

УДК 577.2

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА VDR И РАЗВИТИЕ ЛЕЙКОЗОВ**Жумина А.Г., Ходков А.В., Сакенова З.Т.,
Погосян Г.П.***РГКП на ПХВ «Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова»,
Караганда, e-mail: gayane_63@mail.ru*

В статье рассматривается один из транскрипционных факторов, участвующих в дифференцировке раковых клеток, рецептор витамина D (VDR). VDR является членом надсемейства ядерных рецепторов транскрипционных регуляторов и посредником разнообразных биологических эффектов кальцитриола. Он обнаружен во многих тканях и органах, что доказывает его ключевую роль в пролиферации и дифференцировке клеток. VDR регулирует экспрессию генов, участвующих в разнообразных биологических функциях, таких как развитие органов, контроль клеточного цикла, гомеостаз кальция и фосфата в метаболизме костей и детоксификацию ксенобиотиков. VDR обнаружен также в клетках больных лейкозом и другими злокачественными заболеваниями. Кальцитриол посредством активации VDR может индуцировать дифференциацию, арест клеточного цикла и апоптоз в лейкемических и других раковых клетках.

Ключевые слова: рецептор витамина D (VDR), витамин D, кальцитриол, лейкоз, дифференцировка

VDR GENE EXPRESSION AND LEUKEMIA DEVELOPMENT**Zhumina A.G., Khodkov A.V., Sakenova Z.T.,
Pogossyan G.P.***Karaganda State University named after Y.A. Buketov, Karaganda,
e-mail: gayane_63@mail.ru*

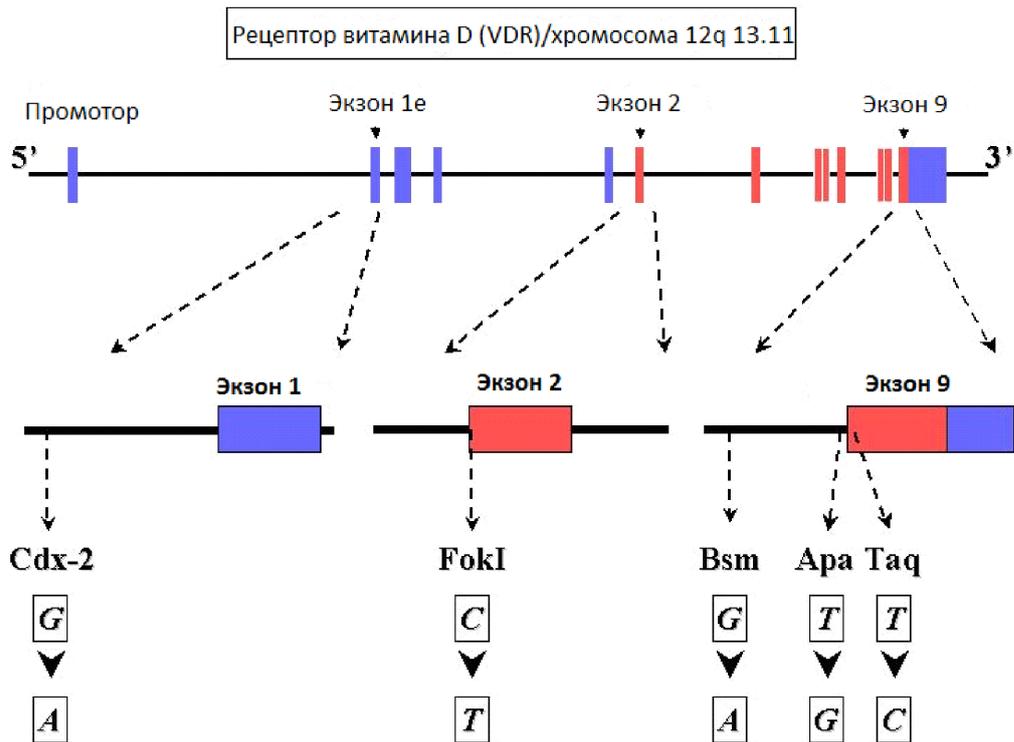
The one of the transcription factors involved in the differentiation of cancer cells, the receptor of vitamin D (VDR) is considered in the article. VDR is a member of transcriptional regulators of nuclear receptors superfamily, and mediate a variety of biological effects of calcitriol. It is found in many tissues and organs and this fact proves its pivotal role in cell proliferation and differentiation. VDR regulates the expression of genes involved in various biological functions, such as organ development, cell cycle control, calcium and phosphate homeostasis in the bone metabolism, and detoxification of xenobiotics. VDR is also found in the cells of patients with leukemia and other malignant diseases. Calcitriol by VDR activation can induce differentiation, cell cycle arrest and apoptosis in leukemic and other cancer cells.

Keywords: vitamin D receptor (VDR), vitamin D, calcitriol, leukemia, differentiation

На протяжении последних десятилетий активно изучается роль гена, кодирующего рецептор витамина D (VDR). VDR является медиатором действия $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ путем модуляции транскрипции генов-мишеней и был позиционирован как один из генов-кандидатов генетического контроля поддержания достаточной костной массы [33]. Исследования показали, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ является стероидным гормоном, и его конечная точка приложения непосредственно связана с генетически детерминированными свойствами рецептора витамина D. Рецептор витамина D обнаружен во многих тканях и органах, включая желудочно-кишечный тракт, мочеполовую систему, органы эндокринной системы, а также в культуре клеточных линий скелетно-мышечной системы. Это явилось главным доказательством того, что биологическое действие $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ выходит за рамки гомеостаза кальция и фосфора и играет ключевую роль в клеточной пролиферации и дифференцировке.

Рецептор витамина D (VDR) является членом надсемейства ядерных рецепторов транскрипционных регуляторов и посредником разнообразных биологических эффектов не только кальцитриола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), но и его аналогов. VDR предположительно возник путем дупликации анцестрального гена вместе с прегнан X рецептором (PXR – оба члены подсемейства NR11) [32].

Ген VDR расположен на коротком плече 12 хромосомы имеет размер 75 Кб и содержит 11 экзонов. В гене выделяют некодирующую и кодирующую области. Некодирующая область находится на 5-конце гена и включает экзоны 1A, 1B и 1C. Последующие 8 экзонов кодируют структурную часть белкового продукта гена VDR. В гене VDR описано значительное количество аллельных вариантов, однако наиболее функционально значимыми являются 4 полиморфных сайта в позиции соответствующих точкам узнавания эндонуклеаз: BsmI, TaqI, FokI (рисунок).



Структура гена VDR:

*Cdx-2, FokI, Bsm, Apa, Taq – сайты для узнавания соответствующих рестриктаз;
G – гуанин; A – аденин; C – цитозин; T – тимин*

Сохранение в VDR 18 из 22 лиганд-связывающих остатков было показано на видах позвоночных, от миноги до человека [20]. Разнообразная роль витамина D в развитии иммунитета, пролиферации и дифференцировке клеток [34], адсорбции фосфата и гомеостазе кальция [5] является, скорее всего, причиной избытка VDR во всех видах [9].

Лиганд-связанный VDR в комплексе с X рецепторами ретиноидов действует как перспективный фактор транскрипции [11]. Он трансктивирует или подавляет многочисленные гены-мишени путем связывания с положительным или отрицательным витамин-респонсивными элементами витамина D (VDREs и nVDREs, соответственно), присутствующими в промоторах, энхансерах или супрессорах этих генов [38]. В этом качестве VDR регулирует экспрессию генов, участвующих в разнообразных биологических функциях, включая развитие органов, контроль клеточного цикла, гомеостаз кальция и фосфата в метаболизме костей и детоксификацию ксенобиотиков [11]. VDR также играет роль в обеих врожденной и адаптивной ветвях иммунной системы, влияя таким образом на диапазон заболеваний. Неинфекционные заболевания, связанные с витамином D и VDR включают рак, а также аутоиммунные заболевания, та-

кие как систематическая красная волчанка, болезнь Крона, диабет I типа, рассеянный склероз и ревматоидный артрит [16]. Инфекционные заболевания, связанные с VDR включают в первую очередь ВИЧ, туберкулез (ТБ) и проказу [36].

Известно, что VDR участвует в пролиферации и дифференциации клеток. VDR экспрессируется в нескольких белых кровяных клетках, включая моноциты и активированные T- и B-клетки. Витамин D увеличивает экспрессию гена тирозингидроксилазы в медуллярных клетках надпочечников. Он также принимает участие в биосинтезе нейротрофических факторов, синтезе синтазы оксида азота и повышении уровня глутатиона. Помимо активации VDR, известны различные механизмы альтернативного действия. Важным из них является его роль как природного ингибитора передачи сигнала с помощью белка хеджехог (гормона, участвующего в морфогенезе). [35]

Анализ онтологии генов (ГО) предполагаемых 11031 генов-мишеней VDR обнаруживает, что эти гены-мишени были вовлечены в ряд различных функций, а именно, метаболизм клеток (43%), и морфология тканей (19%), слияние клеток и адгезия (10%), дифференцировка и развитие (10%), ангиогенез (9%), и транзиция эпителиаль-

ной ткани в мезенхимальную (5%) [6]. Участие VDR в таком большом количестве разнообразных болезней и физиологические функции делает его сильным координатором для изучения основных механизмов заболеваний и их возможной профилактики [1,37]. Следовательно, важность функции VDR, и развитие экспрессии VDR, гарантирует понимание основных механизмов регуляции гена VDR.

Регулирование VDR в основных условиях и при индукции многогранно; оно формируется под воздействием окружающей среды, генетики и эпигенетики. Изучение взаимодействия и комбинированной роли этих трех аспектов регуляции генов будет способствовать более общему пониманию предрасположенности и прогрессирования заболеваний, связанных с VDR, таких как рак и туберкулез. Этот подход к изучению регуляции генов по отношению к болезни был выдвинут Бьорнссоном и др в качестве гипотезы генетики и эпигенетики распространенных заболеваний (CDGE) (2004).

Разнообразные факторы окружающей среды регулируют VDR, среди которых диета [22], солнце [17], возраст [10], загрязнение окружающей среды [2] и инфекции [23]. Большинство из этих факторов оказывают свое воздействие на VDR регулирование путем изменения уровней витамина D. Витамин D является коллективным названием для холекальциферола (D_3) и эргокальциферола (D_2), которые являются предшественниками активного VDR лиганда – $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$. Витамин D связывающий белок (DBP) транслоцирует витамин D из кожи [18] или кишечника в кровеносную систему, где он остается связанным с ним во время циркуляции в крови. DBP доставляет витамин D в печень для активации [9], где 25-гидроксивитамин D ($25(\text{OH})\text{D}$) синтезируются из витамина D и снова доставляется с помощью DBP в кровеносную систему. Затем многофункциональный эндцитотический клиренс рецептор мегалин способствует поглощению DBP- $25(\text{OH})\text{D}$ комплекса в проксимальные каналцы почки посредством эндоцитоза [30]. Этому процессу способствует ассоциированный с мембранами корецептор кубулин, который локализуется с мегалином [31]. Синтез активного $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$ происходит в почках или другой ткани-мишени, которая катализируется CYP27B1, экспрессирующегося в большинстве тканей, включая клетки иммунной системы [42]. Последний поддерживает паракринную и аутокринную функцию в процессах, связанных с иммунитетом.

При связи с VDR, активный витамин D ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}$) регулирует экспрессию

VDR посредством VDREs находящегося в его собственных энхансерах [43], таким образом, витамин D саморегулирует VDR. Хотя точный механизм регуляции гена VDR пока не известен, этот тип регулирования часто достигается путем модификации хроматина ядра посредством модификации гистонов и метилирования ДНК или деметилирования, происходящим в связи с корепрессорами и коактиваторами [7, 20, 25]. Приобретение предшественника витамина D, а также производство и биодоступность активного лиганда является важным для регулирования и активности VDR. Стабилизация белка VDR посредством его лиганда, увеличение его полужизни, является еще одним механизмом, с помощью которого экологически приобретенный витамин D может модулировать уровни VDR [38].

Исследования Трампа и других показывают, что витамин D ($1,25$ дигидрокси-холекальциферол или кальцитриол) имеет значительную противораковую активность *in vitro* и *in vivo* в различных моделях рака человека, мышей и крыс (карцинома, рак простаты, легких, поджелудочной железы и миелома) [12-26, 39-40]. Кальцитриол индуцирует арест клеточного цикла, индуцирует и модулирует маркеры апоптоза и снижает сигналы выживаемости [8-29] *in vitro* и *in vivo* в большинстве из этих модельных систем. Глюкокортикоиды усиливают кальцитриол-опосредованную активность в пре-клинике (*in vitro* и *in vivo*) и клинике. Исследования показали, что дексаметазон (dex) значительно усиливает противораковый эффект кальцитриола и уменьшает гиперкальцемию, вызванную кальцитриолом. Dex увеличивает присоединение лиганда рецептора витамина D (VDR) в раковых клетках *in vitro* и *in vivo*, в то время как в слизистой кишечника [41], где происходит абсорбция кальция [19], он его снижает.

VDR обнаружен не только в классических органах-мишенях (слизистая кишечника, почки, кости) и во многих других эпителиальных и мезенхимальных клетках, но также и в лейкемических и других злокачественных клетках. Кальцитриол ингибирует рост клеток *in vitro* и *in vivo* в моделях рака толстой кишки и рака молочной железы. Кальцитриол может индуцировать дифференциацию, арест клеточного цикла и апоптоз в лейкемических и раковых клетках. Прогрессия посредством клеточного деления регулируется при помощи циклинов и ассоциированных с ними циклин-зависимых киназ. Ингибиторами циклин-зависимых киназ p21Waf1/Cip1 и p27Kip участвуют в аресте G_1 -фазы. В клетках HL-60 кальцитриол блокирует деление клетки

в G1-фазе; этот эффект достигается посредством увеличения p27. Кальцитриол-опосредованный арест в фазах G₀/G₁ также наблюдается в линиях клеток рака молочной железы. В линиях миеломоноцитарных клеток человека U937 функциональный VDRE был идентифицирован в регионе промотора p21, а также было обнаружено, что транскрипционная активация p21 с помощью VDR способствовала дифференцировке в этой линии клеток. [4].

Таким образом, нами были рассмотрены функции рецептора витамина D в организме человека, также выявлено что низкий уровень экспрессии VDR приводит к развитию многих распространенных заболеваний, к числу которых относится и лейкоз.

Список литературы

1. Andress, D.L., 2006. Vitamin D in chronic kidney disease: a systemic role for selective vitamin D receptor activation. *Kidney Int.* 69, 33–43.
2. Agarwal, K.S., Mughal, M.Z., Upadhyay, P., Berry, J.L., Mawer, E.B., Puliyl, J.M., 2002. The impact of atmospheric pollution on vitamin D status of infants and toddlers in Delhi, India. *Arch. Dis. Child.* 87, 111–113.
3. Ahmed S., Johnson C.S., Rueger R.M., Trump D.L. Calcitriol (1,25 dihydroxycholecalciferol) potentiates activity of mitoxantrone/dexamethasone in an androgen independent prostate cancer model // *J Urol* 168: 756-761, 2002.
4. Candace S. Johnson, Josephia R. Muindi, Pamela A. Hershberger, Donald L. Trump. The Antitumor Efficacy of Calcitriol: Preclinical Studies. *Anticancer Research* 26: 2543-2550 (2006), 2543-2549.
5. DeLuca H.F., 2004. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 1689–1696.
6. Ding N., Yu R.T., Subramaniam N., Sherman M.H., Wilson C., Rao R., Leblanc M., Coulter S., He M., Scott C., Lau S.L., Atkins A.R., Barish G.D., Gunton J.E., Liddle C., Downes M., Evans R.M., 2013. A vitamin D receptor/SMAD genomic circuit gates hepatic fibrotic response. *Cell* 153, 601–613.
7. Fetahu I.S., Höbaus J., Kállay E., 2014. Vitamin D and the epigenome. *Front. Physiol.* 5, 164.
8. Getzenberg R.H., Light B.W., Lapco P.E. Vitamin D inhibition of prostate adenocarcinoma growth and metastasis in the Dunning rat prostate model system. *Urology* 50: 999-1006, 1997.
9. Haddad J.G., Matsuoka L.Y., Hollis B.W., Hu Y.Z., Wortsman J., 1993. Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J. Clin. Invest.* 91, 2552–2555.
10. Hagenau T., Vest R., Gissel, T.N., Poulsen C.S., Erlandsen M., Mosekilde L., Vestergaard P., 2009. Global vitamin D levels in relation to age, gender, skin pigmentation and latitude: an ecologic meta-regression analysis. *Osteoporos. Int.* 20, 133–140.
11. Haussler M.R., Whitfield G.K., Kaneko I., Haussler C.A., Hsieh D., Hsieh J.C., Jurutka P.W., 2013. Molecular mechanisms of vitamin D action. *Calcif. Tissue Int.* 92, 77–98.
12. Hershberger P.A., Yu W.D., Modzelewski R.A. et al: Enhancement of paclitaxel antitumor activity in squamous cell carcinoma and prostatic adenocarcinoma by 1,25-dihydroxycholecalciferol (1,25-D3). *Clin Cancer Res* 7: 1043-1051, 2001.
13. Hershberger P.A., Modzelewski R.A., Rueger R.M., Blum K.E., Trump D.L. and Johnson C.S. Enhanced anti-tumor efficacy with dexamethasone/calcitriol/cisplatin therapy: role of p21WAF1. *Proc Am Assoc Cancer Res* 41: 15, 2000.
14. Hershberger P.A., Modzelewski R.A., Shurin Z.R. In vitro and in vivo modulation of p21Waf1/Cip1 and p27Kip1 in squamous cell carcinoma I response to 1,25-dihydroxycholecalciferol (calcitriol). *Cancer Res* 59: 2644-2649, 1999.
15. Hochberg Z., Templeton A.R. Evolutionary perspective in skin color, vitamin D and its receptor. 2010. *Hormones* 9, 307–311.
16. Holick M.F., 2004a. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 362–371.
17. Holick M.F., 2003. Vitamin D: a millennium perspective. *J. Cell. Biochem.* 88, 296–307.
18. Holick M.F., MacLaughlin J.A., Clark M.B., Holick S.A., Jr Potts J.T., Anderson R.R., Blank I.H., Parrish J.A., Elias P., 1980. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* 10, 203–205.
19. Klein R.G., Arnaud S.B., Gallagher J.C. et al: Intestinal calcium absorption in exogenous hypercortisolism. *J Clin Invest* 60: 253-259, 1977.
20. Kim M.-S., Kondo T., Takada I., Youn M.-Y., Yamamoto Y., Takahashi S., Matsumoto T., Fujiyama S., Shirode Y., Yamaoka I., Kitagawa H., Takeyama K.-I., Shibuya H., Ohtake F., Kato S., 2009. DNA demethylation in hormone-induced transcriptional de-repression. *Nature* 461, 1007–1012.
21. Krasowski M.D., Yasuda K., Hagey L.R., Schuetz E.G., 2005. Evolutionary selection across the nuclear hormone receptor superfamily with a focus on the NR1I subfamily (vitamin D, pregnane X, and constitutive androstane receptors). *Nucl. Recept.* 3, 2.
22. Lamberg-Allardt C., 2006. Vitamin D in foods and supplements. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 92, 33–38.
23. Liu P.T., Stenger, S., Li H., Wenzel L., Tan B.H., Krutzik S.R., Ochoa M.T., Schaubert J., Wu K., Meinken C., Kamen D.L., Wagner M., Bals R., Steinmeyer A., Zügel U., Gallo R.L., Eisenberg D., Hewison M., Hollis B.W., Adams J.S., Bloom B.R., Modlin R.L., 2006. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 24, 1770–1773.
24. Light B.W., Yu W-D, McElwain M.C. et al: Potentiation of cisplatin anti-tumor activity using a vitamin D analogue in a murine squamous cell carcinoma model system. *Cancer Res* 57: 3759-3764, 1997.
25. Murayama A., Kim M., Kanagisawa J., Takeyama K., Kato S., 2004. Transrepression by a liganded nuclear receptor via a bHLH activator through co-regulators witching. *EMBOJ.* 23, 1598–1608.
26. McElwain M.C., Dettlebach M.A., Modzelewski R.A. et al: Antiproliferative effects in vitro and in vivo of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and a vitamin D₃ analog in a squamous cell carcinoma model system. *Mol Cell Diff* 3: 31-50, 1995.
27. Modzelewski R.A.: Apoptotic effects of paclitaxel and calcitriol in rat dunning MLL and human PC-3 prostate tumor cells in vitro. *Proc Am Assoc Cancer Res* 40: 580, 1999.
28. McGuire T.F., Trump D.L. and Johnson C.S. Vitamin D3- induced apoptosis of murine squamous cell carcinoma cells: selective induction of caspase-dependent MEK cleavage and up-regulation of MEKK-1 // *J Biol Chem* 276: 26365-26373, 2001.
29. McGuire T.F., Trump D.L. and Johnson C.S.: 1,25-dihydroxyvitamin D3 induces cytosolic accumulation of MEKK-1 before onset of apoptosis in a p38 MAPK-regulated manner. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2159: 435, 2002.
30. Nykjaer A., Dragun D., Walther D., Vorum H., Jacobsen C., Herz J., Melsen F., Christensen E.I., Willnow T.E., 1999. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell* 96, 507–515.
31. Nykjaer A., Fyfe J.C., Kozyraki R., Leheste J.R., Jacobsen C., Nielsen M.S., Verrou P.J., Aminoff M., de la Chapelle A., Moestrup S.K., Ray R., Gliemann J., Willnow T.E., Christensen E.I., 2001. Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D₃. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 13895–13900.

32. Reschley E.J., Krasowski M.D., 2006. Evolution and function of the NR11 nuclear hormone receptor subfamily (VDR, PXR, and CAR) with respect to metabolism of xenobiotics and endogenous compounds. *Curr. Drug Metab.* 7, 349–365.
33. Stewart T.L. Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis / T.L. Stewart, S.H. Ralston // *J. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 166. – P. 235245.
34. Samuel S., Sitrin M.D., 2008. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutr. Rev.* 66, S116–S124
35. Uitterlinden A.G., Fang Y., Van Meurs J.B., Pols H.A., Van Leeuwen J.P. (2004). «Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms». *Gene* 338 (2): 143–56.
36. White J.H., 2008. Vitamin D signalling, infectious diseases, and regulation of innate immunity. *Infect. Immun.* 76, 3837–3843.
37. Wang T.J., Pencina M.J., Booth S.L., Jacques P.F., Ingelsson E., Lanier K., Benjamin E.J., D'Agostino R.B., Wolf M., Vasan R.S., 2008. Vitamin D deficiency and risk of cardio-vascular disease. *Circulation* 117, 503–511.
38. Wiese R.J., Uhland-Smith A., Ross T.K., Prah J.M., DeLuca H.F., 1992. Up-regulation of the vitamin D receptor in response to 1,25-dihydroxyvitamin D₃ results from ligand-induced stabilization. *J. Biol. Chem.* 267, 20082–20086.
39. Yu W.D., Rueger R.M., Fuller R.W., Johnson C.S. and Trump D.L. 1,25-dihydroxycholecalciferol (calcitriol) enhancement of chemotherapeutic efficacy: synergistic effects by median dose effect. *Proc Am Assoc Cancer Res* 42: 84, 2001.
40. Yu W-D, Hershberger P.A., Muindi J., Fuller R., Kong R-X, Trump D.L. and Johnson C.S. Calcitriol enhances gemcitabine anti-tumor activity in vitro and in vivo in a human pancreatic carcinoma model in association with increased apoptosis and decreased P-Akt. *Proc Am Assoc Cancer Res* 45: 2200, 2004.
41. Yu W-D, McElwain M.C., Modzelewski R.A. et al: Potentiation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ -mediated anti-tumor activity with dexamethasone. *J Natl Cancer Inst* 90: 134-141, 1998.
42. Zehnder D., Bland R., Williams M.C., McNinch R.W., Howie A.J., Stewart P.M., Hewison M., 2001. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D₃ -1 α -hydroxylase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 888–894.
43. Zella L.A., Kim S., Shevde N.K., Pike J.W., 2006. Enhancers located within two introns of the vitamin D receptor gene mediate transcriptional autoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Mol. Endocrinol.* 20, 1231–1247.