

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Людмила Викторовна Спирина<sup>1</sup>, Ирина Викторовна Кондакова<sup>2</sup>,  
Евгений Анатольевич Усынин<sup>3</sup>, Захар Александрович Юрмазов<sup>4</sup>

### РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ И ФАКТОРА РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ ПРОТЕОСОМНОЙ СИСТЕМОЙ ПРИ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ РАКА ПОЧКИ

<sup>1</sup> К. м. н., старший научный сотрудник, лаборатория биохимии опухолей  
ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5)

<sup>2</sup> Д. м. н., профессор, заведующий, лаборатория биохимии опухолей  
ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5)

<sup>3</sup> К. м. н., старший научный сотрудник, отделение общей онкологии  
ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5)

<sup>4</sup> Врач, отделение общей онкологии ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН  
(634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5)

Адрес для переписки: 634050, РФ, г. Томск, пер. Кооперативный, д. 5,  
ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН, отделение общей онкологии, Спирина Людмила Викторовна;  
e-mail: SpirinaLV@oncology.tomsk.ru

В патогенезе рака почки важную роль играет активация неоангиогенеза, связанная с повышением содержания фактора роста эндотелия (VEGF) в результате действия транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией (HIF-1 $\alpha$ ). Изучена регуляция экспрессии транскрипционных факторов: транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией, ядерного транскрипционного фактора карра-В (субъединицы p65 и p50) и фактора роста эндотелия протеосомы в ткани светлоклеточного почечно-клеточного рака при его метастазировании. Получены данные, свидетельствующие о том, что для рака почки характерно повышение активности не только HIF-1-зависимого сигнального пути, результатом которого является усиление экспрессии фактора роста эндотелия, но и путей, зависимых от ядерного транскрипционного фактора карра-В, что, вероятно, связано с протеосомной системой. В опухолях, характеризующихся появлением отдаленных метастазов, наблюдалось выраженное снижение тотальной активности протеосом по сравнению с опухолями без метастазов. Выявлены корреляции между уровнем фактора роста эндотелия, транскрипционных факторов и активностью протеосом в ткани светлоклеточного рака почки. Полученные результаты позволяют рассматривать протеосомы в качестве потенциального механизма регуляции неоангиогенеза и метастазирования в тканях рака почки.

**Ключевые слова:** рак почки, метастазирование, ядерный транскрипционный фактор карра-В, NF- $\kappa$ B, транскрипционный фактор, индуцированный гипоксией, HIF-1 $\alpha$ , фактор роста эндотелия, VEGF, протеосома.

Заболеваемость раком почки (РП) в настоящее время неуклонно растет, что обусловлено как улучшением диагностики новообразований данного органа, так и ростом истинной заболеваемости [1]. Ежегодно в мире регистрируется около 230 тыс. новых случаев РП и более 100 тыс. смертей от этого заболевания. В России заболеваемость

данном видом опухоли возросла с 1998 по 2008 г. с 9,0 до 12,2 на 100 тыс. населения. Заболевание характеризуется отсутствием ранних симптомов, поздней клинической манифестацией и резистентностью к химио- и лучевой терапии [2]. Основной причиной летальности при РП служат отдаленные метастазы, механизм развития которых исследован недостаточно.

В основе неопластической трансформации при РП лежат стабильные генетические повреждения, связанные с мутацией гена *VHL* (von Hippel—Lindau), которая приво-

дит к повышенной экспрессии внутриклеточного транскрипционного фактора, индуцированного гипоксией (hypoxia inducible factor, HIF). Фактор транскрипции HIF активируется в условиях гипоксии, связан с ангиогенезом и приводит к усилению основного обмена, энергетического обмена и увеличению экспрессии фактора роста эндотелия (vascular endothelial growth factor, VEGF) [3].

В большинстве случаев гипоксический фактор транскрипции представлен HIF-1, который представляет собой гетеродимер, состоящий из субъединиц  $\alpha$  и  $\beta$ ;  $\beta$ -субъединицы являются конститутивными. Активность фактора в условиях гипоксии зависит, главным образом, от экспрессии и посттрансляционной модификации  $\alpha$ -субъединиц [4].

Семейство факторов роста эндотелия представлено пятью членами: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и плацентарным фактором роста. Процесс неоангиогенеза обеспечивается фактором VEGF-A, который называют VEGF [5]. Прогрессирование светлоклеточного РП тесно связано с активацией процессов неоангиогенеза, что вызывает развитие гематогенных метастазов [5; 6].

Ключевым фактором транскрипции, связанным с процессами апоптоза и контролем пролиферации клеток, является ядерный транскрипционный фактор карра-В (nuclear factor карра-В, NF- $\kappa$ B). Он проявляет активность только в димерной форме, причем его наиболее распространенными формами являются димеры субъединиц p50 или p52 с субъединицей p65, которые проявляют транскрипционную активность, в то время как гомодимер p50/50 снижает активацию специфических участков ДНК и считается неактивным комплексом [7]. В настоящее время выявлено влияние NF- $\kappa$ B на экспрессию транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  и его активацию в условиях нормоксии [8].

Один из механизмов регуляции содержания транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B и HIF-1 $\alpha$  — осуществляемый протеосомами внутриклеточный специфический протеолиз. Протеосомы представляют собой мультиферментные каталитические комплексы, в которых происходит деградация до 80% собственных белков клетки. Протеосомы представлены двумя пулами: 26S и 20S [9; 10]. Прикрепление цепочки убиквитина к белку и его последующая деградация в протеосоме наблюдаются при гидроксировании остатков пролина и аспарагина. Для разрушения фактора HIF-1 важно связывание его с белком VHL. Известно, что снижение деградации HIF-1 $\alpha$  при использовании ингибиторов протеосом или гипоксии приводит к значительному повышению экспрессии VEGF в опухолевых клетках [11]. При светлоклеточном почечноклеточном раке накопление фактора HIF-1 $\alpha$  и рост экспрессии VEGF связаны с мутационными изменениями белка VHL [12]. Вероятно, следствием данных изменений является неспособность транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  утилизироваться в протеосомном комплексе.

Активация транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B также осуществляется протеосомами. В отсутствие стимулирующих сигналов NF- $\kappa$ B находится в цитоплазме в ассоциации с ингибитором (I- $\kappa$ B). Ключевым этапом активации NF- $\kappa$ B являются освобождение его из комплекса с I- $\kappa$ B и протеосомная деградация последнего [13].

Посттрансляционная модификация p105 — предшественника NF- $\kappa$ B p50 также осуществляется с помощью протеосом [14].

Однако в настоящее время протеолитическая регуляция экспрессии транскрипционных и ростовых факторов, их взаимное влияние в злокачественных опухолях почки изучены недостаточно. Проведение подобных исследований в ткани светлоклеточного РП наиболее актуально ввиду роли данных факторов в прогрессировании заболевания.

Целью проведенного исследования служило изучение регуляции экспрессии транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B, HIF-1 $\alpha$  и содержания VEGF протеосомами в ткани светлоклеточного РП при его метастазировании.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 54 больных с верифицированным светлоклеточным РП (средний возраст  $57,6 \pm 2,2$  года). Группу без метастазов (N0M0) составили 38 больных (средний возраст  $58,5 \pm 1,8$  года), N1M1 стадия заболевания имела у 16 больных ( $57,2 \pm 3,1$  года). Диагностику заболевания и лечение больных РП осуществляли в соответствии с рекомендуемыми алгоритмами диагностики и лечения злокачественных новообразований, утвержденными Минздравсоцразвития России. Проведение данной работы одобрено этическим комитетом ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН.

Материалом для исследования протеосом служили образцы опухолевой и гистологически неизменной ткани, находящиеся на расстоянии не менее 2 см от границы опухолей и полученные при выполнении радикального хирургического вмешательства. После забора эти образцы замораживали и хранили при температуре  $-80^\circ\text{C}$ .

### Получение осветленных гомогенатов

Замороженную ткань (100 мг) гомогенизировали в жидком азоте, затем ресуспендировали в 300 мкл 50 мМ трис-HCl 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 г и температуре  $4^\circ\text{C}$ .

### Фракционирование протеосом

Все процедуры проводили при температуре  $4^\circ\text{C}$ . Белки осветленных гомогенатов фракционировали с помощью сульфата аммония в два этапа. Фракцию, обогащенную 26S-протеосомами, получали добавлением сульфата аммония до 40% насыщения, фракцию 20S-протеосом — добавлением сульфата аммония до 70% насыщения [15]. В полученных фракциях определяли активность протеосом.

### Определение активности протеосом

Химотрипсинподобную активность тотальной пула протеосом, пулов протеосом 26S и 20S определяли в осветленных гомогенатах опухолевых и неизмененных тканей, а также во фракциях протеосом, по гидролизу флуорогенного олигопептида N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin, утилизирующегося химотрипсинподобными центрами протеосом [16], на

флуориметре «Hitachi-850» (Япония) при длине волны возбуждения 380 нм и эмиссии 440 нм. Реакционная смесь для определения активности 20S протеосом содержала 20 мМ трис-НСl (рН 7,5), 1 мМ дитиотреитол, 30 мкМ N-Succinyl-Leu-Leu-Val-Tyr-7-Amido-4-Methylcoumarin. Для определения активности 26S протеосом в реакционную смесь дополнительно вводили 5 мМ хлорида магния и 1 мМ АТФ. Реакцию проводили при температуре 37 °С в течение 20 мин и останавливали при добавлении 1% додецил сульфата натрия. Для оценки активности примесных протеаз в образцах применяли специфический ингибитор протеосом MG132. Удельную активность протеосом выражали в единицах активности на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури.

**Определение содержания VEGF, HIF-1α, NF-κB p50 и NF-κB p65**

Образцы осветленных гомогенатов опухолей использовали для определения содержания VEGF (R&D Systems, DSL, США), HIF-1α, субъединиц NF-κB p50 и NF-κB p65 (Caymanchem, США) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на ИФА-анализаторе «Anthos 2020». Приготовление и очистку ядерных экстрактов тканевого гомогената проводили в соответствии с рекомендациями фирмы — производителя наборов. Уровень белка в гомогенатах и ядерных экстрактах определяли по методу Лоури. Результаты определения содержания VEGF выражали в пикограммах на 1 мг белка, а HIF-1α, NFκB p50 и NFκB p65 — в условных единицах на 1 мг белка в лунке.

**Статистическая обработка**

Для статистической обработки данных применяли пакет статистических программ Statistica 6.0. В зависимости от вида распределения результаты представлены как  $m \pm M$  (где  $m$  — среднее выборочное,  $M$  — ошибка среднего) или в виде медианы 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 И ОБСУЖДЕНИЕ**

Выявленные изменения в экспрессии транскрипционных факторов и VEGF в ткани рака почки в зависимости от наличия гематогенных метастазов представлены в таблице. Экспрессия HIF-1α и NF-κB p65 повышалась в группе N1M1 в 1,5 и 4,6 раза соответственно, что сопровождалось ростом содержания VEGF в 2,2 раза по сравнению с группой пациентов со стадией N0M0. Коэффициент NF-κB p65/NF-κB p50, указывающий на количество активных гетеродимеров, увеличивался у больных с распространенным заболеванием в 5 раз по сравнению с таковым у больных с локализованным РП.

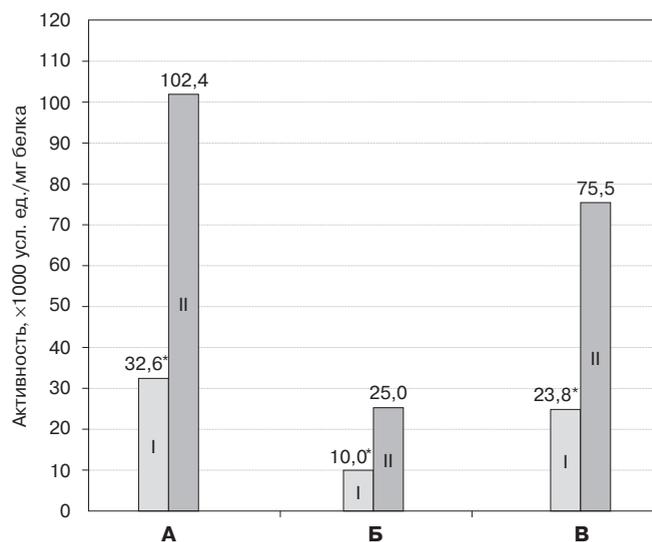
Исследование активности протеосом в ткани светлоклеточного РП позволило выявить, что totalная активность и активность пулов 26S протеосом и 20S протеосом в ткани опухоли были ниже, чем в соответствующей нормальной ткани, в 3,5, 2,4 и 2,5 раза соответственно

Таблица  
**Активность протеосом, содержание транскрипционных факторов и VEGF при РП и отдаленном метастазировании**

Показатель	Группа больных со стадией N0M0 (n = 38)	Группа больных со стадией N1M1 (n = 16)
Содержание HIF-1α, усл. ед./мг белка в лунке	5,6 ± 1,0	8,6 ± 1,9*
Содержание NF-κB p50, усл. ед./мг белка в лунке	8,1 ± 1,0	10,3 ± 4,8
Содержание NF-κB p65, усл. ед./мг белка в лунке	6,9 ± 1,3	31,8 ± 19,8*
NF-κB p65/NF-κB p50	1,3 ± 0,2	6,6 ± 2,6*
Содержание VEGF, пг/мг белка	102,8 ± 15,25	232,8 ± 42,6*
Totalная активность протеосом, ×10 <sup>3</sup> усл. ед./мг белка	57,0 ± 7,4	31,2 ± 5,7*
Активность 26S, ×10 <sup>3</sup> усл. ед./мг белка	16,7 ± 2,3	12,9 ± 3,5
Активность 20S, ×10 <sup>3</sup> усл. ед./мг белка	43,3 ± 6,9	29,9 ± 7,9

\* p < 0,05 для различий по сравнению с группой больных N0M0.

(рис. 1). Известно, что интенсивный протеолиз в ткани почки существует в физиологических условиях и связан



**Рисунок 1. Totalная активность протеосом и активность их пулов в ткани РП. I — опухолевая ткань; II — неизмененная ткань. \* p < 0,05 по сравнению с неизмененной тканью. А. Totalная активность протеосом. Б. Активность пула 26S. В. Активность пула 20S.**

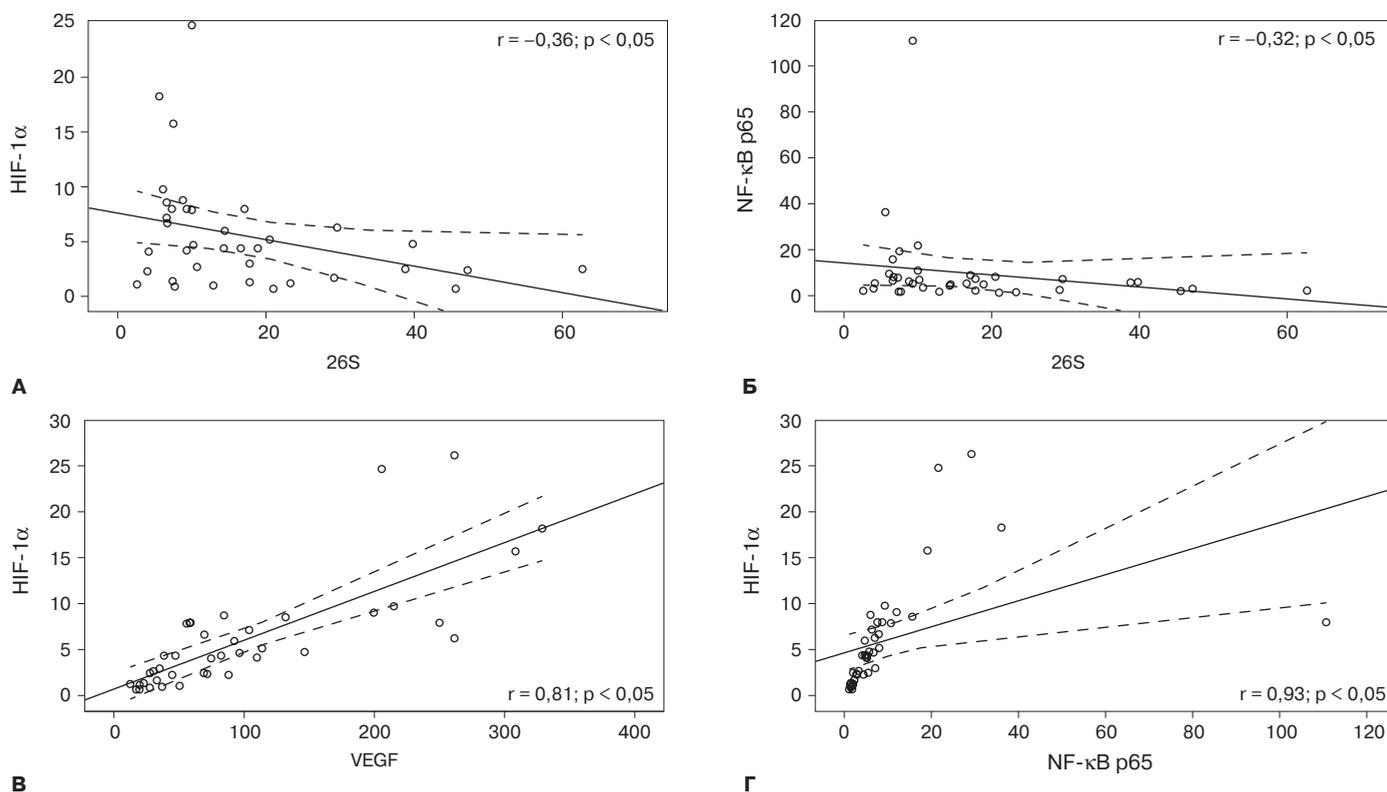
с процессами деградации альбумина в проксимальных канальцах почки [17]. Следовательно, снижение активности протеолиза при злокачественной трансформации тканей почки, возможно, обусловлено нарушением функции почечного эпителия.

Активность протеосом и их пулов у больных локализованным РП и при его метастазировании представлена в таблице. Наблюдалось снижение как тотальной активности протеосом, так и активности пулов 26S и 20S протеосом в образцах опухолей с метастазами по сравнению с таковыми у пациентов со стадией N0M0. При этом достоверно значимые различия выявлены только для тотальной активности протеосом. Снижение активности протеосом на фоне увеличения уровня транскрипционных факторов HIF-1 $\alpha$  и NF- $\kappa$ B p65 дает основание предположить существование связи между внутриклеточным протеолизом и экспрессией транскрипционных факторов при метастазировании РП.

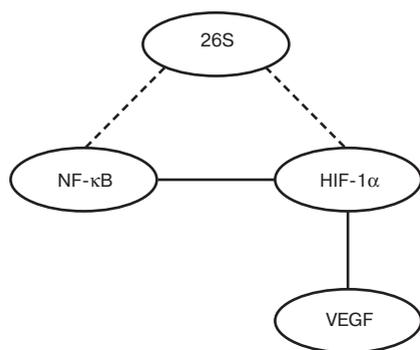
Для подтверждения этого предположения был проведен корреляционный анализ, который позволил выявить слабые, статистически значимые связи между активностью 26S протеосом, экспрессией NF- $\kappa$ B p65 ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,05$ ) и содержанием HIF-1 $\alpha$  ( $r = -0,36$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 2, А, Б). Отрицательная корреляция между активностью 26S протеосом и экспрессией NF- $\kappa$ B p65 свидетельствует о существовании возможных, независимых от протеосом механизмов активации транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B p65. Известно, что активация NF- $\kappa$ B

происходит при фосфорилировании ДНК-связывающих субъединиц фактора [18] или за счет других протеолитических ферментов [19]. Снижение активности протеосом 26S, осуществляющего деградацию транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  [5], приводит к повышению содержания фактора в опухоли и, как следствие, к активации неоангиогенеза. Содержание HIF-1 $\alpha$  также ассоциировалось с уровнем VEGF ( $r = 0,81$ ;  $p < 0,05$ ) и NF- $\kappa$ B p65 ( $r = 0,93$ ;  $p < 0,05$ ) (рис. 2, В, Г). Полученные данные подтверждают влияние транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B на уровень экспрессии HIF-1 $\alpha$  в ткани РП, что согласуется с данными А. L. Goldberg (2007) [20]. Результаты корреляционного анализа также подтвердили связь экспрессии VEGF с уровнем HIF-1 $\alpha$ . Вероятно, накопление транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  при РП, ассоциированное с высоким содержанием VEGF, происходит не только при снижении деградации его протеосомами, но и за счет усиленной экспрессии NF- $\kappa$ B.

На рис. 3 представлена гипотетическая схема взаимосвязей между экспрессией факторов HIF-1 $\alpha$ , NF- $\kappa$ B и VEGF с активностью протеосом в ткани светлоклеточного РП. Содержание транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B, HIF-1 $\alpha$  связано с активностью протеосом 26S. Повышение содержания транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B и его активных форм при прогрессировании РП сопровождается ростом уровня HIF-1 $\alpha$  на фоне снижения активности протеосом. При этом накопление транскрипционного фактора HIF-1 $\alpha$  при РП, вероятно,



**Рисунок 2. Графики рассеяния корреляций.** Пунктирными линиями обозначен 95% доверительный интервал.  
**А.** Между активностью пула 26S протеосом и содержанием HIF-1 $\alpha$ . **Б.** Между активностью пула 26S протеосом и содержанием NF- $\kappa$ B p65. **В.** Между экспрессией HIF-1 $\alpha$  и содержанием VEGF. **Г.** Между экспрессией HIF-1 $\alpha$  и содержанием NF- $\kappa$ B p65.



**Рисунок 3. Схема возможной взаимосвязи активности пула 26S протеосом с экспрессией NF-κB, HIF-1α и VEGF при РП.** Сплошная линия — положительная связь; пунктирная линия — отрицательная связь.

является результатом сниженной деградации фактора протеосомами и, возможно, усиленной экспрессии NF-κB. Высокая экспрессия VEGF характерна для процессов метастазирования при светлоклеточном РП. Повышение содержания этого фактора роста сочеталось с увеличением уровня транскрипционного фактора HIF-1α.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие метастазов при светлоклеточном РП, вероятно, регулируется протеосомной системой и сопровождается не только высокой экспрессией транскрипционного HIF-1α и ростового фактора VEGF, но и увеличением содержания фактора NF-κB. Одним из механизмов, связанных с активацией неопластического РП, является снижение активности протеосом, которое происходит на фоне активации NF-κB-зависимого пути. При этом отмечена связь активности протеосом с экспрессией транскрипционного фактора HIF-1α и ростового фактора VEGF. В свою очередь высокое содержание HIF-1α, возможно, обусловлено ростом экспрессии NF-κB. В целом, полученные данные указывают, что в механизм метастазирования вовлечены протеосомы и их дальнейшее изучение может стать основой для разработки новых дополнительных критериев прогноза течения РП и поиска эффективных противоопухолевых средств при молекулярно-направленной терапии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы (ФЦП) «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009—2013 гг. (Гос. контракт № П-320).*

#### ЛИТЕРАТУРА

- Jonasch E. Presurgical therapy in metastatic renal cell carcinoma // *Expert. Rev. Anticancer Ther.* — 2007. — Vol. 7, N 1. — P. 73—78.
- Михайленко Д. С., Любченко Л. Н., Залетаев Д. В. ДНК-диагностика наследственного рака почки // *Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН.* — 2010. — № 2. — С. 10—18.

3. mAKAP compartmentalizes oxygen-dependent control of HIF-1α / Wong W., Goehring A. S., Kapiloff M. S., Langeberg L. K., Scott J. D. // *Sci Signal.* — 2008. — Vol. 1, N 51. — P. 1—18.

4. Hypoxia-inducible factor 1 alpha in clear cell renal cell carcinoma / Klatte T., Seligson D. B., Riggs S. B., Leppert J. T., Berkman M. K. // *Clin. Cancer Res.* — 2007. — Vol. 13. — P. 7388—7393.

5. Фактор роста эндотелия сосудов и его рецептор 2-го типа в опухолях и сыворотке крови больных раком почки / Кушлинский Н. Е., Трапезникова М. Ф., Герштейн Е. С., Глыбин П. А., Казанцева И. А., Кылычбеков М. Б. // *Бюл. экспер. биол.* — 2008. — № 6. — С. 691—694.

6. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря / Спирина Л. В., Кондакова И. В., Усынин Е. А., Винтизенко С. И. // *Сиб. онкол. журн.* — 2008. — № 4. — С. 65—70.

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

8. Van Uden P., Kenneth N. S., Rocha S. Regulation of hypoxia-inducible factor-1α by NF-κappaB // *J. Biochem.* — 2008. — Vol. 412, N 3. — P. 477—484.

9. Sharova N., Zakharova L. Multiple forms of proteasomes and their role in tumor fate // *Recent Patents on Endocrine, Metabolic & Immune Drug Discovery.* — 2008. — Vol. 2, N 3. — P. 152—161.

10. The ubiquitin-proteasome pathway and enhanced activity of NF-κappaB in gastric carcinoma / Wu L., Pu Z., Feng J., Li G., Zheng Z., Shen W. // *J. Surg. Oncol.* — 2008. — Vol. 97, N 5. — P. 439—444.

11. Yue C. X., Ma J., Zhou H. J. The effect of RhoA and proteasome inhibitor MG132 on angiogenesis in tumors // *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* — 2011. — Vol. 42, N 4. — P. 445—501.

12. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis / Maxwell P. H., Wiesener M. S., Chang G. W., Clifford S. C., Vaux E. C., Cockman M. E., Wykoff C. C. // *Nature.* — 1999. — Vol. 399. — P. 271—275.

13. Bortezomib induces nuclear translocation of IκBα resulting in gene-specific suppression of NF-κB-dependent transcription and induction of apoptosis in CTCL / Juvekar A., Manna S., Ramaswami S., Chang T. P., Vu H. Y., Ghosh C. C., Celiker M. Y., Vancurova I. // *Mol. Cancer Res.* — 2011. — Vol. 9, N 2. — P. 183—194.

14. The 20S proteasome processes NF-κappaB1 p105 into p50 in a translation-independent manner / Moorthy A. K., Savinova O. V., Ho J. Q., Wang Y. Y., Vu D., Ghosh G. // *EMBO J.* — 2006. — Vol. 25, N 9. — P. 1945—1956.

15. Множественность форм протеосомы и некоторые подходы к их разделению / Абрамова Е. Б., Астахова Т. М., Ерохов П. А., Шарова Н. П. // *Изв. РАН Сер. биол.* — 2006. — № 2. — С. 150—156.

16. 26S proteasome-mediated production of an authentic major histocompatibility class I-restricted epitope from an intact protein substrate / Ben-Shahar S., Komlosch A., Nadav E., Shaked I., Ziv T., Admon A., DeMartino G. N., Reiss Y. // *J. Biol. Chem.* — 1999. — Vol. 274, N 31. — P. 21 963—21 972.

17. Degradation of albumin by renal proximal tubule cells and the subsequent fate of its fragments / Gidehithlu K. P., Pegoraro A. A., Dunea G., Arruda J. A., Singh A. K. // *Kidney International.* — 2004. — Vol. 65. — P. 2113—2122.

18. Schmitz M. L., Bacher S., Kracht M. I kappa B-independent control of NF-κappa B activity by modulatory phosphorylations // *Trends Biochem. Sci.* — 2001. — Vol. 26. — P. 186—190.

19. Proteasome inhibitor PS-341 (bortezomib) induces calpain-dependent IκappaB(α) degradation / Li C., Chen S., Yue P., Deng X., Lonial S., Khuri F. R., Sun S. Y. // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285, N 21. — P. 16 096—16 104.

20. Goldberg A. L. Functions of the proteasome: from protein degradation and immune surveillance to cancer therapy // *Biochem. Society Transactions.* — 2007. — Vol. 35. — P. 12—17.

Поступила 21.02.2012

*Lyudmila Victorovna Spirina<sup>1</sup>, Irina Victorovna Kondakova<sup>2</sup>,  
Evgeniy Anatolyevich Usynin<sup>3</sup>, Zakhar Alexandrovich Yurmazov<sup>4</sup>*

**EXPRESSION REGULATION OF TRANSCRIPTION FACTORS  
AND ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR BY PROTEOSOMAL SYSTEM  
IN PATIENTS WITH METASTATIC RENAL CARCINOMA**

<sup>1</sup> MD, PhD, Senior Researcher, Tumor Biochemistry Laboratory, Oncology Research Institute,  
SD of RAMS (5, Cooperativnaya ul., Tomsk, RF, 634050)

<sup>2</sup> MD, PhD, DSc, Professor, Head, Tumor Biochemistry Laboratory, Oncology Research Institute,  
SD of RAMS (5, Cooperativnaya ul., Tomsk, RF, 634050)

<sup>3</sup> MD, PhD, Senior Researcher, General Oncology Department, Oncology Research Institute,  
SD of RAMS (5, Cooperativnaya ul., Tomsk, RF, 634050)

<sup>4</sup> Physician, General Oncology Department, Oncology Research Institute,  
SD of RAMS (5, Cooperativnaya ul., Tomsk, RF, 634050)

Address for correspondence: Spirina Lyudmila Victorovna, General Oncology Department,  
Oncology Research Institute, SD of RAMS, 5, Cooperativnaya ul., Tomsk, RF, 634050;  
e-mail: SpirinaLV@oncology.tomsk.ru

Neoangiogenesis activation associated with elevated levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) under the effect of hypoxia-inducible transcription factor (HIF-1 $\alpha$ ) plays an important role in pathogenesis of renal carcinoma. The aim of this study was to analyze expression regulation of HIF-1 $\alpha$ , nuclear transcription factor kappa-B (subunits p65 and p50) and VEGF by proteosomes in tissue of metastatic clear-cell renal-cell carcinoma. Our findings suggest that renal carcinoma is characterized by both enhanced activity of HIF-1 $\alpha$  signaling resulting in VEGF overexpression and of nuclear factor kappa-B pathways, seemingly mediated by proteosomal system. Metastatic carcinomas demonstrated marked decrease in total proteosomal activity as compared to non-metastatic tumors. Levels of VEGF and transcription factors were found to correlate with proteosome activity in clear-cell renal carcinoma tissue. Our findings suggest that proteosomes may be considered a potential mechanism for regulation of neoangiogenesis and metastasis in renal carcinoma tissue.

**Key words:** renal carcinoma, nuclear transcription factor kappa-B, NF- $\kappa$ B, hypoxia-inducible transcription factor, HIF-1 $\alpha$ , vascular endothelial growth factor, VEGF, proteosome.