПЖ. Кроме того, ~ 31–38 % случаев рака поджелудочной железы имеют мутации в *SMAD4*, которые могут возникать на поздних стадиях канцерогенеза поджелудочной железы. Частая потеря *SMAD4* в результате гомозиготной делеции или мутации приводит к снижению зависимого от *SMAD4* ингибирования трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) и стимуляции неканонической передачи сигналов TGF- β , тем самым способствуя проонкогенным ответам.

В дополнение к соматическим мутациям расширение геномного анализа РПЖ, включающее секвенирование всего генома, также каталогизировало большие **хромосомные изменения**, включая проявления хромосомной нестабильности, такие как изменения числа копий, хромосомные перестройки и хромотрипсис [4]. Хромосомная нестабильность — процесс, вызывающий большинство делеций опухоли. Однако несколько процентов аденокарцином поджелудочной железы не имеют значительных грубых хромосомных изменений, но обладают микросателлитной нестабильностью, так как у них есть дефекты репарации ДНК, что приводит к высокой частоте мутаций в локусах, содержащих микросателлиты. Паттерн генетического повреждения при этих карциномах значительно отличается от паттерна при карциномах с хромосомной нестабильностью.

Хотя наиболее широко охарактеризованы изменения в последовательности ДНК, не меньшую роль в канцерогенезе аденокарциномы ПЖ играют **эпигенетические изменения**. Основными механизмами эпигенетического влияния являются:

а) метилирование ДНК — могут наследственно модулировать структуру хроматина и экспрессию генов. Эпигенетическая инактивация посредством метилирования ДНК часто идентифицируется для гена-супрессора опухоли *CDKN2A*, но как механизм инактивации для других драйверов РПЖ, таких как *TP53* и *SMAD4*, она не характерна.

б) посттрансляционные модификации гистонов — исследования образцов вскрытия человека показали глобальные изменения состояния гистонов в метастазах по сравнению с первичными опухолями, что позволяет предположить, что эпигенетические изменения могут играть роль в развитии метастазов. О таких эпигенетических изменениях также сообщалось при предраковых поражениях PanIN и IPMN.

в) расположение нуклеосом на ДНК, а также изменения конфигурации ДНК в ходе канцерогенеза рака ПЖ позволяют осуществлять координацию различных эпигенетических путей с высокой пространственно-временной точностью. ДНК, обернутая вокруг гистоновых октамеров, снижает ее доступность и динамику и препятствует взаимодействию с другими молекулами, предопределяя характер взаимодействия с транскрипционными факторами (ТФ). Перераспределение нуклеосом широко распространено на ранней стадии прогрессирования аденокарциномы ПЖ и усиливает связывание фактора хроматина, в связи с чем существуют предпосылки использования этого показателя как раннего маркера.

г) образование и функционирование некодирующих РНК — представлены различными группами РНК (длинные некодирующие РНК, малые некодирующие РНК, малые интерферирующие РНК), которые вовлечены в ключевые процессы регуляции экспрессии генов и проявляют себя как онкогены или онкосупрессоры наравне с кодирующими белок генами. Наиболее изученными являются микро-РНК, роль которых доказана в регуляции экспрессии генов в большинстве клеток, в активации и деактивации различных сигнальных путей, отвечающих в злокачественных новообразованиях за процессы онкогенеза, инвазии и метастазирования. В тканях опухолей ПЖ по сравнению с тканями нормальной ПЖ изменена экспрессия целого ряда микро-РНК (miR): так, например, уровни miR-21, miR-155 и miR-205 выше в опухолях по сравнению с нормальной тканью, и, с другой стороны, let-7b, miR-146a и miR-185 стабильно ниже в образцах опухолей пациентов по сравнению с нормальными тканями ПЖ [6].

ПУТИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ

Большинство РПЖ возникают из микроскопической интраэпителиальной неоплазии поджелудочной железы (PanIN), новообразования, затрагивающего протоки поджелудочной железы, которые по определению < 5 мм. Меньшая доля РПЖ возникает из-за внутрипротоковых папиллярно-муцинозных новообразований (IPMN), макрокистозных поражений, которые поражают систему протоков поджелудочной железы [7]. Наименее распространенное предраковое новообразование, муцинозное кистозное новообразование, отличается клинически и патологоанатомически.

Интраэпителиальная неоплазия поджелудочной железы (PanIN) — неинвазивная микро-

скопическая неоплазия (< 5 мм) в протоках поджелудочной железы. На основании архитектурной и цитологической атипии в PanIN выделяют дисплазию низкой и высокой степени (low-, high-grade). PanIN low-grade имеют высокую распространенность, преимущественно у людей старше 50 лет, и в большинстве случаев не приводят к злокачественной трансформации. PanIN high-grade встречаются редко и, как правило, обнаруживаются в поджелудочной железе при инвазивном раке ПЖ.

Активирующие мутации в KRAS присутствуют почти во всех поражениях PanIN low-grade, что делает его предположительно первым драйверным геном, мутировавшим при канцерогенезе аденокарциномы ПЖ. Инактивирующие мутации в CDKN2A чаще наблюдаются при тяжелой дисплазии и, по данным полногеномного секвенирования поражений PanIN, могут способствовать переходу к дисплазии высокой степени. Мутации в SMAD4 и TP53, как правило, возникают поздно и преимущественно способствуют инвазии [8].

Внутрипротоковая папиллярная муцинозная неоплазия (IPMN) — неоплазия, возникающая из протоков поджелудочной железы, отличается формированием истинных сосочковых структур, выстланных протоковым эпителием с интраэпителиальными изменениями; диаметр кист более 5 мм.

В IPMN также выделяют дисплазию низкой и высокой степени (low-, high-grade). При стратификации по степени дисплазии предраковые поражения низкой степени встречаются гораздо чаще, тогда как поражения высокой степени, в основном, обнаруживаются в поджелудочной железе, связанной с РПЖ, что подчеркивает корреляцию морфологической степени дисплазии с риском трансформации в инвазивную карциному.

Генетические изменения, отвечающие за формирование IPMN, перекрываются с таковыми в PanIN, с одним существенным отличием — IPMN часто содержат активирующие мутации в онкогене GNAS и инактивирующие мутации в гене- супрессоре RNF 43 [9]. Учитывая редкую встречаемость GNAS мутаций, их можно считать специфическими для IPMN.

Изменения в TP53 и SMAD4 обычно ограничиваются IPMN high-grade и ассоциированным с ними инвазивным раком (20–40 %), указывая на их роль в злокачественной прогрессии.

Несмотря на неоспоримую роль IPMN в канцерогенезе РПЖ, последние геномные данные свидетельствуют о том, что IPMN больше не следует рассматривать как отдельное местно-регионарное заболевание, а скорее, как комплексное поражение

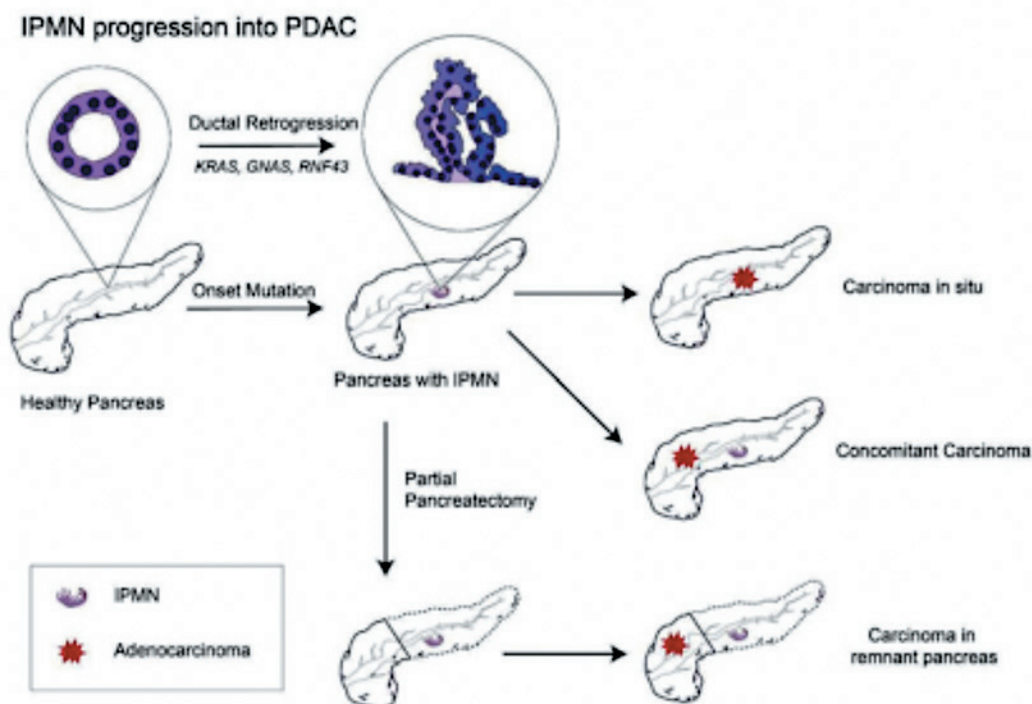


Рис. 1. Три пути трансформации IPMN в РПЖ: развитие карциномы непосредственно из IPMN; конкомитантная карцинома, развившаяся в ПЖ одновременно с IPMN, но не из нее; карцинома, возникшая после частичной панкреатэктомии в резидуальной ПЖ [12]

с генетической гетерогенностью, вызывающее канцерогенез всей поджелудочной железы. Фельзенштейн и соавторы исследовали с помощью целенаправленного NGS образцы поджелудочной железы пациентов, содержащие IPMN и аденокарциномы одновременно, и выяснили, что 18 % аденокарцином фактически не зависели от одновременного IPMN [10].

Риск рака может значительно снизиться после резекции поджелудочной железы с IPMN, но он продолжает существовать в оставшейся части поджелудочной железы (с 10-летней заболеваемостью раком поджелудочной железы 21,2 % [11]). Таким образом, можно предположить, что IPMN является признаком того, что вся поджелудочная железа подвергается необратимому процессу канцерогенеза. При дальнейших исследованиях были предложены три пути канцерогенеза из IPMN, представленные на рисунке 1; частота каждого из них составляет около 1/3.

Муцинозные кистозные неоплазии (MCN) являются наиболее редкими предраковыми неоплазиями поджелудочной железы — 1 % от всех неоплазий ПЖ. MCN представляют собой кисты,

выстланные муцинпродуцирующим эпителием с наличием субэпителиальной стромы овариального типа, и также делятся на опухоли с низкой и высокой степенью дисплазии (low-, high-grade) в эпителии.

Молекулярные изменения в MCN схожи с таковыми при IPMN, однако, в отличие от IPMN, MCN обычно не содержат изменений GNAS. Мутации KRAS встречаются с общей распространенностью 21–46 % [13] и считаются ранним явлением, частота которого увеличивается с ростом степени дисплазии. Генетические изменения накапливаются с прогрессированием степени дисплазии, а инвазивные карциномы, связанные с поражением MCN, могут приобретать все распространенные изменения генов-драйверов (KRAS, TP53, CDKN2A, SMAD4). Кроме того, в кистозной жидкости MCN описаны мутации RNF4.

Каждый из предшественников аденокарциномы протоков поджелудочной железы (PanIN, IPMN и MCN) определяется уникальным ландшафтом генетических изменений, имея при этом общие признаки, такие как ранние мутации онкогена, иницирующие онкогенез, и более позднюю потерю генов-супрессоров опухоли, стимулирующую про-

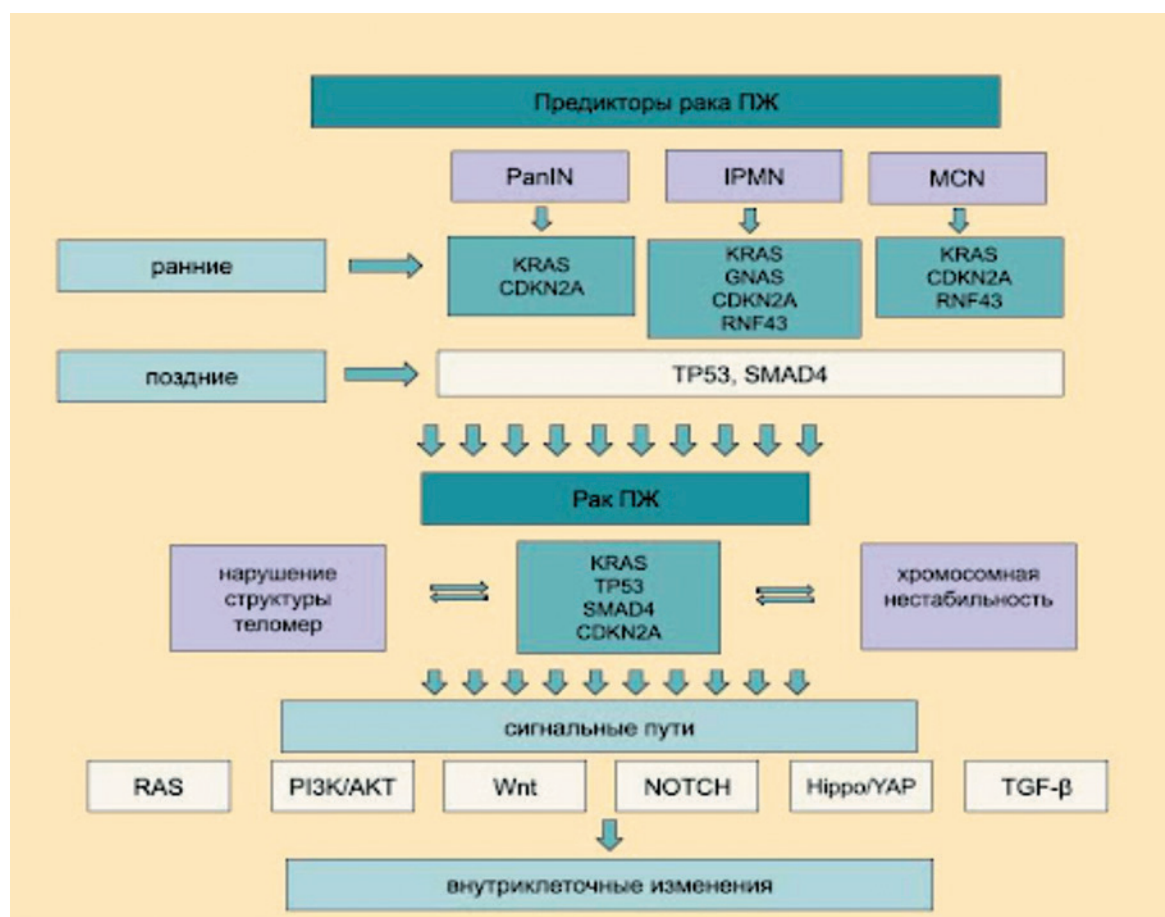


Рис. 2. Схема — пути канцерогенеза, а также основные молекулярно-генетические изменения при канцерогенезе в поджелудочной железе

грессирование опухоли (рис. 2).

В дополнение к идентификации генетических факторов, исследования секвенирования ДНК также выявили другие важные особенности онкогенеза поджелудочной железы. Мультирегиональное секвенирование предраковых поражений, первичных опухолей и метастазов позволило провести эволюционное моделирование различных стадий онкогенеза поджелудочной железы. Исследования IPMN предполагают период почти 4 года между развитием дисплазии высокой степени и инвазивной карциномой [14]. Точно так же в поражениях PanIN моделирование на основе данных секвенирования предполагает интервал примерно в 4 года между общей предковой клеткой и клеткой-основателем, ассоциированной с РПЖ [15]. Соответственно, моделирование метастазов и первичных РПЖ предполагает, что между возникновением иницирующей мутации и рождением родительской неметастатической клетки проходит не менее десяти лет, а до метастазирования еще 5 лет [16].

Интересно, что эти исследования не показывают различий в мутациях управляющего гена между первичными и метастатическими опухолями, что позволяет предположить, что изменения, отличные от мутаций ДНК, могут способствовать метастазированию. Недавние исследования предраковых поражений выявили удивительную генетическую гетерогенность даже в отношении хорошо охарактеризованных мутаций управляющего гена [17, 18]. Эти исследования предполагают *поликлональное происхождение*, по крайней мере, подмножества предраковых поражений и различные селективные силы в разные моменты времени онкогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глубокое понимание геномных изменений в предраковых поражениях поджелудочной железы имеет большое клиническое значение, поскольку ранняя диагностика может значительно улучшить клиническое течение пациентов с новообразова-

ями поджелудочной железы. Дальнейшее исследование эффекторных путей критических драйверных генов поможет прояснить индивидуальную роль каждого изменения в преимуществе селективного роста и поведении неопластических клеток и сделать еще один шаг к разработке новых методов нацеливания на эти распространенные aberrации на ранней стадии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors stated no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer Statistics, 2021 [published correction appears in CA Cancer J Clin. 2021 Jul;71(4):359]. CA Cancer J Clin. 2021;71(1):7–33. DOI:10.3322/caac.21654.
2. Matsuda Y, Furukawa T, Yachida S, et al. The Prevalence and Clinicopathological Characteristics of High-Grade Pancreatic Intraepithelial Neoplasia: Autopsy Study Evaluating the Entire Pancreatic Parenchyma. *Pancreas*. 2017;46(5):658–664. DOI:10.1097/MPA.0000000000000786/
3. Oldfield LE, Connor AA, Gallinger S. Molecular Events in the Natural History of Pancreatic Cancer. *Trends Cancer*. 2017 May 1;3(5):336–46.
4. Wood LD, Canto MI, Jaffee EM, Simeone DM. Pancreatic Cancer: Pathogenesis, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterology*. 2022 Aug;163(2):386–402.e1.
5. Mizrahi JD, Surana R, Valle JW, Shroff RT. Pancreatic cancer. *The Lancet*. 2020 Jun 27;395(10242):2008–20.
6. Makohon-Moore A, Iacobuzio-Donahue CA. Pancreatic cancer biology and genetics from an evolutionary perspective. *Nat Rev Cancer*. 2016 Sep;16(9):553–65.
7. Basturk O, Hong SM, Wood LD, et al. A Revised Classification System and Recommendations From the Baltimore Consensus Meeting for Neoplastic Precursor Lesions in the Pancreas. *Am J Surg Pathol*. 2015;39(12):1730–1741.
8. Hosoda W, Chianchiano P, Griffin JF, et al. Genetic analyses of isolated high-grade pancreatic intraepithelial neoplasia (HG-PanIN) reveal paucity of alterations in TP53 and SMAD4. *J Pathol*. 2017 May;242(1):16–23.
9. Felsenstein M, Hruban RH, Wood LD. New developments in the molecular mechanisms of pancreatic tumorigenesis. *Adv Anat Pathol*. 2018 Mar;25(2):131–42.
10. Felsenstein M, Noë M, Masica DL, et al. IPMNs with co-occurring invasive cancers: neighbours but not always relatives. *Gut*. 2018 Sep;67(9):1652–62.
11. Marchegiani G, Mino-Kenudson M, Ferrone CR, et al. Patterns of Recurrence After Resection of IPMN: Who, When, and How? *Ann Surg*. 2015 Dec;262(6):1108–14.
12. Li J, Wei T, Zhang J, Liang T. Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas: A Review of Their Genetic Characteristics and Mouse Models. *Cancers*. 2021 Oct 22;13(21):5296.
13. Lee JH, Kim Y, Choi JW, Kim YS. KRAS, GNAS, and RNF43 mutations in intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas: a meta-analysis. *SpringerPlus*. 2016;5(1):1172.
14. Noë M, Niknafs N, Fischer CG, et al. Genomic characterization of malignant progression in neoplastic pancreatic cysts. *Nat Commun*. 2020;11(1):4085. Published 2020 Aug 14. DOI:10.1038/s41467-020-17917-8.
15. Makohon-Moore AP, Matsukuma K, Zhang M, et al. Precancerous neoplastic cells can move through the pancreatic ductal system. *Nature*. 2018;561(7722):201–205.
16. Yachida S, Jones S, Bozic I, et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature*. 2010;467(7319):1114–1117.
17. Kuboki Y, Fischer CG, Beleva Guthrie V, et al. Single-cell sequencing defines genetic heterogeneity in pancreatic cancer precursor lesions. *J Pathol*. 2019;247(3):347–356.
18. Fujikura K, Hosoda W, Felsenstein M, et al. Multiregion whole-exome sequencing of intraductal papillary mucinous neoplasms reveals frequent somatic KLF4 mutations predominantly in low-grade regions. *Gut*. 2021;70(5):928–939.

Информация об авторах:

Солоницын Евгений Геннадьевич, к.м.н., заведующий НИЛ онкологических заболеваний пищеварительной системы НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Сейфединова Сабина Шерафединовна, младший научный сотрудник НИЛ онкологических заболеваний пищеварительной системы НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Калинина Ольга Викторовна, д.б.н., профессор кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Фрейлихман Ольга Александровна, старший научный сотрудник НИЛ онкологических заболеваний пищеварительной системы НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Solonitsyn Evgeny G., PhD, Head of the Research Laboratory of Digestive Cancer of the World-Class Research Centre for Personalized Medicine of Almazov National Medical Research Centre;

Seyfedinova Sabina Sh., junior researcher at the Research Laboratory of Digestive Cancer of the World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Kalinina Olga V., Doctor of Biological Sciences, professor of the department of laboratory medicine and genetics, Almazov National Medical Research Centre;

Freylikhman Olga A., senior researcher at the Research Laboratory of Digestive Cancer of the World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre.