

В.А. Кропельницкий¹
Л.М. Захарцева¹
В.Е. Чежук²

¹Киевский городской
клинический онкологический
центр

²Национальный
медицинский университет
им. А.А. Богомольца,
Киев, Украина

Ключевые слова: белок BRCA1,
репарация ДНК, геном.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ БЕЛКА BRCA1. РОЛЬ В ПРОЦЕССАХ РЕПАРАЦИИ ДНК

В обзоре приведены сведения о структуре и основных функциях белка BRCA1. BRCA1 играет важную роль в фундаментальных процессах жизнедеятельности клетки (контроль клеточного цикла, транскрипция, восстановление поврежденных ДНК, убиквитинизация белков). Нарушение его функции ведет к критическим нарушениям процессов репарации, вызывая нестабильность генома. Следствием этого являются ускоренные процессы канцерогенеза. Приведены данные о роли экспрессии этого протеина как возможного прогностического фактора для планирования лечения при раке молочной железы и опухолях некоторых других локализаций.

Впервые внимание к белку BRCA1 было привлечено в 1994 г., когда доказали, что в около 40–45% случаев наследственный рак молочной железы (PMЖ) обусловлен герминальными мутациями гена BRCA1 [1]. Доказано, что в клетках, в которых отсутствует белок BRCA1, быстрее протекают процессы канцерогенеза, а PMЖ, ассоциированный с мутациями BRCA1, характеризуется более молодым возрастом пациентов, низкой степенью дифференцировки опухоли, отсутствием рецепторов стероидных гормонов (ER и PR) и эпидермального фактора роста 2-го типа Her-2/neu (трижды негативный тип опухоли), особенностями ответа на химиотерапию, а также плохим клиническим прогнозом [1, 2].

Дальнейшие исследования показали, что экспрессия белка BRCA1 нарушена не только при наследственном, но и при спорадическом PMЖ, а также при злокачественных опухолях других локализаций (рак желудка, немелкоклеточный рак легкого) [3–5]. Также продемонстрировано, что, несмотря на снижение или отсутствие экспрессии этого белка, при спорадических формах PMЖ структура гена BRCA1 может быть сохранена [16]. То есть снижение уровня экспрессии белка может быть связано не только с возможными генными мутациями, а и с различными эпигенетическими механизмами (такими как метилирование промотора гена BRCA1), а также нарушениями деятельности сигнальных систем, в которых задействован белок BRCA1 [7, 17].

Ген BRCA1 был открыт в начале 90-х годов XX века. Он расположен на хромосоме 17q21. Данный ген критически необходим для жизнедеятельности клетки. Мышечные эмбрионы, искусственно лишённые функционирующего гена BRCA1, погибают на ранних стадиях внутриутробного развития. Этим геном кодируется белок, состоящий из 1863 аминокислот массой в 220 кДа [1]. Белок BRCA1 вовлечен в многочисленные процессы жизнедеятельности клетки, такие как контроль клеточного цикла, транскрипция, восстановление повреждений ДНК, убиквитинизация белков. В структуре данного протеина выделяют несколько основных функциональных участков, основны-

ми из них являются RING-домен, расположенный на N-конце, и спаренный BRCT-домен — на C-конце белка. Также необходимо выделить SCD-домен, в котором происходит фосфорилирование белка BRCA1 под воздействием сигнальных систем. Именно с помощью своих функциональных зон белок BRCA1 взаимодействует с другими белками (рисунок) [6].

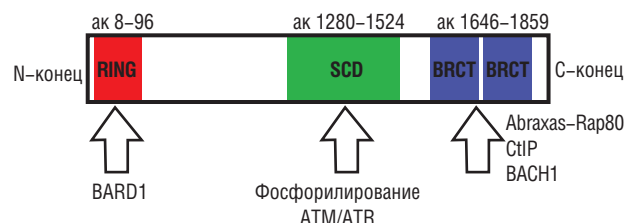


Рисунок. Основные функциональные зоны белка BRCA1

RING-домен белка BRCA1 служит для соединения с RING-доменом белка BARD1. Формирование гетеродимера BRCA1-BARD1 стабилизирует белок BRCA1. В случае отсутствия BARD1 белок BRCA1 остается нестабильным и быстро деградирует. К сформированному гетеродимеру присоединяется убиквитин-конъюгирующий фермент (E2), что позволяет этому комплексу выполнять функцию убиквитинлигазы (E3). Причем присоединение E2 происходит именно к компонентам RING-домена белка BRCA1. Система фермента убиквитина регулирует многочисленные моменты жизнедеятельности клетки путем убиквитинзависимой деградации белков. Субстратом для убиквитинлигазной активности белка BRCA1 являются такие белки, как гистоны, γ -тубулин, ER α , PR α , CtIP и многие другие [6, 8].

Говоря о роли белка BRCA1 в регуляции клеточного цикла, необходимо отметить его влияние на дупликацию centrosомы. В нормальных условиях в течение клеточного цикла centrosома делится только один раз, после чего дочерние centrosомы расходятся к полюсам клетки, формируя биполярное веретено деления. Этот процесс начинается в ранней S-фазе, а к началу M-фазы уже существует сформированное веретено деления. В случае снижения активности белка BRCA1 происходит амплификация centrosом, что

приводит к формированию неправильного мультиполярного веретена деления. Результатом такого нарушения является неравномерное деление хромосом, что становится причиной анеуплоидии. Механизм влияния белка BRCA1 на функционирование centrosомы состоит в том, что гетеродимер BRCA1-BARD1 вызывает убиквитинизацию белка γ -тубулина, что инициирует процесс сборки микротрубочек. На последующих этапах комплекс BRCA1-BARD1 оказывает негативное влияние на амплификацию centrosом, не допуская развития аномального веретена деления [10–13].

BRCT-домен отвечает за взаимодействие с различными фосфопротеинами, вследствие чего образуются функционально активные комплексы. Все эти белковые комплексы вовлечены в процессы репарации ДНК.

BRCA1 в комплексе с другими белками играют важнейшую роль в процессах репарации ДНК, осуществляя восстановление двухцепочечных разрывов (ДЦР), которые являются наиболее губительными для клетки. Такие разрывы могут быть результатом спонтанных сбоев, а также действия ионизирующего и ультрафиолетового излучения, некоторых химических соединений, в том числе химиотерапевтических препаратов. Существуют два основных механизма восстановления ДЦР. Это гомологичная рекомбинация (ГР) и негомологичное соединение концов. ГР позволяет избежать потерь генетического материала, полностью восстанавливая повреждения. Негомологичное соединение концов — менее точный способ репарации, вследствие которого часть генетического материала утрачивается. Белок BRCA1 вовлечен в процесс ГР [9].

Во время ГР шаблоном для восстановления разрыва служит гомологичный участок сестринской хроматиды. С учетом того, что сестринские хроматиды существуют только во время S- и G2-стадий клеточного цикла, репарация повреждения путем ГР возможна только в эти периоды. Сразу же после возникновения ДЦР к концам нитей ДНК в месте разрыва присоединяется комплекс MRN (белки Mre11-RAD50-Nbs1). Этот комплекс активирует сигнальные протеинкиназы ATM/ATR, которые в свою очередь фосфорилируют белки, участвующие в репарации повреждения, в том числе BRCA1, гистон H2AX и некоторые другие. Данные процессы приводят к повышению концентрации активного белка BRCA1 в месте разрыва ДНК [6, 9].

Как уже отмечено, RING-домен белка BRCA1 формирует гетеродимер с аналогичным доменом белка BARD1. Во время процессов репарации данный гетеродимер проявляет убиквитинлигазную активность в отношении белков, участвующих в них. В частности, убиквитинизированный гистон H2AX способствует ремоделированию хроматина в месте повреждения, что делает этот участок ДНК доступным для работы репаративных систем. Мутации, нарушающие способность белка BRCA1 связываться с белком BARD1, приводят к критическому сбою ГР и развитию нестабильности генома [6, 9, 15].

Через BRCT-домен белок BRCA1 взаимодействует с различными белками, участвующими в восстановлении повреждения. Наиболее полно описано взаимодействие с белками Abraxas-RAP80 (комплекс BRCA1 A), BACH1 (комплекс BRCA1 B) и CtIP (комплекс BRCA1 C) [6, 9]. Комплекс BRCA1 A отвечает за супрессию избыточной ГР. Это происходит путем ограничения доступа BRCA1 и некоторых других белков к очагу повреждения. Мутации, нарушающие способность белка BRCA1 связываться с белками Abraxas-RAP80, приводят к гиперактивации процессов ГР. Это является причиной снижения точности восстановления повреждений ДНК и развития нестабильности генома [6, 9, 14].

Комплекс BRCA1 B препятствует преждевременному исчезновению белка RAD51 из очага повреждения. Протеин RAD51 является ключевым в процессе ГР. С помощью этого белка поддерживается связь между поврежденной цепочкой ДНК и сестринской хроматидой. Мутации, нарушающие способность белка BRCA1 связываться с белком BACH1, приводят к критическому сбою ГР и развитию нестабильности генома [6, 9, 14].

Комплекс BRCA1 C также поддерживает стабильность в участке повреждения путем увеличения количества репликативного протеина A (RPA). Данный протеин препятствует полимеризации и скручиванию одноцепочечной ДНК, позволяя оставаться ей в неспаренном развернутом состоянии. Данный процесс очень важен на ранних стадиях ГР. Позже RPA заменяется на белок RAD51. Мутации, нарушающие способность белка BRCA1 связываться с белком CtIP, приводят к критическому сбою ГР и развитию нестабильности генома [6, 9, 14].

В последнее время появились публикации, посвященные исследованию роли экспрессии белка BRCA1 в прогнозировании течения злокачественных новообразований различной локализации. Результаты исследований показали, что в 20–30% случаев спорадического РМЖ отмечается снижение или полное исчезновение экспрессии белка BRCA1 (процент варьирует в зависимости от иммунофенотипического варианта РМЖ) [16]. В большинстве случаев это связано с гиперметилованием промотора гена BRCA1 [17, 19]. Показано, что спорадический РМЖ со сниженным уровнем экспрессии BRCA1 характеризуется низкой степенью дифференцировки, высокой частотой отсутствия экспрессии рецепторов стероидных гормонов и эпидермального фактора роста 2-го типа, что проявляется неблагоприятным клиническим прогнозом. Спорадический РМЖ с отсутствием экспрессии белка BRCA1 по клиническому течению сходен с наследственным РМЖ, обусловленным герминальными мутациями в гене BRCA1 [16].

Аналогичные исследования экспрессии белка BRCA1 были проведены в случаях рака желудка и мелкоклеточного рака легкого. У 21% больных раком желудка выявлено снижение уровня экспрессии этого белка, что сопровождалось и снижением выжива-

емости [3, 4]. При немелкоклеточном раке легкого в небольшой части случаев также отмечено снижение уровня экспрессии белка BRCA1, однако прогностическое значение этого явления пока что неясно [5].

В последнее время проводится большое количество исследований, посвященных влиянию BRCA1 на регуляцию чувствительности опухолевых клеток к действию некоторых химиотерапевтических препаратов. Основное внимание уделяют чувствительности к препаратам платины и таксанам [18–21].

Таким образом, белок BRCA1 играет важнейшую роль в контроле клеточного цикла и в процессах репарации ДНК. С его помощью осуществляется формирование правильного веретена деления, а также координация деятельности многочисленных белков и белковых комплексов, обеспечивающих процесс ГР.

Дальнейшее изучение функций белка BRCA1 и его значения в процессах канцерогенеза позволит лучше понять механизм развития РМЖ, а также опухолей некоторых других локализаций. Учитывая, что этот белок играет одну из ключевых ролей в процессах репараций повреждений ДНК, возникающих, в том числе, под воздействием химиотерапевтических препаратов, необходимо определение степени участия этого протеина в формировании чувствительности к терапии. Работа в этом направлении позволит в будущем рационализировать существующие схемы индивидуализированного лечения больных РМЖ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Miki Y, Swensen J, Shattuck-Eidens D, *et al.* A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1. *Science* 1994; **266**: 66–71.
2. Zakhartseva LM, Gorovenko NG, Podolskaya SV, *et al.* Breast cancer immunohistochemical features in young women with BRCA 1/2 mutations. *Exp Oncol* 2009; **31**: 174–8.
3. Chen W, Wang J, Li X, *et al.* Prognostic significance of BRCA1 expression in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; **30** (1): 423.
4. Zhang Z-Z, Liu YJC, Yin X-L, *et al.* Loss of BRCA1 expression leads to worse survival in patients with gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; **19** (12): 1968–74.
5. Yang Y, Xie Y, Xian L. Breast cancer susceptibility gene 1 (BRCA1) predict clinical outcome in platinum- and taxal-based chemotherapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients: a system review and meta-analysis. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; **32**: 15.
6. Christou CM, Kyriacou K. BRCA1 and its network of interacting partners. *Biology* 2013; **2**: 40–63.
7. Guendel I, Carpio L, Pedati C, *et al.* Methylation of the tumor suppressor protein, BRCA1, influences its transcriptional cofactor function. *PLoS ONE*, 2010; **5**: e11379.
8. Wu W, Koike A, Takeshita T, *et al.* The ubiquitin E3 ligase activity of BRCA1 and its biological functions. *Cell division*, 2008; **3**: 1.
9. Caestecker K, Van de Walle G. The role of BRCA1 in DNA double-strand repair: past and present. *Exp Cell Res* 2013; **319**: 575–87.
10. Chu-Xia Deng. Roles of BRCA1 in centrosome duplication. *Oncogene* 2002; **21**: 6222–7.
11. Brodie K, Henderson B. Characterization of BRCA1 protein targeting, dynamics, and function at the centrosome: a role

for the nuclear export signal, CRM1, and Aurora A kinase. *J Biol Chem* 2012; **287**: 7701–16.

12. Tarapore P, Hanashiro K, Fukasawa K. Analysis of centrosome localization of BRCA1 and its activity in suppressing centrosomal aster formation. *Cell Cycle* 2012; **11**: 2931–46.

13. Sankaran S, Starita L, Groen A, *et al.* Centrosomal microtubule nucleation activity is inhibited by BRCA1-dependent ubiquitination. *Mol Cell Biol* 2005; **25**: 8656–68.

14. Dever S, Golding SE, Rosenberg E, *et al.* Mutations in the BRCT binding site of BRCA1 result in hyper-recombination. *Aging* 2011; **3**: 515–32.

15. Dever S, White E, Hartman M, *et al.* BRCA1-directed, enhanced and aberrant homologous recombination: mechanism and potential treatment strategies. *Cell Cycle* 2012; **11**: 687–94.

16. Galizia E, Giorgetti G, Piccinini G, *et al.* BRCA1 expression in triple negative sporadic breast cancers. *Anal Quant Cytol Histol* 2010; **32**: 24–9.

17. Hsu NC, Huang Y-F, Yokoyama KK, *et al.* Methylation of BRCA1 promoter region is associated with unfavorable prognosis in women with early-stage breast cancer. *PLoS ONE* 2013; **8** (2): e56256.

18. Kennedy R, Quinn J, Mullan P, *et al.* The role of BRCA1 in the cellular response to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2004; **96**: 1659–68.

19. Stefansson O, Villanueva A, Vidal A, *et al.* BRCA1 epigenetic inactivation predicts sensitivity to platinum-based chemotherapy in breast and ovarian cancer. *Epigenetics* 2012; **7** (11): 1225–9.

20. James CR, Quinn JE, Mullan PB, *et al.* BRCA1, a potential predictive biomarker in the treatment of breast cancer. *Oncologist* 2007; **12**: 142–50.

21. Fojo T, Menefee M. Mechanisms of multidrug resistance: the potential role of microtubule-stabilizing agents. *Ann Oncol* 2007; **18** (Supplement 5): v3–v8.

STRUCTURE AND FUNCTION OF THE BRCA1 PROTEIN. ITS ROLE IN THE DNA REPARATION PROCESSES

V.A. Kropelnytskyi, L.M. Zakhartseva,
V.E. Cheshuk

Summary. *The review provides information about the structure and main functions of the BRCA1 protein. BRCA1 plays an important role in the fundamental life processes of cells (control of the cell cycle, transcription, recovery of DNA damage, protein ubiquitination). The disruption of its function leads to critical violations of DNA repair processes, causing genome instability. As a results processes of carcinogenesis is accelerated. The data about the role of the expression of this protein as a possible prognostic and predictive factor for treatment planning in breast cancer and tumors of other sites are presented.*

Key Words: BRCA1 protein, DNA reparation, genome.

Адрес для переписки:

Кропельницкий В.А.
03115, Киев, ул. Верховинная, 69
Киевский городской клинический онкологический центр
E-mail: vlad.kropelnytskyi@gmail.com

Получено: 20.11.2014