

ЗНАЧЕНИЕ ПРОТЕОГЛИКАНОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМЫ

(Обзор литературы)

М.Ф. Харченко, С.С. Бессмельцев

Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии,

Санкт-Петербург

RNIINT@mail.ru

Резюме

В статье приводится обзор данных литературы, касающихся роли трансмембранного гепарансульфат-протеогликана синдекана-1 и других протеогликанов при ММ. Высокая экспрессия синдекана-1 (CD138) на клеточной поверхности является одной из характерных особенностей нормальных и миеломных плазматических клеток. Благодаря способности связывать и модулировать активность многих эффекторных молекул таких, как белки внеклеточного матрикса, гепарансульфат-зависимые гемопоэтические факторы роста и цитокины, синдекан-1, подобно другим гепарансульфат-протеогликанам, способствует росту, выживанию и диссеминации неопластических клеток. Синдекан-1 вместе с интегринами способствует адгезии миеломных клеток к строме костного мозга и принимает участие в их взаимодействиях с гемопоэтическим микроокружением. Этот протеогликан действует на клеточной поверхности, но будучи сброшенным с плазматической мембраны под действием протеиназ, он проникает в микроокружение костного мозга и затем в периферическую кровь. Уровень «растворимого» синдекана-1 в сыворотке признается независимым прогностическим маркером. Он коррелирует с опухолевой массой, содержанием β_2 -микроглобулина и стадией заболевания. Благодаря связыванию и усилению активности гемопоэтических факторов роста, таких как HGF, EGF, APRIL, синдекан-1 способствует предпочтительному росту и выживанию миеломных клеток. Синдекан-1 и гепарансульфат-протеогликан, продуцируемые клетками микроокружения, являясь корцепторами главных ангиогенных факторов: VEGF и FGF-2, вовлекаются в неоангиогенез при ММ. Синдекан-1 и хондроитинсульфат-протеогликан серглицин, продуцируемые миеломными клетками, принимают участие в возникновении

нарушений костеобразования. Благодаря участию гепарансульфат-протеогликанов в регуляции активности гемопоэтических факторов роста и цитокинов и клеточном сигналировании, ряд авторов склонен их рассматривать как перспективные мишени в терапии ММ.

Ключевые слова: множественная миелома, синдекан-1, протеогликаны, гемопоэтические факторы роста, адгезия, ангиогенез, опухолевый рост

THE ROLE OF PROTEOGLYCANS IN PATHOGENESIS OF MULTIPLE MYELOMA

M.F. Kharchenko, S.S. Bessmeltsev

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg

Abstract

The article comprises the data of literature concerning the roles of transmembrane heparan sulfate proteoglycan syndecan-1 and other proteoglycans in MM. High expression of syndecan-1 (CD138) on the cell surface is one of hallmarks of normal and myeloma plasma cells. Due to the ability to bind and modulate the activity of many effector molecules such as ECM proteins, heparan sulfate-dependent hemopoietic growth factors and cytokines syndecan-1 promotes neoplastic cell growth, survival and dissemination.

Syndecan-1 contributes to the adhesion of myeloma cells to bone marrow stroma and takes part in their interactions with hemopoietic microenvironment. This proteoglycan acts on the cell surface and being shed by proteinases it becomes the component of bone marrow plasma, ECM and peripheral blood. The high level of soluble syndecan-1 in serum is considered as independent indicator of poor prognosis of the disease. Due to binding and enhancing the activity of hematopoietic growth factors such as HGF, EGF, APRIL, syndecan-1 promotes the preferential growth and survival of neoplastic myeloma cells. Syndecan-1 and other heparan sulfate proteoglycans being coreceptors of main angiogenic growth factors: VEGF and FGF-2 contribute to neoangiogenesis in MM. Syndecan-1 and chondroitin sulfate proteoglycan serglycin and some heparan sulfate-binding cytokines are involved in osteolytic bone disease. Heparan sulfate and syndecan-1 are presented by some authors as perspective targets for therapy of MM.

Key words: multiple myeloma, syndecan-1, proteoglycan, hemopoietic growth factor, cytokine, adhesion, angiogenesis, osteolytic bone disease.

Множественная миелома (ММ) является В-клеточным заболеванием, характеризующимся экспансией медленно пролиферирующих клональных плазматических клеток. Главными характерными особенностями ММ являются почти исключительная локализация опухолевых клеток в костном мозге, наличие моноклонального иммуноглобулина (парапротеина) в сыворотке и/или моче, усиление ангиогенеза и остеолитические поражения костей у большинства больных, гиперкальциемия, повышенная экспрессия антигена CD138 на миеломных клетках. В основе сложных патогенетических механизмов ММ лежат хромосомные aberrации и многочисленные геномные изменения, нарушение регуляции прогрессии клеточного цикла и клеточных сигнальных систем [1,2].

Необходимым условием развития опухоли являются реципрокные адгезивные взаимодействия миеломных клеток с компонентами костномозгового гемопоэтического микроокружения (ГМО), которое является источником факторов роста и цитокинов, обеспечивающих условия для предпочтительного роста опухолевых клеток, их выживания, дифференциации, миграции и защиты от спонтанного или индуцированного химиотерапией или другими причинами апоптоза. В миеломных клетках и клетках ГМО функционирует множество сигнальных систем, которые запускаются взаимодействием факторов роста и цитокинов со своими рецепторами, а также активацией молекул клеточной адгезии. Сигнальные каскады включают значительное количество протеинкиназ, в том числе серинтреонин- и тирозинкиназ, транскрипционные факторы а также множество других сигнальных молекул белковой природы. Сигнальные пути начинаются с активации рецепторов и заканчиваются транскрипцией таргетных генов, кодирующих соответствующие белки, например, циклин Д, циклинзависимые киназы, антиапоптотические белки и др. Для ММ, как и для других злокачественных заболеваний, характерны проявления сверхактивации пропролиферативных антиапоптотических сигнальных систем. Критическими для ММ являются конститутивно активные киназы: PI3-K/AKT (фосфатидил-инозитол 3-киназа/протеинкиназа В), MAPK (mitogen activated protein kinase) (RAS/RAF/MEK/ERK), JAK/STAT3 и транскрипционные факторы NFkB и STAT3, регулирующие транскрипцию генов, ответственных за адгезию, прогрессию клеточного цикла, лекарственную резистентность и другие функции [2]. На основании изучения биологии нормальных и опухолевых плазматических клеток и молекулярных

механизмов сигнальных путей, медирующих их пролиферацию и выживание и взаимодействия с ГМО, разрабатываются новые стратегии терапии ММ, изыскиваются новые мишени молекулярно направленной, или таргетной терапии с целью повышения ее эффективности, снижения токсичности, преодоления лекарственной резистентности. Предлагаются десятки таких мишеней для получения новых лекарственных средств. Наиболее широко разрабатываемыми являются транскрипционные факторы: NFκB, STAT-3 и убиквитин-протеасомный путь [3]. В последние годы в качестве мишеней таргетной терапии при получении противоопухолевых препаратов используются серинтреонинкиназа АКТ (протеинкиназа В), фосфатидилинозитол-3 киназа (PI-3K), белок теплового шока HSP-90 [3,4]. К новым стратегиям таргетной терапии относится использование при получении лечебных препаратов низкомолекулярных ингибиторов рецепторных тирозинкиназ, которые подавляют сигнализацию в миеломных клетках и клеточных элементах ГМО. Препарат пазопаниб (pazopanib) ингибирует фосфорилирование рецепторов VEGF (васкулярного эндотелиального фактора роста), который способствует опухолевому росту, выживанию и миграции опухолевых клеток, ангиогенезу и остеолиту. Под действием препарата тормозились индуцированные этим фактором роста сигнальные каскады АКТ и ERK, снижались опухолевый рост и ангиогенез, повышалась апоптотическая активность. Наряду с этими эффектами отмечалось снижение транскрипции генов связанных с патогенезом множественной миеломы: MM SET, Maf и гена синдекана-1 CDC-1 [5]. Некоторые авторы предлагают использовать синдекан-1, трансмембранный гепарансульфат-протеогликан (ГС-ПГ) плазматических клеток в качестве перспективной мишени при разработке противомиеломных средств [6].

Одной из характерных особенностей миеломных плазматических клеток является высокая экспрессия ГС-ПГ - синдекана 1 (CD138) на плазматической мембране. Последний является признанным маркером зрелых нормальных и миеломных плазматических клеток, и его выявление иммуногистохимическими методами часто используется при их идентификации в препаратах костного мозга. Синдекан-1 (С-1) выявляется на большинстве плазмоцитов. Исключение составляет минорная CD138(-) фракция, обнаруженная в костном мозге больных ММ, выявляющая некоторые особенности менее зрелых клеток. У последних была снижена экспрессия мРНК и белка С-1, отмечалось снижение активности сигнальных протеинкиназ прогрессии клеточного цикла, повышенная активность киназ, включающихся в адгезию

и низкая чувствительность к лекарственным препаратам. Предполагается, что эти клетки могут быть ответственны за возникновение рецидивов заболевания [6].

Синдекан-1 - трансмембранный ГС-ПГ, состоящий из полисахаридных цепей гепарансульфата (ГС), соединенных с белковым кором. ГС состоит из чередующихся остатков гексозамина (N-ацетил- или N-сульфоглюкозамина) и гексуроновой (глюкуроновой или идуроновой) кислоты и содержит переменное количество сульфатных остатков. ГС-цепи характеризуются большой структурной вариативностью в отношении количества и состава дисахаридных единиц; количество сульфатных групп и их позиционирование в полисахаридной цепи играет очень большую роль в возникновении специфических взаимодействий гепарансульфат-протеогликанов с эффекторными молекулами. Молекула С-1 состоит из 3 доменов: длинного – эктодомена, несущего переменное количество ГС-цепей и двух коротких: трансмембранного и цитоплазматического с относительно консервативной структурой. Эктодомен, который содержит ГС-цепь, и часть структуры корбелка является лиганд связывающим доменом. Передача сигнала от лиганда внутрь клетки осуществляется с участием трансмембранного и преимущественно цитоплазматического доменов [8].

Синдекан-1, подобно другим ГС-ПГ, обладает высокой биологической активностью и, благодаря способности специфически связывать и регулировать активность белков ВКМ, молекул клеточной адгезии, гемопоэтических факторов роста и цитокинов, он является важным интегральным компонентом сигнальных каскадов, медирующих адгезию, пролиферацию, выживание и лекарственную резистентность опухолевых клеток и играет важную роль в патогенезе ММ.

Синдекан-1 является мультифункциональным соединением и играет важную роль в биологии миеломных клеток (МК). Благодаря способности связывать белки внеклеточного матрикса (ВКМ) он способствует закреплению опухолевых клеток в костном мозге и вытекающим из контакта с ГМО последствиям – усилению экспрессии молекул клеточной адгезии, NFκB зависимой продукции факторов роста и цитокинов, способствующих росту, выживанию и лекарственной резистентности опухолевых клеток. Связывание белков ВКМ с С-1 происходит с участием ГС-цепей и корбелка последнего. ГС-цепи ответственны за адгезию к коллагену типа YI, а адгезия плазмочитов к фибронектину и ламинину осуществляется преимущественно через посредство бета-1 интегринов и корбелка [9]. Взаимодействие С-1 с интегринами приводит к активации последних и облегчает взаимодействие с ВКМ. При этом

индуцируются сигнальные каскады: PI-3K/AKT, NFkB и STAT3. Синдеканы в настоящее время относят к трансмембранным адгезионным рецепторам.

ГС в составе C-1 способен связывать, концентрировать на поверхности МК и регулировать активность целого ряда факторов роста и цитокинов, продуцируемых клеточными элементами ГМО и самими миеломными клетками, способствующих пролиферации и выживанию последних и воздействующих на микроокружение, способствуя ангиогенезу и остеолизу.

К группе ГС-зависимых факторов роста относятся фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) [10,11], васкулярный эндотелиальный фактор (VEGF) [12], фактор роста гепатоцитов (HGF) [13,14] и связывающие ГС представители эпидермальных факторов роста (EGF), имеющие рецепторы с тирозинкиназной активностью [15]. К этой группе можно отнести также APRIL (пролиферацию индуцирующий лиганд) – в том случае, если его рецептором является TACI [16] и трансформирующий фактор роста TGF-b [8]. Все эти факторы роста играют важную роль в развитии опухолевого процесса при ММ.

Предполагается, что самый важный вклад ГС-ПГ синдекана-1 в развитие ММ заключается в стимуляции ангиогенеза, который является необходимым условием роста и метастазирования опухолей. Повышенный ангиогенез в костном мозге является негативным прогностическим фактором и связан с прогрессией заболевания. ГС-ПГ является корецептором важных ангиогенных факторов: VEGF и FGF-2 а также мультифункционального фактора роста гепатоцитов HGF, который также способствует неоваскуляризации.

VEGF, продуцируемый стромальными клетками и миеломными плазмócитами, считается критическим активатором ангиогенеза и, кроме того, способствует росту, выживанию и миграции миеломных клеток. C-1, сброшенный с плазматической мембраны в микроокружение костного мозга, образует комплекс с этим фактором роста, и этот комплекс, укрепившись в ВКМ, воздействует на рецепторы с тирозинкиназной активностью на эндотелиальных клетках, способствуя росту последних и вовлечению в неоангиогенез. Причем в этот процесс вовлечены, как ГС-цепь, так и корбелок ГС-ПГ [17]. В связывании и регуляции активности VEGF принимают участие не только C-1, но и ГС-ПГ, продуцируемые клетками ГМО.

ГС-зависимый ангиогенный фактор FGF-2 продуцируется МК и взаимодействует с одним из своих четырех рецепторов на стромальных или эндотелиальных клетках. Мутация рецептора FGFR3 в результате хромосомной

транслокации t(4; 14)(p16; q32) и дисрегуляции ММ SET гена ассоциируются с крайне тяжелым течением заболевания и снижением ответа на ингибитор протеасомы бортезомиб [18]. Этот рецептор рассматривают в качестве онкогена.

ГС-ПГ взаимодействует с основными рецепторами вышеупомянутых факторов роста и с самими факторами, образуя тройные комплексы: фактор роста – ГС-ПГ - рецептор. При взаимодействии с ГС происходят изменения конформации фактора роста, делающие ее удобной для взаимодействия с рецептором, секвестрация лиганда на клеточной поверхности, димеризация и аутофосфорилирование рецептора, сопровождающиеся активацией последнего. Активированный благодаря взаимодействию с ГС и фактором роста рецептор индуцирует дальнейший запуск сигнальных систем: PI-3K, АКТ и активацию соответствующих транскрипционных факторов с последующим выходом на реализацию генетических программ и синтез таргетных белков [14].

На продвинутых стадиях ММ отмечается повышение содержания С-1 и ангиогенных факторов в плазме костного мозга и в периферической крови. Обнаружено сильно выраженное повышение уровня FGF-2, HGF и С-1 в периферической крови и особенно в плазме костного мозга, по сравнению с таковым здоровых лиц. Отмечена корреляция между ангиогенезом в костном мозге, оцениваемым по плотности микрососудов, с одной стороны, и уровнями синдекана-1 и HGF, с другой, что указывает на роль С-1 и проангиогенных факторов в неоваскуляризации при ММ [12].

Синдекан-1 связывает, концентрирует на плазматической мембране и регулирует активность плеiotропного фактора роста HGF, продуцируемого стромальными клетками, который, помимо проангиогенной активности, стимулирует адгезию [19], миграцию [20], пролиферацию и выживание МК [14]. Сигналы этого фактора роста трансдуцируются через сигнальный рецептор с-Met с тирозинкиназной активностью, который активируется благодаря взаимодействию с лигандом и С-1. При этом запускаются сигнальные каскады: PI-3K и RAS/MAP киназы.

Синдекан-1 выступает в качестве корецептора также ГС-связывающих эпидермальных факторов роста (EGF), продуцируемых клетками костномозгового микроокружения (моноцитами и стромальными клетками) и миеломными плазмócитами. Их рецепторы ErbB локализованы на МК. Из 10 лигандов этого семейства факторов роста только 3: амфирегулин, HB-EGF и нейррегулин, которые могут

связывать ГС, способствуют росту МК. Установлено, что число ГС-связывающих молекул EGF на клетку очень велико – более 10x5 и близко таковому молекул С-1, тогда как сигнальные рецепторы слабо экспрессированы [15]. Это свидетельствует о том, что ГС-ПГ синдекан-1 концентрирует высокие уровни молекул факторов роста на клеточной мембране вблизи рецепторов. Предполагается, что связывание с ГС-ПГ не только повышает эффективную концентрацию лиганда, но и индуцирует его конформационные изменения, способствующие активации рецептора. ГС-связывающие EGF стимулируют пролиферацию МК, индуцируя PI-3-киназный сигнальный путь. При обработке клеток гепаритиназой, расщепляющей ГС-цепи, связывание лиганда и рост миеломных клеток прекращались, что свидетельствовало о важной роли ГС в этих процессах. МК не связывали EGF в присутствии гепарина. Последний вызывал также снижение их пролиферации. Предполагается, что такой эффект гепарина связан с его конкуренцией с ГС. Предлагается рассматривать EGF сигнализацию в качестве возможной терапевтической мишени при молекулярно направленной терапии и использовать гепарин при лечении больных ММ [15].

ГС-ПГсиндекан-1 также связывает, защищает от протеолитической дегградации и усиливает сигнализацию APRIL (a proliferation inducing ligand) – одного из двух факторов роста, относящихся к семейству BAFF (B-cell activating factor) / APRIL) – в том случае, если его рецептором является TACI (transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor). Второй рецептор APRIL - BCMA (B-cell maturation antigen) не связывается с ГС [16].

BAFF и APRIL принадлежат к семейству факторов некроза опухоли и продуцируются остеокластами и полиморфонуклеарами, принимают участие в гуморальном иммунном ответе и являются необходимыми факторами выживания В-клеток [13,16]. Дерегуляция сигнальных путей, индуцируемых этими факторами роста, может приводить к возникновению В-клеточных неоплазий. APRIL в большом количестве секвестрируется на поверхности плазмочитов через связывание синдекана-1, благодаря чему не выявляется в свободном виде. ГС-ПГ выступает в качестве корецептора этого фактора и активирует сигнальный рецептор TACI. Предполагается, что при этом образуется тройной комплекс: APRIL – синдекан-1 -TACI (фактор роста – синдекан – рецептор), подобно тому, как это имеет место в отношении других ГС-зависимых факторов роста. Активация рецептора приводит к активации

транскрипционного фактора NFkB и индукции сигнального каскада PI3-K/АКТ [21]. Высокая экспрессия APRIL и синдекана 1 ассоциируются с опухолевой прогрессией.

Взаимодействуя с факторами роста и цитокинами, способствующими остеокластогенезу и остеолизу, и их рецепторами, регулируя их активность, С-1 способствует развитию костной болезни при ММ. Связывание ГС-ПГ является необходимым условием для оптимизации активности цитокинов: MIP-1a и MIP-1b, продуцируемых МК и являющихся мощными остеокластогенными факторами, действующими независимо от RANKL [22]. ГС-цепи С-1 могут способствовать остеолитическому разрушению костей и связанному с ним опухолевому росту и вследствие взаимодействия с DKK1 - ингибитором важного для остеобластогенеза WNT-сигналирования, секретируемым опухолевыми плазмócитами [24].

Связывание с ПГ способствует иммобилизации, защите от протеолитической деградации и созданию локальных градиентов концентраций важных для биологии МК хемокинов: стромального фактора роста-1 (SDF – stromal derived factor) [24], воспалительного белка макрофагов (MIP 1a и MIP-1b) и других, а также морфогенов: трансформирующего фактора роста (TGF - transforming growth factor), BMP (bone morphogenic protein - морфогенный белок кости) и WNT (Wingless type, секретируемый МК гликопротеин, стимулирующий адгезию, онкогенез, дифференциацию и лекарственную резистентность) [8].

Трансмембранный ГС-ПГ синдекан-1 проявляет свою активность в связывании и регуляции факторов роста и цитокинов не только на клеточной поверхности опухолевых клеток, но и в ГМО. С-1, синтезируемый в плазмócитах, поступает на клеточную мембрану, а затем в ходе конститутивного и регулируемого сбрасывания (shedding) поступает в ВКМ, в плазму костного мозга и затем в периферическую кровь больных ММ [25]. На стадии диагностики повышенный в несколько раз, по сравнению с нормой, уровень «растворимого» С-1 в сыворотке крови отмечается у 70-80% больных ММ [26], причем в плазме костного мозга его содержание в 2 раза выше, чем в периферической крови [27]. Доказано, что уровень С-1 в сыворотке является мощным независимым отрицательным прогностическим фактором, как на стадии диагностики активной ММ, так и на стадии плато [28]. Больные с высоким уровнем С-1 при диагностике имели плохой прогноз даже при хорошем ответе на проведенную терапию и характеризовались гораздо более короткой медианой выживаемости, чем с низким. Как правило, содержание С-1 в сыворотке коррелировало с таковым β_2 -микроглобулина

и опухолевой массой плазматических клеток в костном мозге. О повышении уровня синдекана-1 в сыворотке больных ММ, по сравнению с нормой, свидетельствует возрастание относительного содержания ГС на продвинутых стадиях заболевания, достигающее 30-40% у больных с содержанием опухолевых клеток в аспиратах костного мозга 80-85% [29]. Содержание С-1 росло с прогрессией заболевания и было очень высоким при отсутствии ответа на лечение [30]. Предлагается использовать этот параметр при разделении больных ММ на группы риска.

Сбрасывание С-1 с плазматической мембраны происходит с участием протеиназ. Структура «растворимого» С-1 отличается от таковой мембранного – это не цельная молекула протеогликана, а эктодомен, состоящий из цепей ГС и внеклеточного фрагмента корбелка, способный осуществлять связывание лиганд – факторов роста и цитокинов [8]).

В опытах на животных моделях установлено, что опухоли, образованные клетками, производящими большие количества растворимого С-1, быстро растут и диссеминируют – приведены доказательства, что растворимый, накапливающийся во внеклеточном матриксе С-1 способствует росту миеломных опухолей *in vivo* [31,32]. Предполагается, что отрицательный прогноз у больных ММ с высоким уровнем синдекана-1 в сыворотке связан с тем, что последний способствует накоплению в микроокружении костного мозга ГС-зависимых факторов роста, способствующих пролиферации и выживанию опухолевых клеток, ангиогенезу и остеолизу.

Установлена ассоциация между уровнем сывороточного С-1 и экспрессией в МК фермента гепараназы, расщепляющей ГС-цепи на биологически активные фрагменты, которые сохраняют способность связывать факторы роста, и способствуют их активности. Показано, что этот фермент регулирует уровень и локализацию С-1 в микроокружении костного мозга. Последний, как указывалось выше, усиливает опухолевый рост, ангиогенез и метастазирование – синдекан-1 и гепараназа действуют в тандеме при прогрессии ММ [32-34].

При исследовании механизма индуцированных гепараназой экспрессии и шеддинга ГС-ПГ синдекана-1 было обнаружено, что повышение экспрессии гепараназы в МК стимулирует продолжительное сигнализирование ERK киназы, которое в свою очередь вызывает повышение экспрессии протеаз: матричной металлопротеиназы MMP-9 и активатора плазминогена урокиназного типа. Последние способствуют шеддингу синдекана и формированию агрессивного опухолевого

фенотипа. Индуцированная гепараназой активация ERK-сигнального пути играет важную роль в регуляции клеточного роста, пролиферации и выживания опухолевых клеток а также в ангиогенезе и остеоллизе [35].

Конститутивный и индуцированный шеддинг эктодомена синдекана-1 с плазматической мембраны вместе со связанными с ним молекулами факторов роста и цитокинов в ВКМ костного мозга создает своеобразный резервуар для хранения и концентрации этих факторов в микроокружении, откуда они при необходимости (например, при рецидиве заболевания) могут быть востребованы опухолевыми клетками [6, 36].

Синдекан-1, присутствующий в ВКМ, вместе с ГС-протеогликанами, продуцируемыми клеточными компонентами стромы костного мозга (синдеканами-3 и -4, глипиканом-1 и перлеканом), рассматриваются в качестве организаторов ниш стволовых клеток и, так называемых, неопластических ниш [37, 38]. Ниши – специализированные структурные образования гемопоэтического микроокружения, определяющие судьбу стволовых клеток и клеток-предшественников, являющиеся убежищем, способствующим выживанию, дифференциации и росту опухолевых клеток. В состав ниши входят стромальные клетки костного мозга, эндотелиальные клетки, остеокласты, остеобласты и ВКМ костного мозга, главными компонентами которого являются белки: фибронектин, ламинин и коллаген, ПГ и гиалуроновая кислота. Неопластические ниши при ММ являются объектом исследования [39].

Важная роль синдекана-1 в опухолевом росте и метастазировании подтверждается в опытах на животных моделях *in vivo*. Показано, что полное выключение экспрессии гена синдекана с помощью siRNA (small interference RNA) приводит к многократному замедлению опухолевого роста или его прекращению, а частичное выключение, сохраняющее рост, сопровождается прекращением метастазирования. [40].

Синдекан-1 выполняет свои биологические функции не только на плазматической мембране плазматических клеток и в ВКМ костного мозга, но и в клеточном ядре. Наличие синдекана-1 в ядре плазмочитов продемонстрировано недавно несколькими методами. Причем его уровень в ядре, как и на клеточной поверхности и в ВКМ, модулируется действием гепараназы – при низкой экспрессии фермента в опухолевых клетках отмечается умеренный или относительно высокий уровень, а при высокой или при добавления экзогенного фермента, он, напротив, резко снижается [41]. Функции

ядерного С-1 в плазматических клетках фактически не исследованы. Однако ввиду того, что ГС обладает ингибиторным действием в отношении фермента гистонацетилтрансферазы, которая облегчает активацию транскрипции [42], предполагается, что снижение содержания С-1 в ядре под действием гепараназы может привести к ее усилению. При этом может повыситься экспрессия генов факторов роста, способствующих пролиферации и выживанию МК. Ядерный ГС рассматривается, таким образом, как возможный репрессор транскрипции, препятствующий опухолевому росту, а гепараназа, напротив, выступает как фактор, препятствующий его эффекту [41]. Эта гипотеза нуждается в экспериментальном подтверждении.

Синдекан-1 и другие ГС-ПГ связывают и регулируют активность многочисленных факторов роста и цитокинов и выступают в качестве ключевых регуляторов клеточного сигнального взаимодействия благодаря специфическим взаимодействиям, обеспечиваемым преимущественно особенностями тонкой структуры ГС. Структура ГС формируется в ходе синтеза и постсинтетических модификаций, происходящих внутри клетки, а также под действием экзогенных ферментов.

Для возникновения специфических взаимодействий ГС-ПГ с лигандами очень важным является профиль сульфатирования – количество и распределение сульфатных групп вдоль цепи полимера. Критическим условием для оптимальных ГС – фактор роста взаимодействий является наличие 6-O-SO₄ функциональных групп в молекуле глюкозамина. Показано, что ферменты – внеклеточные гепарансульфат-6-O-эндосульфатазы, которые избирательно отщепляют 6-O-сульфатные группы, значительно снижают активность ГС-зависимых факторов роста: FGF-2, HGF, EGF. В опытах на животных установлено, что когда SCID-мышам имплантируют клетки миеломной линии человека, трансфецированные с-ДНК, кодирующей эндосульфатазу, рост опухоли замедляется в 5-10 раз, по сравнению с контролем. Модификация структуры ГС действием этого фермента может приводить к замедлению развития опухоли *in vivo* [43].

При исследовании экспрессии генов, кодирующих белки, включающиеся в синтез и постсинтетические модификации полисахаридных цепей ГС и хондроитинсульфата в нормальных и миеломных плазматических клетках, были выявлены различия в экспрессии 9 генов. Причем установлено, что повышенная экспрессия гена EXT-1, кодирующего кополимеразу - фермент, катализирующий критический для биосинтеза первый этап полимеризации ГС-цепи, ассоциирована с

отрицательным прогнозом заболевания [44]. Выключение гена EХТ-1 приводило к резкому снижению скорости опухолевого роста *in vivo* и значительному повышению апоптоза, причем эффект был близок таковому, имеющему место при выключении гена синдекана [45].

Воздействие экзогенных ферментов, модифицирующих структуру ГС - гепараназы и эндосульфатазы а также ММР-9 протеиназы, катализирующей шеддинг эктодомена С-1, должно изменять его функциональную активность, как на клеточной поверхности, так и в микроокружении. Совместная деятельность факторов роста, цитокинов, молекул клеточной адгезии, компонентов внеклеточного матрикса, протеогликанов и индуцируемых ими сигнальных каскадов создают условия для преимущественного роста и выживания опухолевых клеток и возникновения лекарственной резистентности. При разработке средств молекулярно-направленной, или таргетной терапии ММ С-1 и ГС представляются в качестве перспективной мишени, поскольку этот ПГ признается ключевым регулятором множества сигнальных путей, а в качестве одного из перспективных лекарственных средств предлагаются модифицированные гепарины, не имеющие антикоагулянтной активности [46].

Доминирующим синтезируемым и секретируемым ПГ миеломных плазмоцитов является хондроитинсульфат-ПГ серглицин, характерный для гемопоэтических клеток [47]. В гемопоэтических клетках он выполняет функции по хранению и транспорту гранулярных компонентов: протеаз, некоторых факторов роста и цитокинов. В отличие от синдекана, серглицин не является трансмембранным ПГ, а локализуется преимущественно внутриклеточно, хотя и выявляется в некотором количестве на плазматической мембране. К настоящему времени имеется лишь одна работа, в которой исследовались локализация, экспрессия, структура и функции серглицина в МК. Выявлены повышенный уровень этого ПГ у 30% больных и повышенная экспрессия в клетках миеломных линий [48]. Эти результаты в значительной мере согласуются с данными о том, что уровень экспрессии генов ферментов синтеза и постсинтетических модификаций ХС, как и ГС, значительно повышен в миеломных клетках, по сравнению с нормальными [44].

Доказано, что миеломные плазмоциты не только синтезируют серглицин, но и секретируют большую его часть во внеклеточную среду, причем накапливаемый в костном мозге ПГ тормозит минерализацию костей. Ингибция минерализации костей

конститутивно секретируемым миеломными клетками серглицином может способствовать нарушению костеобразования при ММ [48].

Роль ХС и ХС-ПГ в патогенезе ММ мало изучена. Имеются данные о том, что фермент хондроитин-синтаза-1, катализирующий синтез ХС, является медиатором взаимодействий МК с остеокластами – одним из главных клеточных компонентов гемопоэтического микроокружения. Показано, что при кокультивировании МК с остеокластами имеет место резкое возрастание уровня этого белка в кондиционной среде – самое большое, по сравнению с остальными, тогда как при отдельном культивировании пик хондроитинсинтазы отсутствовал. Уровень фермента в кокультурах коррелировал с ростом опухолевых клеток. Предполагается, что присутствие в молекуле хондроитинсинтазы Fringe-домена, активирующего Notch-2 сигнальный путь, свидетельствует о возможном участии этого фермента в Notch-сигналировании, связанным с приобретением опухолевыми плазмócитами лекарственной резистентности [49].

Роль ГАГ и ПГ внеклеточного матрикса костного мозга при ММ мало исследована. Гиалуроновая кислота (гиалуронан, ГК), один из важных компонентов ГМО, является ГАГ, состоящим из чередующихся единиц глюкозамина и глюкуроновой кислоты. В отличие от ГС она не содержит сульфатных групп и не связана с белковым кором. ГК синтезируется и секретируется преимущественно стромальными клетками костного мозга и активно включается в опухолевую прогрессию, способствует росту и выживанию миеломных клеток. Эффект ГК на их выживание и лекарственную резистентность медируется взаимодействием с рецептором- CD44. При этом имеет место активация транскрипционного фактора NFkB [50].

Предполагается, что макромолекулярный ГС-ПГ ВКМ костного мозга и базальных мембран перлекан, подобно другим ГС-ПГ, принимает участие в медиации адгезии и связывании факторов роста и цитокинов.

Относящиеся к низкомолекулярным богатым лейцином белкам SLRP (small leucine rich protein) ХС/DS-протеогликаны: бигликан и декорин принимают участие в формировании ВКМ, остеогенезе и секвестрации трансформирующего фактора роста TGF b, способствующего апоптозу стромальных клеток, препятствуя его взаимодействию со своими сигнальными рецепторами [51].

Декорин принимает участие в формировании ВКМ костного мозга и контроле клеточного цикла. Он синтезируется остеобластами и стромальными клетками. Благодаря индукции p21 WAF - белка, образующего комплексы с циклинами и снижающего активность циклинзависимых киназ, декорин тормозит пролиферацию опухолевых клеток и, в значительной степени, является ответственным за антимиеломный эффект остеобластов. Так, при культивировании миеломных клеток с остеокластами в присутствии кондиционной среды остеобластов или при добавлении экзогенного декорина имели место снижение роста и индукция апоптоза МК. Антимиеломный эффект декорина был ассоциирован с ингибированием ангиогенеза и остеокластогенеза [52]. Авторы предлагают использовать экзогенный декорин в терапии ММ.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о том, что ПГ и, в первую очередь ГС-ПГ синдекан-1, играют важную роль в биологии и патофизиологии миеломных клеток. Принимая участие в клеточной адгезии вместе с интегринами, они могут выступать в качестве медиаторов адгезивных взаимодействий опухолевых клеток с компонентами гемопоезического микроокружения костного мозга. ГС-цепи в составе С-1 способны специфически связывать, концентрировать на поверхности МК или во внеклеточном матриксе костного мозга и регулировать активность целого ряда ГС-зависимых факторов роста а также цитокинов, продуцируемых клеточными элементами ГМО и самими опухолевыми клетками, способствующих преимущественному росту, выживанию и миграции последних. Связывание С-1 с проангиогенными и остеокластогенными факторами способствует ангиогенезу и костной болезни при прогрессии заболевания. Участие ГС-ПГ синдекана-1 в активации факторов роста и их рецепторами делает их участниками клеточного сигнального. Исследование ПГ при ММ имеет значение не только для понимания механизмов опухолевого роста и патофизиологии миеломных клеток, но и имеет практическое значение – в оценке прогноза заболевания и при разработке новых противоопухолевых препаратов в таргетной терапии, где ГС-ПГ будут фигурировать в качестве мишеней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bergsagel P., Kuehl W., Zhan F. et al. Cyclin D dysregulation: an early and unifying pathogenic event in multiple myeloma. //Blood. - 2005. - Vol.106. - P 296-303.

2. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. Современный взгляд на проблему – г. Алматы, 2007. – 480 с.
3. Yaski H., Hideshima T, Richardson P., Anderson K. Novel therapeutic strategies targeting growth factor signalling cascades in multiple myeloma. //Brit. J. Hemat. - 2006. - Vol. 132. - P.385-397.
4. Huston A., Leleu X. Xiaoying J., et al.Targeting Akt and heat shock protein 90 produces synergistic multiple myeloma cell cytotoxicity in the bone marrow microenvironment/// Clin. Cancer Res. - 2008. - Vol. 14. - P. 865-874.
5. Podar K., Tonon G., Sattler M., et al. The small molecule VEGF receptor inhibitor pazopanib (GW 786034 B) targets both tumor and endothelial cells in multiple myeloma. //Proc. Nat. Acad. Sci USA. - 2006. - Vol. 103. - P. 19478-19483.
6. Yang Y., MacLeod V., Dai Y., et al. The syndecan-1 heparan sulfate proteoglycan is a viable target for myeloma therapy.// Blood. - 2007. - Vol. 110. - P. 2041-2048.
7. Fuhler G., Baansra M., Chesi K.D. et al. Bone marrow stromal cell interaction reduces syndecan-1 expression and induces kinomic changes in myeloma cells.//Exp. Cell Res. 2010. - Vol. 316. - P. 1816-1828.
8. Gallagher J., Lyon M. Heparan sulfate. Molecular structure and interactions with growth factors and morphogens // Proteoglycans. Structure, biology and molecular interactions. Marcel Dekker Inc. N. Y., Basel. 2000. - P.27-60.
9. Kibler C., Schermutzki F., Waller H., et al. Adhesive interaction of human multiple myeloma cell lines with different extracellular matrix molecules.// Cell Adhes. Commun. - 1998. - Vol. 5. - P.307-323.
10. Filla M.S., Dam P., Rapraeger A.C. The cell surface proteoglycan syndecan-1 mediates fibroblast growth factor-2 binding activity.// J.Cell Physiol. - 1998. - Vol. 174. - P.310-321.
11. Stringer S.E. The role of heparan sulfate proteoglycans in angiogenesis.// Biochem. Soc. Trans. - 2006. - Vol. 34. - P.451-453.
12. Andersen N., Standal T., Nielsen J., et al. Syndecan-1 and angiogenic cytokines in multiple myeloma: correlation with bone marrow angiogenesis and survival // Brit. J. Haemat. - 2004. - Vol. 128. - P.210-217.
13. Klein B., Tarte K., Jourdan M. et al. Survival and proliferation factors of normal and malignant plasma cells.// Int. J. Hematol. - 2003. - Vol. 78. - P.106-113.

14. Derksen P., Keehnen R., Evers L. et al. Cell surface proteoglycan syndecan-1 mediates hepatocyte growth factor binding and promotes Met signaling in multiple myeloma. // Blood. - 2002. - Vol. 99. - P.405-410.
15. Mahtouk K., Cremer F., Reme T. et al. Heparan sulfate proteoglycans are essential for the myeloma cell growth activity of EGF-family ligands in multiple myeloma// Oncogene. - 2006. - Vol. 25. - P.7180-7191.
16. Moreaux J., Sprynski A., Dillon S., et al. April and TACI interact with syndecan-1 on the surface of multiple myeloma cells to form an essential survival loop.// Eur. J. Hemat. - 2009. - Vol. 83. - P. 119-129.
17. Purushothaman A., Uyama T., Kobayashi F. Heparanase-enhanced shedding of syndecan-1 by myeloma cells promotes endothelial invasion and angiogenesis. // Blood. - 2010. - Vol. 115. - P.2449-2457.
18. Guan M., Zhu L., Sombo G. et al. Bortezomib therapeutic effect is associated with expression of FGFR3 in multiple myeloma cells. //Anticancer Res. - 2009. - Vol. 29. - P.1-9.
19. Holt R., Baykov V., Ro T. et al. Human myeloma cells adhere to fibronectin in response to hepatocyte growth factor. //Haematologica. - 2005. - Vol. 109. - P. 479-488.
20. Holt R., Fagerli U., Baykov V. al. al. Hepatocyte growth factor promotes migration of human myeloma cells.// Haematologica. - 2008. - Vol. 93. - P. 619-622.
21. Ingold K., Zumsteg A., Tardivel A. Identification of proteoglycans as the APRIL specific binding partners.// J. Exp. Med. - 2005. - Vol. 201. - P. 1375-1383.
22. Stringer S., Forset M., Mulloy B. et al. Characterization of the binding site on heparan sulfate for macrophage inflammatory protein-1 alpha. //Blood. - 2002. - Vol. 100. - P.1543-1550.
23. Tian E., Zhan F., Walker R. et al. The role of WNT-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma.// New Engl. J.Med. - 2003. - Vol. 349. - P. 2483-2494.
24. Netelenbos T., van den Born J., Kessler F. et al. Proteoglycans on bone marrow endothelial cells bind and present SDF-1 towards hematopoietic progenitor cells. // Leukemia. - 2003. - Vol. 17. - P.175-184.
25. Bayer-Garner B., Sanderson R., Dhodapkar H. et al. Syndecan-1 (CD138) immunoreactivity in bone marrow biopsies of multiple myeloma: shed syndecan-1 accumulates in fibrotic regions.//Mod. Pathol. - 2001. - Vol. 14. - P. 1952-1058.

26. Dhodapkar M., Kelly T., Theus A. et al. Elevated levels of shed syndecan-1 correlate with tumor mass and decreased matrix metalloproteinase-9 activity in the serum of patients with multiple myeloma. // Brit. J. Haemat. - 1997. - Vol. 99. - P. 368-371.
27. Seidel C., Sundan A., Hiorth M. et al. Serum syndecan-1: a new independent prognostic marker in multiple myeloma.// Blood. - 2000. - Vol. 95. - P.388-392.
28. Lovell R., Dunn J., Begum G. et al. Soluble syndecan-1 level at diagnosis is an independent prognostic factor in multiple myeloma and the extent of fall from diagnosis to plateau predicts overall survival.// Brit. J. Haematol. - 2005. - Vol. 130. - P.5 42-548.
29. Харченко М.Ф., Бессмельцев С.С., Сельцер А.В. Содержание и состав гликозаминогликанов сыворотки крови при множественной миеломе.// Вестник гематол. - 2009. - Том V. - С. 47-48.
30. Aref S., Goda T., El-Sherbiny M. et al. Syndecan-1 in multiple myeloma: relations to conventional prognostic factors.// Hematology. - 2003. - Vol.8. - P. 221-228.
31. Yang Y., Yaccoby S., Liu W., et al. Soluble syndecan-1 promotes growth of myeloma tumors in vivo. //Blood. - 2002. - Vol. 100. - P. 610-617.
32. Sanderson R., Yang Y., Suva L., Kelly T. Heparan sulfate proteoglycans and heparanase-partners in osteolytic tumor growth and metastasis // Matrix Biol. - 2004. - Vol. 23. - P.341-352.
33. Yang Y., MacLeod V., Miso H. et al. Heparanase enhances syndecan-1 shedding: a novel mechanism of stimulation of tumor growth and metastasis// J. Biol. Chem. - 2007. - Vol. 282. - P. 13326-13333.
34. Mahtouk K., Hose D., Raynaud P. et al. Heparanase influences expression and shedding of syndecan-1 and its expression by the bone marrow microenvironment is a bad prognostic factor in multiple myeloma.// Blood. - 2007. - Vol. 109. - P. 4914-4923.
35. Purushothaman A., Chen L., Yang Y., Sanderson R.D. Heparanase stimulation of protease expression implicates it as a master regulator of the aggressive tumor phenotype in myeloma.// J. Biol. Chem. - 2008. - Vol. 283. - P. 32628-32636.
36. Sanderson E., Yang Y. Syndecan-1: a dynamic regulator of the myeloma microenvironment.// Clin.Exp. Metastasis. - 2008. - Vol. 25. - P. 149-159.
37. Schofield K., Gallagher J., David G. Expression of proteoglycan core in bone marrow stroma.// Biochem. J. - 1999. - Vol. 343. - P. 663-668.

38. Gupta P., Oegema T., Brazil J. Structurally specific heparan sulfates support primitive human hematopoiesis by formation of a multimolecular stem cell niche.// Blood. - 1998. - Vol. 92. - P. 4641-4651.
39. Basak G., Srivastava A., Malhovre R., et al. Multiple myeloma niche.// Curr. Pharmacol. Biotechnol. - 2009. - Vol. 10. - P. 345-346.
40. Khotskaya Y., Dai Y., Ritchie J. Syndecan-1 is required for robust growth, vascularization and metastasis of myeloma tumors in vivo.// J. Biol. Chem. - 2009. - Vol. 284. - P. 26085-26095.
41. Chen L., Sanderson R. Heparanase regulates levels of syndecan-1 in the nucleus.// PLoS ONE. - 2009. - Vol.4. - P. 4947.
42. Buczek-Thomas J., Hsia E., Rich C., et al. Inhibition of histone acetyltransferase by glycosaminoglycans.// J. Cell. Biochem. - 2008. - Vol. 105. - P. 108-120.
43. Dai Y., Yang Y., MacLeod, et al. HSulf-1 and HSulf-2 are potent inhibitors of myeloma tumor growth in vivo.// J. Biol. Chem. - 2005. - P. 40066-40073.
44. Bret C., Hose D., Reme T., et al. Expression of genes encoding for proteins involved in heparan sulfate and chondroitin sulfate chain synthesis and modification in normal and malignant plasma cells.// Brit.J.Haemat. - 2009. - Vol. 145. - P. 350-368.
45. Reijmers R., Groen R., Rozemuller H. et al. Targeting EXT-1 reveals a crucial role for heparan sulfate in the growth of multiple myeloma.//Blood. - 2010. - Vol. 115. - P. 601-604.
46. Casu B., Vlodavsky I., Sanderson R. Non anticoagulant heparins and inhibition of cancer.//Patophysiol. Haemost. Thromb. - 2008. - Vol. 36. - P.195-203.
47. Харченко М.Ф., Бессмельцев С.С., Блинов М.Н. Роль гликозаминогликанов и протеогликанов в гемопоэзе и иммунном ответе.// Вестник гематол. - 2007. – Том III - . с. 5-15.
48. Theocharis A., Seidel C., Borset M. et al. Serglycin constitutively secreted by myeloma plasma cells is a potent inhibitor of bone mineralization in vitro.// J. Biol. Chem. - 2006. - Vol. 281. - P. 35116-35128.
49. Yin L. Chondroitin synthase-1 is a key molecule in myeloma cell-osteoclast interactions // J. Biol. Chem. - 2005. - Vol. 280. - P. 15666-1567.
50. Ohwada C., Nakaseko C., Koizumi M. et al. CD44 and hyaluronan engagement promotes dexamethasone resistance in human myeloma cells.// Eur. J. Haematol. - 2008. - Vol. 80. - P. 245-250.

51. Yanmig B., Stuelten H., Kilts T., et al. Extracellular matrix proteoglycans control the fate of bone marrow stromal cells.// J. Biol. Chem. - 2005. - Vol. 280. - P. 30481-30489.
52. Li X, Pennisi A., Jaccoby S. Role of decorin in the antimyeloma effects of osteoblasts.// Blood. - 2008. - Vol. 112. - P.159-168.