

РОЛЬ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ОНКОГЕНЕЗЕ

О.М. Куделина^{1,*}, А.В. Сафроненко¹, М.Х.-Б. Бураева¹, М.Х.-Б. Бураева²,
С.А. Величко¹, Д.А. Терехова¹, Н.С. Бендерский², А.А. Толстой¹

¹ ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России
344022, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России
344037, Российская Федерация, Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63

За последние два десятилетия накопилось много фактических данных, которые подтверждают решающую роль альтернативного сплайсинга в процессе онкогенеза. При более подробном изучении механизмов сплайсинга было выявлено, что нацеливание на центральный процесс для атипичных клеток может стать потенциально новым подходом в лечении злокачественных новообразований. Во-первых, специфические изоформы белка, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга и принимающие участие в онкогенезе, потенциально могут выступать мишенью при терапии злокачественных новообразований. Во-вторых, высокие темпы клеточной пролиферации, предположительно, делают опухолевые клетки сильно зависимыми от функциональной сплайсосомы, что создаёт потенциальную гиперчувствительность к общей модуляции сплайсинга. Исследование роли альтернативного сплайсинга в онкогенезе и поиск терапевтических мишеней способствовало не только развитию более перспективного направления в онкологии, но и поиску новых лекарственных средств, оказывающих целенаправленное действие на процессы развития злокачественных новообразований.

Ключевые слова: альтернативный сплайсинг, факторы сплайсинга, онкогенез

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Куделина О.М., Сафроненко А.В., Бураева М.Х.-Б., Бураева М.Х.-Б., Величко С.А., Терехова Д.А., Бендерский Н.С., Толстой А.А. Роль альтернативного сплайсинга в онкогенезе. *Биомедицина*. 2024;20(3):130–135. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-130-135>

Поступила 09.04.2024

Принята после доработки 17.04.2024

Опубликована 10.09.2024

ROLE OF ALTERNATIVE SPLICING IN ONCOGENESIS

Oksana M. Kudelina^{1,*}, Andrey V. Safronenko¹, Maret Kh.-B. Buraeva¹,
Malika Kh.-B. Buraeva², Sofia A. Velichko¹, Diana A. Terekhova¹,
Nikita S. Benderskii², Artem A. Tolstoy¹

¹ Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia
344022, Russian Federation, Rostov-on-Don, Nakhichevsky Lane, 29

² National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health Care of Russia
344037, Russian Federation, Rostov-on-Don, 14th Liniya Str., 63

Over the past two decades, much evidence has accumulated that confirms the crucial role of alternative splicing in the process of tumorigenesis. A more detailed study of splicing mechanisms revealed that targeting the central process for atypical cells could be a potential new approach in the treatment of malignant neoplasms. Firstly, specific protein isoforms that are formed as a result of alternative splicing and are involved in tumorigenesis can potentially act as a target for the treatment of malignant neoplasms. Second,

high rates of cell proliferation presumably make tumor cells highly dependent on a functional spliceosome, creating potential hypersensitivity to global splicing modulation. The study of the role of alternative splicing in tumorigenesis and the search for therapeutic targets contributed not only to the development of a more promising direction in oncology, but also to the search for new drugs that have a targeted effect on the development of malignant neoplasms.

Keywords: alternative splicing, splicing factors, tumorigenesis

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Kudelina O.M., Safronenko A.V., Buraeva M.Kh.-B., Buraeva M.Kh.-B., Velichko S.A., Terekhova D.A., Benderskii N.S., Tolstoy A.A. Role of Alternative Splicing in Oncogenesis. *Journal Biomed.* 2024;20(3):130–135. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-20-3-130-135>

Submitted 09.04.2024

Revised 17.04.2024

Published 10.09.2024

Основные элементы альтернативного сплайсинга

Альтернативный сплайсинг (АС) — один из наиболее важных механизмов генной регуляции, позволяющий получить несколько различных вариантов транскрипта из одного гена. Этот процесс осуществляется с помощью комплекса белков (U2, U4, U5 и U6) и малых ядерных РНК (snRNA), называемого сплайсосомой, который удаляет экзоны и соединяет интроны для формирования зрелой мРНК [6].

Цис-действующие элементы — короткие нуклеотидные последовательности, расположенные как в экзонах, так и в интронах, представляют собой сайты связывания трансдействующих элементов. В зависимости от их положения и функций они подразделяются на энхансеры сплайсинга или сайленсеры. Энхансеры распознаются трансдействующими факторами, принадлежащими к семейству белков, богатых серином/аргинином (SR), что облегчает распознавание сайта сплайсинга и включение экзона. В свою очередь, сайленсеры взаимодействуют с другими типами трансдействующих факторов, такими как гетерогенные рибонуклеопротеины (hnRNPs), чтобы ингибировать распознавание сайта сплайсинга и способствовать пропуску экзона [6].

Другие регуляторы, которые играют ключевую роль в АС, — факторы сплайсинга (ФС) трансдействующие элементы. Они могут быть разделены на две основные категории: положительные и отрицательные регуляторы. Положительные ФС, такие как SR-белки, облегчают связывание компонентов сплайсосомы с прекурсорной РНК и активируют процесс сплайсинга. Отрицательные регуляторы, hnRNP белки, могут блокировать или замедлять связывание компонентов сплайсосомы с экзонами и тем самым предотвращать АС [6].

Таким образом, АС участвует в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза клетки посредством регулирования альтернативной экспрессии многих онкогенов или опухолевых генов-супрессоров.

Мутации цис-элементов

АС часто связан с изменениями в цис-регуляторных элементах, которые генерируют новые сайты сплайсинга, о чём свидетельствует открытие R.G. Jayasinghe и соавт. В данном исследовании был проведён анализ данных «Атласа ракового генома» с использованием биоинформационного инструмента MiSplice, который позволил оценить мутации в контексте сплайсинга с использованием данных секвенирования РНК. Было проанализировано

более 8000 образцов опухолей 33 видов рака и выявлено около 2000 мутаций, где отмечались данные изменения. Такой патологический АС в основном затрагивает гены-супрессоры опухолей, такие как *TP53* (многие типы рака), *GATA3* (рак молочной железы) и *PTEN* (глиома) [7].

Несмотря на высокую встречаемость этих мутаций, они вызывают сдвиг рамки считывания в последовательности пре-мРНК и тем самым способствуют образованию кодонов преждевременной терминации, которые, в свою очередь, приводят к удалению неверного транскрипта посредством нонсенс-опосредованного распада мРНК (NMD). Поэтому нарушения в цис-регуляторных элементах в здоровых тканях в основном успешно устраняются, в то время как в опухолях они способствуют метастазированию и формированию резистентности к терапии [2].

Тем не менее любые мутации в цис-регуляторных элементах, которые приводят к неправильному распознаванию экзонов и интронов в информационной РНК, способствуют образованию aberrантного транскрипта мутированного гена. Обычно цис-мутации, не подвергшиеся NMD, приводят к пропуску всего экзона или его фрагмента во время сплайсинга пре-мРНК. Так, мутация и делеция сайта сплайсинга в гене *MET* (протоонкоген, кодирует тирозинкиназу, отвечающую за связывание с фактором роста гепатоцитов, тем самым активируя сигнальные пути пролиферации клеток) индуцирует пропуск экзона, выступая в роли фактора онкогенеза при аденокарциноме легких (немелкоклеточный рак лёгкого) [1].

Мутации факторов сплайсинга

Ген *SF3B1* занимает ведущее место среди ФС, подвергаясь частым мутациям, является компонентом комплекса U2 snRNP и частью сплайсосомы. Изменения, которые в нём происходят, определяют отдельную клиническую форму миелодиспластического синдрома (МДС) — МДС с кольцевыми

сидеробластами высокого риска, острый миелолейкоз (ОМЛ), а также входит в число часто мутирующих генов при хроническом лимфоцитарном лейкозе и увеальной меланоме [5]. Данный ген (*SF3B1*) влияет на клетки с помощью различных механизмов: во-первых, вызывает включение ядовитого экзона (экзона, который содержит кодон преждевременной терминации в рамке считывания) в ген *BRD9* в разных типах опухолей, оказывая протуморогенный эффект; во-вторых, индуцирует неправильный сплайсинг киназы MAP3K7; в-третьих, нарушает эритропоэз и сплайсинг генов, а именно ген *ABCB7*, который влияет на биосинтез гема и вызывает образование кольцевых сидеробластов [8].

Мутации, затрагивающие SR-белок SRSF2, наблюдаются у 10% всех пациентов с МДС, в т. ч. у 31–47% с хроническим миелоноцитарным лейкозом (ХММЛ) и у 11% с ОМЛ, реже — при солидных опухолях. Мутации SRSF2 связаны с плохими клиническими исходами при МДС и ускорением прогрессирования до ОМЛ. Изменяется эффективность включения экзонов опосредованно SRSF2 из-за нарушения взаимодействия сайтов сплайсинга с U1 и U2 snRNP, всё это приводит к дефектному сплайсингу. Повышенное включение ядовитого экзона в свою очередь приводит к подавлению гистоновой метилтрансферазы (EZH2), участвующей в патогенезе МДС. Примечательно, что мутации с потерей функции EZH2 и мутация SRSF2 при ХММЛ являются взаимоисключающими [4].

U2AF1 — ген фактора, входящего в состав сплайсосомы, мутирует в 5–15% случаев МДС, в 5–17% — ХММЛ и в 3% — аденокарцином лёгких. Мутации в двух активных точках гена вызывают различные изменения в аффинности связывания РНК, что приводит к образованию различных паттернов сплайсинга. Способы, с помощью которых мутации *U2AF1* вызывают заболевание, в настоящий момент до конца не изучены [3].

Изменение экспрессии факторов сплайсинга

Аномальная экспрессия ФС часто происходит в солидных опухолях, приводя к прогрессированию заболевания, даже при отсутствии мутаций в сплайсинговом аппарате. Типичным примером протуморогенного изменения экспрессии является SR-белок SRSF1 в опухолях молочной железы, лёгких, толстой кишки и мочевого пузыря. Это может возникать в опухоли с амплификациями гена, кодирующего транскрипционный фактор (*MYC*). Сверхэкспрессия SRSF1 усиливает AC изоформ белков, обладающих антиапоптотическим эффектом (например, BIN1, BCL2L11, MCL1, CASC4) или увеличивающих пролиферацию раковых клеток (например, RON, MKNK2, S6K1, CASC4, PRRC2C), а также повышающих устойчивость к повреждению ДНК (egPTPMT1 и DBF4B). Кроме того, SRSF1 может активировать передачу сигналов роста на протеинкиназу mTORC1. Таким образом, SRSF1 может действовать синергично с *MYC*, приводя к более высокой степени злокачественности опухоли и более короткой выживаемости у пациентов с раком молочной железы и лёгких, отчасти за счёт усиления активации регулятора трансляции сигнальных путей клеточного роста [3].

Также установлено, что ген *MYC*, регулирующий факторы транскрипции, участвует в патогенезе различных видов рака и контролирует экспрессию многих ФС. В т. ч. регулирует экспрессию семейства hnRNP, которые могут действовать как опухолестимулирующе, так и наоборот. Таким

образом, мутация гена *MYC* способствует онкогенной трансформации, приводя к возникновению лимфомы, глиомы и нейробластомы. Повышение регуляции некоторых специфических hnRNP (hnRNP A1, hnRNP A2 и PTB) участвует в регуляции сплайсинга пируваткиназы и способствует экспрессии, ассоциированной с раком изоформы этого фермента [3]. Изменения, которые происходят в результате нарушения экспрессии ФС, определение их уровня и модуляция их содержания может стать перспективным направлением для поиска абсолютно новых подходов в лечении онкологических заболеваний.

Закключение

Альтернативный сплайсинг играет важнейшую роль для стабильности процессов пролиферации и апоптоза, поэтому изменения экспрессии, мутации его главных составляющих, таких как цис-элементы и факторы сплайсинга, влияют на нормальный цикл клеток. Кроме того, нарушения данного процесса могут приводить к парадоксальному изменению функций белков, участвующих в делении, и оказывать противоположный протуморогенный эффект. Учитывая всё сказанное о влиянии альтернативного сплайсинга на онкогенез, можно сделать вывод, что данный регуляторный механизм представляет определённый интерес для проведения фундаментальных доклинических, а в последующем — клинических исследований, результаты которых могут стать основой для прорыва в терапии и диагностике онкозаболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Abramowicz A., Gos M. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J. Appl. Genet.* 2018;59(3):253–268. DOI: 10.1007/s13353-018-0444-7
2. Bessa C., Matos P., Jordan P., Gonçalves V. Alternative splicing: Expanding the landscape of cancer biomarkers and therapeutics. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(23):9032. DOI: 10.3390/ijms21239032
3. Bradley R.K., Anczuków O. RNA splicing dysregulation and the hallmarks of cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 2023;23(3):135–155. DOI: 10.1038/s41568-022-00541-7
4. Chen S., Benbarche S., Abdel-Wahab O. Splicing factor mutations in hematologic malignancies. *Blood.* 2021;138(8):599–612. DOI: 10.1182/blood.2019004260

5. Dalton W.B., Helmenstine E., Pieterse L., Li B., Gocke C.D., Donaldson J., Xiao Z., Gondek L.P., Ghiaur G., Gojo I., Smith B.D., Levis M.J., DeZern A.E. The K666N mutation in SF3B1 is associated with increased progression of MDS and distinct RNA splicing. *Blood Adv.* 2020;4(7):1192–1196. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019001127
6. Ghigna C., Paronetto M.P. Alternative splicing: Recent insights into mechanisms and functional roles. *Cells.* 2020;9(10):2327. DOI: 10.3390/cells9102327
7. Jayasinghe R.G., Cao S., Gao Q., Wendl M.C., Vo N.S., Reynolds S.M., Zhao Y., Climente-González H., Chai S., Wang F., Varghese R., Huang M., Liang W.W., Wyczalkowski M.A., Sengupta S., Li Z., Payne S.H., Fenyö D., Miner J.H., Walter M.J.; Cancer Genome Atlas Research Network; Vincent B., Eyraes E., Chen K., Shmulevich I., Chen F., Ding L. Systematic analysis of splice-site-creating mutations in cancer. *Cell Rep.* 2018;23(1):270–281.e3. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.03.052
8. Jiang M., Chen M., Liu Q., Jin Z., Yang X., Zhang W. SF3B1 mutations in myelodysplastic syndromes: A potential therapeutic target for modulating the entire disease process. *Front. Oncol.* 2023;13:1116438. DOI: 10.3389/fonc.2023.1116438

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Куделина Оксана Михайловна*, к.м.н.,
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: kuomi81@mail.ru

Oksana M. Kudelina*, Cand. Sci. (Med.), Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: kuomi81@mail.ru

Сафроненко Андрей Владимирович, д.м.н.,
проф., ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Andrey V. Safronenko, Dr. Sci. (Med.), Prof., Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: andrejsaf@mail.ru

Бураева Марет Хаваж-Баудиевна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: meriberskaa@gmail.com

Maret Kh.-B. Burayeva, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: meriberskaa@gmail.com

Бураева Малика Хаваж-Баудиевна, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: malika_buraeva@mail.ru

Malika Kh.-B. Burayeva, National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: malika_buraeva@mail.ru

Величко Софья Алексеевна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: vel-sofa@mail.ru

Sofia A. Velichko, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: vel-sofa@mail.ru

Терехова Диана Андреевна, ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России;
e-mail: danat88022@gmail.com

Diana A. Terekhova, Rostov State Medical University of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: danat88022@gmail.com

Бендерский Никита Сергеевич, ФГБУ
«Национальный медицинский исследователь-
ский центр онкологии» Минздрава России;
e-mail: cornance@yandex.ru

Nikita S. Benderskii, National Medical Research
Centre for Oncology of the Ministry of Health Care
of Russia;
e-mail: cornance@yandex.ru

Толстой Артём Александрович, ФГБОУ ВО
«Ростовский государственный медицинский
университет» Минздрава России;
e-mail: ar.tolstoj@yandex.ru

Artem A. Tolstoy, Rostov State Medical University
of the Ministry of Health Care of Russia;
e-mail: ar.tolstoj@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author