В.А. РИХТЕР

ЖЕНСКОЕ МОЛОКО – *источник потенциального* ЛЕКАРСТВА ОТ РАКА

В наши дни масштаб раковых заболеваний напоминает эпидемию: ежегодно во всем мире от злокачественных опухолей умирает свыше 7 млн человек и диагностируется около 10 млн новых случаев заболеваний. И хотя многие виды рака достаточно успешно лечатся, последствия такого лечения зачастую бывают не менее разрушительными, чем сама болезнь. Неудивительно, что исследователи постоянно ищут и создают новые, более эффективные и, главное, более щадящие методы лечения и лекарственные препараты. И надо сказать, что вещества, обладающие противоопухолевой активностью, обнаруживаются в самых неожиданных местах, – например, в женском молоке…

РИХТЕР Владимир Александрович – кандидат биологических наук, заместитель директора, заведующий лабораторией биотехнологии Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 44 научных работ и 14 патентов

В наше время, когда продолжительность жизни человека значительно увеличилась по сравнению с предыдущими столетиями, онкологические заболевания становятся одной из главных причин смертности среди взрослого населения. В том числе в России ежегодная смертность от рака составляет около 186 случаев у мужчин и 94 случаев у женщин на 100 тыс. человек.

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, к 2020 г. онкологические заболевания выйдут на первое место в мире среди всех диагностируемых заболеваний, обогнав при этом сердечно-сосудистые болезни. К 2030 г. число новых диагнозов может достигнуть 27 млн, а общее число больных – 75 млн человек.

Сегодня существует три основных метода лечения онкозаболеваний: хирургическое вмешательство, химиотерапия и радиотерапия. К сожалению, все они имеют свои существенные недостатки. В случае хирургического удаления злокачественной опухоли происходит утрата части или целого органа; радио- и химиотерапия отличаются неспецифичностью: в этом случае уничтожаются не только больные, но и здоровые, активно функционирующие клетки, что может иметь тяжелейшие последствия для организма в целом. Так, в случае метастазирующего рака использование химиотерапевтических препаратов с высокой противоопухолевой активностью практически не увеличивает продолжительность жизни больных (Соухами, Тобиас, 2009).

Но самое главное – все эти методы зачастую оказываются недостаточно эффективными, и главной причиной смертности онкобольных остается метастатический рост опухолей. Поэтому сегодня особенно остро стоит задача разработки лекарственных средств, которые будут направленно уничтожать только опухолевые клетки, не затрагивая здоровые. Создание таких средств для терапии онкологических заболеваний требует принципиально новых подходов, базирующихся на

Ключевые слова: апоптоз, онкология, противоопухолевая терапия, лактаптин, пептид, человеческое молоко
Key words: apoptosis, oncology, anticancer therapy, lactaptin, peptide, human milk

© В.А. Рихтер, 2013

В женском молоке специалисты из ИХБФМ СО РАН (Новосибирск) обнаружили новый белок с апоптотическими свойствами, названный лактаптином. Пептид с молекулярной массой 8,6 кДа, состоящий из 74 аминокислотных остатков, является фрагментом каппа-казеина молока человека. С использованием методов генной инженерии на основе кишечной палочки получен ряд продуцентов различных аналогов этого пептида, в том числе белок RL2

современных знаниях о «жизни и смерти» тех клеток, злокачественная трансформация которых приводит к росту первичной опухоли и образованию метастазов.

И с этой точки зрения заманчивой перспективой является возможность избирательно индуцировать в клетках раковой опухоли так называемый *апоптоз* – естественный процесс клеточного «самоубийства».

Апоптоз в переводе с греческого означает «опадание листьев». Это образное выражение как нельзя лучше отражает суть явления: с помощью апоптоза многоклеточный организм избавляется от ненужных либо дефектных клеток. У млекопитающих апоптоз играет важную роль в поддержании количества и функциональности клеток в отдельных органах и тканях как в норме, так и при патологии. Так, у взрослого человека в результате апоптоза ежедневно погибает около 50—70 млрд клеток; эта естественная убыль восполняется за счет деления других клеток организма.

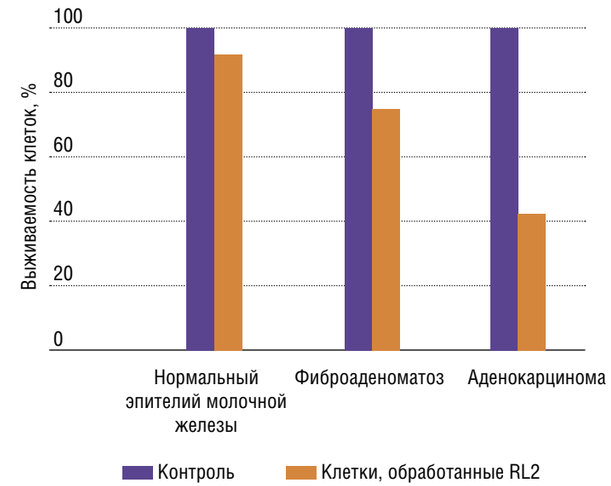
Апоптоз – «цивилизованную» гибель клетки, следует отличать от некроза – гибели непредусмотренной, случившейся под действием внешних факторов. В процессе программируемой гибели клетка сама «сворачивает» жизнедеятельность, а после смерти ее содержимое утилизируется другими клетками. В случае же некроза происходит развитие воспалительного процесса и отравление организма продуктами клеточного распада. Именно некроз опухолевых (и не только) клеток вызывают препараты, используемые в химиотерапии онкозаболеваний

В прицеле апоптоза

На сегодня уже созданы и применяются на практике несколько противораковых препаратов, механизм действия которых состоит в избирательной индукции апоптоза в клетках злокачественной опухоли. В основном это препараты на основе одного из провоспалительных цитокинов – *фактора некроза опухоли-α* человека и его аналогов. Однако препараты на основе этих иммунных белков также имеют серьезные побочные эффекты, что ограничивает их применение.

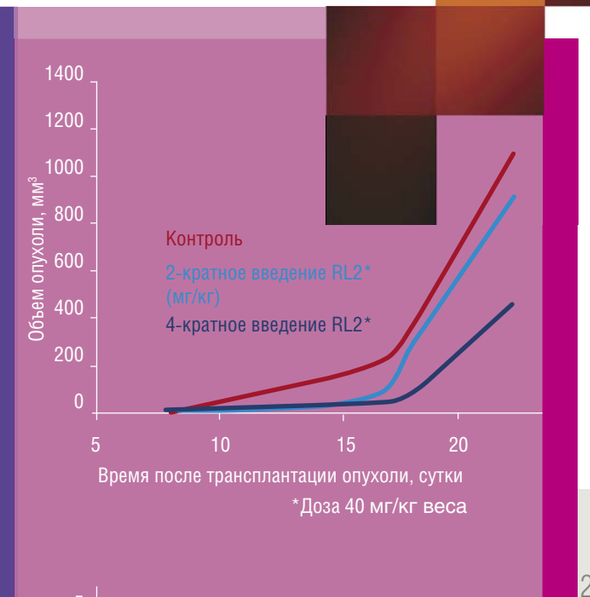
В последние годы появились экспериментальные данные, что стимулировать избирательный апоптоз клеток способны вещества, содержащиеся в женском молоке. Например, обнаружено, что один из белков молока – *α-лактальбумин*, в комплексе с жирными кислотами молока индуцирует в клеточных культурах апоптоз раковых и эмбриональных клеток млекопитающих, не оказывая при этом цитотоксического действия на здоровые дифференцированные клетки (Hakansson *et al.*, 1995; Reed, 2003).

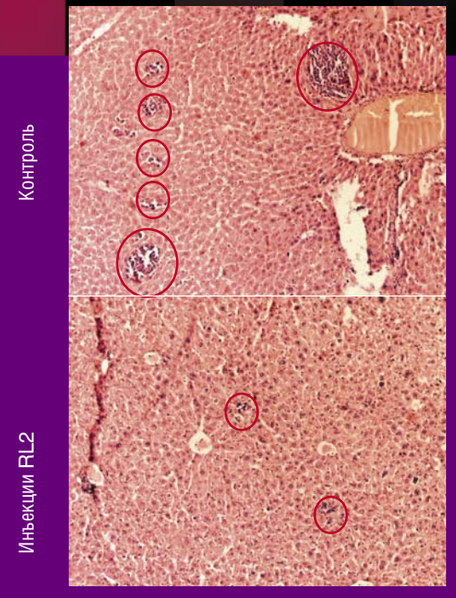
В женском молоке содержатся также цитокины, стимулирующие апоптоз, хотя и не в активном состоянии (Svensson *et al.*, 2000; Srivastava *et al.*,1996). Дело в том, что апоптотическая гибель клеток, секретирующих молоко, – часть нормального процесса морфологической перестройки молочной железы по окончании лактации. И этот процесс происходит исключительно благодаря локальным стимулам: факторы, способные подавлять секрецию молока и индуцировать апоптоз клеток молочной железы, накапливаются или активируются непосредственно в грудном молоке (Buescher *et al.*,1998).

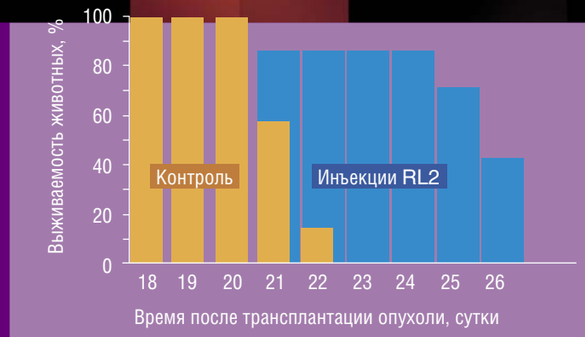


Белок RL2 – генно-инженерный аналог лактаптина, практически не оказывает цитотоксического действия на нормальные клетки эпителия молочной железы человека. Однако при развитии в ней патологического процесса он инициирует апоптоз в поврежденных клетках. При доброкачественном фиброаденоматозе RL2 заметно снижает выживаемость патологических клеток и более чем вдвое снижает выживаемость раковых клеток при злокачественной опухоли – аденокарциноме

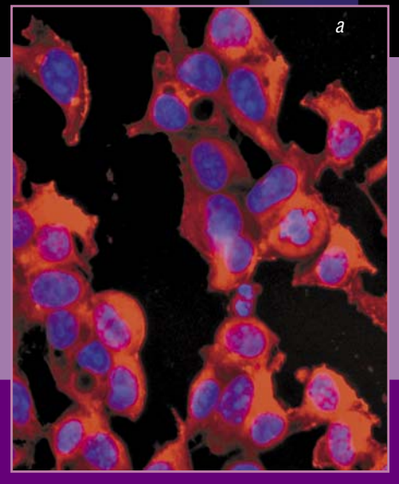
Апоптотические свойства белка RL2 протестированы на лабораторных мышах, которым была в районе лопатки подкожно трансплантирована злокачественная гепатома ГА-1. На 15-е сутки после трансплантации объем опухоли у животных, не получавших лечения, в среднем составлял не менее 10 мм³ (*а*). У животных, ежедневно получавших инъекцию RL2 (*б*), рост опухоли был заметно подавлен, при этом наблюдался дозозависимый эффект (*справа*)

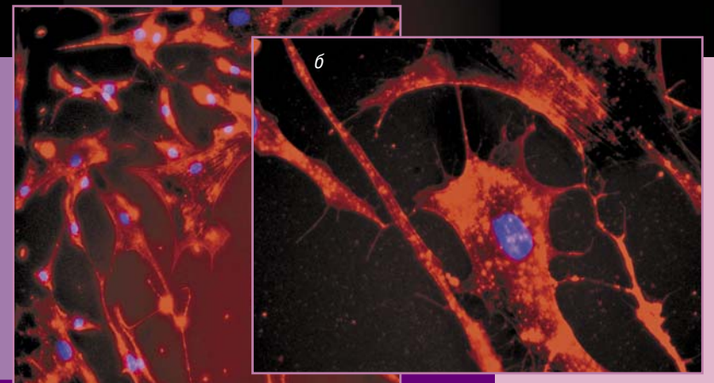






Инъекции белка RL2 лабораторным мышам с привитой гепатомой позволили увеличить продолжительность жизни этих животных (*вверху*). Данные гистологических исследований печени больных животных свидетельствуют, что при лечении препаратом RL2 число и площадь метастазов в печени существенно уменьшаются





Синим цветом окрашены ядра клеток, красным – белок RL2

Обработка клеток рака груди человека линий MCF-1(*а*) и MSC (*б*) белком RL2 инициирует апоптоз, при этом RL2 связывается с белками клеточного цитоскелета, провоцируя нарушения мембран митохондрий.
Флюоресцентная микроскопия

Все эти данные позволили рассматривать женское молоко как основу для создания строго избирательных, эффективных и безопасных средств для онкотерапии.

Знакомьтесь – лактаптин!

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) в плазме человеческого молока был обнаружен пептид, который индуцировал апоптоз клеток одной из стандартных опухолевых клеточных культур – клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF-7. Исследования показали, что этот пептид, состоящий из 74 аминокислотных остатков, является фрагментом *каппа-казеина* – одного из основных белков молока человека.

Новый белок назвали *лактаптином* – в этом названии отразились как происхождение, так и апоптотические свойства белка. С использованием методов генной инженерии получен ряд структурных аналогов лактаптина, из которого был выбран вариант, наиболее эффективный и удобный для дальнейшей работы. Этот пептид получил условное название RL2.

Различные линии клеток человека показали разную чувствительность к цитотоксическому действию рекомбинантного лактаптина. И наиболее чувствительными оказались именно клетки аденокарциномы молочной железы, тогда как недифференцированные стволовые клетки, выделенные из костного мозга, практически не реагировали на RL2.

Интересно, что, несмотря на свое «человеческое» происхождение, рекомбинантный лактаптин оказался способен вызывать апоптоз и у некоторых онкотрансформированных мышиных клеточных линий. В экспериментах, проведенных уже на лабораторных мышах, с помощью RL2 удалось продлить жизнь животным, которым была привита мышиная гепатома ГА-1. Особенность этого вида рака – множественные метастазы в печени, однако у мышей, принимавших RL2, их число было намного меньше.

По всем фронтам

В настоящее время процесс апоптоза изучен до мельчайших подробностей, в том числе выявлено множество факторов различной природы, запускающих программируемую смерть клетки. Стимулировать апоптоз может множество разнообразных внешних или внутриклеточных факторов, однако инициируется он посредством только двух механизмов: *рецепторно-зависимого* или *митохондриального*.

В первом случае сигнал апоптоза воспринимают особые белки, встроенные в клеточные мембраны, – «рецепторы смерти». Затем образуется цепочка взаимодействия «лиганд–рецептор–адаптер–эффектор», в конечном счете приводящая к активации каспаз – ферментов, расщепляющих белки. Во втором случае апоптоз реализуется в результате выхода апоптогенных белков из митохондрий в цитоплазму клетки, что происходит благодаря разрывам митохондриальных мембран или открытию в них каналов-пор.

Как же действует лактаптин? В апоптотических клетках, обработанных лактаптином, удалось выявить как маркеры рецепторного пути развития апоптоза (например, *каспазу-8*), так и фермент, характеризующий митохондриальный путь (*каспазу-9*). Также было обнаружено, что лактаптин эффективно проникает внутрь клетки, где связывается с белками цитоскелета клетки, высвобождая особые внутриклеточные факторы. Это в итоге и приводит к нарушению целостности митохондриальных мембран.

Противоопухолевый препарат RL2 – генно-инженерный аналог белка женского молока лактаптина, разработанный новосибирскими исследователями, сейчас проходит стадию доклинических испытаний.

Полученные результаты вселяют надежду, хотя пока нельзя говорить с уверенностью о том, что препарат будет внедрен в медицинскую практику. Впереди – длительные, трудоемкие и весьма затратные клинические испытания.

Работа поддержана ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (ГК № 02.740.11.0715), РФФИ (гранты № 10-04-01109; №11-04-12100-офиМ, №13-04-01313, №13-04-01457), ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности РФ» (ГК № 16.N08.12.1009), программой СО РАН «Фундаментальные науки медицине» (грант № 13)

В публикации использованы фото из архива автора

Литература

Соухами Р., Тобиас Дж. Рак и его лечение. Бином. М., 2009. 203 с.

Некипелая В.В., Семенов Д.В., Потапенко М.О. и др. Лактаптин – белок человеческого молока, индуцирующий апоптоз клеток аденокарциномы MCF-7ДАН // Докл. РАН, 2008. Т. 419, № 2. С. 268–271.

Фомин А.С., Коваль О.А., Семенов Д.В. и др. Анализ биохимических маркеров апоптоза клеток MCF-7, индуцируемого рекомбинантным аналогом лактаптина // Биоорганическая химия. 2012. Т. 38, № 1. С. 1–7.

Koval O.A. Fomin A.S., Kaledin V.I. et al. A novel pro-apoptotic effector lactaptin inhibits tumor growth in mice models // Biochimie. 2012. 94(12): 2467–74.

Semenov D.V., Fomin A.S., Kuligina E.V. et al. Recombinant analogs of a novel milk pro-apoptotic peptide, lactaptin, and their effect on cultured human cells // Protein J. 2010. 29(3). P. 174–180.