
doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.06.113>

УДК 577.218+616.65

Г.В. Геращенко, А.В. Риндич, В.І. Кашуба

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ

E-mail: g.v.gerashchenko@imbg.org.ua

Молекулярне профілювання пухлин передміхурової залози

Представлено членом-кореспондентом НАН України А.В. Риндич

Встановлено рівень відносної експресії 56 генів у аденокарциномах передміхурової залози (Т), парних умовних нормах (N) та аденомах (А). Знайдено 30 генів, що мають диференційну експресію у Т в порівнянні з А. Серед них гени, що пов'язані з раком передміхурової залози та простат-специфічні — AR, KRT18, MMP9, PTEN, TMPRSS2:ERG, VIM, ESR1, GCR, PDL1, PRLR, SRD5A2, VDR, три гени довгих некодуючих РНК — PCA3, SCHLAP1, HOTAIR, ряд генів, що характеризують стан мікрооточення пухлин (фібробласти, лімфоцити, макрофаги) — THY1, CXCL12, CXCL14, CTGF, HIF1A, FAP, IFNB1, CTLA4, IL1RL1, IL1R1, CD163, CCR4, CCL17, CCL22, NOS2A. 29 генів з 56 досліджених мають значущі кореляції відносної експресії у Т з клінічними та патологічними характеристиками пухлин (ступінь Глісона, стадія, рівень простат-специфічних антигенів, вік). Отримані результати є основою для розробки набору молекулярного профілювання пухлин передміхурової залози.

Ключові слова: відносна експресія генів, пухлини передміхурової залози, молекулярні характеристики пухлини, мікрооточення пухлини.

В останні роки все більше досліджень спрямовано на виявлення особливостей та характеристик пухлин передміхурової залози (ПЗ) як на генетичному, епігенетичному, так і транскриптомному рівнях з використанням сучасних технологій мікрочипів та сиквенування нового покоління [1, 2]. Впровадження цих методів у клінічну практику та діагностику проблематичне через високу вартість приладів та реактивів. Крім того, це пов'язано зі складнощами обробки результатів як величезних масивів даних. Водночас за допомогою методу ПЛР у реальному часі можна швидко і набагато дешевше вирішити це завдання, що дасть можливість надалі розробити тест-системи для профілювання пухлин. Це допоможе у розкритті як механізмів та особливостей канцерогенезу пухлин ПЗ, так і в розумінні перебігу захворювання, уточненні прогнозу та підборі ефективного лікування.

Згідно із сучасним уявленням [3, 4], пухлинний процес має певні характеристики, які обумовлені не тільки особливостями пухлинних клітин, а й рядом характеристик організму, що відображається на складі мікрооточення пухлин, стані імунної системи та строми органів. Тому для встановлення характеристик конкретної пухлини необхідно враховувати і ці показники.

© Г.В. Геращенко, А.В. Риндич, В.І. Кашуба, 2018

ISSN 1025-6415. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2018. № 6

113

Таблиця 1. Відмінності ВЕ генів/транскриптів між групами аденокарцином (Т), УНТ (N) та аденом (А) ПЗ

| № | Ген / транскрипт | Маркер епітеліальних клітин | Маркер раку ПЗ | Маркер фібробластів, клітин імунної системи, запалення | Різниця ВЕ між парами Т/Н, $p < 0,05^*$ | Різниця ВЕ між групами Т/А, $p < 0,05^{**}$ | Різниця ВЕ між групами Т/Н, $p < 0,05^{**}$ |
|----|----------------------|-----------------------------|----------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 1 | AR (1 isof) | * | | | | | |
| 2 | CASP3 | | * | | | $p = 0,021$ | |
| 3 | CDH1 | * | | | | | |
| 4 | CDH2 | | * | * | | | |
| 5 | FN1 | | * | * | | | |
| 6 | KRT18 | * | * | | $p < 0,001$ | $p = 0,001$ | $p = 0,018$ |
| 7 | MKI67 | | * | | $p = 0,017$ | | |
| 8 | MMP2 | | * | | $p = 0,011$ | | |
| 9 | MMP9 | | * | | $p = 0,014$ | $p = 0,001$ | |
| 10 | NKX3-1 | * | | | | | |
| 11 | OCN | * | | | | | |
| 12 | PSA | * | * | | | | |
| 13 | PTEN | * | | | | $p = 0,015$ | |
| 14 | TMPRSS2:ERG | | * | | $p = 0,003$ | $p = 0,010$ | |
| 15 | VIM | | * | * | $p = 0,009$ | $p = 0,007$ | |
| 16 | XIAP | | * | | | | |
| 17 | PCA3 [#] | | * | | | $p = 0,001$ | |
| 18 | HOTAIR [#] | | * | | $p = 0,007$ | $p < 0,001$ | $p = 0,047$ |
| 19 | SCHLAP1 [#] | | * | | | $p = 0,013$ | |
| 20 | ESR1 | | * | * | $p = 0,010$ | $p < 0,001$ | |
| 21 | ESR2 | * | * | | | | |
| 22 | GCR | | * | | | $p = 0,030$ | |
| 23 | INSR A | * | * | | | | |
| 24 | INSR B | * | * | | $p = 0,037$ | | |
| 25 | IGF1R | | * | | | | |
| 26 | IGF1R tr | | * | | | | |
| 27 | MSMB | * | | | | | |
| 28 | PDL1 | * | | * | | $p = 0,043$ & | $p = 0,016$ & |
| 29 | PRLR | * | * | | | $p = 0,004$ | |
| 30 | PRL | | * | | | | |
| 31 | SRD5A1 | * | | | | | |
| 32 | SRD5A2 | * | | | | $p < 0,001$ | |
| 33 | VDR | * | | | | $p = 0,050$ | |
| 34 | THY1 | | | * | | $p = 0,011$ | |
| 35 | ACTA2 | | | * | | | |
| 36 | CXCL12 | | | * | | $p < 0,001$ | |
| 37 | CXCL14 | | | * | $p = 0,002$ | $p < 0,001$ | $p = 0,025$ |
| 38 | CTGF | | | * | $p = 0,005$ | $p < 0,001$ | |
| 39 | HIF1A | | | * | | $p = 0,008$ & | |
| 40 | S100A4 | | | * | | | |
| 41 | EAP | | | * | $p = 0,021$ | $p = 0,015$ | |
| 42 | IFNB1 | | | * | | $p = 0,008$ & | $p = 0,001$ & |
| 43 | CIAS | | | * | | | |
| 44 | CTLA4 | | | * | | $p = 0,016$ | |
| 45 | KLRK | | | * | | | |
| 46 | IRF1 | | | * | | | |

Продовження табл. 1

| № | Ген / транскрипт | Маркер епітеліальних клітин | Маркер раку ПЗ | Маркер фібробластів, клітин імунної системи, запалення | Різниця ВЕ між парами Т/Н, $p < 0,05^*$ | Різниця ВЕ між групами Т/А, $p < 0,05^{**}$ | Різниця ВЕ між групами Т/Н, $p < 0,05^{**}$ |
|----|------------------|-----------------------------|----------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------|
| 47 | <i>IL1RL1</i> | | | * | $p = 0,049$ | $p = 0,051$ $p = 0,004$ | $p = 0,049^{\&}$ |
| 48 | <i>IL1R1</i> | | | * | | | |
| 49 | <i>IL2RA</i> | | | * | | | |
| 50 | <i>HLA G</i> | | | * | | | |
| 51 | <i>CD68</i> | | | * | | | |
| 52 | <i>CD163</i> | | | * | $p = 0,005^{\&}$ $p = 0,002$ $p = 0,015$ $p = 0,038^{\&}$ $p = 0,05^{\&}$ | $p = 0,007^{\&}$ | |
| 53 | <i>CCR4</i> | | | * | | | |
| 54 | <i>CCL17</i> | | | * | | | |
| 55 | <i>CCL22</i> | | | * | $p = 0,013$ | $p = 0,05^{\&}$ | $p = 0,007^{\&}$ |
| 56 | <i>NOS2A</i> | | | * | | | |

Примітка. 1–19 – гени, що пов'язані з раком ПЗ та ЕМП; 20–33 – простат-специфічні гени; 34–42 – гени, пов'язані з експресією фібробластів та пухлино-асоційованих фібробластів; 43–50 – гени, пов'язані із запаленням, лімфоцитами; 51–56 – гени, пов'язані з макрофагами та пухлино-асоційованими макрофагами.

* Парний тест Вілкоксона з FDR = 0,2.

** Данна–Бонферроні тест для множинних порівнянь, FDR = 0,2.

& Наявність достовірної різниці між групами при врахуванні стадій захворювання.

Довгі некодуючі РНК.

Таблиця 2. Значущі кореляції за Спірменом (r^s) між ВЕ досліджуваних генів у аденокарциномах ПЗ та клініко-патологічними показниками

| Ген | Ступінь Глісона | Стадія | ПСА, нг/мл | Вік | Ген | Ступінь Глісона | Стадія | ПСА, нг/мл | Вік |
|-------------------|-----------------|---------------|---------------|--------|---------------|-----------------|---------------|------------|--------|
| <i>AR (1isof)</i> | 0,109 | -0,381 | -0,147 | -0,154 | <i>HIF1A</i> | -0,403 | -0,538 | -0,233 | 0,204 |
| <i>CDH1</i> | -0,132 | -0,385 | -0,233 | -0,001 | <i>S100A4</i> | 0,353 | 0,336 | 0,141 | 0,027 |
| <i>NKX3-1</i> | -0,024 | -0,353 | -0,263 | 0,085 | <i>IFNB</i> | 0,401 | 0,654 | 0,221 | -0,177 |
| <i>XIAP</i> | 0,003 | -0,352 | -0,046 | 0,154 | <i>CTLA4</i> | -0,382 | -0,148 | -0,117 | 0,172 |
| <i>ESR2</i> | -0,354 | 0,142 | -0,271 | -0,011 | <i>IRF1</i> | -0,316 | -0,303 | -0,417 | 0,151 |
| <i>INSRA</i> | -0,157 | -0,478 | -0,178 | -0,058 | <i>IL1RL1</i> | -0,057 | 0,033 | -0,410 | 0,020 |
| <i>IGF1R</i> | -0,146 | -0,441 | -0,319 | -0,004 | <i>IL1R1</i> | -0,272 | -0,406 | -0,321 | -0,084 |
| <i>MSMB</i> | -0,437 | -0,114 | -0,315 | -0,180 | <i>IL2RA</i> | -0,449 | -0,155 | -0,166 | 0,023 |
| <i>PDL1</i> | -0,503 | -0,301 | -0,492 | 0,268 | <i>CD68</i> | -0,217 | -0,369 | -0,097 | 0,136 |
| <i>PRLR</i> | -0,009 | -0,326 | -0,254 | -0,056 | <i>CD163</i> | 0,224 | 0,615 | 0,230 | 0,193 |
| <i>PRL</i> | 0,007 | 0,437 | -0,168 | -0,052 | <i>CCR4</i> | -0,492 | -0,436 | -0,214 | 0,193 |
| <i>SRD5A2</i> | -0,520 | -0,395 | -0,461 | 0,032 | <i>CCL17</i> | 0,437 | 0,435 | 0,324 | 0,092 |
| <i>VDR</i> | -0,382 | -0,444 | -0,409 | 0,261 | <i>CCL22</i> | -0,304 | -0,398 | -0,174 | 0,004 |
| <i>THY1</i> | -0,056 | 0,012 | 0,225 | 0,328 | <i>NOS2A</i> | -0,352 | -0,407 | -0,169 | 0,034 |
| <i>CXCL14</i> | 0,360 | 0,181 | 0,479 | 0,148 | | | | | |

Примітка. $p < 0,05$ – курсив, $p < 0,01$ – напівжирний шрифт; при FDR = 0,25.

Щоб вирішити завдання профілювання, треба розуміти складності в отриманні результатів та їх інтерпретації. Одна з них — велика дисперсія експресії генів у пухлинах ПЗ [1]. Це пояснюється, по-перше, гетерогенністю самих пухлин, по-друге, тим, що в склад пухлин входять клітини різного походження: ракові клітини, нормальні епітеліальні клітини, фібробласти та пухлиноасоційовані фібробласти, ендотеліальні клітини, лімфоцити, макрофаги та пухлиноасоційовані макрофаги, еритроцити і багато інших, які мають власний рівень експресії генів. Тому пошук генів, що зможуть бути маркерами певних процесів та клітин — дуже складне завдання. Найчастіше це неможливо зробити за допомогою одного гена, тоді як сигнатури (набори) здатні виконати цю роль.

Тому ми пропонуємо розширити спектр досліджуваних генів для характеристики пухлин ПЗ та використовувати для молекулярного профілювання не тільки гени, що характеризують злоякісні новоутворення, процес епітеліально-мезенхімального переходу (ЕМП) та простат-специфічні гени, а й гени-маркери фібробластів та пухлиноасоційованих фібробластів, маркери лімфоцитів та запалення, маркери макрофагів та пухлиноасоційованих макрофагів. Усі гени відібрані нами за результатами попередніх досліджень, даними літератури та біоінформатичного пошуку [5–8]. Визначення показників взаємодії пухлини з організмом та мікрооточення є особливо актуальним у світлі активного розвитку сучасних методів імунотерапії.

Матеріали і методи. Збір зразків пухлин передміхурової залози ПЗ (Т), умовно нормальних тканин (УНТ) (N) (з протилежної пухлині частини залози) та доброякісних гіперплазій (аденом (А)) здійснювали після хірургічної резекції з миттєвим заморожуванням у рідкому азоті в медичних закладах Києва як описано раніше [5, 9] з дотриманням усіх правил Гельсінської декларації та етичних комітетів медичних закладів. Дослідження проведено на 37 зразках аденокарцином ПЗ з різним ступенем Глісона та різними стадіями захворювання на 37 парних УНТ та 20 аденомах ПЗ. Злоякісні пухлини були охарактеризовані за міжнародною системою класифікації пухлин (TNM).

Виділення загальної РНК та синтез кДНК. З перетертих у рідкому азоті зразків тканин виділяли загальну РНК за допомогою TRI-реагенту (SIGMA) згідно з протоколом виробника. Концентрацію зразків РНК аналізували на спектрофотометрі (NanoDrop Technologies Inc., США). Якість зразків встановлювали за співвідношенням 28S та 18S rRNA на агарозному гелі. З оброблених ДНКазою I, вільною від РНКаз, зразків загальної РНК синтезували кДНК за допомогою RevertAid H-Minus M-MuLV Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific, США) згідно з протоколом виробника.

Кількісна ПЛР (кПЛР). Рівень відносної експресії (ВЕ) досліджених генів встановлено як описано раніше [5] з використанням Maxima SYBR Green Master mix (Thermo Fisher Scientific, США) на приладі Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (США). Праймери були підібрані за допомогою бази даних <https://primerdepot.nci.nih.gov/> та <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>. Чотири референсні гени (*TBP*, *HPRT*, *ALAS1* та *TUBA1B*) були використані для нормалізації розрахунків ВЕ для моделей $2^{-\Delta C_t}$ та $2^{-\Delta\Delta C_t}$ як описано раніше [5, 9].

Статистичний аналіз з використанням непараметричних тестів та поправок на множинні порівняння за тестом Данна–Бонферроні для множинних порівнянь та $FDR = 0,1 \div 0,25$ виконували як описано в [5].

Результати та обговорення. Профілювання пухлин ПЗ включає декілька етапів. Спочатку необхідно встановити рівень експресії досліджуваних генів і визначити, чи є різниця ВЕ між групами злоякісних пухлин та доброякісних пухлин й УНТ. Встановити кореляції між експресією генів і клініко-патологічними показниками (стадією захворювання, ступенем Глісона, концентрацією ПСА, віком тощо) в аденокарциномах ПЗ та кореляції між експресією генів. Після цього слід відібрати гени, що мають значущі зміни в пухлинах та кореляції з вказаними показниками. Нами встановлено рівень ВЕ 56 генів (табл. 1): гени 1–19 належать до маркерів пухлин ПЗ та ЕМП, гени 20–33 експресуються в ПЗ і мають важливі функції в чутливості до стероїдних та пептидних гормонів, гени 34–56 є маркерами стану строми ПЗ, імунної системи та мікрооточення пухлин.

Після проведення статистичного аналізу ВЕ як парних Т/Н зразків, так і груп (Т, N, А) виявлено статистично значущу різницю ВЕ для 33 генів з 56 між аденокарциномами (Т) та аденомами (А), або УНТ. З них 14 генів мають достовірні відмінності ВЕ між Т та парними N. 30 генів мають відмінності ВЕ між групами Т та А, 7 генів — між групами Т та N.

Наявність різниці у кількості генів більш ніж удвічі, що мають відмінності ВЕ між Т/Н та Т/А, підтверджує висунуте нами раніше припущення [5, 9, 10], що УНТ від пацієнтів з раком ПЗ не є адекватним контролем. Це підтверджує наявність злитого транскрипту *TMPRSS2:ERG* у N практично з такою ж частотою, як і в Т [9]. Це також підтверджує майже однакова частота зниження експресії та рівень ВЕ *PTEN* у Т та N [5]. Водночас ці показники мають статистично значущі відмінності в групі аденом ПЗ (А) у порівнянні як з Т, так і з N.

Гени, що не мають статистично значущих відмінностей між ВЕ у досліджених групах, можуть бути корисними в проведенні кластеризації та розділенні пухлини ПЗ на групи з унікальним профілем експресії [5]. Наприклад, для генів *PSA* та *NKX3-1* не знайдено жодних відмінностей між групами і ці гени мають досить великий діапазон експресії в аденокарциномах, тобто є пухлини з високим та низьким рівнем ВЕ, які, вірогідно, можуть належати до різних молекулярних підтипів [1, 5].

Встановлення кореляції за Спірменом між експресією генів у аденокарциномах передміхурової залози (Т) та клініко-патологічними характеристиками показало наявність значущих кореляцій у 29 з 56 досліджених генів (табл. 2). 16 з 29 генів, що мають кореляції, характеризують мікрооточення пухлин та стан імунної системи. Максимальна кількість кореляцій (по три зі ступенем Глісона, стадією та рівнем ПСА) притаманна двом генам: *SRD5A2* та *VDR*. Причому обидва мають негативні кореляції із клініко-патологічними характеристиками, що свідчить про втрату експресії цих генів при прогресуванні пухлин ПЗ. Найвищі значення r^s ВЕ та стадії раку ПЗ встановлено для генів *IFNB* ($r^s = 0,654$), *CD163* ($r^s = 0,615$) та *HIF1A* ($r^s = -0,538$).

Ряд генів, у яких не виявлено значущих кореляцій з клініко-патологічними показниками, або не мають важливого значення в канцерогенезі ПЗ, або їх аберації відбуваються на ранніх стадіях ракової трансформації клітин та визначають певний молекулярний тип пухлини, як наприклад: наявність злитого транскрипту *TMPRSS2:ERG*, втрата експресії *PTEN* або *NKX3-1* [9, 5, 1].

Отримані результати є основою для розробки набору молекулярного профілювання пухлин ПЗ, який дасть змогу оцінити як стан пухлин ПЗ, так і мікрооточення та імунної системи.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Cancer Genome Atlas Research Network. The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell*. 2015. **163**, № 4. P. 1011–1125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.025>
2. Dmitriev A.A., Rosenberg E.E., Krasnov G.S., Gerashchenko G.V., Gordiyuk V.V., Pavlova T.V., Kudryavtseva A.V., Beniaminov A.D., Belova A.A., Bondarenko Y.N., Danilets R.O., Glukhov A.I., Kondratov A.G., Alexeyenko A., Alekseev B.Y., Klein G., Senchenko V.N., Kashuba V.I. Identification of novel epigenetic markers of prostate cancer by notI-microarray analysis. *Dis. Markers*. 2015. **2015**. 241301, 13 p. doi: <https://dx.doi.org/10.1155/2015/241301>
3. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011. **144**, № 5. P. 646–674. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
4. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep*. 2014. **15**, № 12. P. 1243–1253. doi: <https://doi.org/10.15252/embr.201439246>
5. Gerashchenko G.V., Mankovska O.S., Dmitriev A.A., Mevs L.V., Rosenberg E.E., Pikul M.V., Marynychenko M.V., Gryzodub O.P., Stakhovsky E.O., Kashuba V.I. Expression of epithelial-mesenchymal transition-related genes in prostate tumours. *Biopolym. Cell*. 2017. **33**, № 5. P. 335–355. doi: <https://doi.org/10.7124/bc.00095E>
6. Strasner A., Karin M. Immune infiltration and prostate cancer. *Front Oncol*. 2015. № 5. 128. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00128>
7. Shiga K., Hara M., Nagasaki T., Sato T., Takahashi H., Takeyama H. Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth. *Cancers*. 2015. **7**, № 4. P. 2443–2458. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers7040902>
8. Maolake A., Izumi K., Shigehara K., Natsagdorj A., Iwamoto H., Kadomoto S., Takezawa Y., Machioka K., Narimoto K., Namiki M., Lin W.J., Wufuer G., Mizokami A. Tumor-associated macrophages promote prostate cancer migration through activation of the CCL22-CCR4 axis. *Oncotarget*. 2017. **8**, № 6. P. 9739–9751. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14185>
9. Mevs L.V., Gerashchenko G.V., Rosenberg E.E., Pikul M.V., Marynychenko M.V., Gryzodub O.P., Vozianov S.O., Stakhovsky E.A., Kashuba V.I. Detection of prostate specific ETS fusion transcripts in cancer samples. *Biopolym. Cell*. 2017. **33**, № 4. P. 256–267. doi: <https://doi.org/10.7124/bc.000958>
10. Rosenberg E.E., Gerashchenko G.V., Hryshchenko N.V., Mevs L.V., Nekrasov K.A., Lytvynenko R.A., Vitruk Y.V., Gryzodub O.P., Stakhovsky E.A., Kashuba V.I. Expression of cancer-associated genes in prostate tumors. *Exp. Oncol*. 2017. **39**, № 2. P. 131–137.

Надійшло до редакції 27.02.2018

REFERENCES

1. Cancer Genome Atlas Research Network. (2015). The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell*, 163, No. 4, pp. 1011-1125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.025>
2. Dmitriev, A. A., Rosenberg, E. E., Krasnov, G. S., Gerashchenko, G. V., Gordiyuk, V. V., Pavlova, T. V., Kudryavtseva, A. V., Beniaminov A. D., Belova, A. A., Bondarenko, Y. N., Danilets, R. O., Glukhov, A. I., Kondratov, A. G., Alexeyenko, A., Alekseev, B. Y., Klein, G., Senchenko, V. N. & Kashuba, V. I. (2015). Identification of novel epigenetic markers of prostate cancer by notI-microarray analysis. *Dis. Markers.*, 2015, 241301, 13 pp. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/241301>
3. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144, No. 5, pp. 646-674. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
4. Pickup, M. W., Mouw, J. K. & Weaver, V. M. (2014). The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep.*, 15, No. 12, pp. 1243-1253. doi: <https://doi.org/10.15252/embr.201439246>
5. Gerashchenko, G. V., Mankovska, O. S., Dmitriev, A. A., Mevs, L. V., Rosenberg, E. E., Pikul, M. V., Marynychenko, M. V., Gryzodub, O. P., Stakhovsky, E. O. & Kashuba, V. I. (2017). Expression of epithelial-mesenchymal transition-related genes in prostate tumours. *Biopolym. Cell*, 33, No. 5, pp. 335-355. doi: <https://doi.org/10.7124/bc.00095E>
6. Strasner, A. & Karin, M. (2015). Immune infiltration and prostate cancer. *Front Oncol.*, No. 5, 128. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2015.00128>

7. Shiga, K., Hara, M., Nagasaki, T., Sato, T., Takahashi, H. & Takeyama, H. (2015). Cancer-associated fibroblasts: their characteristics and their roles in tumor growth. *Cancers*, **7**, No. 4, pp. 2443-2458. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers7040902>
8. Maolake, A., Izumi, K., Shigehara K., Natsagdorj, A., Iwamoto, H., Kadomoto, S., Takezawa, Y., Machioka, K., Narimoto, K., Namiki, M., Lin, W. J., Wufuer, G. & Mizokami, A. (2017). Tumor-associated macrophages promote prostate cancer migration through activation of the CCL22-CCR4 axis. *Oncotarget*, **8**, No. 6, pp. 9739-9751. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.14185>
9. Mevs, L. V., Gerashchenko, G. V., Rosenberg, E. E., Pikul, M. V., Marynychenko, M. V., Gryzodub, O. P., Vozianov, S. O., Stakhovsky, E. A. & Kashuba, V.I. (2017). Detection of prostate specific ETS fusion transcripts in cancer samples. *Biopolym. Cell.*, **33**, No. 4, pp. 256-267. doi: <https://doi.org/10.7124/bc.000958>
10. Rosenberg, E. E., Gerashchenko, G. V., Hryshchenko, N. V., Mevs L. V., Nekrasov, K. A., Lytvynenko, R. A., Vitruk, Y. V., Gryzodub, O. P., Stakhovsky, E. A. & Kashuba, V. I. (2017). Expression of cancer-associated genes in prostate tumors. *Exp. Oncol.*, **39**, No. 2, pp. 131-137.

Received 27.02.2018

А.В. Геращенко, А.В. Рындич, В.И. Кашуба

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев
E-mail: g.v.gerashchenko@imbg.org.ua

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ОПУХОЛЕЙ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Установлен уровень относительной экспрессии 56 генов в аденокарциномах простаты (Т), парных условных нормах (N) и аденомах (А). Найдено 30 генов, имеющих дифференциальную экспрессию в Т по сравнению с А. Среди них гены, связанные с раком простаты и простат-специфические – *AR*, *KRT18*, *MMP9*, *PTEN*, *TMPRSS2: ERG*, *VIM*, *ESR1*, *GCR*, *PDL1*, *PRLR*, *SRD5A2*, *VDR*, три гена длинных некодирующих РНК – *PCA3*, *SCHLAP1*, *HOTAIR*, ряд генов, характеризующих состояние микроокружения опухолей (фибробласты, лимфоциты, макрофаги) – *THY1*, *CXCL12*, *CXCL14*, *CTGF*, *HIF1A*, *FAP*, *IFNB1*, *CTLA4*, *IL1RL1*, *IL1R1*, *CD163*, *CCR4*, *CCL17*, *CCL22*, *NOS2A*. 29 генов из 56 исследованных имеют значимые корреляции относительной экспрессии в Т с клиническими и патологическими характеристиками опухолей (степень Глисона, стадия, уровень ПСА, возраст). Полученные результаты являются основой для разработки набора молекулярного профилирования опухолей предстательной железы.

Ключевые слова: относительная экспрессия генов, опухоли простаты, молекулярные характеристики опухоли, микроокружение опухоли.

G.V. Gerashchenko, A.V. Rynditch, V.I. Kashuba

Institute of Molecular Biology and Genetics of the NAS of Ukraine, Kiev
E-mail: g.v.gerashchenko@imbg.org.ua

MOLECULAR PROFILING OF PROSTATE TUMORS

We have detected the relative gene expression levels (RE) of 56 genes in prostate adenocarcinomas (T), paired conventionally normal tissues (N), and adenomas (A). We have found 30 differential expressed genes in T compared with A. Among them, there were cancer-related and prostate specific genes (*AR*, *KRT18*, *MMP9*, *PTEN*, *TMPRSS2: ERG*, *VIM*, *ESR1*, *GCR*, *PDL1*, *PRLR*, *SRD5A2*, *VDR*), 3 genes of lncRNA (*PCA3*, *SCHLAP1*, *HOTAIR*), several genes characterizing the state of a tumor microenvironment (fibroblasts, lymphocytes, macrophages) (*THY1*, *CXCL12*, *CXCL14*, *CTGF*, *HIF1A*, *FAP*, *IFNB1*, *CTLA4*, *IL1RL1*, *IL1R1*, *CD163*, *CCR4*, *CCL17*, *CCL22*, *NOS2A*). It is found that 29 of 56 genes have significant RE correlations in T with clinical and pathological characteristics (Gleason score, stage, PSA level, age). The obtained results are the basis for the prostate tumors molecular profiling.

Keywords: relative gene expression, prostate tumors, tumor molecular characteristics, tumor microenvironment.