

УДК: 616.61-006.6:577.152.34:611-018.74

ЭКСПРЕССИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ, СОСУДИСТОГО ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА И АКТИВНОСТЬ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ПРОТЕИНАЗ У БОЛЬНЫХ С ЛОКАЛИЗОВАННЫМ И ДИССЕМИНИРОВАННЫМ РАКОМ ПОЧКИ

Л.В. Спирина¹, Е.А. Усынин¹, И.В. Кондакова¹, З.А. Юрмазов¹,
Е.М. Слонимская^{1,2}

*ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН, г. Томск¹
Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск²
634050, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, e-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru¹*

Цель исследования. Изучение экспрессии транскрипционных факторов NF-κB, HIF-1, ростового фактора VEGF, активности протеасом и кальпаинов у больных с локализованным и диссеминированным раком почки.

Материал и методы. В исследование вошли 87 больных со светлоклеточным раком почки. Содержание транскрипционных и ростовых факторов изучено методом ИФА, активность протеасом и кальпаинов – с помощью флюорометрического метода.

Результаты. Рост содержания транскрипционных факторов NF-κB, HIF-1 происходит при развитии единичных и множественных гематогенных метастазов. Коэффициент NF-κB p65/p50, свидетельствующий о количестве активных форм фактора, повышается при появлении единичных метастатических очагов и снижается при развитии множественных. Сходная динамика изменений наблюдается и в отношении содержания эндотелиального фактора роста VEGF. Отмечается низкая активность протеасом при развитии метастазирования. Характер изменения активности кальпаинов сходен с данными по содержанию активных форм NF-κB и VEGF.

Заключение. Выявлены изменения в содержании транскрипционных факторов NF-κB, HIF-1, ростового фактора VEGF и активности протеиназ, регулирующих их уровень, у больных с локализованным и диссеминированным раком почки. Коэффициент NF-κB p65/ p50, содержание VEGF и активность кальпаинов можно рассматривать в качестве потенциальных молекулярных критериев, ассоциированных с прогнозом течения заболевания.

Ключевые слова: локализованный рак почки, диссеминированный рак почки, NF-κB, HIF-1, VEGF, протеасомы, кальпаины.

EXPRESSION OF TRANSCRIPTION FACTORS, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR AND ACTIVITY OF INTRACELLULAR PROTEASES IN LOCALIZED AND DISSEMINATED KIDNEY CANCERS

L.V. Spirina¹, Ye.A. Usynin¹, I.V. Kondakova¹, Z.A. Yurmazov¹, E.M. Slonimskaya^{1,2}

Cancer Research Institute, SB RAMS, Tomsk¹

Siberian State Medical University, Tomsk²

5, Kooperativny Street, 634050-Tomsk, Russia,

e-mail: spirinalv@oncology.tomsk.ru¹

The aim of the study was to investigate the NF-κB, HIF-1 and VEGF expressions and the proteasome and calpain activities in localized and disseminated kidney cancers.

Material: The study included 87 patients with clear cell kidney cancer. Transcription factors and VEGF expression were measured by ELISA kits. Proteasome and calpain activity was determined using specific fluorogenic substrate.

Results. The increase of NF-κB, HIF-1 expression in cancer tissues is associated with the development of hematogenic metastasis. Coefficient NF-κB p65/p50, referred to the level of active transcription factor forms, had the wave-like pattern and was increased in cancer tissues with single metastases and decreased in cancer tissues with multiple ones. The same trend of VEGF changes was revealed in kidney

tissues. The low proteasome activity in metastatic cancer tissues was observed. The changes in calpain activity had the same dynamics as the expression of NF- κ B and VEGF.

Conclusion. The changes in NF- κ B, HIF-1 transcription factors, VEGF growth factor expressions and protease activities that could regulate their level, in localized and disseminated kidney cancer tissue were revealed. Coefficient NF- κ B p65/p50, VEGF expression and proteases activities could be the potential prognostic molecular markers of hematogenic metastasis development in kidney cancer.

Key words: localized kidney cancer, disseminated kidney cancer, NF- κ B, HIF-1, VEGF, proteasome, calpain.

По частоте встречаемости в России рак почки (РП) занимает второе место среди опухолей мочевыводящих путей, а по темпу прироста заболеваемости (43,9 %) уступает лишь раку предстательной железы [1, 2]. Основной причиной летальности больных раком почки является ранняя диссеминация опухоли, что определяет низкие показатели выживаемости. В настоящее время отсутствуют значимые клинические критерии и молекулярные маркеры, позволяющие предсказать характер течения заболевания и оценить возможный риск развития гематогенных метастазов. Это обуславливает важность изучения молекулярных механизмов метастазирования при РП и поиск информативных прогностических показателей.

Известно, что рак почки представляет собой гетерогенную группу опухолей, из которых 75–80 % приходится на светлоклеточный почечноклеточный рак [17], связанный с мутационными изменениями белка фон Хиппель-Линдау (VHL), которые приводят к активации ядерного фактора HIF-1 и гиперэкспрессии эндотелиального фактора роста (VEGF) [22]. Также в патогенезе рака почки важную роль играет фактор транскрипции NF- κ B (nuclear factor kappa-B), который вовлечен в регуляцию апоптоза и пролиферации клеток [14].

Одним из механизмов регуляции роста опухоли и прогрессирования заболевания является внутриклеточный протеолиз, осуществляемый протеасомами и кальпаинами [7]. Протеасомы представляют собой мультиферментативные каталитические комплексы, где происходит деградация до 80 % собственных белков клетки [24]. Для разрушения фактора транскрипции HIF-1 важно связывание его с белком VHL – одним из компонентов Е3 лигазы, которая в условиях нормы присоединяет убиквитины к транскрипционному фактору HIF-1 α и способствует его дальнейшей деградации в протеасомах [19, 20]. При светлоклеточном почечноклеточном раке мутационные изменения белка VHL приводят к неспособности транскрипционного фактора HIF-1 α утилизироваться в протеасомном комплексе, что, соответственно, обуславливает его накопле-

ние в клетке [8, 19]. Следствием данных изменений является рост экспрессии VEGF, активация неоангиогенеза и прогрессирование заболевания.

Активация транскрипционного фактора NF- κ B также осуществляется протеасомами. В отсутствие стимулирующих сигналов NF- κ B находится в цитоплазме в ассоциации с ингибитором (I- κ B). Ключевым этапом активации NF- κ B является освобождение его из комплекса с I- κ B и протеасомная деградация последнего [16]. В ткани светлоклеточного почечноклеточного рака в отсутствие функционально-активного белка VHL наблюдается повышение экспрессии и активности транскрипционного фактора NF- κ B [21]. В ранее опубликованных работах нами был показан рост экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B, HIF-1 и ростового фактора VEGF у больных раком почки при развитии гематогенных метастазов, что сопровождается снижением активности протеасом [5, 6].

Кальцийзависимая кальпаиновая система деградации представлена внутриклеточным семейством нелизосомальных цистеиновых протеаз [4, 15, 27]. Предполагается, что кальпаины способствуют изменению структуры белков и делают их восприимчивыми для дальнейшего протеасомного расщепления [15]. По нашим данным, активность кальпаинов в ткани рака почки возрастает при развитии как лимфогенных, так и отдаленных метастазов [5]. Эти результаты согласуются с исследованием С. Braun et al., в котором показано, что уровень экспрессии кальпаина-I (m-кальпаин) в ткани светлоклеточного рака почки повышен у больных с наличием регионарных метастазов [11]. Таким образом, исследование транскрипционных и ростовых факторов, а также активности протеиназ, регулирующих их содержание, в ткани светлоклеточного рака почки является актуальным для выяснения механизмов диссеминации опухолевого процесса.

Цель исследования состоит в изучении содержания NF- κ B, HIF-1 α , сосудистого эндотелиального фактора роста, активности протеасом и

кальпаинов в тканях рака почки у больных с локализованным и диссеминированным опухолевыми процессами.

Материал и методы

В исследование вошли 87 больных с верифицированным светлоклеточным раком почки (средний возраст – $57,6 \pm 2,2$ года). Локализованная форма ($T_{1-3}N_0M_0$) рака почки выявлена у 48 больных, диссеминированный процесс – у 39 пациентов ($T_{2-4}N_{0-1}M_1$), из них у 17 – диагностированы единичные гематогенные метастазы, у 22 – множественные. Больные с локализованным РП были подвергнуты хирургическому лечению в объеме резекции почки или нефрэктомии. У пациентов с метастатическим РП на этапе первичного обследования для верификации диагноза, проведения молекулярных исследований и планирования комбинированного лечения выполнялась биопсия почки. Комбинированное лечение больных с диссеминированным РП включало предоперационную таргетную терапию Вотреентом в рекомендованной дозе 800 мг ежедневно или Афинитором 10 мг в течение 2 мес. По окончании курса предоперационного лечения производилась оценка эффекта на основании критериев RECIST. Далее пациентам с диссеминированным раком почки проводилась паллиативная нефрэктомия. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом ФГБУ «НИИ онкологии» СО РАМН.

Материалом для исследования протеасом явились образцы опухолевой ткани, полученные при выполнении диагностической биопсии у больных с множественными метастазами и из операционного материала пациентов с локализованным и диссеминированным раком почки, которые после забора замораживались и хранились при -80°C .

Получение осветленных гомогенатов. Замороженную ткань (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-НСl буфера ($\text{pH}=7,5$), содержащего 2 мМ АТФ, 5 мМ хлорид магния, 1 мМ дитиотреитол, 1 мМ ЭДТА и 100 мМ хлорид натрия. Гомогенат центрифугировали 60 мин при 10000g и 4°C .

Определение активности протеасом. Химотрипсинподобную активность протеасом определяли в осветленных гомогенатах опухолевых и неизмененных тканей, а также во фракциях протеасом по гидролизу флуорогенного олигопептида N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcou-

marin, утилизирующегося химотрипсинподобными центрами протеасом [10], на флуориметре «Hitachi-850» (Япония) при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. Реакционная смесь для определения активности 20S протеасом содержала 20 мМ трис-НСl ($\text{pH}=7,5$), 1 мМ дитиотреитол, 30 мкМ N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin. Для определения активности 26S протеасом в реакционную смесь дополнительно вводили 5 мМ хлорида магния и 1 мМ АТФ. Реакцию проводили при 37°C в течение 20 мин и останавливали 1 % додецил сульфатом натрия. Для оценки активности примесных протеаз в образцах применяли специфический ингибитор протеасом – MG132. Удельную активность протеасом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Определение активности кальпаинов. Активность кальпаинов определяли в осветленных гомогенатах тканей по методу Sandmann [23]. В качестве субстрата использовали тот же флуорогенный олигопептид N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin, который был использован для определения активности протеасом. Такая модификация метода Sandmann предложена Kohli [18]. Реакционная смесь содержала 100 мМ Tris-НСl ($\text{pH}=7,3$), 145 мМ NaCl. Реакцию проводили, добавляя к 30 мкМ Suc-LLVY-AMC, растворенному в реакционной смеси, 5 мкл супернатанта и инкубируя при 25°C в течение 30 мин в присутствии или отсутствии 10 мМ CaCl_2 и 0,4 мкМ ингибитора N-ацетил-Leu-Leu-норлейцинал (Sigma). Ингибитор N-ацетил-Leu-Leu-норлейцинал ингибирует как кальпаины $K_i=190$ (220) нМ, так и протеасомы $K_i=6000$ нМ. Учитывая такую значительную разницу в константе ингибирования, можно считать, что этот ингибитор в высоких концентрациях (50–100 мкМ) ингибирует протеасомы, а в используемой концентрации 0,4 мкМ он ингибирует кальпаины [9, 26].

Определение содержания VEGF, HIF-1 α , NF- κ Bp50 и NF- κ Bp65. Образцы осветленных гомогенатов опухолей использовались для определения содержания VEGF (R&D Systems, DSL, США), HIF-1 α , NF- κ B p50 и NF- κ B p65 субъединиц (Caymanchem, США) методом твердофазного иммуноферментного анализа на ИФА-анализаторе «Anthos 2020». Приготовление и очистка ядерных экстрактов тканевого гомогената проводились в соответ-

ствии с рекомендациями фирмы-производителя наборов. Уровень белка в гомогенатах и ядерных экстрактах определялся по методу Лоури. Результаты определения содержания VEGF выражали в пг/мг белка, а HIF-1 α , NF- κ B p50 и NF- κ B p65 – в условных единицах на мг белка в лунке.

Статистическая обработка. Статистическую обработку результатов проводили с применением пакета статистических программ Statistica 6.0. В зависимости от вида распределения результаты представлены как $m \pm M$, где m – среднее выборочное, M – ошибка среднего, или как медиана с интерквартильным размахом (25-й и 75-й процентиля). Значимость различий исследовали с помощью t-критерия Стьюдента или критерия Манна – Уитни. Корреляционный анализ был проведен с использованием непараметрического критерия Спирмена.

Результаты исследования

Проанализированы показатели экспрессии транскрипционных факторов NF- κ B p65, NF- κ B p50, HIF-1 α и ростового фактора VEGF, а также исследована активность протеолитических ферментов – протеасом и кальпаинов в опухолевой ткани локализованного и диссеминированного рака почки (табл. 1). Оказалось, что уровень активной формы транскрипционного фактора NF- κ B p65 был выше при наличии гематогенных метастазов и не зависел от их количества. Изменений в содержании неактивной формы NF- κ B p50 отмечено не было. Коэффициент NF- κ B p65/ p50, характеризующий количество активных форм фактора [12], при этом имел сложную динамику изменения: он был

значимо выше у больных с наличием единичных метастазов и снижался у пациентов с множественными метастазами, достигая уровня локализованного процесса. На основании полученных данных можно полагать, что соотношение NF- κ B p65/ p50 можно рассматривать в качестве информативного критерия, ассоциированного с прогрессированием рака почки.

Изучение динамики изменений экспрессии ядерного фактора HIF-1 показало, что его уровень был повышен у больных как с наличием единичных, так и множественных метастазов. Вероятно, высокий уровень транскрипционного фактора HIF-1, наряду с NF- κ B, уже на начальных этапах метастазирования приводит к росту продукции ростового фактора VEGF. По нашим данным, содержание его увеличивается в 2,87 раза по сравнению с больными без признаков прогрессии. Однако развитие множественных гематогенных метастазов сопровождается снижением количества VEGF. Можно полагать, что такая ситуация обусловлена его быстрым выходом в кровеносное русло [3, 26]. Следует отметить сходную динамику изменений содержания VEGF и коэффициента NF- κ B p65/ p50 в зависимости от уровня гематогенного метастазирования.

Анализ активности протеасом и кальпаинов в опухолевой ткани показал снижение химотрипсинподобной активности протеасом у больных с единичным отдаленным и множественными метастазами в 1,33 и 1,36 раза соответственно, по сравнению с пациентами с локализованным РП (табл. 2).

Таблица 1

Содержание транскрипционных факторов NF- κ B p65, NF- κ B p50, HIF-1 α и ростового фактора VEGF у больных раком почки

Группы больных	Содержание NF- κ B p65, УЕ/мг белка в лунке	Содержание NF- κ B p50, УЕ/мг белка в лунке	Коэффициент NF- κ B p65/p50	Экспрессия HIF-1 α , УЕ/ мг белка в лунке	Содержание VEGF, пг/мг белка
Локализованный РП	5,0 (2,0–7,9)	6,4 (3,3–10,0)	0,6 (0,3–2,0)	4,2 (2,2–7,8)	71,5 (38,3–139,7)
РП с единичными метастазами	11,3 (6,8–15,7)*	6,2 (4,4–9,7)	3,0 (1,6–3,0)*	7,9 (6,2–8,5)*	205,4 (131,7–261,5)*
РП с множественными метастазами	11,5 (6,7–32,5)*	10,6 (6,3–37,7)	0,92 (0,83–1,07)**	18,7 (4,2–19,4)* **	26,8 (11,0–99,2)* **

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой больных с локализованным РП ($p < 0,05$); ** различия статистически значимы по сравнению с группой больных с единичным метастазом РП ($p < 0,05$).

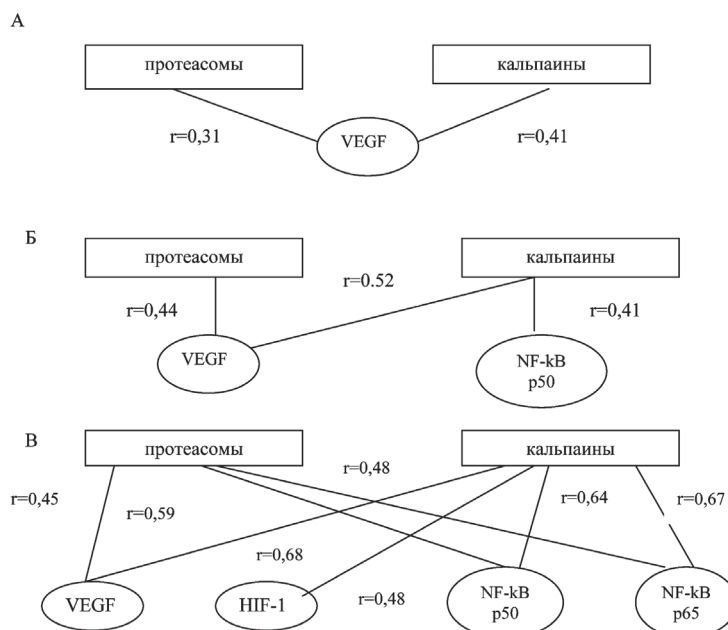


Рис. 1. Корреляционные связи между активностью протеасом, кальпаинов и экспрессией транскрипционных факторов HIF-1, NF-κB и содержанием ростового фактора VEGF у больных раком почки: А – у больных с локализованным раком почки; Б – у больных с единичным отдаленным метастазом; В – у больных со множественными метастазами; r – коэффициент корреляции Спирмена

При изучении общей кальпаиновой активности выявлена волнообразная динамика изменения этого показателя, которая была связана с распространенностью процесса. Так, увеличение активности кальпаинов в ткани опухоли почки совпало с начальным этапом метастазирования. Дальнейшее прогрессирование заболевания сопровождается резким падением активности этих ферментов, и у больных с множественными метастазами данный показатель снижен по сравнению как с больными с локализованным процессом, так и с пациентами, у которых диагностированы единичные метастазы. Учитывая однонаправленность изменений

содержания VEGF и активности кальпаинов, наблюдаемых в процессе метастазирования, можно предположить, что именно кальпаины осуществляют протеолитическую регуляцию уровня этого ростового фактора и обеспечивают его быстрый внутриклеточный метаболизм. Исследованиями последних лет была обозначена роль кальпаинов в процессах деградации белков в клетке, которая наблюдается в отсутствие необходимого количества протеасом, а также при угнетении их ферментативной активности [25]. Возрастающая активность внутриклеточного протеолиза в этих условиях обеспечивается именно кальпаинами. Кроме того,

Таблица 2

Химотрипсинподобная активность протеасом и активность кальпаинов у больных раком почки

Группы больных	Активность протеасом в опухолевой ткани, $\times 10^3$ Ед/мг белка	Активность кальпаинов в опухолевой ткани, $\times 10^3$ Ед/мг белка
Локализованный РП (n=48)	36,1 (20,0–102,0)	33,5 (16,8–33,5)
РП с единичным метастазом (n=17)	27,0 (5,5–43,1)*	44,7 (18,6–54,3)*
РП с множественными метастазами (n=22)	26,4 (4,1–50,0)*	7,6 (4,1–22,2)* **

Примечание: * – различия статистически значимы по сравнению с группой больных с локализованным РП ($p < 0,05$); ** различия статистически значимы по сравнению с группой больных с единичным метастазом РП ($p < 0,05$).

известна их значимость в активации локомоторных свойств опухолевых клеток [13]. Возможно, в связи с этим фактом можно обсуждать их роль в развитии гематогенного метастазирования у больных раком почки.

Для подтверждения связи между содержанием транскрипционных факторов, VEGF и внутриклеточными протеиназами в опухолевой ткани при локализованном и диссеминированном раке почки был проведен корреляционный анализ (рис. 1). Оказалось, что при локализованных процессах содержание VEGF в ткани опухоли коррелировало с тотальной активностью протеасом ($r=0,31$) и активностью кальпаинов ($r=0,41$). У больных с единичными метастазами рака почки дополнительно наблюдалось формирование связи между активностью кальпаинов и содержанием NF- κ B p50 ($r=0,41$). Развитие множественных метастазов сопровождалось возникновением корреляций между экспрессией транскрипционного фактора NF- κ B p65, активностью протеасом ($r=0,48$) и кальпаинов ($r=0,67$), а также между уровнем ядерного фактора HIF-1 и активностью кальпаинов ($r=0,68$). Полученные данные свидетельствуют о значимости протеолитической регуляции содержания транскрипционных и ростовых факторов, которая ассоциирована с прогрессированием заболевания. Также подтверждена важная роль кальпаинов в регуляции экспрессии ядерного фактора HIF-1, поскольку они способны модифицировать данный белковый комплекс. Важно отметить, что полное разрушение транскрипционного фактора HIF-1 в ткани рака почки возможно только при участии 26S протеасом [16, 22]. Вероятно, кальпаины осуществляют его частичный гидролиз, тем самым регулируя его содержание [17].

Заключение

Изучение особенностей экспрессии транскрипционных и ростовых факторов и определение особенностей внутриклеточного протеолиза, осуществляющего их регуляцию, в ткани опухоли у больных с локализованной и диссеминированной формой рака почки свидетельствует о значимости этих процессов в патогенезе заболевания. Уже на этапе появления единичных метастатических очагов наблюдается выраженный рост уровня активных форм NF- κ B, содержания HIF-1 α и VEGF. На этом этапе также возрастает активность кальпаинов, тогда как активность протеасом снижается.

Дальнейшее развитие процесса метастазирования сопровождается снижением содержания активных форм NF- κ B, VEGF и угнетением активности кальпаинов. Вероятно, сопряженность уровня транскрипционных, ростовых факторов с активностью внутриклеточных протеиназ и распространенностью заболевания позволяет рассматривать эти факторы в качестве дополнительных информативных прогностических параметров. К их числу, по нашим данным, можно отнести активность кальпаинов, соотношение NF- κ B p65/ p50 и содержание VEGF, использование которых позволит с высокой вероятностью прогнозировать риск появления гематогенных опухолевых очагов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2010 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. В.И. Чиссова, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2012. 260 с.
2. Зуков Р.А., Дыхно Ю.А., Шульмин А.В., Козлов В.В. Оценка медико-демографических потерь населения Красноярского края от смертности, обусловленной раком почки // Сибирский онкологический журнал. 2013. № 6. С. 20–25.
3. Кушлинский Н.Е., Трапезникова М.Ф., Герштейн Е.С., Глыбин П.А., Казанцева И.А., Кылыбеков М.Б. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецептор 2-го типа в опухолях и сыворотке крови больных раком почки // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2008. № 6. С. 691–694.
4. Немова Н.Н., Лысенко Л.А., Канцерова Н.П. Протеиназы семейства кальпаинов. Структура и функции // Онтогенез. 2010. Т. 41, № 5. С. 381–389.
5. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Коломиец Л.А., Винтизенко С.И., Бочкарева Н.В., Чернышова А.Л. Активность протеасом и содержание ростовых факторов при раке почки, мочевого пузыря и эндометрия // Российский онкологический журнал. 2010. № 1. С. 23–25.
6. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Юрмазов З.А. Регуляция экспрессии транскрипционных факторов и фактора роста эндотелия сосудов протеасомной системой при метастазировании рака почки // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2012. Т. 23, № 1. С. 27–32.
7. Спирина Л.В., Кондакова И.В. Роль внутриклеточного специфического протеолиза в онкогенезе // Вопросы онкологии. 2008. Т. 54. С. 690–694.
8. Спирина Л.В., Кондакова И.В., Усынин Е.А., Винтизенко С.И. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря // Сибирский онкологический журнал. 2008. № 4. С. 65–70.
9. Atencio I., Ramachandra M., Shabram P., Demers G.W. Calpain inhibitor 1 activates p53-dependent apoptosis in tumor cell lines // Cell Growth Differ. 2000. Vol. 11 (5). P. 247–253.
10. Ben-Shahar S., Kolmosh A., Nadav E., Shaked I., Ziv T., Admon A., DeMartino G.N., Reiss Y. 26 S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 21963–21972.
11. Braun C., Engel M., Seifert M., Theisinger B., Seitz G., Zang K.D., Welter C. Expression of calpain I messenger RNA in human renal cell carcinoma: correlation with lymph node metastasis and histological type // Int. J. Cancer. 1999. Vol. 84 (1). P. 6–9.
12. Conner J.R., Smirnova I.I., Moseman A.P., Poltorak A. IRAK1BP1 inhibits inflammation by promoting nuclear translocation of NF- κ B

p50 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107 (25). P. 11477–11482. doi: 10.1073/pnas.1006894107.

13. Glading A., Reynolds I.J., Shiraha H., Satish L., Potter D.A., Blair H.C., Wells A. Epidermal growth factor activates m-calpain (calpain II), at least in part, by extracellular signal-regulated kinase-mediated phosphorylation // Mol. Cell Biol. 2004. Vol. 24 (6). P. 2499–2512.

14. Hoffmann A., Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling // Immunol. Rev. 2006. Vol. 210. P. 171–186.

15. Jang J.S., Choi Y.H. Proteolytic degradation of the retinoblastoma family protein p107: A putative cooperative role of calpain and proteasome // Int. J. Mol. Med. 1999. Vol. 4 (5). P. 487–492.

16. Juvekar A., Manna S., Ramaswami S., Chang T.P., Vu H.Y., Ghosh C.C., Celiker M.Y., Vancurova I. Bortezomib induces nuclear translocation of Ikb α resulting in gene-specific suppression of NF- κ B-dependent transcription and induction of apoptosis in CTCL // Mol. Cancer Res. 2011. Vol. 9 (2). P. 183–194. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0368.

17. Keefe S.M., Nathanson K.L., Rathmell W.K. The molecular biology of renal cell carcinoma // Semin. Oncol. 2013 Vol. 40 (4). P. 421–428. doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.05.006.

18. Kohli V., Gao W., Camargo C.A. Jr., Clavien P.A. Calpain is a mediator of preservation-reperfusion injury in rat liver transplantation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 9354–9359.

19. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W., Clifford S.C., Vaux E.C., Cockman M.E., Wykoff C.C., Pugh C.W., Maher E.R., Ratcliffe P.J. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis // Nature. 1999. Vol. 399. P. 271–275.

20. Maxwell P.J., Gallagher R., Seaton A., Wilson C., Scullin P., Pettigrew J., Stratford I.J., Williams K.J., Johnston P.G., Waugh D.J. HIF-1 and NF- κ B-mediated upregulation of CXCR1 and CXCR2 expression promotes cell survival in hypoxic prostate cancer cells // Oncogene. 2007. Vol. 26. P. 7333–7345.

21. Moorthy A.K., Savinova O.V., Ho J.Q., Wang Y.Y., Vu D., Ghosh G. The 20S proteasome processes NF- κ B p105 into p50 in a translation-independent manner // EMBO J. 2006. Vol. 25 (9). P. 1945–1956.

22. Na X., Wu G., Ryan C.K., Schoen S.R., di Santagnese P.A., Messing E.M. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 α expression in renal cell carcinomas // J. Urol. 2003. Vol. 170 (2 Pt 1). P. 588–592.

23. Sandmann S., Prenzler F., Shaw L., Schauer R., Unger T. Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium – influence of the calpain inhibitor CAL 9961 // Br. J. Pharmacol. 2002. Vol. 135 (8). P. 1951–1958.

24. Sharova N.P., Zakharova I.A. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate // Rec. Patents Endocrine, Metabolic Immune Drug Discovery. 2008. Vol. 2 (3). P. 152–161.

25. Villamil V., Gallego A.G., Cainzos S., Valladares-Ayerbes M., Antón Aparicio L.M. Searching for Hif1- α interacting proteins in renal cell carcinoma // Clin. Transl. Oncol. 2012. Vol. 14 (9). P. 698–708. doi: 10.3390/ijms13066561.

26. Wei W., Fareed M.U., Evenson A., Menconi M.J., Yang H., Petkova V., Hasselgren P.O. Sepsis stimulates calpain activity in skeletal muscle by decreasing calpastatin activity but does not activate caspase-3 // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2005. Vol. 288 (3). P. 580–590.

27. Woo M.G., Xue K., Liu J., McBride H., Tsang B.K. Calpain-mediated processing of p53-associated parkin-like cytoplasmic protein (PARC) affects chemosensitivity of human ovarian cancer cells by promoting p53 subcellular trafficking // J. Biol. Chem. 2012. Vol. 287 (6). P. 3963–3975. doi: 10.1074/jbc.M111.314765.

Поступила 5.03.14

REFERENCES

1. Cancer incidence (morbidity and mortality) in Russia in 2010 / Eds. V.I. Chissov, V.V. Starinskij, G.V. Petrova. M., 2012. 260 p. [in Russian]
2. Zukov R.A., Dyhno Ju.A., Shul'min A.V., Kozlov V.V. Evaluation of medico-demographic deaths of population on Krasnoyarsk region caused by renal cancer // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2013. № 6. P. 20–25. [in Russian]

3. Kushlinskij N.E., Trapeznikova M.F., Gershtejn E.S., Glybin P.A., Kazanceva I.A., Kylychbekov M.B. Vascular endothelial growth factor and its type 2 receptor in tumors and serum of patients with renal cancer // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. 2008. № 6. P. 691–694. [in Russian]

4. Nemova N.N., Lysenko L.A., Kancerova N.P. Proteases of the calpain family: Structure and functions // Ontogenez. 2010. Vol. 41 (5). P. 381–389. [in Russian]

5. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin E.A., Kolomic L.A., Vintzenko S.I., Bochkareva N.V., Chernyshova A.L. Proteasome activity and growth factor expression in bladder, kidney and endometrial cancers. // Rossijskij onkologicheskij zhurnal. 2010. № 1. S. 23–25. [in Russian]

6. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin E.A., Jurmazov Z.A. Regulation of expression of transcription factors and vascular endothelial growth factor by proteasome system in metastatic kidney cancer // Vestnik RONC im. N.N. Blohina RAMN. 2012. Vol. 23 (1). P. 27–32.

7. Spirina L.V., Kondakova I.V. Role of intracellular specific proteolysis in cancerogenesis // Voprosy onkologii. 2008. № 6. P. 690–694. [in Russian]

8. Spirina L.V., Kondakova I.V., Usynin E.A., Vintzenko S.I. Angiogenesis regulation in renal and bladder cancers // Sibirskij onkologicheskij zhurnal. 2008. № 4. P. 65–70. [in Russian]

9. Atencio I., Ramachandra M., Shabram P., Demers G.W. Calpain inhibitor 1 activates p53-dependent apoptosis in tumor cell lines // Cell Growth Differ. 2000. Vol. 11 (5). P. 247–253.

10. Ben-Shahar S., Kolmosh A., Nadav E., Shaked I., Ziv T., Admon A., DeMartino G.N., Reiss Y. 26 S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 21963–21972.

11. Braun C., Engel M., Seifert M., Theisinger B., Seitz G., Zang K.D., Welter C. Expression of calpain I messenger RNA in human renal cell carcinoma: correlation with lymph node metastasis and histological type // Int. J. Cancer. 1999. Vol. 84 (1). P. 6–9.

12. Conner J.R., Smirnova I.I., Moseman A.P., Poltorak A. IRAK1BP1 inhibits inflammation by promoting nuclear translocation of NF- κ B p50 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010. Vol. 107 (25). P. 11477–11482. doi: 10.1073/pnas.1006894107.

13. Glading A., Reynolds I.J., Shiraha H., Satish L., Potter D.A., Blair H.C., Wells A. Epidermal growth factor activates m-calpain (calpain II), at least in part, by extracellular signal-regulated kinase-mediated phosphorylation // Mol. Cell Biol. 2004. Vol. 24 (6). P. 2499–2512.

14. Hoffmann A., Baltimore D. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling // Immunol. Rev. 2006. Vol. 210. P. 171–186.

15. Jang J.S., Choi Y.H. Proteolytic degradation of the retinoblastoma family protein p107: A putative cooperative role of calpain and proteasome // Int. J. Mol. Med. 1999. Vol. 4 (5). P. 487–492.

16. Juvekar A., Manna S., Ramaswami S., Chang T.P., Vu H.Y., Ghosh C.C., Celiker M.Y., Vancurova I. Bortezomib induces nuclear translocation of Ikb α resulting in gene-specific suppression of NF- κ B-dependent transcription and induction of apoptosis in CTCL // Mol. Cancer Res. 2011. Vol. 9 (2). P. 183–194. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0368.

17. Keefe S.M., Nathanson K.L., Rathmell W.K. The molecular biology of renal cell carcinoma // Semin. Oncol. 2013 Vol. 40 (4). P. 421–428. doi: 10.1053/j.seminoncol.2013.05.006.

18. Kohli V., Gao W., Camargo C.A. Jr., Clavien P.A. Calpain is a mediator of preservation-reperfusion injury in rat liver transplantation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 9354–9359.

19. Maxwell P.H., Wiesener M.S., Chang G.W., Clifford S.C., Vaux E.C., Cockman M.E., Wykoff C.C., Pugh C.W., Maher E.R., Ratcliffe P.J. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis // Nature. 1999. Vol. 399. P. 271–275.

20. Maxwell P.J., Gallagher R., Seaton A., Wilson C., Scullin P., Pettigrew J., Stratford I.J., Williams K.J., Johnston P.G., Waugh D.J. HIF-1 and NF- κ B-mediated upregulation of CXCR1 and CXCR2 expression promotes cell survival in hypoxic prostate cancer cells // Oncogene. 2007. Vol. 26. P. 7333–7345.

21. Moorthy A.K., Savinova O.V., Ho J.Q., Wang V.Y., Vu D., Ghosh G. The 20S proteasome processes NF-kappaB1 p105 into p50 in a translation-independent manner // *EMBO J.* 2006. Vol. 25 (9). P. 1945–1956.
22. Na X., Wu G., Ryan C.K., Schoen S.R., di Santagnese P.A., Messing E.M. Overproduction of vascular endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor-1 alpha expression in renal cell carcinomas // *J. Urol.* 2003. Vol. 170 (2 Pt 1). P. 588–592.
23. Sandmann S., Prenzel F., Shaw L., Schauer R., Unger T. Activity profile of calpains I and II in chronically infarcted rat myocardium – influence of the calpain inhibitor CAL 9961 // *Br. J. Pharmacol.* 2002. Vol. 135 (8). P. 1951–1958.
24. Sharova N.P., Zakharova I.A. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate // *Rec. Patents Endocrine, Metabolic Immune Drug Discovery.* 2008. Vol. 2 (3). P. 152–161.
25. Villaamil V., Gallego A.G., Cainzos S., Valladares-Ayerbes M., Antón Aparicio L.M. Searching for Hif1- α interacting proteins in renal cell carcinoma // *Clin. Transl. Oncol.* 2012. Vol. 14 (9). P. 698–708. doi: 10.3390/ijms13066561.
26. Wei W., Fareed M.U., Evenson A., Menconi M.J., Yang H., Petkova V., Hasselgren P.O. Sepsis stimulates calpain activity in skeletal muscle by decreasing calpastatin activity but does not activate caspase-3 // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2005. Vol. 288 (3). P. 580–590.
27. Woo M.G., Xue K., Liu J., McBride H., Tsang B.K. Calpain-mediated processing of p53-associated parkin-like cytoplasmic protein (PARC) affects chemosensitivity of human ovarian cancer cells by promoting p53 subcellular trafficking // *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287 (6). P. 3963–3975. doi: 10.1074/jbc.M111.314765.