

Л.В. Спирин^{1,2}, З.А. Юрмазов¹, Е.А. Усынин¹, И.В. Кондакова¹

Экспрессия и содержание VHL в ткани рака почки, связь с клинико-морфологическими параметрами заболевания и транскрипционными и ростовыми факторами

¹ НИИ онкологии Томского НИМЦ

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

Введение. Гиперэкспрессия фактора HIF на фоне недостатка VHL является ключевым событием, связанным с манифестом и прогрессией светлоклеточного почечноклеточного рака. Однако значение данного показателя для развития заболевания и формирования ответа на таргетную терапию до конца неясно. Цель исследования заключалась в изучении связи экспрессии и содержания VHL в ткани рака почки с клинико-морфологическими параметрами и уровнем мРНК транскрипционных факторов NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, ростового фактора VEGF и CAIX.

Материалы и методы. В исследование включено 39 пациентов с почечно-клеточным раком. Локализованная форма заболевания (T1–2N0M0) диагностирована у 20 больных, 19 пациентов имели диссеминированный процесс (T1–3N0–1M1). Материалом исследования являлась нормальная и опухолевая ткань, полученная при выполнении хирургического этапа лечения. Экспрессия VHL определялась методом ПЦР в реальном времени. Содержание белка pVHL оценивали с помощью метода Вестерн Блоттинг.

Результаты. В результате проведенного исследования отмечено, что рост уровня мРНК VHL в ткани опухоли совместно с количественным снижением соответствующего белка был связан с увеличением размера опухоли. Распространенность заболевания и развитие отдаленных метастазов были ассоциированы с ростом как мРНК, так и содержанием белка VHL в трансформированной опухолевой ткани. Отмечено наличие отрицательной корреляции между уровнем мРНК VHL, содержанием соответствующего белка и положительная ассоциация с экспрессией гена NF-κB p65. Содержание VHL в опухоли было ассоциировано с падением уровня мРНК NF-κB p50, NF-κB p65 и VEGF.

Обсуждение. Повышение экспрессии гена VHL и содержания соответствующего белка в ткани опухоли способствовало росту мРНК

транскрипционных факторов, в частности NF-κB, что, в свою очередь, сопровождалось прогрессией опухоли. Увеличение содержания белка VHL в опухолевой ткани приводило к снижению уровня мРНК транскрипционных и ростовых факторов, что, вероятно, связано с их инактивацией, в том числе и за счет протеасомного расщепления. Эти взаимодействия, на наш взгляд, являются важными этапами в онкогенезе рака почки.

Заключение. Увеличение экспрессии гена VHL и содержания белка pVHL имеет решающее значение в развитии заболевания, формировании отдаленных метастазов за счет активации транскрипционных, ростовых факторов.

Ключевые слова: VHL, pVHL, светлоклеточный рак почки, транскрипционные и ростовые факторы

Введение

Рак почки является распространенной злокачественной опухолью. Следует отметить, что более 50% заболевших нуждаются в проведении системной противоопухолевой терапии на момент первичного обращения или при прогрессировании опухолевого процесса после попытки радикального лечения [1]. Широко известен вклад дефицита белка-онкосупрессора — белка фон Хиппель–Линдау (pVHL) в развитие светлоклеточного рака почки, который представляет собой компонент E3 убиквитин-лигазы [2]. Известно, что соматическая мутация данного гена связана с нарастанием уровня фактора HIF и сопровождается интенсивным ростом опухоли [3].

Молекулярная картина развития накопления фактора HIF на фоне недостатка VHL является ключевым событием, связанным с манифестом и прогрессией светлоклеточного почечно-клеточного рака [1, 3]. Применение таргетной терапии при данном гистотипе связано с блокированием ключевых сигнальных каскадов. Однако, несмотря на все успехи лекарственная терапия не позволяет достичь высокой эффективности, а

обусловлено это рядом биологических и молекулярных факторов, формирующих агрессивное течение заболевания [4]. Имеются единичные исследования, предпринимавшие попытки поиска предсказательных маркеров, основанных на пути pVHL/HIF-1/VEGF [5, 6], однако они не подтверждаются в рандомизированных исследованиях и клинической практике.

Кроме того, в настоящее время найдено около 32 клинически значимых мутаций гена *VHL* и большое количество незначимых изменений гена [7]. Однако сам факт наличия мутаций *VHL*, без учета особенностей биологического поведения опухоли, не всегда влияет на течение, исход заболевания и эффективность таргетной терапии [2].

Интенсивность молекулярных процессов онкогенеза определяет течение заболевания. Известно, что уровень pVHL в ткани опухоли значительно снижен по сравнению с прилежащей нетрансформированной тканью и коррелирует со стадией заболевания [8]. Имеются единичные данные о роли экспрессии *VHL* при развитии рака почки, где уровень показателя снижается по сравнению с неизменной тканью [9, 10].

Роль белка VHL в прогрессировании заболевания опосредована его участием в широком спектре онкологических процессов. Известно, что в присутствии нормального белка VHL сигналинг NF-κB-супрессирован [11, 12, 13, 14].

Проведенные исследования показывают разносторонний характер изменений в онкогене опухоли почки. В целом связь белка с клиническими особенностями заболевания, ассоциации с молекулярными маркерами практически не изучены. Статья направлена на поиск новых потенциальных мишеней целевой противоопухолевой терапии. Цель исследования заключалась в изучении экспрессии и содержания VHL в ткани рака почки в связи с клинико-морфологическими параметрами и уровнем мРНК транскрипционных факторов NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, ростового фактора VEGF и CAIX.

Материалы и методы

В исследование включено 39 пациентов с почечноклеточным раком. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ. Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.) Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Локализованная стадия заболевания (T1–2N0M0) диагностирована у 20 больных, 19 имели диссеминированный процесс (T1–3N0–1M1). Всем пациентам с локализованным раком было проведено хирургическое лечение в клиниках НИИ онкологии Томского НИМЦ. Большим с диссеминированным процессом проводилось комбинированное лече-

ние, которое включало 2-месячный курс предоперационной таргетной терапии тирозинкиназным ингибитором пазопанибом 800 мг один раз в сутки с последующим выполнением хирургического этапа в объеме нефрэктомии/резекции почки.

Материалом исследования являлись образцы опухолевой и неизменной ткани почки, полученные при проведении оперативного лечения, находящиеся на расстоянии не менее одного см от границы опухоли, которые после забора замораживались и хранились при температуре –80 °С.

Выделение РНК. РНК выделяли с помощью набора RNeasy mini Kit, содержащего ДНК I (Qiagen, Germany). Для оценки количества выделенной РНК на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Scientific, USA) оценивали концентрацию и чистоту выделенной РНК. Концентрация РНК составила от 80 до 250 нг/мкл, A260/A280=1,95–2,05; A260/A230=1,90–2,31. Целостность РНК оценивалась при помощи капиллярного электрофореза на приборе TapeStation (Agilent Technologies, USA) и набора R6K ScreenTape (Agilent Technologies, USA). RIN составил 5,6–7,8.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени. Уровень экспрессии генов оценивали при помощи количественной обратной-транскриптазной ПЦР в режиме реального времени (RT-qPCR) с использованием красителя SYBR Green на амплификаторе iCycler (BioRad, USA). Для получения кДНК на матрице РНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора ОТ m-MuLV-RH (БиоЛабмикс, Россия) со случайными гексануклеотидными праймерами в соответствии с инструкцией к набору. ПЦР ставили в трех репликах в объеме 25 мкл, содержащем 12,5 мкл БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (БиоЛабмикс, Россия), 300 нМ прямого и обратного праймеров и 50 нг кДНК. CAIX: F 5'-GTTGCTGTCTCGCTTGGAA-3', R 5'-CAGGGTGTGAGAGAGGGTGT-3'; HIF-1a: F 5'-CAAGAACCTACTGCTAATGCCA-3', R 5'-TTTGGTGAGGCTGTCCGA-3'; EPAS1: F 5'-TGGAGTATGAAGAGCAAGCCT-3', R 5'-GGGAACCTGCTCTTGTGT-3'; NFKB1: F 5'-CGTGTAACCAAGCCCTAAA-3', R 5'-AACCAAGAAAGGAAGCCAAGT-3'; RELA: F 5'-GGAGCACAGATACCACCAAGA-3', R 5'-GGGTTGTTGGTCTGGAT-3'; VEGFA: F 5'-AGGGCAGAATCATCACGAA-3', R 5'-TCTTGCTCTATCTTCTTGGTCT-3'; KDR: F 5'-AACACAGCAGGAATCAGTCA-3', R 5'-GTGGTGTCTGTGCATCGGA-3'; GAPDH: F 5'-GGAAGTCAGGTGGAGCGA-3', R 5'-GCAACAATATCCACTTTACCAGA-3'.

Двухшаговая программа амплификации включала один цикл — 94 °С, 10 мин — предварительная денатурация; 40 циклов — один шаг 94 °С, 10 с и 2 шаг 20 с — при температуре 60 °С. Праймеры были подобраны с использованием программы Vector NTI Advance 11.5 и базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>).

В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» фермента GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), уровень экспрессии каждого целевого гена нормализовали по отношению к экспрессии GAPDH. Количественный анализ экспрессии проводили по 2ΔΔCt по отношению к конститутивно-экспрессируемому гену-рефери фермента GAPDH.

Получение гомогенатов. Замороженную ткань (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-НСl буфера (pH=7,5), содержащего 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорид магния, 1 мМ дитиотреитол, 1 мМ ЭДТА и 100 мМ хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 мин при 10 000 g и 4 °С.

Электрофорез. Электрофорез проводили по Laemmli в 13% полиакриламидном геле.

Вестерн блоттинг. После электрофореза переносили полипептиды на PVDF-мембрану (Immobilon, Millipore, США). Иммунодетекцию проводили с антителами к phospho-VHL(Ser68) (Affinity Biosciences, USA). Затем мембрану подвергали обработке системой хемилюминесцентной детекции ECL (GE Healthcare, Великобритания). Анализ результатов осуществляли с использованием системы визуализации ChemiDocTM Touch Imaging System, а их плотность оценивали с помощью компьютерной программы «ImageLab» (BioRad, США). Стандартизация проводилась относительно β-актина. Результаты выражали в процентах от содержания показателей в неизменной ткани.

Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета программ Statistica 12.0. Проверку нормальности проводили с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Результаты определения экспрессии генов представлены как Me (Q1; Q3). Значимость различий независимых параметров оценивали по критерию Манна-Уитни. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Для проведения корреляционного анализа использовали критерий Спирмена.

Результаты

В ткани опухоли почки уровень мРНК и содержание VHL зависели от стадии заболевания и распространенности опухолевого процесса (табл. 1). Рост экспрессии изучаемого показателя в 12,5 раза выше у пациентов со стадией заболевания T3–4N0–1M1 по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0 был отмечен на фоне падения фосфорилированной

формы белка в 5 раз в изучаемых группах больных. Наиболее значимые изменения были выявлены при изучении распространенности опухолевого процесса. Экспрессия гена и содержание VHL связаны с развитием отдаленных метастазов. Зафиксировано возрастание уровня мРНК и уровня белка данного показателя у пациентов с диссеминированной формой в 32,0 и 2,68 раза соответственно, по сравнению с пациентами с локализованным раком.

Отмечено повышение уровня мРНК HIF-2, NF-κB p50 в 2,8 раза, соответственно, и CAIX в 1,3 раза в первичной опухоли со стадией T3–4N0–1M1 по сравнению с T1–2N0M0. Также показано, что формирование отдаленных метастазов сопровождалось ростом экспрессии ядерных факторов NF-κBp50 и NF-κBp65 в 4,0 и 2,8 раза соответственно, по сравнению с пациентами с локализованной формой заболевания (табл. 2).

Наличие значимых связей между экспрессией гена и содержанием белка фон Хиппель-Линдау было подтверждено и при проведении корреляционного анализа. Так, отмечено наличие корреляции между уровнем мРНК VHL, содержанием соответствующего белка ($r = -0,46$; $p = 0,005$) и экспрессией NF-κB p65 ($r = 0,3$; $p = 0,006$). Содержание VHL было ассоциировано с экспрессией NF-κB p50 ($r = -0,36$; $p = 0,022$), NF-κB p65 ($r = -0,34$; $p = 0,022$) и VEGF ($r = -0,30$; $p = 0,05$).

Таблица 1. Экспрессия гена VHL и содержание pVHL в ткани опухоли пациентов в зависимости от размера опухоли и распространенности заболевания, Me (Q1; Q3)

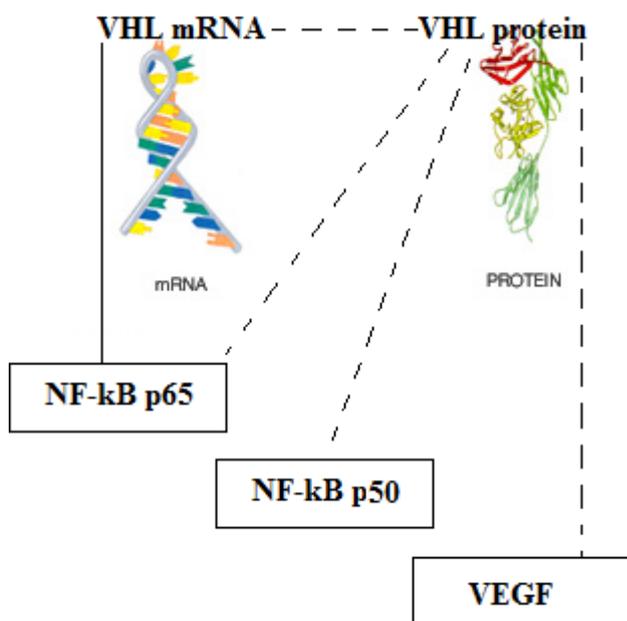
	Размер опухоли (критерий T)		Распространенность заболевания	
	T1–2N0M0	T3–4N0–1M0–1	Локализованная форма (T1–2N0M0)	Диссеминированная форма (T1–4N0–1M1)
Уровень мРНК VHL, UE	7,00 (2,00; 31,32)	87,50 (4,22; 128,00)*	2,00 (0,50; 4,0)	64,00 (8,46; 128,00)**
Содержание pVHL, % к неизменной ткани	77,20 (42,25; 99,79)	15,30 (11,30; 46,07)*	55,00 (20,10; 93,61)	147,54 (100,54; 156,78)**

Примечание. * Значимость различий по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0, $p < 0,05$; ** значимость различий по сравнению с локализованной формой, $p < 0,05$.

Таблица 2. Экспрессия генов ядерных факторов HIF-1, HIF-2, NF-κBp50 и NF-κBp65, ростовых факторов в зависимости от размера опухоли и распространенности заболевания, Me(Q1; Q3)

Показатель, UE	Размер опухоли (критерий T)		Распространенность заболевания	
	T1–2N0M0	T3–4N0–1M1	Локализованная форма (T1–2N0M0)	Диссеминированная форма (T1–4N0–1M1)
HIF-1	1,29 (0,11; 2,53)	0,79 (0,09; 3,50)	1,20 (0,11; 3,30)	1,07 (0,01; 6,60)
HIF-2	0,94 (0,13; 2,87)	2,68 (0,13; 128,00)*	1,00 (0,13; 4,00)	1,13 (0,01; 3,50)
NF-κB p50	1,07 (0,1; 12,72)	3,00 (0,03; 9,13)*	1,00 (0,08; 12,72)	4,08 (0,10; 6,92)*
NF-κB p65	1,39 (0,22; 4,60)	1,64 (0,66; 12,73)	1,00 (0,08; 12,725)	2,83 (0,01; 6,60)*
VEGF	1,39 (0,13; 25,00)	1,00 (0,13; 16,00)	1,35 (0,13; 25,00)	1,03 (0,00; 3,43)
CAIX	1,97 (0,31; 2,00)	2,56 (0,85; 5,00)*	0,81 (0,02; 2,00)	0,07 (0,01; 25,1)
VEGFR2	0,74 (0,16; 8,57)	0,75 (0,25; 16,00)	1,00 (0,33; 16,00)	0,32 (0,04; 12,5)

Примечание. * Значимость различий по сравнению с пациентами с размером опухоли T1–2N0M0, $p < 0,05$; ** значимость различий по сравнению с локализованной формой, $p < 0,05$.



Корреляционные связи между уровнем мРНК VHL и содержанием pVHL в ткани опухоли с транскрипционными и ростовыми факторами. Обозначения: сплошная линия — прямая корреляция, пунктир — отрицательная корреляция

Обсуждение

В результате проведенного исследования отмечено, что рост экспрессии гена *VHL* совместно со снижением уровня его белка был связан с увеличением размера опухоли. Распространенность заболевания сопровождалась ростом как мРНК, так и содержанием VHL в опухоли. Известно, что уровень pVHL и экспрессия гена в трансформированной ткани значительно снижены по сравнению с прилегающей тканью и коррелируют со стадией заболевания, что особенно выражено при наличии отдаленных метастазов [8–10].

Интенсивность молекулярных процессов в онкогенезе рака почки связана с ролью белка в регуляции основных клеточных процессов [15–17]. Так, выявленные изменения были связаны с повышением экспрессии транскрипционных факторов HIF-2, NF-κB p50, NF-κBp65 и фермента CAIX.

Наличие значимых связей между экспрессией и содержанием белка фон Хиппель-Линдау было подтверждено и при проведении корреляционного анализа. Повышение уровня мРНК VHL связано со снижением содержания соответствующего белка и ростом экспрессии транскрипционного фактора NF-κB p65. Однако повышение количества pVHL в ткани опухоли было ассоциировано со снижением экспрессии NF-κB p65, NF-κB p50 и VEGF.

На рисунке представлены корреляционные связи между уровнем мРНК VHL и содержанием pVHL в ткани опухоли с транскрипционными и ростовыми факторами. Отмечено, что

содержание белка VHL приводило к супрессии уровня мРНК транскрипционных и ростовых факторов, что, вероятно, связано с их инактивацией, в том числе и за счет протеасомного расщепления. При этом возрастание экспрессии VHL способствовало росту мРНК транскрипционных факторов, в частности NF-κB.

Заключение

Соотношение экспрессии и содержания белка VHL имеет решающее значение в развитии рака почки и появлении отдаленных метастазов с учетом гетерогенности мутационных изменений гена *VHL*. Выявлены ассоциации между содержанием активированной формы белка pVHL, экспрессией гена, уровнем мРНК транскрипционных и ростовых факторов в ткани почечно-клеточного рака. Стоит отметить, что в случае прогрессии заболевания и развития диссеминированной формы, происходит увеличение количества активированного белка фон Хиппель Линдау на фоне активации ключевых молекулярных каскадов, способствующих росту инвазивного и метастатического потенциала опухоли. Выявлены взаимосвязи между транскрипционным и ростовыми факторами в ткани светлоклеточного рака почки, которые ответственны за развитие и прогрессирование заболевания. Вероятно, развитие рака почки связано в том числе с ростом уровня мРНК и содержанием белка VHL, который также регулирует ключевые процессы онкогенеза.

Авторы внесли равнозначный вклад в работу над статьей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chung C. From oxygen sensing to angiogenesis: Targeting the hypoxia signaling pathway in metastatic kidney cancer // *Am J Health Syst Pharm*. 2020;77(24):2064–2073. <https://doi:10.1093/ajhp/zxaa308>. PMID: 33016992
2. Kim BJ, Kim JH, Kim HS, Zang DY. Prognostic and predictive value of VHL gene alteration in renal cell carcinoma: a meta-analysis and review // *Oncotarget*. 2017;8(8):13979–13985. <https://doi:10.18632/oncotarget.14704>
3. Lessi F, Mazzanti CM, Tomei S et al. VHL and HIF-1 : gene variations and prognosis in early-stage clear cell renal cell carcinoma // *Med Oncol*. 2014;31(3):840. <https://doi:10.1007/s12032-014-0840-8> Epub 2014 Jan 21. PMID: 24446253.
4. Choueiri TK, Fay AP, Gagnon R et al. The role of aberrant VHL/HIF pathway elements in predicting clinical outcome to pazopanib therapy in patients with metastatic clear-cell renal cell carcinoma // *Clin Cancer Res*. 2013;19(18):5218–26. <https://doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0491>. Epub 2013 Jul 23. PMID: 23881929; PMCID: PMC4522695.
5. Spirina LV, Usynin YA, Yurmazov ZA et al. Transcription factors NF-κB, HIF-1, HIF-2, growth factor VEGF, VEG-

- FR2 and carboanhydrase IX mRNA and protein level in the development of kidney cancer metastasis // *Mol Biol (Mosk)*. 2017;51(2):372–377. Russian. <https://doi.org/10.7868/S0026898417020197>. PMID: 28537244.
6. Spirina LV, Usynin EA, Yurmazov ZA et al. Effect of Targeted Therapy With Pazopanib on Expression Levels of Transcription, Growth Factors and Components of AKT/m-TOR Signaling Pathway in Patients with Renal Cell Carcinoma // *Asian Pac J Cancer Prev*. 2017;18(11):2977–2983. <https://doi.org/10.22034/APJCP.2017.18.11.2977>. PMID: 29172268; PMCID: PMC5773780
 7. Alves MR, Carneiro FC, Lavorato-Rocha AM et al. Mutational status of VHL gene and its clinical importance in renal clear cell carcinoma // *Virchows Arch*. 2014;465(3):321–30. <https://doi.org/10.1007/s00428-014-1629-z>. Epub 2014 Jul 16. PMID: 25027579.
 8. Ferchichi I, Kourda N, Sassi S et al. Aurora A overexpression and pVHL reduced expression are correlated with a bad kidney cancer prognosis // *Dis Markers*. 2012;33(6):333–40. <https://doi.org/10.3233/DMA-2012-00942>. PMID: 23151618; PMCID: PMC3810770.
 9. Xiao-Fen W, Ting C, Jie L et al. Correlation analysis of VHL and Jade-1 gene expression in human renal cell carcinoma // *Open Med (Wars)*. 2016;11(1):226–230. <https://doi.org/10.1515/med-2016-0043>
 10. Spirina LV, Kondakova IV, Yurmazov ZA et al. VHL Expression in Kidney Cancer: Relation to Metastasis Development, Transcription and Growth Factors and Component of Akt/m-TOR Signaling Pathway // *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(5):671–675. <https://doi.org/10.1007/s10517-019-04596-9>. Epub 2019 Oct 17. PMID: 31625068.
 11. Kim DS, Choi YB, Han BG et al. Cancer cells promote survival through depletion of the von Hippel-Lindau tumor suppressor by protein crosslinking // *Oncogene*. 2011;30(48):4780–90. <https://doi.org/10.1038/onc.2011.183>. Epub 2011 May 30. PMID: 21625219.
 12. Yang H, Minamishima YA, Yan Q, et al. pVHL acts as an adaptor to promote the inhibitory phosphorylation of the NF-kappaB agonist Card9 by CK2 // *Mol Cell*. 2007;28(1):15–27. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.09.010>. PMID: 17936701; PMCID: PMC2128776.
 13. Wang J, Ma Y, Jiang H et al. Overexpression of von Hippel-Lindau protein synergizes with doxorubicin to suppress hepatocellular carcinoma in mice // *J Hepatol*. 2011;55(2):359–68. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2010.10.043>. Epub 2010 Dec 17. PMID: 21168458.
 14. Walmsley SR, McGovern NN, Whyte MK, Chilvers ER. The HIF/VHL pathway: from oxygen sensing to innate immunity // *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2008;38(3):251–5. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2007-0331TR>. Epub 2007 Oct 11. PMID: 17932373.
 15. Evans AJ, Russell RC, Roche O et al. VHL promotes E2 box-dependent E-cadherin transcription by HIF-mediated regulation of SIP1 and snail // *Mol Cell Biol*. 2007;27(1):157–69. <https://doi.org/10.1128/MCB.00892-06>. Epub 2006 Oct 23. PMID: 17060462; PMCID: PMC1800649.
 16. Arias-Gonzalez L, Moreno-Gimeno I, del Campo AR et al. ERK5/BMK1 is a novel target of the tumor suppressor VHL: implication in clear cell renal carcinoma // *Neoplasia*. 2013;15(6):649–59. <https://doi.org/10.1593/neo.121896>. PMID: 23730213; PMCID: PMC3664997.
 17. Mikhaylova O, Stratton Y, Hall D et al. VHL-regulated MiR-204 suppresses tumor growth through inhibition of LC3B-mediated autophagy in renal clear cell carcinoma // *Cancer Cell*. 2012;21(4):532–46. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.02.019>. PMID: 22516261; PMCID: PMC3331999.

Поступила в редакцию 15.06.2021 г.

*L.V. Spirina^{1,2}, Z.A. Yurmazov¹, E.A. Usynin¹,
I.V. Kondakova¹*

Expression and content of VHL in kidney cancer tissue, relationship with clinical and morphological parameters of the disease, expression of transcriptional and growth factors

¹ Cancer Research Institute, TNRMC, Tomsk, Russia
² Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Introduction. The molecular picture of the HIF overexpression with VHL deficiency is a key event associated with the manifestation and progression of clear cell renal cell carcinoma. However, this indicator's significance for the development of the disease and the formation of a response to targeted therapy is not clear. The study aimed to study the relationship between the expression and content of VHL in kidney cancer tissue with clinical, morphological parameters, mRNA level NF-κB p65, NF-κB p50, HIF-1, HIF-2, VEGF, and CAIX.

Material and methods. The study included 39 patients with renal cell carcinoma. The disease's localized form (T1–2N0M0) was diagnosed in 20 patients; 19 patients had a disseminated process (T1–3N0–1M1). The study's material was normal, and tumor tissue was obtained during the surgical stage of treatment. VHL expression was determined by real-time PCR. The pVHL protein content was estimated using the Western Blotting method.

Results. As a result of the study, it was noted that an increase in the VHL expression, together with a decrease in its protein level, was associated with an increase in tumor size. The prevalence of the disease was accompanied by an increase in both mRNA and VHL content in cancers. There was a negative correlation between the level of VHL expression, the content of the corresponding protein, and a positive association with the expression of NF-κB p65. VHL content in cancers was associated with decreased expression of NF-κB p50, NF-κB p65, and VEGF.

Discussion. An increase in VHL expression and protein's content in tumor tissue promoted the growth of mRNA of transcription factors, in particular NF-κB, which is accompanied by tumor spread. An increase in the VHL protein content led to the suppression of the mRNA level of transcriptional and growth factors, which is probably associated with their inactivation, including through proteasome cleavage, and is an important stage in oncogenesis.

Conclusion. An increase in the expression of the VHL gene and the content of the pVHL protein is of decisive importance in the development of the disease, the formation of distant metastases due to the activation of transcriptional and growth factors.

Key words: clear cell kidney cancer, VHL, pVHL, transcriptional and growth factors