

О.И. Кит, Д.И. Водолажский, Э.Е. Расторгуев, Е.М. Францияни,
Д.Х. Поркшиян, С.Б. Панина

Мультиформная глиобластома: патогенез и молекулярные маркеры

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону

Мультиформная глиобластома (GBM) — наиболее распространенная и инвазивная низкокодифференцированная опухоль мозга, характеризующаяся практически 100 %-ным рецидивированием и неблагоприятным прогнозом для пациентов. Цель настоящего обзора — анализ исследований и экспериментальных результатов последних лет (базы данных Scopus, Web of Science, Pubmed), касающихся характерных для глиобластомы соматических мутаций, aberrантной регуляции экспрессии генов сигнальных путей, в т.ч., EGFR, TGF β , а также маркеров прогрессирования GBM. Отдельно обсуждаются молекулярно-генетические субтипы глиобластом и результаты NGS-исследований.

Ключевые слова: мультиформная глиобластома, молекулярные маркеры, онкогенные мутации, эпигенетические изменения

Мультиформная глиобластома (GBM), по классификации ВОЗ глиома IV стадии, — наиболее распространенная и инвазивная низкокодифференцированная опухоль мозга, характеризующаяся практически 100 %-ным рецидивированием. Частота встречаемости с учетом возраста варьирует от 0.59 до 3.69 (возраст старше 50 лет является фактором риска) на 100.000 человек в зависимости от региона мира [8]. Пациенты с GBM имеют плохой прогноз, их стандартное лечение обычно начинается с хирургической резекции, за которой следует лучевая терапия или комбинированная лучевая и химиотерапия. К сожалению, надежные биомаркеры для ранней диагностики GBM на настоящий день отсутствуют [30]. К известным благоприятным прогностическим маркерам глиобластом относят метилирование гена *MGMT* (O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза) и миссенс-мутации в гене *IDH1* (изоцитратдегидрогеназа 1). Репарирующий фермент *MGMT* удаляет алкильные группы нескольких оснований ДНК, из которых O⁶-положение гуанина является наиболее чувствительным к действию химиотерапевтического препарата темозоломида, в силу чего эпигенетически опосредованный сайленсинг гена *MGMT* коррелирует с увеличенной выживаемостью пациентов с GBM [9, 15].

Опухолевая трансформация клеток может происходить в результате наследственных или соматических мутаций в генах, контролирующих критические регуляторные процессы клетки. Аккумуляция таких генетических повреждений со временем способствует прогрессирующей онкотрансформации в исходной клеточной популяции, а в случае глиобластомы — в глиальных клетках, что, в конечном итоге, приводит к образованию опухоли [42].

Морфологически глиобластомы относят к категории астроцитарных новообразований и классифицируют на подтипы первичных и вторичных глиобластом, поражающих пациентов разных возрастных групп, характеризующихся разными сигнальными путями, мутациями, профилями РНК- и белковой экспрессии, а, следовательно, и разным ответом пациентов на лучевую и химиотерапию. Подавляющее большинство глиобластом (90%) быстро развивается *de novo* из нормальных глиальных клеток и характерно для более пожилых пациентов (первичные GBM). Вторичные GBM прогрессируют из диффузной астроцитомы низкой степени злокачественности или анапластической астроцитомы, встречаются гораздо реже, преимущественно у молодых пациентов, во фронтальных долях мозга, характеризуются меньшей степенью некроза и более благоприятным прогнозом, относительно первичных глиобластом. Несмотря на то, что гистологически первичные и вторичные глиобластомы малоразличимы, их генетические и эпигенетические молекулярные профили отличаются [30, 32].

Так, для первичных глиобластом характерны потеря гетерозиготности в регионе 10q (70%), соматические амплификации гена рецептора эпидермального фактора роста *EGFR* (36%), потеря активности *PTEN* (phosphatase and tensin homolog) за счет мутаций, преимущественно миссенс-замен в 4, 5, 6, 7 экзонах (25%), а также делеции гена *p16^{INK4a}* (31%). Для вторичных глиобластом характерны точечные мутации в генах *TP53* (60% случаев, наиболее раннее детектируемое генетическое изменение), *IDH1* (изоцитратдегидрогеназа 1), *ATRX* (α -thalassemia/mental-retardation-syndrome-X-linked gene) наряду с потерей хромосомы 19q, а также усиление

сигналинга через *PDGFR* (рецептор тромбоцитарного фактора роста α -типа). Перечисленные мутации приводят к увеличению активности тирозинкиназных рецепторов и, как следствие, к активации сигнальных путей Ras-ERK и PI3K. При вторичных глиобластомах часто наблюдаются трансверсии G:C→A:T в CpG-сайтах [29,31]. Один из наиболее типичных маркеров, отличающих вторичные глиобластомы от первичных, — это мутация R132H *IDH1* [15].

Согласно результатам анализа данных базы TCGA (The Cancer Genome Atlas), глиобластомы дифференцируются на следующие молекулярные субтипы в зависимости от особенностей их экспрессионного профиля: классические, пронейрональные, нейрональные и мезенхимальные GBM. Ответ пациентов на агрессивную химиотерапию также зависит от молекулярного субтипа — при классических глиобластомах он наиболее благоприятен, при пронейрональных — не приносит результата [43] (табл. 1).

При классических GBM происходит амплификация хромосомы 7, утрата хромосомы 10 (93%), очень часто встречаются утраты участков на хромосоме 9p21.3 (95%), что сопровождается амплификацией гена *EGFR* (в 50% случаев с перестройками гена), гипорегуляцией проапоптотических белков, утратой локусов *PTEN* и *CDKN2A*. Мутации в генах *TP53*, *NF1*, *PDGFRA*, *IDH1* практически не наблюдаются. Классические глиобластомы хорошо отвечают на лучевую и химиотерапию, вследствие интактного ответа на повреждение ДНК, опосредованного p53, и статуса метилирования *MGMT*. Опухоли данного типа демонстрируют повышенную экспрессию компонентов сигнальных путей Notch (*NOTCH3*, *JAG1*, *LFNG*) и Sonic hedgehog (*SMO*, *GAS1*, *GLI2*) [42-44].

При мезенхимальных глиобластомах наблюдается преимущественно гемизиготная делеция региона хромосомы 17q11.2, зачастую инактивация генов *TP53* (32%) и *PTEN* (32%), повышение уровня провоспалительных маркеров, включая NF- κ B, активация MAPK пути и ангиогенеза [42,44]. Одним из ключевых генов паттерна мезенхимальных GBM является ген, кодирующий YKL-40 [39]. Несколько исследований идентифицировали этот ген — *CHI3L1* (Chitinase-3-like protein 1, белковый продукт YKL-40) как один из наиболее гиперэкспрессированных при глиобластоме по сравнению с другими опухолями ЦНС или нормальными тканями мозга. Повышенные уровни сывороточного белка YKL-40, который активирует Akt и MAP-сигналинг, коррелируют со стадией глиомы [18, 39].

Пронейрональные глиобластомы характеризуются экспрессионным профилем, напоминающим таковой при развитии нейрональной

ткани: высокая экспрессия маркеров олигодендроцитов (*PDGFRA*, транскрипционных факторов *OLIG2*, *TCF3*) и пронейрональных генов (транскрипционных факторов *SOX* и *TCF4*, *ASCL1*, *Achaete-scute homolog 1*). В этой группе распространены генетическими изменениями являются гиперэкспрессия, амплификации/мутации *PDGFRA*, мутации *IDH1* (30%), часто встречаются также мутации *TP53* (54%) и *PIK3CA/PIK3R1* (19%). Нейрональные глиобластомы менее изучены и имеют экспрессионный профиль, сходный с нормальной тканью мозга, экспрессирующей маркеры нейронов [42, 43].

Стволовые клетки мезенхимальных глиобластом имеют более агрессивный *in vitro* и *in vivo* (интракраниальные ксенографты мышей) фенотип и более устойчивы к радиационному воздействию по сравнению со стволовыми клетками пронейрональных глиобластом [7]. Экспрессия гена *ALDH1A3* (Aldehyde Dehydrogenase 1 Family Member A3) — одного из наиболее гиперрегулируемых репрезентативных генов мезенхимальных GBM — ассоциирована с ускоренной пролиферацией и мультипотентностью клеточной популяции мезенхимальных, но не пронейрональных GBM [7]. Оценка уровня экспрессии белков, различных между кластерами мезенхимальных и пронейрональных глиобластом из базы TCGA, показала, что активация протоонкогена тирозинкиназы Src ассоциирована с подгруппой GBM с более благоприятным прогнозом, а подгруппа опухолей с активированным RPS6 (ribosomal protein S6), эффектором сигнального пути mTOR, связана с худшим прогнозом [27].

PTEN

Ген *PTEN* (phosphatase and tensin homolog), расположенный на хромосоме 10q23, — опухолевый супрессор, фосфатаза с двойной субстратной специфичностью. Преимущественно дефосфорилирует фосфоинозитидные субстраты, например PIP3 (Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate). Это ингибирует Akt/PKB сигнальный путь. Разнообразные соматические мутации *PTEN* способствуют канцерогенезу. Мутации *PTEN* вовлечены в прогрессирование злокачественных астроцитом, глиобластом, но крайне редко встречаются при астроцитомах низкой степени злокачественности [51]. Экзоны 5, 7 и 8 гена *PTEN* являются участками с высокой частотой мутирования; наиболее часто встречаются миссенс-замены [2]. Продукт *PTEN* негативно регулирует сигнальный путь mTOR. Экспрессия *PTEN* снижена в опухолевой ткани глиомы по сравнению с нормальной тканью мозга, и, согласно результатам многофакторного

регрессионного Соx-анализа, является независимым прогностическим фактором развития глиомы [50]. Потеря гетерозиготности в регионе 10q предсказывает худший исход у пациентов с олигодендроглиомой и GBM [30].

EGFR

Соматические мутации в гене *EGFR* (рецептор эпидермального фактора роста из семейства рецепторных тирозинкиназ), связанного с сигналингом через PI3K/Akt и MAPK/ERK, встречаются наиболее часто при классическом субтипе глиобластом (50% от всех случаев). Механизмы онкогенной конверсии *EGFR* при глиобластомах включают амплификацию гена *EGFR* (7p12), структурные перестройки рецептора, гиперэкспрессию лигандов *EGF*-семейства клетками опухоли или окружающей стромы, а также активирующие мутации в киназном домене гена *EGFR* [23]. Частота амплификации/гиперэкспрессии гена *EGFR* больше при первичных глиобластомах, в то время, как случаев инактивации p53 больше при вторичных GBM. Дисрегуляция EGFR усиливает рост опухоли, миграцию, ангиогенез, распространение метастазов [34, 44].

С развитием глиобластом ассоциирована конститутивно активная мутантная форма *EGFRvIII* (Δ EGFR, или de2-7 EGFR), которая возникает путем делеции последовательности 801 п.н. внутри рамки считывания в экстраклеточном домене *EGFR* [41]. Данная делеция приводит к fusion двух концов пептида и созданию антигенного сайта с новым остатком глицина, не встречающегося в пептиде дикого типа. Таким образом, *EGFRvIII* является идеальным опухолеспецифическим антигеном в терапии GBM [34]. Исследования *in vivo* продемонстрировали, что введение Δ EGFR-специфических моноклональных антител (ABT-806) значительно уменьшает рост опухоли и усиливает апоптоз, ABT-806 находится сейчас во II фазе клинических испытаний [37]. Другой препарат, находящийся сейчас на заключительных фазах клинических испытаний и отмеченный FDA как Breakthrough Therapy, — риндопепимут, инъекционная пептидная вакцина, нацеленная на поверхностный антиген *EGFRvIII*, потенциально увеличивает продолжительность жизни *EGFRvIII*-позитивных пациентов с GBM [34].

Однако следует отметить, что явление иммунной супрессии, характерное для пациентов с глиобластомой, может потенциально снижать эффективность таких иммунотерапевтических препаратов, как риндопепимут: в тканях GBM происходит значительное увеличение количества иммуносупрессивных CD4+CD25+FOXP3+

T-регуляторных клеток относительно нормальных тканей, а также повышение экспрессии иммуносупрессивных факторов, в т.ч. TGF- β , VEGF, простагландина E2, нарушение экспрессии транскрипционного фактора Stat3 [40]. Эти факторы вовлечены не только в регуляцию иммунного ответа, но и роста и выживания клеток. Так, для лечения GBM достаточно широко используют моноклональные антитела IgG1 — бевацизумаб (авастин). Одобренный FDA в 2009 году, препарат нацелен на ангиогенный лиганд VEGF (vascular endothelial growth factor), секретируемый высоко-васкуляризованными глиобластомами [6].

STAT (signal transducer and activator of transcription family)

Транскрипционный фактор STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), один из членов семейства STAT, может играть роль и опухолевого супрессора, и онкогена в патогенезе глиом в зависимости от генетических особенностей опухоли [21]. Активация *STAT3* часто встречается совместно с экспрессией *EGFR* при первичных глиомах высокой, в отличие от низкой, степени злокачественности, внося свой вклад в устойчивость глиом к анти-EGFR препаратам. Активированный клеточный рецептор EGFR способен фосфорилировать Stat3 в положении Y705. p-Stat3, в свою очередь, перемещается в ядро клетки и активирует экспрессию различных генов, связанных с опухолевой трансформацией. Клетки глиом с гиперактивированным Stat3 экспрессируют высокие уровни циклина D1 и VEGF [25]. Kruczyk et al. провели полногеномный поиск распределения активных связывающих сайтов для p-Stat3 и активирующих гистоновых модификаций одновременно с транскриптомным анализом. Удалось установить, что около 60% от всех специфично отмеченных с помощью H3K4me3 и H3ac Stat3-связывающих сайтов коррелировали с изменениями в паттерне экспрессии. Было обнаружено 284 гена, экспрессия которых изменялась после ингибирования Stat3-сигналинга в клетках глиомы, среди них: *ANK1* (анкирин-1, белок цитоскелета, контролирующей транспорт везикул и других белков), *LTA* (провоспалительный лимфотоксин- α), *TXNIP* (тиоредоксин-связывающий белок), опухолевый супрессор, ингибитор антиоксиданта тиоредоксина [21]. Недавно методом NGS был обнаружен случай соматической fusion-мутации *NAB2-STAT6* при глиобластоме, вероятно, приводящей к усиленной ядерной транслокации транскрипционного фактора Stat6. У этого же пациента была обнаружена амплификация гена *CDK4* (циклин-зависимая киназа 4) на хромосо-

ме 12, которая очень часто подвергается различным амплификациям/перестройкам (гены *CDK4*, *MDM2*) при GBM [10]. Следует отметить, что гены циклинов также могут быть дисрегулированными при глиомах. Интегрированный анализ полногеномного ДНК-метилирования и генной и белковой экспрессии идентифицировал 977 гиперрегулируемых генов при глиомах, среди которых был ген циклина В1 *CCNB1*, который необходим для прогрессии клеточного цикла в фазе G2/M и может являться новой мишенью в терапии глиом [46].

TGFβ и Sox

Сигнальный путь, связанный с ростовым фактором TGFβ, — еще одна потенциальная терапевтическая мишень при глиомах высокой степени злокачественности, включая GBM. Для TGFβ характерна двойная роль в канцерогенезе — как опухолевого супрессора, так и онкогена. Однако, при глиомах способность TGFβ ингибировать пролиферацию теряется. Гиперактивированный сигналинг TGFβ при глиомах приводит к установлению фенотипа опухолевых стволовых клеток, вероятно, ответственных за инициацию канцерогенеза, прогрессирование и рецидив болезни [19]. TGFβ опосредует стволовое состояние клеток и способствует их дифференциации через активацию JAK-STAT пути, а также активацию экспрессии транскрипционного фактора Sox2, на которую также оказывает влияние Sox4, прямая мишень TGFβ, в клетках-инициаторах глиомы [17,19,48]. В целом, транскрипционные факторы из семейства Sox связаны с прогрессией опухоли и неблагоприятным прогнозом при различных видах рака, в т.ч. и глиобластоме. Являясь мишенью сигнального пути mTOR, Sox2 модулирует чувствительность клеток глиомы к темозоломиду, регулируя экспрес-

сию *SOX9* [48]. Транскрипционный фактор Oct4, играющий важную роль в поддержании пролиферации опухолевых стволовых клеток глиомы, может формировать комплекс Oct4-Sox4, активирующий энхансерный регион гена *SOX2* [17].

Контроль экспрессии генов *SOX* может осуществляться с помощью микроРНК. Исследования показывают наличие двойной отрицательной обратной связи между miR-145 и Sox-2 при GBM [11]. *In vitro* установлено, что в клеточной линии глиомы miR-145 играет роль опухолевого супрессора, подавляя активность онкогенных белков Sox9 и ADD3 (adhesion-associated molecule adducin 3). В этих клетках промотор гена miR-145 гиперметилирован, что способствует транскрипционному сайленсингу [36]. Трансфекция клеток глиомы имитатором miR-145-mimic значительно снижала миграцию и инвазию клеток. Среди других мишеней miR-145 удалось обнаружить фактор роста соединительной ткани [22]. Другая микроРНК — miR-132 — положительно коррелировала с концентрацией TGFβ и была вовлечена в модуляцию сигнального пути ростового фактора TGFβ и гипорегуляцию экспрессии *SMAD7*, напрямую воздействуя на 3'-UTR *SMAD7* [45].

Опухолевые стволовые клетки и другие маркеры глиобластом

Наличие субпопуляции опухолевых стволовых клеток (ОСК) в ткани глиобластомы является фактором, лежащим в основе химиорезистентности этих опухолей. Для этих клеток была показана активация ключевых сигнальных путей, характерных для нейрональных стволовых клеток, а именно, PI3K, OLIG2, SHH, Notch, Wnt [14]. Опухолевые стволовые клетки при GBM, как показал сравнительный анализ состояния хроматина, характеризуются широ-

Таблица 1. Генетические aberrации, эпигенетические изменения и экспрессионные профили первичных и вторичных глиобластом и их субтипов [29, 31, 32]

Первичные GBM (95%)				Вторичные GBM (5%)
Классические (30%)	Мезенхимальные (33%)	Нейрональные (17%)	Пронейрональные (20%)	
Генетические aberrации, соматические мутации генов				
Амплификация <i>EGFR</i> , конститутивно активная мутантная форма <i>EGFRvIII</i> , амплификация хромосомы 7, утрата хромосомы 10, делеции <i>PTEN</i> , <i>CDKN2A</i>	Делеция <i>NF1</i> (17q11.2), амплификация <i>EGFR</i>	Не определено	Пронейрональные GBM сходны с вторичными GBM. Амплификации <i>PDGFRA</i> , <i>MYC</i> , <i>OLIG2</i> , мутации <i>TP53</i> , редко <i>IDH1</i>	Мутации <i>IDH1</i> (наиболее распространена), <i>TP53</i> , потери 19q, 10q
Экспрессионные профили, сигнальные пути				
Sonic Hedgehog (↑) — <i>SMO</i> , <i>GAS1</i> , <i>GLI2</i> , Notch (↑) - <i>NOTCH3</i> , <i>JAG1</i> , <i>LFNG</i>	YKL-40 (↑) (ген <i>ALDH1A3</i>), NF-kB (↑), TGFβ (↑)	NEFL, GABRA1, SYT1	PI3K/mTOR (↑), <i>PDGFRA</i> (↑), <i>OLIG2</i> (↑), Sox (↑), <i>TCF3,4</i> (↑), Hedgehog (↑), Notch (↑), Wnt (↑)	<i>ASCL1</i> (↑), Hedgehog (↑), Notch (↑), Wnt (↑), <i>OLIG2</i> (↑), PI3K/mTOR (↑)
Эпигенетические изменения: статус метилирования <i>MGMT</i>				
+	-	-	-	+ (75%)

кой активацией генов, в том числе транскрипционных факторов, в норме сдерживаемых репрессорами группы Polycomb (EZH2, BMI1), по сравнению с клеточной линией GBM и неопухолевыми клетками. Эта активация связана с утратой H3K27me3 (триметилированный лизинный остаток в положении 27 гистона H3) в промоторах генов транскрипционных факторов, что отражает неэффективность Polycomb-репрессии в ОСК. Важнейшим транскрипционным фактором в этой системе является *ASCL1*, активирующий канонический сигнальный путь Wnt и поддерживающий стволовое состояние этих клеток, экспрессия которого была повышена при глиобластомах [38]. Более того, показано, что в клеточной линии ОСК глиобластомы Wnt-сигналинг дисрегулирован, сравнение экспрессионного профиля культуры ОСК и нейрональных стволовых клеток выявило наличие «Wnt-signature» в составе шести генов, а использование ингибитора Wnt-пути снижало пролиферацию. При этом комбинированная экспрессия трех из этих генов (рецептора *FZD7* и растворимых ингибиторов Wnt, frizzled-related белков *SFRP1* и *SFRP4*) коррелировала с исходом течения заболевания GBM [20].

В других транскрипционных репрессорах — лизинных метилтрансферазах гистонов — также были обнаружены соматические мутации при глиобластомах, например, 3614Ddel гена *MLL3* (mixed-lineage leukemia 3) [4]. Полноэкзомное секвенирование показало, что опухолевый супрессор SETD2, способный к триметилированию гистона H3K36 и активации p53, часто мутирован при глиомах высокой степени злокачественности как детей (15%), так и взрослых (8%), что приводит к значительному снижению H3K36me3, поскольку SETD2 является единственной H3K36-триметилтрансферазой. При этом для глиом низкой степени злокачественности такие мутации не были характерны. Мутации SETD2 (как правило, миссенс-мутации или делеции) не наблюдались одновременно с мутациями H3F3A, но частично перекрещивались с мутациями IDH1; SETD2-мутантные опухоли встречались преимущественно в полушариях у детей старшего возраста и молодых пациентов [12].

В последнее время обсуждается также другой маркер — трансмембранный протеогликан NG2 (neuroglia-2) — в прогрессировании глиобластом. Показано, что клетками-родоначальниками определенных глиом являются OPC-клетки (oligodendrocyte progenitor cells), или NG2 глиальные клетки — высоко-пролиферативная и недифференцированная популяция глиальных клеток, экспрессирующих высокие уровни белка NG2 (neuron glia antigen-2) и

дающих начало зрелым олигодендроцитам и астроцитам 2 типа. NG2 облегчает ангиогенез путем изолирования ангиостатина, ингибирующего неоваскуляризацию. Клеточная субпопуляция глиобластомы, экспрессирующая NG2 (GBM NG2+) обладает высокой пролиферативной, клоногенной активностью и, в отличие от GBM NG2-, экспрессирует такие онкогены, как MCM, CDC, E2F, ассоциированные с худшей выживаемостью [1, 49].

С помощью наиболее современных методов полногеномного, полноэкзомного, транскриптомного и метиломного секвенирования были идентифицированы новые повторяющиеся соматические мутации гена рецептора активина (*ACVR1*) при крайне опасной инфильтрующей глиоме ствола мозга [13, 44]. Высокие уровни активина A наблюдались в ткани GBM по сравнению с нормальным мозгом [52].

NGS-исследование ландшафта соматических мутаций при глиобластоме показало, что наряду с изменениями таких ранее исследованных в связи с GBM генов как EGFR, PTEN, TP53, IDH1, PDGFRA и PI3K, примерно в 40% опухолей наблюдается по крайней мере одна несинонимичная мутация хроматин-модифицирующих генов [5]. Были обнаружены также активирующие мутации в генах BRAF и FGFR1/2/3, для подавления которых активно разрабатываются таргетные терапевтические препараты. Согласно результатам этого исследования, наиболее часто амплификации затрагивают хромосому 7 (EGFR, CDK6), хромосому 12 (гены MDM2, CDK4), делеции — ген SOX2, 6q26 (QKI), SMYD3, геномные перестройки — хромосому 12q. В целом, 57% всех глиобластом имели мутации, перестройки, измененный сплайсинг и/или амплификации гена EGFR. В результате изучения распространенности мутаций промотора гена TERT, ассоциированных с развитием глиом, в позициях 124 bp (C228T) и 146 bp (C250T) от стартового ATG-сайта гена TERT, оказалось, что в 15 из 25 случаев встречалась точечная мутация C228T, а в 6 других — мутация C250T; они обе коррелировали с повышенной экспрессией гена TERT на уровне мРНК. Интересно, что оставшиеся 4 глиобластомы из 25 с дикими типами промотора TERT характеризовались мутациями ATRX, сопряженными с мутациями IDH1 и TP53 [5]. Сообщалось, что пониженная экспрессия белка ATRX и мутации гена ATRX играют заметную роль в явлении альтернативного удлинения теломер, ALT [26]; таким образом, поддержание длины теломер в клетках опухоли может осуществляться как за счет реактивации теломеразы через индуцированную мутациями в промоторе гипер-экспрессию TERT, так и за счет ALT в результате мутаций ATRX. Увеличе-

ние активности теломеразы особенно характерно для вторичных глиобластом, для которых также весьма характерно явление гиперметилирования промотора MGMT. Ингибирование теломеразы с помощью нокдауна гена, химических агентов или иммунотерапии — возможный способ увеличения эффективности противоопухолевых препаратов, например, цисплатина, темозоломида или PCV (адьювантная химиотерапия — прокарбазин, ломустин, винкристин) [33, 35]. Полиморфный локус rs2736100 TERT ассоциирован с глиомами высокой степени злокачественности, IDH дикого типа, амплификацией EGFR и 9p и 10q-потерями [33].

Метастазирование глиобластом за пределы ЦНС происходит достаточно редко (0.4-0.5% случаев GBM), поскольку мозг иммунологически и анатомически отделен от остальных органов гематоэнцефалическим барьером [3]. В то же время, глиобластомы могут легко метастазировать в пределах нервной трубки (например, в мозговые оболочки или спинной мозг). Действительно, постмортальные исследования показывают, что GBM метастазируют в пределах нервной трубки приблизительно у 20% пациентов, особенно распространены лептоменингеальное и интрамедуллярное распространение метастазов [24]. Мета-анализ, объединяющий несколько таких клинических случаев, показал, что контакт первичной опухоли с цереброспинальной жидкостью не является необходимым условием метастазирования [28]. Гиперэкспрессия глиального фибриллярного кислого протеина (GFAP) была повышенной в интракраниальных и интрамедуллярных опухолях, но низкой при лептоменингеальном распространении метастазов. Лептоменингеальные метастазы обычно происходят от опухолей с низкодифференцированными астроцитами (низкий уровень экспрессии GFAP) [28].

В настоящее время циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) обсуждаются как кандидатные биомаркеры развития глиом, наряду с циркулирующими нуклеиновыми кислотами и циркулирующими белками (GFAP, MMP-9, YKL-40). Тем не менее, ЦОК еще не были успешно выделены из кровотока больных с глиомами [16]. Изучаются особенности циркулирующей ДНК при глиобластоме, а именно ее генетические, эпигенетические изменения (например, ДНК *IDH1*, метилирование *MGMT*, *p16*), а также РНК и микроРНК (например, miR-128 была гиперактивирована, miR-342-3p гипо-регулирована при GBM) [16].

Заключение

Идентификация молекулярных субтипов глиобластом и таких новых маркеров, как мутация

гена *IDH1*, являются многообещающим фактом их прогностической и предиктивной способности для использования в дополнение к традиционной гистопатологической шкале. Учитывая быстро меняющийся ландшафт омиксных технологий, в ближайшее время будут продолжать накапливаться информация и знание путем интеграции различных типов полногеномных данных. Это знание будет транслировано в улучшенные виды терапии, в том числе таргетной, и прогностические средства для пациентов с опухолями мозга высокой степени злокачественности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Al-Mayhany M.T., Grenfell R., Narita M. et al. NG2 expression in glioblastoma identifies an actively proliferating population with an aggressive molecular signature // *Neuro Oncol.* — 2011. — Vol. 13. — № 8. — P. 830-845.
2. Arif S.H., Pandith A.A., Bhat A.R. et al. EGFR and PTEN gene mutation status in glioblastoma patients and their prognostic impact on patient's survival // *J. Carcinog. Mutagen.* — 2015. — Vol. 6. — P. 218.
3. Armstrong T.S., Prabhu S., Aldape K. et al. A case of soft tissue metastasis from glioblastoma and review of the literature // *J. Neurooncol.* — 2011. — Vol. 103. — P. 167-172.
4. Balakrishnan A., Bleeker F.E., Lamba S. et al. Novel somatic and germline mutations in cancer candidate genes in glioblastoma, melanoma, and pancreatic carcinoma // *Cancer Res.* — 2007. — Vol. 67. — P. 3545-3550.
5. Brennan C.W., Verhaak R.G.W., McKenna A. et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma // *Cell.* — 2013. — Vol. 155. — P. 462-477.
6. Chamberlain M.C. Bevacizumab for the treatment of recurrent glioblastoma // *Clin. Med. Insights Oncol.* — 2011. — Vol. 5. — P. 117-129.
7. Chandran U.R., Luthra S., Santana-Santos L. et al. Gene expression profiling distinguishes proneural glioma stem cells from mesenchymal glioma stem cells // *Genomics Data.* — 2015. — Vol. 5. — P. 333-336.
8. Cohen A.L., Colman H. Glioma biology and molecular markers. In: *Current understanding and treatment of gliomas. Cancer Treatment and Research.* — 2015. — Vol. 163. — P. 15-30. Eds Raizer J., Parsa A. Springer International Publishing.
9. Combs S.E., Rieken S., Wick W. et al. Prognostic significance of IDH-1 and MGMT in patients with glioblastoma: One step forward, and one step back? // *Radiat. Oncol.* — 2011. — Vol. 6. — P. 115.
10. Diamandis P., Ferrer-Luna R., Huang R.Y. et al. Case report: next generation sequencing identifies a NAB2-STAT6 fusion in glioblastoma // *Diagn. Pathol.* — 2016. — Vol. 11. — P. 13.
11. Fang X., Yoon J.G., Li L. et al. The SOX2 response program in glioblastoma multiforme: an integrated ChIP-seq, expression microarray, and microRNA analysis // *BMC Genomics.* — 2011. — Vol. 12. — P. 11.
12. Fontebasso A.M., Schwartzenuber J., Khuong-Quang D.A. et al. Mutations in SETD2 and genes affecting histone H3K36 methylation target hemispheric high-grade gliomas // *Acta Neuropathol.* — 2013. — Vol. 125. — P. 659-669.

13. Fontebasso A.M., Papillon-Cavanagh S., Schwartzentruber J. et al. Recurrent somatic mutations in ACVR1 in pediatric midline high-grade astrocytoma // *Nat. Genet.* — 2014. — Vol. 46. — P. 462-466.
14. Hadjipanayis C.G., Van Meir E.G. Brain cancer propagating cells: biology, genetics and targeted therapies // *Trends Mol. Med.* — 2009. — Vol. 14. — P. 519-530.
15. Hodges T.R., Choi B.D., Bigner D.D. et al. Isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1): what it means to the neurosurgeon // *J. Neurosurg.* — 2013. — Vol. 118. — № 6. — P. 1176-1180.
16. Holdhoff M., Yovino S., Boadu O., Grossman S.A. Blood-based biomarkers for malignant gliomas // *J. Neurooncol.* — 2013. — Vol. 113. — P. 345-352.
17. Ikushima H., Todo T., Ino Y. et al. Glioma-initiating cells retain their tumorigenicity through integration of the Sox axis and Oct4 protein // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286. — P. 41434-41441.
18. Iwamoto F.M., Hormigo A. Unveiling YKL-40, from serum marker to target therapy in glioblastoma // *Front. Oncol.* — 2014. — Vol. 4. — P. 90.
19. Joseph J.V., Balasubramanian V., Walenkamp A., Kruyt F.A.E. TGF- β as a therapeutic target in high grade gliomas — promises and challenges // *Biochem. Pharmacol.* — 2013. Vol. 85. — P. 478-485.
20. Kierulf-Vieira K.S., Sandberg C.J., Grieg Z. et al. Wnt inhibition is dysregulated in gliomas and its re-establishment inhibits proliferation and tumor sphere formation // *Exp. Cell Res.* — 2016. — Vol. 340. — P. 53-61.
21. Kruczyk M., Przanowski P., Dabrowski M. et al. Integration of genome-wide of STAT3 binding and epigenetic modification mapping with transcriptome reveals novel Stat3 target genes in glioma cells // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2014. — Vol. 1839. — P. 1341-1350.
22. Lee H.K., Bier A., Cazacu S. et al. MicroRNA-145 is down-regulated in glial tumors and regulates glioma cell migration by targeting connective tissue growth factor // *Plos One.* — 2013. — Vol. 8. — e54652.
23. Lee J.C., Vivanco I., Beroukhim R. et al. Epidermal growth factor receptor activation in glioblastoma through novel missense mutations in the extracellular domain // *PLoS Med.* — 2006. — Vol. 3. — e485.
24. Lindsay A., Holthouse D., Robbins P., Knuckey N. Spinal leptomeningeal metastases following glioblastoma multiforme treated with radiotherapy // *J. Clin. Neurosci.* — 2002. — Vol. 9. — P. 725-728.
25. Lo H.W., Cao X., Zhu H., Ali-Osman F. Constitutively activated STAT3 frequently coexpresses with epidermal growth factor receptor in high-grade gliomas and targeting STAT3 sensitizes them to Iressa and alkylators // *Clin. Cancer Res.* — 2008. — Vol. 14. — P. 6042-6054.
26. Lovejoy C.A., Li W., Reisenweber S. et al. Loss of ATRX, genome instability, and an altered DNA damage response are hallmarks of the alternative lengthening of telomeres pathway // *PLoS genet.* — 2012. — Vol. 8. — e1002772.
27. Marziali G., Signore M., Buccarelli M. et al. Metabolic/proteomic signature defines two glioblastoma subtypes with different clinical outcome // *Nat. Sci. Rep.* — 2016. — Vol. 6. — P. 21557.
28. Maslehaty H., Cordovi S., Hefti M. Symptomatic spinal metastases of intracranial glioblastoma: clinical characteristics and pathomechanism relating to GFAP expression // *J. Neurooncol.* — 2011. — Vol. 101. — P. 329-333.
29. Morokoff A., Ng W., Gogos A., Kaye A.H. Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: Implications for personalised therapy in glioma // *J. Clin. Neurosci.* — 2015. — Vol. 22. — P. 1219-1226.
30. Nicolaidis S. Biomarkers of glioblastoma multiforme // *Metabolism.* — 2015. — Vol. 64. — S22-7.
31. Ohgaki H., Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma // *Am. J. Pathol.* — 2007. — Vol. 170. — P. 1445-1453.
32. Ohgaki H., Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma // *Clin. Cancer Res.* — 2013. — Vol. 19. — № 4. — P. 764-772.
33. Olar A., Sulman E.P. Molecular markers in low-grade glioma — toward tumor reclassification // *Semin. Radiat. Oncol.* — 2015. — Vol. 25. — P. 155-163.
34. Paff M., Alexandru-Abrams D., Hsu F.P.K., Bota D.A. The evolution of the EGFRvIII (rindopepimut) immunotherapy for glioblastoma multiforme patients // *Hum. Vaccin. Immunother.* — 2014. — Vol. 10. — P. 3322-3331.
35. Patel R., Shervington A. Telomerase and DNA repair in glioma // *Biochim. Biophys. Acta.* — 2009. — Vol. 1792. — P. 275-279.
36. Rani S.B., Rathod S.S., Karthik S. et al. MiR-145 functions as a tumor-suppressive RNA by targeting Sox9 and adducin 3 in human glioma cells // *Neuro Oncol.* — 2013. — Vol. 15. — P. 1302-1316.
37. Reilly E.B., Phillips A.C., Buchanan F.G. et al. Characterization of ABT-806, a humanized tumor-specific anti-EGFR monoclonal antibody // *Mol. Cancer Ther.* — 2015. — Vol. 14. — P. 1141-1151.
38. Rheinbay E., Suva M.L., Gillespie S.M. et al. An aberrant transcription factor network essential for Wnt signaling and stem cell maintenance in glioblastoma // *Cell Rep.* — 2013. — Vol. 3. — P. 1567-1579.
39. Rivera A.L., Pelloski C.E., Sulman E., Aldape K. Prognostic and predictive markers in glioma and other neuroepithelial tumors // *Curr. Probl. Cancer.* — 2008. — Vol. 32. — P. 97-123.
40. Swartz A.M., Li Q.J., Sampson J.H. Rindopepimut: A promising immunotherapeutic for the treatment of glioblastoma multiforme // *Immunotherapy.* — 2014. — Vol. 6. — P. 679-690.
41. Taylor T.E., Furnari F.B., Cavenee W.B. Targeting EGFR for treatment of glioblastoma: molecular basis to overcome resistance // *Curr. Cancer Drug Targets.* — 2012. — Vol. 12. — P. 197-209.
42. Van Meir E.G., Hadjipanayis C.G., Norden A.D. et al. Exciting new advances in neuro-oncology: the avenue to a cure for malignant glioma // *CA-Cancer J. Clin.* — 2010. — Vol. 60. — P. 166-193.
43. Verhaak R.G.W., Hoadley K.A., Purdom E. et al. An integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR and NF1 // *Cancer Cell.* — 2010. — Vol. 17. — № 1. — P. 98.
44. Wang J., Su H-K., Zhao H-F. et al. Progress in the application of molecular biomarkers in gliomas // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2015. — Vol. 465. — P. 1-4.
45. Wang Z-H., Zhang Q-S., Duan Y-L. et al. TGF- β induced miR-132 enhances the activation of TGF- β signaling through inhibiting SMAD7 expression in glioma cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2015. — Vol. 463. — P. 187-192.

46. Wang Z-L., Zhang C-B., Cai J-Q. et al. Integrated analysis of genome-wide DNA methylation, gene expression and protein expression profiles in molecular subtypes of WHO II-IV gliomas // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* — 2015. — Vol. 34. — P. 127.
47. Witt H., Mack S.C., Ryzhova M. et al. Delineation of two clinically and molecularly distinct subgroups of posterior fossa ependymoma // *Cancer Cell.* — 2011. — Vol. 20. — P. 143-157.
48. Xu Y-R., Yang W-X. SOX-mediated crosstalk during the progression of tumorigenesis // *Semin. Cell Dev. Biol.* — 2016. — Vol. 63. — P. 23-34.
49. Yadavilli S., Hwang E.I., Packer R.J., Nazarian J. The role of NG2 proteoglycan in glioma // *Transl. Oncol.* — 2016. — Vol. 9. — P. 57-63.
50. Yang J., Liao D., Wang Z. et al. Mammalian target of rapamycin signaling pathway contributes to glioma progression and patients' prognosis // *J. Surg. Res.* — 2011. — Vol. 168. — P. 97-102.
51. Yang Y., Shao N., Luo G. et al. Mutations of PTEN gene in gliomas correlate to tumor differentiation and short-term survival rate // *Anticancer Res.* — 2010. — Vol. 30. — P. 981-985.
52. Zhang D.F., Li X.G., Su L.J., Meng Q.L. Expression of activin A and follistatin in glioblastoma and their effects on U87 in vitro // *J. Int. Med. Res.* — 2010. — Vol. 38. — № 4. — P. 1343-1353.

Поступила в редакцию 29.03.2017 г.

*O.I. Kit, D.I. Vodolazhsky, E.E. Rastorguev,
E.M. Frantsiyants, D.Kh. Porksheyan, S.B. Panina*

Glioblastoma multiforme: pathogenesis and molecular markers

Rostov Research Institute of Oncology
Rostov-on-Don

Glioblastoma multiforme (GBM) is the most common and invasive poorly differentiated brain tumor with nearly 100% rate of recurrence and unfavorable prognosis. The aim of the present review is to analyze recent studies and experimental results (Scopus, Web of Science, PubMed) concerning somatic mutations in glioblastoma, aberrant regulation of gene expression of signal pathways including EGFR, TGF β , etc. and markers for GBM progression. Particularly the molecular subtypes of glioblastoma and NGS results are considered in this review.

Key words: glioblastoma multiforme, molecular markers, oncogenic mutations, epigenetic alterations