

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-348

**ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ  
PENICILLIUM THYMICOLA ФУМИХИНАЗОЛИНА F И G****ANTITUMOR PROPERTIES OF SECONDARY METABOLITES  
OF PENICILLIUM THYMICOLA FUMIQUINAZOLINE F AND G**

Г. К. Рысцов, Т. В. Антипова, М. Г. Шляпников, Ж. В. Ренфельд, М. Ю. Земскова

*Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрябина РАН, Пушкино*

G. K. Rystsov, T. V. Antipova, M. G. Shlyapnikov, J. V. Renfeld, M. Yu. Zemskova

*Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms RAS, Pushchino*

✉ gleb.8.ristsoff@gmail.com

**Аннотация**

В настоящем исследовании была исследована активность вторичных метаболитов гриба *P. thymicola* фумихиназолонов F и G на клетки рака молочной железы человека. Было показано, что эти соединения подавляют пролиферацию и миграцию опухолевых клеток и ингибируют процесс эпителиально-мезенхимной трансформации, что приводит к частичному реверсированию состояния злокачественных клеток к менее патологическому фенотипу.

**Abstract**

This work examined the effects on human breast cancer cells of fumiquinazolines F and G, secondary metabolites of the fungus *P. thymicola*. Our findings show that these substances restrict the epithelial-mesenchymal transition process and prevent tumor cell migration and proliferation, which partially reverts malignant cells to a less pathogenic state.

Вторичные метаболиты грибов рода *Penicillium* — многообещающий источник новых химических соединений, которые могут найти применение в медицине. Например, выделенные из культуральной среды *P. thymicola* фумихиназолины F и G (стереоизомеры) обладают способностью ингибировать рост бактерий, низших грибов и клеток лимфолейкоза мышей, но характер ингибирующего воздействия и его механизмы не были установлены. Целью нашего исследования являлось определить биологическую активность фумихиназолонов F и G относительно клеток рака молочной железы (РМЖ).

В данной работе были использованы различные по степени агрессивности клеточные линии РМЖ. MCF-7 — наименее агрессивная клеточная линия, BT474 — клеточная линия, имеющая более агрессивный фенотип и MDA-MB-231 — инвазивная и малодифференцированная линия клеток трижды негативного РМЖ.

Показано, что фумихиназолины наиболее эффективно ингибируют рост гормонозависимой линии MCF-7. Однако они также способны ингибировать рост клеток MDA-MB-231, хотя и с меньшей эффективностью, чем это наблюдается для MCF-7 и BT474. Следует отметить, что клетки MCF-7 и BT474 имеют эпителиальный фенотип, в то время как MDA-MB-231 потеряли свойства эпителиальных клеток и приобрели более агрессивный мезенхимальный фенотип вследствие эпителиально-мезенхимного перехода (ЭМП).

Для определения механизма ингибирования был проведен анализ клеточной гибели с использованием AnnexinV и анализ клеточного цикла клеток MDA-MB-231 в присутствии различных концентраций фумихиназолина F. Показано, что метаболит обладает незначительными цитотоксическими свойствами, однако блокирует клеточное деление, что наблюдается по накоплению клеток в фазе G1 и соответствующим уменьшением количества клеток в фазах S (репликация) и G2 (митоз). Следовательно, фумихиназолин F имеет комбинированное цитотоксическое и цитостатическое действие.

Также было установлено, что фумихиназолин F ингибирует миграцию клеток MDA-MB-231 через пористую мембрану по градиенту хемоаттрактанта. Известно, что миграция клеток зависит от белков, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом, а именно — виментина (структурный белок промежуточных филаментов), CD44 (интегральный гликопротеин и рецептор компонентов межклеточного матрикса) и э-кадгерина (мембранный гликопротеин, образующий межклеточные контакты). Уровни экспрессии этих факторов определяют фенотип опухолевых клеток, эпителиальный (высокое содержание э-кадгерина, низкое виментина и CD44) и мезенхимальный (высокое содержание виментина и CD44, низкое э-кадгерина). Посредством иммунофер-

ментного анализа показано, что фумихиназолин F снижает уровень виментина и повышает уровень э-кадгерина в клетках MDA-MB-231. Наблюдаемый эффект усиливается с увеличением времени обработки и повышением концентрации соединения, что позволяет предположить частичный реверс клеток к менее патологическому фенотипу. Как известно, CD44 играет важную роль в миграции и адгезии. Посредством вестерн-блот анализа было установлено, что фумихиназолин F дозозависимо снижает уровень белка CD44 в клетках MDA-MB-231, несмотря на то, что экспрессия мРНК CD44 не меняется. В экспериментах ингибирования синтеза белка *de novo* было установлено, что снижение уровня CD44 связано с уменьшением его стабильности под воздействием фумихиназолина F.

Основная функция CD44 — регулирование миграции клеток за счет узнавания и связывания компонентов межклеточного матрикса. Нами было показано, что фумихиназолин F в 1,6 раза снижает способность клеток MDA-MB-231 прикрепляться к субстрату, что, вероятно, связано с уменьшением количества CD44. Белки, изменение экспрессии которых мы наблюдали под воздействием фумихиназолинов, относятся к маркерным белкам ЭМП — комплексного процесса, связанного с изменением фенотипа опухолевых эпителиальных клеток на мезенхимальный. Такие клетки обладают повышенной способностью к миграции и инвазии. Появление мезенхимальных клеток в опухоли приводит к распространению раковых клеток в организме и образованию метастаз. Например, известно, что ингибирование экспрессии CD44 в опухолевых клетках подавляет их способность к миграции и инвазии, замедляет развитие онкозаболеваний и снижает устойчивость опухоли к терапии. Полученные данные предполагают, что вторичные метаболиты гриба *P. thymicola* фумихиназолины F и G обладают противоопухолевой активностью вследствие их способности ингибировать деление опухолевых клеток РМЖ и индуцировать частичную реверсию ЭМП, что вызывает возврат злокачественных клеток к менее патологическому фенотипу.