

УДК 616.65-006.6.

БИОЛОГИЯ ПРОСТАТИЧЕСКОГО СПЕЦИФИЧЕСКОГО АНТИГЕНА И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАКА ПРОСТАТЫ¹

© 2005 В.А. Соловов²

Простатический специфический антиген (ПСА) — серинная протеаза, которая продуцируется неизменными и злокачественными клетками простаты. ПСА — наиболее распространенный опухолевый маркер определения рака предстательной железы (РПЖ). В обзоре приводятся современные данные о биологии, физиологии и роли ПСА в патогенезе РПЖ.

Простатический специфический антиген — серин-протеаза, которая регулируется андрогенами. Первично ПСА продуцируется в простатических протоках и ацинарном эпителии, затем секретируется в семенной поток, где расщепляет семеногелин I и II и участвует в разжижении спермы [1]. ПСА относится к семейству тканевых калликреинов, локализованных на хромосоме 19q13.4 [2]. Калликреины первоначально были определены как серинные протеазы, которые расщепляют определенные высокомолекулярные протеины, при этом высвобождаются биоактивные белки, называемые кининами. Калликреины подразделяются на два семейства — плазменные и тканевые. Среди последних только человеческий калликреин 1 (hK1, панкреатически-ренальный калликреин) имеет существенную калликреиновую активность.

До недавнего времени было определено только три человеческих тканевых калликреина: hK1, hK2 (глангулярный калликреин), hK3 (ПСА). Однако последние исследования выявили 15 тканевых калликреиновых генов на хромосоме 19q13.3-q13.4, которые кодируются пятью экзонами одинакового размера и гомологичны от 40 до 80% [2, 3].

Ген, кодирующий hK1 (KLK1), располагается наиболее близко к центromере, за ним следуют KLK15, KLK3 (кодирующий ПСА) и KLK2. Калликреиновые гены экспрессируются в различных тканях, и многие из них регулируются стероидными гормонами. Так же как ПСА, KLK2 и KLK4 первично экспрессируются в простате и имеют андрогеновую регуляцию [4].

¹Представлена доктором медицинских наук профессором И.Г.Кретовой.

²Соловов Вячеслав Александрович (samarasdc@yahoo.com), Самарский диагностический центр, 443093, Россия, г. Самара, ул. Мяги, 7а.

Близкое расположение генов KLK2, KLK3 и KLK4 в сочетании с их первичной экспрессией в простате означает, что они имеют общие простато-специфические регуляторные факторы (в дополнение к андрогено-зависимым элементам) и могут контролировать их экспрессию. Исследования показали, что KLK2 и, возможно, KLK4, несмотря на то, что KLK4 экспрессируется в значительно более низких концентрациях, могут также быть использованы как маркеры РПЖ [5].

ПСА экспрессируется при раке простаты, хотя уровень экспрессии на одну клетку ниже, чем в нормальном эпителии [6]. Эта экспрессия отображает транскрипционную активность андрогеновых рецепторов у большинства злокачественных новообразований предстательной железы [7]. Важно, что хотя снижение уровня ПСА при антиандрогеновой депривации вызывается частично гибелью клеток опухоли, это также отображает результат снижения андрогено-стимулированного ПСА, который повышает выживаемость клеток опухоли. Как результат этого процесса — андрогеновая депривация может сильнее влиять на продуцирование ПСА, чем на выживаемость опухоли. В частности, полная андрогеновая блокада в сочетании с кастрацией и назначение антагонистов андрогеновых рецепторов (против одиночной кастрации) приводят к более быстрому снижению ПСА до минимальных значений, хотя это не приводит к явному улучшению выживаемости больных. Кроме того, уровень снижения ПСА показывает эффективность подобной терапии и может быть использован при сравнении различных вариантов лечения.

ПСА нередко экспрессируется у больных РПЖ даже после андрогенной депривации (гормоно-резистентные или андрогено-независимые опухоли). Факторы, регулирующие экспрессию ПСА при андрогено-независимых РПЖ не ясны, но андрогенные рецепторы соответственно выражены и, похоже, имеют транскрипционную активность в большинстве случаев. Отсутствие андрогенных рецепторов или их мутация приводит к развитию андрогено-резистентных раков простаты и прогрессии опухолевого процесса [8].

Современные исследования указывают на то, что андрогенная депривация приводит к выборочным изменениям на эпигенетическом и генетическом уровнях в андрогеновых рецепторах и в андрогено-рецепторо-транскрипционных коактиваторных белках. Результатом этого является андрогено-рецепторная транскрипционная активность, несмотря на кастрационный уровень андрогенов [9]. Эта андрогено-рецепторная активность, по видимому, имеет относительную резистентность к андрогено-рецепторным антагонистам, способствует персистенции экспрессии ПСА при андрогено-независимых опухолях простаты. Кроме того, связь между этой экспрессией и ростом клеток опухоли более незначительна, чем в андрогено-зависимых злокачественных новообразованиях предстательной железы.

Большинство железистой ткани простаты находится в периферической зоне, где продуцируется семенная жидкость, которая попадает в 12–20 эккреторных протоков, а затем в уретру. Концентрация ПСА в семенной

жидкости — 0.5–2.0 нг/мл. Простатическая железа состоит из одиночного слоя секреторных эпителиальных клеток, которые окружены непрерывным слоем базальных клеток и базальной мембраной. ПСА продуцируется этими секреторными эпителиальными клетками в ацинусы и протоки. Ранние признаки рака предстательной железы — разрушение базального клеточного слоя и базальной мембраны. Нарушение нормального строения железки приводит к повышению ПСА прямым поступлением в периферический кровоток. ПСА в норме находят в очень низких концентрациях в парауретральных и перианальных железах, апокриновых, молочной и щитовидной железах, плаценте. Продуцирование ПСА этими железами не влияет на уровень маркера в периферической крови, так как после радикальной простатэктомии его уровень падает до неопределяемого значения. ПСА также продуцируется и другими злокачественными опухолями, включая рак молочной железы. Функция ПСА в этих тканях не ясна, и польза определения этого маркера для диагностики злокачественных опухолей других локализаций не установлена [10].

ПСА синтезируется цепочками из 17 аминокислот (препроПСА), которые отщепляются для генерирования неактивного белка предшественника (проПСА), состоящего из 244 аминокислот. Отщепление терминальной последовательности из 7 аминокислот от проПСА генерирует активный фермент, который имеет пять межцепочных дисульфидных мостиков, один олигосахарид, сцепленный с аспарагином; масса данной последовательности 33кД [11]. Это отщепление проПСА в норме происходит между аргинином в позиции 7 и изолейцином — позиция 8, с изолейцином, становящимся конечным у активного белка. ПСА может также активизироваться другими простатическим калликреинами, включая KLK4.

Приблизительно 30% ПСА в плазме спермы находятся в интактной протеолитической форме, около 5% связано с белком С ингибитором [12]. Остальные изоформы ПСА неактивны из-за внутреннего расщепления (вероятно протеазой семенной жидкости) между участками 85–86, 145–146 или 182–183. Эти расщепленные изоформы ПСА называются ВПСА, так как они определяются в транзитной зоне простаты и увеличиваются при доброкачественной гиперплазии предстательной железы [13]. Существенно, что ее концентрация снижается в тканях рака простаты предположительно из-за снижения контакта с протеазой семенной жидкости.

Дополнительные формы ПСА, обнаруженные недавно в тканях рака простаты, — это усеченные формы проПСА, расщепленные между leu 5 и серином 6 в пропептиде [14]. В результате этот протеин (обозначаемый как [-2]рПСА) имеет две дополнительные аминокислоты относительно ПСА и каталитически неактивен (циркулирующий как свободный ПСА). Эта форма кажется стабильной, так как две дополнительные аминокислоты не расщепляются трипсином или KLK2. Иммуногистохимические исследования, использующие моноклональные антитела, распознающие [-2]рПСА, обнаружили увеличение окраски секрета из простаты с злокачественными новооб-

разованиями. Другие усеченные формы проПСА с одной, четырьмя и пятью дополнительными N-конечными аминокислотами также выявляются в тканях рака простаты. Молекулярная основа для повышения этих изоформ ПСА при злокачественных новообразованиях не очевидна, хотя, вероятно, это происходит из-за снижения расщепления проПСА hK2 в тканях раковой опухоли. Эти изоформы могут быть обнаружены в периферическом кровотоке и исследуются как маркеры рака простаты [15].

Большая часть 70–90% ПСА, попадающая в периферический кровоток, неактивна и циркулирует как 80–90 кД комплекс с ингибитором протеазы α_1 -антихимотрипсином. Меньшая часть связана с другими ингибиторами протеаз, включая α_2 -макроглобулин и α_1 -антитрипсин. Антитела в большинстве наборов распознают и свободный, и комплексированный ПСА, но не один набор не распознает комплекс с α_2 -макроглобулином, так как он полностью окружен белком. ПСА в периферической крови каталитически неактивен, не образует комплексы с ингибиторами протеаз и другими белками и циркулирует как свободный ПСА (f-ПСА). Его концентрация составляет 10–30% от общего ПСА. Как было упомянуто выше, каталитические расщепления происходят в семенной плазме и представлены более низкими концентрациями в злокачественных новообразованиях предстательной железы предположительно из-за нарушения нормальной секреции ПСА в протоки. Следовательно, отношение свободного к общему ПСА (f/t-ПСА) ниже у многих пациентов с раком простаты, что и используется при диагностике данного заболевания.

Усеченные формы проПСА, определенные в простате, могут быть обнаружены и в плазме [14]. Последние исследования у пациентов с подтвержденными при биопсии злокачественными новообразованиями предстательной железы показали, что [-2]pПСА составляет большую часть f-ПСА от 25 до 95%, чем у пациентов с неподтвержденными РПЖ. Будущие исследования необходимы, так как усеченные изоформы pПСА обещают улучшить специфичность ПСА.

В настоящее время общепринятой физиологической функцией ПСА считается его способность растворять семигелины и фибронектин, находящиеся в высокой концентрации в семенной плазме, таким образом, разжижать семенной сгусток вскоре после эякуляции. Физиологический результат расщепления семигелинов не известен, хотя этот процесс увеличивает смертность клеток спермы. Другие исследователи сообщают, что ПСА может выделять кининоподобную субстанцию, которая стимулирует сокращение гладкой мускулатуры путем расщепления гликопротеинов, находящихся в жидкости семенных пузырьков. Некоторые ученые считают, что ПСА обладает ингибирующим действием на рост клеток, проявляет антиканцерогенетический и антиангиогенетический эффекты и индуцирует апоптоз. Тем самым ПСА показывает туморосупрессорную активность. Отмечено, что среди недавно открытых калликреиновых генов два протеина — нормальный эпителиальный клеточно-специфический 1 ген [15] и протеаза М (фермент

нейрозин) [4] также проявляют туморосупрессорную активность при раке молочной железы и раках других локализаций. В противоположность широко распространенному среди неспециалистов мнению отмечается, что экспрессия ПСА у больных раком простаты и раком молочной железы в целом снижена по сравнению со здоровыми и пациентами с доброкачественной гиперплазией [16, 17]. Действительно, в последних исследованиях указывается на то, что пациенты с низким уровнем тканевого ПСА имеют значительно более быструю прогрессию заболевания и умирают чаще, чем больные с относительно высокой концентрацией тканевого ПСА. Увеличение концентрации сывороточного ПСА происходит из-за роста количества опухолевых клеток, разрушения строения простаты и диффузии большого количества этого антигена в общий кровоток. Исследователи предполагают, что ПСА может быть полезен для тканей молочной железы и простаты, и его низкий уровень может вызывать рак и ассоциируется с более агрессивными формами заболеваний. Таким образом, попытки создать противораковую вакцину или другие лекарственные средства, используя экспрессию ПСА, может иметь неверную стратегию при лечении рака простаты и молочной железы. Поэтому, может быть, следует создавать гиперэкспрессию ПСА в тканях таких опухолей [18]. Другими словами, ПСА может считаться "борцом с раком" на тканевом уровне и "ценным почтальоном" на уровне системной циркуляции, который используется для определения и мониторинга лечения РПЖ [19].

В то же время некоторые ученые считают, что ПСА оказывает вредное воздействие на молочную железу, простату и другие ткани. Например, в одном клиническом исследовании было обнаружено, что рак молочной железы, продуцирующий высокие концентрации ПСА, более резистентен к терапии тамоксифеном при сравнении с опухолями, не продуцировавшими ПСА. Подтверждает это мнение работа, в которой показано, что у пациентов с метастатическим раком молочной железы отмечался высокий уровень продуцирования ПСА в новообразованиях. Такие больные умирали чаще, чем пациенты, у которых злокачественные опухоли не продуцировали ПСА [20].

ПСА циркулирует в основном в неактивной форме, так как связан с транспортными белками. Кроме того, протеолитическая способность ПСА в непосредственной близости к опухоли имеет возможность отщепления белков, влияющих на развитие и прогрессию рака. Подобный белок, расщепленный ПСА, представляет собой инсулиноподобный фактор роста, связывающий протеин-3 протеазу (IGFBP-3). Значительная часть связанного белка плазмы — биоактивный инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1) [21]. Он стимулирует развитие рака простаты, и увеличение его концентрации в сыворотке означает риск наличия опухоли. Исследования, проведенные *in vitro*, показали, что IGFBP-3 продуцируется эпителиальными клетками простаты, и его расщепление ПСА снижает связанность IGF-1 и увеличивает пролиферацию IGF-1. Инсулиноподобный фактор роста-1 хорошо известен

как митоген многих типов клеток и фактор риска для развития карциномы простаты и молочной железы [22]. Значение расщепления IGFBP-3 ПСА *in vivo* неясно. Последние исследования обнаружили увеличение концентрации IGFBP-3 после радикальной простатэктомии [11].

Некоторые ученые считают, что ПСА стимулирует рост стромальных и эпителиальных клеток простаты [22]. Другие исследователи предположили, что ПСА активизирует скрытый трансформирующий фактор роста- β или расщепляет гормоно-связанные белки щитовидной железы.

Простатический специфический антиген способен расщеплять белки, которые влияют на миграцию клеток и метастазирование. ПСА может расщеплять межклеточные матричные гликопротеины, такие как фибронектин и ламинин, и исследования *in vitro* показали, что микроинвазия раковых клеток ингибируется ПСА-нейтральными антителами [23]. Раковые клетки, растущие на стромальном межклеточном матриксе, выделяют повышенные концентрации ПСА, сравнимые с клетками, растущими на обычных клеточных культурах. ПСА и hK2 способны расщеплять и активизировать урокиназу — тип плазминоген активатор, который может увеличивать клеточную инвазию, хотя hK2, похоже, имеет большую возможность для этой активации, чем ПСА [24].

ПСА имеет мощную митогенетическую активность *in vitro* для остеобластов, которые способны быть посредниками в трансформации роста бета-фактора путем протеолитической модуляции поверхностных рецепторов остеобластных клеток. Эти результаты существенны, так как они подтверждают роль ПСА при костном метастазировании и остеобластическом ответе. Кроме того, ПСА снижает уровень околощитовидного гормонозависимого белка, который отменяет митогенетические эффекты этого белка на остеобласты [25].

В противовес поддержки опухолевой активности, ПСА имеет антиангиогенные эффекты за счет расщепления плазминогена и генерирования пептидов с антистатиновой активностью или инактивации ангиогенных индукторов фибробластов фактора роста-2 и сосудистых эндотелиальных факторов роста. Согласуется с этой теорией работа, показавшая, что ткань рака простаты демонстрирует обратную зависимость между экспрессией ПСА и микрососудистой плотностью [23].

Все эти исследования показывают механизмы, с помощью которых ПСА может обладать как опухолестимулирующим, так и противоопухолевым эффектами, однако изучение каждого из этих механизмов *in vivo* должно быть продолжено. Оценить опухолестимулирующие или противоопухолевые свойства ПСА в непосредственной близости к опухоли чрезвычайно сложно, так как соматические концентрации расщепленных продуктов могут не отражать их содержание в опухоли. Эффекты других калликреинов со схожими протеолитическими возможностями, таких как hK2, затрудняют решение вопроса о том, является ли ПСА только опухолевым маркером или имеет возможность влиять на развитие опухоли [19].

Литература

- [1] Lilja H., Oldbring J., Rannevik G. et al. Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen // *J. Clin. Invest.* 1987. V. 80. P. 281–285.
- [2] Yousef G.M., Luo L.Y., Diamandis E.P. Identification of novel human kallikrein-like genes on chromosome 19q13.3-q13.4 // *Anticancer. Res.* 1999. V. 19. P. 2843–2852.
- [3] Yousef G.M., Diamandis E.P. The new human tissue kallikrein gene family: Structure, function, and association to disease // *Endocr. Rev.* 2001. V. 22. C. 184–2041.
- [4] Nelson P.S., Gan L., Ferguson C. et al. Molecular cloning and characterization of prostase, an androgen-regulated serine protease with prostate-restricted expression // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999. V. 96. P. 3114–3119.
- [5] Huang W., Shostak Y., Tarr P. et al. Cooperative assembly of androgen receptor into a nucleoprotein complex that regulates the prostate-specific antigen enhancer // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. P. 25756–25768.
- [6] Magklara A., Scorilas A., Stephan C. et al. Decreased concentrations of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 in malignant versus nonmalignant prostatic tissue // *Urology.* 2000. V. 56. P. 527–532.
- [7] Oettgen P., Finger E., Sun Z. et al. PDEF, a novel prostate epithelium-specific ets transcription factor, interacts with the androgen receptor and activates prostate-specific antigen gene expression // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. P. 1216–1225.
- [8] Taplin M.E., Bubley G.J., Shuster T.D. et al. Mutation of the androgen-receptor gene in metastatic androgen-independent prostate cancer // *N. Engl. J. Med.* 1995. V. 332. P. 1393–1398.
- [9] Gregory C.W., He B., Johnson R.T. et al. A mechanism for androgen receptor-mediated prostate cancer recurrence after androgen deprivation therapy // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 4315–4319.
- [10] Lovgren J., Valtonen-Andre C., Marsal K. et al. Measurement of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 in different body fluids // *J. Androl.* 1999. V. 20. P. 348–355.
- [11] Christensson A., Lilja H. Complex formation between protein C inhibitor and prostate-specific antigen in vitro and in human semen // *Eur. J. Biochem.* 1994. V. 220. P. 45–53.
- [12] Lovgren J., Valtonen-Andre C., Marsal K. et al. Measurement of prostate-specific antigen and human glandular kallikrein 2 in different body fluids // *J. Androl.* 1999. V. 20. P. 348–355.
- [13] Catalona W.J., Southwick P.C., Slawin K.M. et al. Comparison of percent free PSA, PSA density, and age-specific PSA cutoffs for prostate cancer detection and staging // *Urology.* 2002. V. 56. P. 255–260.

- [14] Chen Z., Chen H., Stamey T.A. Prostate specific antigen in benign prostatic hyperplasia: Purification and characterization // J. Urol. 1997. V. 157. P. 2166–2170.
- [15] Magklara A., Scorilas A., Stephan C. et al. Decreased concentration of prostate-specific antigen (PSA) and human glandular kallikrein 2 (hk2) in malignant versus non-malignant prostatic tissue // Urology. 2000. V. 146. P. 2148–2152.
- [16] Polascik T.J., Oesterling J.E., Partin A.W. Prostate specific antigen: a decade of discovery-what we have learned and where we are going // J. Urol. 1999. V. 162. P. 293–306.
- [17] Rittenhouse H.G., Finlay J.A., Mikolajczyk S.D. et al. Human kallikrein 2 (hK2) and prostate-specific antigen (PSA): two closely related, but distinct, kallikreins in the prostate // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 1998. V. 35. P. 275–368.
- [18] Stege R., Grande M., Carlstrom K. et al. Prognostic significance of tissue prostate-specific antigen in endocrine-treated prostate carcinomas // Clin. Cancer. Res. 2000. V. 6. P. 160–165.
- [19] Eleftherios P. Diamandis. Prostate-specific Antigen: A Cancer Fighter and a Valuable Messenger? // Clinical Chemistry. 2000. V. 46. P. 896–900.
- [20] Stephenson S.A., Verity K., Ashworth L.K. et al. Localization of a new prostate-specific antigen-related serine protease gene, KLK4, is evidence for an expanded human kallikrein gene family cluster on chromosome 19q13.3-13.4 // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. P. 23210–23214.
- [21] Stamey T.A., Mc Neal J.E., Yemoto C.M. et al. Biological determinants of cancer progression in men with prostate cancer // J.A.M.A. 1999. V. 281. P. 1395–1400.
- [22] Yousef G.M., Obiezu C.V., Luo L.Y. et al. Prostase/KLK-L1 is a new member of the human kallikrein gene family, is expressed in the prostate and breast tissues and is hormonally regulated // Cancer. Res. 1999. V. 4252–4256.
- [23] Webber M.M., Waghray A., Bello D. Prostate-specific antigen, a serine protease, facilitates human prostate cancer cell invasion // Clin. Cancer. Res. 1995. V. 1. P. 1089–1094.
- [24] Takayama T.K., McMullen B.A., Nelson P.S. et al. Characterization of hK4 (prostase), a prostate-specific serine protease: Activation of the precursor of prostate specific antigen (pro-PSA) and single-chain urokinase-type plasminogen activator and degradation of prostatic acid phosphatase // Biochemistry. 2001. V. 40. P. 15341–15348.
- [25] Wang T.J., Slawin K.M., Rittenhouse H.G. et al. Benign prostatic hyperplasia-associated prostate-specific antigen (BPSA) shows unique immunoreactivity with anti-PSA monoclonal antibodies // Eur. J. Biochem. 2000. V. 67. P. 4040–4045.

- [26] Yu D.C., Chen Y., Seng M. et al. The addition of adenovirus type 5 region E3 enables calydon virus 787 to eliminate distant prostate tumor xenografts // Cancer. Res. 1999. V. 59. P. 4200–4203.

Поступила в редакцию 14/X/2005;
в окончательном варианте — 18/X/2005.

BIOLOGY OF PROSTATE-SPECIFIC ANTIGEN³

© 2005 V.A. Solovov⁴

Prostate-Specific Antigen (PSA) is a serial protease produced by both prostate epithelial cells and prostate cancer (PCa) and is the most commonly used serum marker for cancer. This review outlines the basic biology of PSA with a focus on aspects that are relevant to its uses in PCa and a possible role in PCa pathogenesis.

Paper received 14/X/2005.

Paper accepted 18/X/2005.

³Communicated by Dr. Sci. (Med.) Prof. I.G. Kretova.

⁴Solovov Vyacheslav Alexandrovich (samarasdc@yahoo.com), Samara Diagnostic Center, Samara, 443093, Russia.