

НОВЫЙ ВЗГЛЯД НА РОЛЬ АРИЛ-УГЛЕВОДОРОДНОГО РЕЦЕПТОРА В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ ЛЕГКОГО

Обзор

© 2022 Д.А. Ахметова^{1*}, В.В. Козлов^{2,3}, Л.Ф. Гуляева^{1,2}

¹ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
630090 Новосибирск, Россия; электронная почта: dinara.arturovna@gmail.com

² ФИЦ ФТМ, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики СО РАН,
630117 Новосибирск, Россия

³ ГБУЗ НСО «Новосибирский областной клинический онкологический диспансер»,
онкологическое отделение №3 (торакальное), 630108 Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 24.06.2022

После доработки 01.09.2022

Принята к публикации 13.09.2022

Рак легкого (РЛ) занимает лидирующие позиции как по частоте, так и по показателям высокой смертности среди других злокачественных заболеваний человека. Курение является фактором риска развития почти всех гистологических типов РЛ. Бензо[а]пирен (БП), один из основных компонентов сигаретного дыма, относится к канцерогенам группы 1, т.е. может вызывать рак у человека. На сегодня установлено, что его токсическое действие может осуществляться по двум основным механизмам: генотоксическому (образование аддуктов с ДНК) и негенотоксическому или эпигенетическому. Последний менее изучен, хотя известно, что БП активирует арил-углеводородный рецептор (AhR), который регулирует транскрипцию многих генов-мишеней, включая микроРНК, что может приводить к инициации и усилению злокачественной трансформации клеток. Недавние исследования показали роль AhR в регуляции контрольных точек иммунного ответа, так как сигаретный дым и БП индуцировали AhR-регулируемую экспрессию *PD-L1 (CD274)* в эпителиальных клетках легкого *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, установлено, что метаболит триптофана кинуренин, активируя AhR, стимулирует экспрессию *PD-1 (CD279)* в цитотоксических Т-лимфоцитах. Современные исследования подтверждают важную роль AhR, экспрессируемого в злокачественных клетках, в подавлении противоопухолевого иммунитета. Все это заставляет по-новому рассматривать роль AhR в канцерогенезе легкого и исследовать механизмы его активации экзогенными и эндогенными лигандами. В данном обзоре освещаются современные представления о функциональных особенностях AhR и его роли в патогенезе РЛ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: рак легкого, AhR, сигаретный дым, бензо[а]пирен, PD-1, PD-L1.

DOI: 10.31857/S0320972522110033, **EDN:** LVDZOU

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого (РЛ) продолжает занимать лидирующие позиции по смертности от рака во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2020 г., от РЛ умерло 1 800 000 человек [1]. Курение является риском развития почти всех гистологических типов РЛ [2]. Компоненты сигаретного дыма

содержат полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), нитрозамины и радиоактивные элементы, способствующие развитию злокачественной неоплазии легкого [3].

Согласно данным IARC (International Agency for Research on Cancer), бензо[а]пирен (БП), входящий в состав сигаретного дыма, относится к канцерогенам группы 1, т.е. может вызывать рак у человека [4]. Токсическое дей-

Принятые сокращения: БП – бензо[а]пирен; НМКРЛ – немелкоклеточный РЛ; РЛ – рак легкого; ПАУ – полициклические ароматические углеводороды; ТХДД – 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксин; AhR – арил-углеводородный рецептор; ARNT – ядерный транслокатор AhR; DRE – элементы диоксинового ответа; Куп – кинуренин; miR – микроРНК, PAS – семейство транскрипционных факторов спираль-поворот-спираль; PD-1 – белок программируемой гибели клеток 1; PD-L1 – лиганд белка PD-1; XRE – элементы ответов на ксенобиотики.

* Адресат для корреспонденции.

ствии БП осуществляется по двум основным механизмам: генотоксический (окисление БП с образованием электрофильных метаболитов, способных связываться с ДНК) и негенотоксический (связывание с арил-углеводородным рецептором (AhR) с последующей активацией генов-мишеней). Как правило, такие гены имеют на своих дистальных промоторах элементы ответов на ксенобиотики (*XRE*), изначально известные как элементы диоксинового ответа (*DRE*).

БП-опосредованная активация AhR приводит к индукции генов, кодирующих комплекс цитохрома P450, а именно: *CYP1A* и *CYP1B*. Раннее изучение AhR в канцерогенезе РЛ сводится к его центральной роли в инициации РЛ за счет активации генов комплекса цитохрома P450. Другим предполагаемым механизмом было AhR-зависимое образование ДНК-аддуктов. Более того, акцентировалось внимание на роли AhR в формировании хронического воспаления, способствующего развитию рака [5].

На сегодняшний день показано, что БП сигаретного дыма, помимо «классических» генов-мишеней AhR (*CYP1A*, *CYP1B*), индуцирует экспрессию иммунных контрольных точек, которые представляют собой систему ингибиторных механизмов, регулирующих аутоиммунные процессы. К ним относятся белок программируемой гибели клеток 1 (PD-1, programmed cell death 1, CD279) и его лиганд (PD-L1, programmed cell death 1 ligand, CD274). Взаимодействие PD-L1 и PD-1 способствует нейтрализации Т-клеток и ингибированию выработки цитокинов [6].

Изначально связь между AhR и иммунной системой была исследована через зависимую от 2,3,7,8-тетрахлордибензо-*p*-диоксин (ТХДД) активацию AhR, которая оказывает супрессивное действие на Т-клетки животных и людей [7, 8]. Недавно было показано, что кинуренин (Куп), метаболит триптофана, также может активировать AhR и приводить к экспрессии PD-1 в цитотоксических CD8⁺ Т-клетках, что может способствовать ускользанию опухоли от иммунологического надзора и усилению злокачественного фенотипа [9]. Следовательно, активация AhR помогает выживать трансформированным злокачественным клеткам через блокирование противоопухолевого иммунитета.

Многие исследования по изучению AhR ушли далеко за рамки токсикологии. В литературе появляется все больше данных, показывающих эпигенетические и иммунологические функции данного рецептора. В настоящем обзоре представлены новые данные о роли AhR в канцерогенезе легкого, показана связь AhR

с противоопухолевым иммунным ответом, и сообщается об AhR-регулируемых микроРНК, которые могут служить потенциальными биомаркерами РЛ.

ВКЛАД КУРЕНИЯ В РАЗВИТИЕ РАКА ЛЕГКОГО

Наиболее распространенными гистологическими типами РЛ являются мелкоклеточный и немелкоклеточный РЛ. Мелкоклеточный РЛ, распространенность которого составляет 15% от всех случаев РЛ, имеет наиболее неблагоприятный прогноз. Выживаемость в течение 5 лет составляет менее 5%, а для пациентов, не получающих лечения, средний срок жизни составляет 2–4 месяца [10]. На немелкоклеточный РЛ (НМКРЛ) приходится до 85% всех случаев РЛ. Пятилетняя выживаемость пациентов составляет примерно 15%. НМКРЛ в зависимости от клеточного состава и локализации онкологического процесса подразделяется на три основных подтипа: аденокарцинома, плоскоклеточный рак и крупноклеточный рак [2].

Одним из основных факторов риска НМКРЛ считается курение сигарет [2]. Известно, что в смоле сигаретного дыма содержатся такие канцерогенные соединения, как БП, метилхолантрен, табакоспецифичные N-нитроزامины, N-метил-N-нитрозомочевина, а также металлы (никель, мышьяк, свинец, хром) и радиоактивные элементы (²¹⁰полоний, ²²⁸торий, ²¹⁰свинец) [3].

БП является одним из наиболее изученных канцерогенов сигаретного дыма. По данным IARC, содержание БП в дыме от одной сигареты составляет 22,92–26,27 нг [4]. БП способен связываться с AhR и активировать его [11]. Результатом такой активации является транслокация AhR в ядро и индукция транскрипции AhR-зависимых генов-мишеней, например генов комплекса цитохрома P450 (*CYP1A1*, *CYP1A2*) и других. Такое взаимодействие может приводить к активации канцерогенов [12], образованию бензо[а]пирен-7,8-диол-9,10-эпоксид-N²-дезоксигуанозина (BPDE-dG) в бронхиальных клетках человека [13], а также может способствовать окислительному стрессу и воспалению [14].

В случае пониженной активности ферментов второй фазы метаболизма ксенобиотиков, эпоксиметаболиты БП будут связываться с ДНК и образовывать аддукты [15], что может привести к иницированию канцерогенеза в легочной ткани. Более того, БП-зависимая активация AhR стимулирует сигнальный

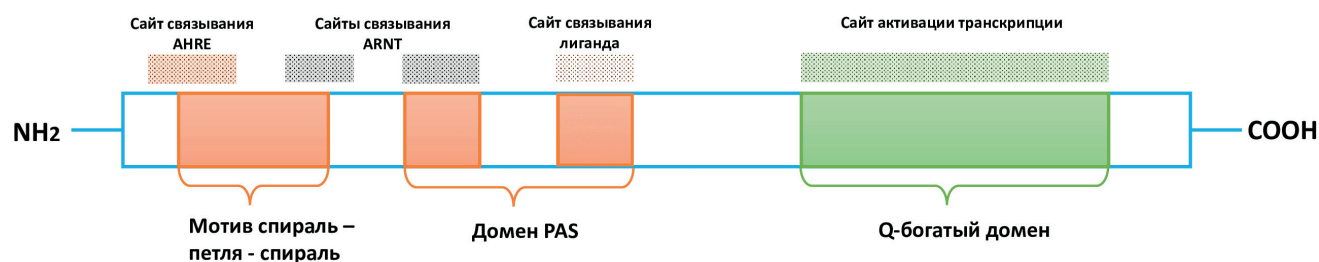


Рис. 1. Функциональная структура AhR. N-конец рецептора, включающий мотив спираль-петля-спираль и домен PAS, обеспечивает гетеродимеризацию AhR со своим ядерным транслокатором ARNT, а также способствует связыванию AhR с промоторной областью генов-мишеней. Мотив спираль-петля-спираль обеспечивает связывание AhR (в сайте связывания AHRE) и ARNT, приводящее к последующему связыванию AhR с промоторной областью. Домен PAS отвечает за поддержание вторичного взаимодействия с белками, такими как ARNT, и способствует формированию гетеродимера AhR/ARNT; более того, домен содержит сайт связывания лигандов AhR. Q-богатый домен ответственен за активацию транскрипции

каскад MAPK, нарушение которого приводит к индукции таких клеточных процессов, как пролиферация, дифференциация и апоптоз [16].

Таким образом, входящие в состав сигаретного дыма вещества изменяют метаболизм клеток легкого, а также активируют и/или нарушают передачу клеточных сигналов от рецепторов, что способствует развитию злокачественной неоплазии легкого.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ AhR

AhR входит в состав семейства транскрипционных факторов спираль-поворот-спираль (PAS, Per-ARNT-Sim) [17, 18] и состоит из трех функциональных частей: мотив спираль-петля-

спираль, домен PAS (A и B) и богатый глутамином Q-домен (рис. 1).

Инициировать активацию AhR могут как экзогенные, так и эндогенные лиганды. К экзогенным лигандам относятся ПАУ, пищевые фитохимические соединения, например индол-3-карбинол и индолы, продуцируемые микробиотой [13]. Среди эндогенных лигандов можно выделить эйкозоноиды, например липоксин A4, билирубин, метаболиты триптофана: 6-формилиндоло[3,2-b]карбазол и Куп [19].

После связывания с лигандом рецептор транслоцируется в ядро, где происходит его гетеродимеризация с ARNT. Гетеродимер AhR/ARNT отвечает за экспрессию множества генов, в числе которых гены комплекса цитохрома P450 (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1*),

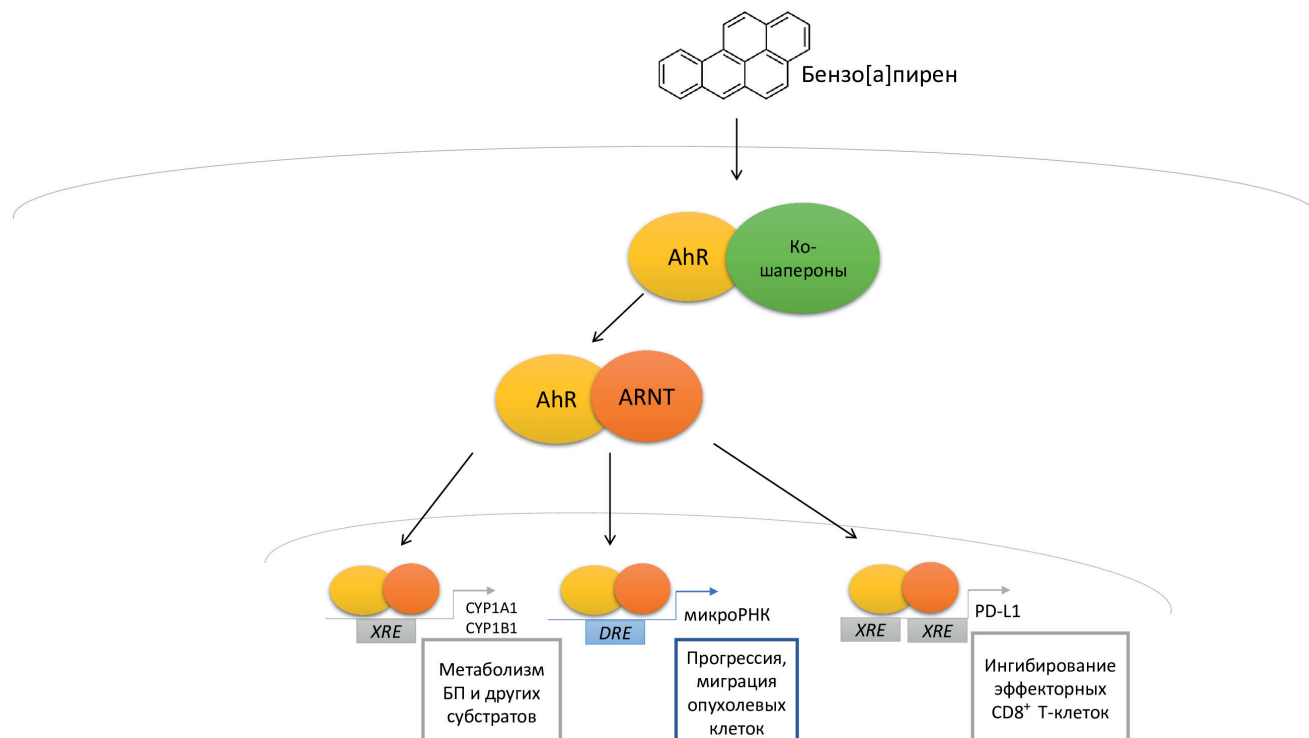


Рис. 2. Механизм активации AhR под действием БП

ген *TIPARP*, кодирующий TCDD-индуцируемую поли[АДФ-рибоза]-полимеразу (TCDD Inducible Poly[ADP-Ribose] Polymerase), а также многие другие. Экспрессия генов-мишеней регулируется за счет взаимодействия с каноническим (5'-TNGCGTG-3') и неканоническим сайтами связывания рецептора (рис. 2). Эти сайты связывания названы элементами ответа на ксенобиотики (*XRE*) или элементами диоксинового ответа (*DRE*) [17].

Наивысший уровень экспрессии AhR регистрируется в плаценте человека, за ней следуют легкие, сердце, поджелудочная железа и печень, тогда как в почках, головном мозге и скелетных мышцах он экспрессируется на низком уровне [20].

AhR отвечает за дифференцировку субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, активирует продукцию провоспалительных цитокинов, регулирует экспрессию транскрипционных факторов STAT3 и NF-κB, модулирует ответ на микробные, вирусные патогены, а также участвует в метаболизме и биоактивации ксенобиотиков [18]. В результате регуляции дифференцировки Т-клеток AhR играет важную роль в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) и астме. AhR увеличивает продукцию муцина в клеточной линии NCI-H₂₉₂ при хроническом бронхите [5]. Было показано, что AhR подавляет, вызванное сигаретным дымом, острое воспаление легких [21]. Следовательно, AhR контролирует иммунные, воспалительные, гомеостатические и токсические ответы клетки на эндогенные и экзогенные воздействия.

Существует противоречивая точка зрения о роли AhR в инициации и прогрессировании рака. Некоторые исследования показали, что при определенных обстоятельствах AhR может быть супрессором опухоли. Так, например, сообщается, что в определенной дозе ТХДД-зависимая активация AhR может подавлять пролиферацию раковых клеток [22]. Однако исследования на клеточной линии аденокарциномы человека A549 показали, что AhR, предположительно во взаимодействии с ARNT, активирует синтез ДНК и последующую клеточную пролиферацию этих клеток [23].

Глобальный ChIP-анализ экспрессии генов в печени мышей выявил 14 446 и 974 области, обогащенные сайтами связывания AhR (коэффициент ложного обнаружения – 1%), через 2 и 24 часа после введения ТХДД соответственно [24].

В геноме человека идентифицировано 3915 AhR-связывающих сайтов [25]. Многие из этих сайтов связывания требуют экспериментального подтверждения, что позволит выявить

гены, регулируемые AhR, и выяснить их роль в биологических процессах.

Благодаря своей структуре и особенностям сайтов связывания AhR выполняет множество биологических функций, необходимых для нормальной жизнедеятельности организма. Особое внимание привлекает его роль в канцерогенезе и развитии РЛ, требующая понимания молекулярных механизмов этого процесса.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ AhR В ОПУХОЛЯХ ЛЕГКОГО

В первую очередь AhR известен как ксенобиотический сенсор, который активируется высокоаффинными низкомолекулярными соединениями и индуцирует свои гены-мишени. Поступление в организм ПАУ-содержащих веществ индуцирует, прежде всего, экспрессию AhR-зависимых ферментов I и II фаз метаболизма ксенобиотиков, таких как CYP1A1, CYP1A2, CYP1B, глутатион S трансфераза, глюкуронилтрансфераза, НАДФН хиноноксидоредуктаза, альдокеторедуктаза и эпоксидгидролаза [15].

Известно, что CYP1A1, окисляя ПАУ, играет важную роль в активации канцерогенов с образованием высоко реакционноспособных эпоксидов в легких [12]. Ряд исследований показывают связь полиморфных вариантов гена *CYP1A1*, а именно: аллельные варианты *CYP1A1* * 3 (T3205C) и *CYP1A1* * 4 (Thr461Asn) с повышенной активностью фермента, приводящей к увеличению образования ДНК-аддуктов и, как следствие, к РЛ [12, 26]. Различные варианты одного и того же аллеля проявляются в определенных подтипах РЛ. Например, показана связь аллеля *CYP1A1* * 4 (Thr461Asn) с риском развития мелкоклеточного РЛ в испанской популяции [12, 27], также имеются данные о связи аллелей *CYP1A1* * 2A (3801T → C) и *CYP1A1* * 2C (2455A → G) с НМКРЛ [26].

CYP1A2 способен активировать проканцерогены сигаретного дыма. Аллели *CYP1A2* * 1D и *CYP1A2* * 1F ассоциируются с плоскоклеточным РЛ [28]. Имеются различные данные относительно аллельного варианта *CYP1A2* (163C → A). В одном исследовании показана его связь с аденокарциномой у курящих [29], а в метаанализе 2013 г. аллельный вариант *CYP1A2* (163C → A) связывают с риском плоскоклеточным РЛ у европеоидной расы [30].

AhR может регулировать экспрессию *CYP1B1*, который опосредует биоактивацию проканцерогенных веществ табака и канцерогенных эстрогенов, способствуя их превращению в реактивные промежуточные

метаболиты, которые, в свою очередь, могут повреждать ДНК с образованием аддуктов. Изменение экспрессии *CYP1B1* наблюдается при различных гистологических типах НМКРЛ [31]. Аллельный вариант *CYP1B1* Leu432Val связывают с повышением риска РЛ у курящих [32].

ЭКСПРЕССИЯ AhR-РЕГУЛИРУЕМЫХ микроРНК

AhR способен регулировать экспрессию микроРНК, малых некодирующих РНК длиной 18–22 нуклеотида, нарушение регуляции которых может приводить к возникновению рака [33]. Активация AhR берберинном приводит к увеличению онкогенной miR-21-3p в клеточной линии рака молочной железы [34]. Было показано, что AhR контролирует базальную экспрессию miR-196a в фибробластах легких мышей. Более того, на мышцах с нокаутом гена, кодирующего *AhR*, было продемонстрировано, что данный рецептор играет важную роль в регуляции микроРНК, экспрессируемых в легких. Так, AhR подавляет экспрессию онкогенной miR-96, уровень которой увеличивается при хроническом воздействии сигаретного дыма [35].

В промоторах некоторых межгенных микроРНК, а также их генов-хозяев имеются *DRE*-элементы – сайты связывания AhR. Ранее считалось, что AhR осуществляет некоторые защитные функции от вредного воздействия сигаретного дыма в обход классического связывания с *DRE* [35]. С помощью методов *in silico* был проведен поиск таких элементов в геномах крыс, мышей, человека, и найдено 154 гена с *DRE* в геноме человека [36]. Следовательно, AhR-зависимая регуляция экспрессии микроРНК может осуществляться через связывание с *DRE*-элементами. Для подтверждения такого механизма необходимы дальнейшие экспериментальные исследования. Так, было показано, что при длительном воздействии БП экспрессия miR-22, miR-29a, miR-126a и miR-193b значительно повышалась в легких самцов крыс, в то время как уровень miR-483 увеличивался у самок. Исходя из данных исследований, было предположено, что в основе зависимых от пола эпигенетических эффектов БП может лежать различная экспрессия микроРНК, потенциально регулируемых AhR [37].

Изменение уровня микроРНК в ответ на сигаретный дым может приводить к прогрессированию РЛ. AhR в данном случае способен выполнять роль негативного регулятора, так, пониженный уровень AhR приводит к повы-

шению экспрессии miR-96. Было показано, что хроническое воздействие сигаретного дыма у мышей AhR^{-/-} приводит к резкому увеличению miR-96 [35]. Исследование китайских коллег показывает снижение уровня miR-335 в ответ на опосредованное сигаретным дымом увеличение уровня AhR [38]. Следовательно, AhR может выступать в качестве «обоюдоострого меча», увеличение или уменьшение уровня которого может способствовать нарушению регуляции таких важных мишеней, как микроРНК. В то же время AhR может выступать в качестве репрессора некоторых онкогенных микроРНК.

РОЛЬ AhR В ФОРМИРОВАНИИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ОПУХОЛИ

На сегодняшний день для лечения РЛ, особенно плоскоклеточного РЛ, применяется иммунотерапия. Иммунотерапия представляет собой тип лечения рака, при котором используются вещества, полученные из живых организмов. В случае лечения РЛ используются моноклональные антитела против цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA-4, cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), PD-1 и PD-L1 [39]. Такие антитела блокируют процесс ингибирования Т-клеток, тем самым способствуя противоопухолевому иммунному ответу.

Одними из важных генов-мишеней AhR являются гены иммунных контрольных точек *PD-1* и *PD-L1* [6, 9, 39]. PD-1 непосредственно экспрессируется в Т- и В-клетках, а его лиганд PD-L1 – чаще всего экспрессируется в нейтрофилах, эпителиальных и стромальных клетках, а также в опухолях [39]. Взаимодействие PD-1 и PD-L1 приводит к ингибированию противоопухолевого иммунного ответа, и, как следствие, к усилению злокачественности опухоли.

Исследования последних лет показали, что лиганды AhR могут усиливать экспрессию генов иммунных контрольных точек. Клинические наблюдения показали, что курящие пациенты с диагнозом НМКРЛ лучше реагируют на иммунотерапию, чем некурящие [39]. Эти наблюдения привели к пониманию увеличения уровня экспрессии PD-L1 в эпителиальных клетках легких *in vitro* и *in vivo* при воздействии сигаретного дыма и БП [6]. Иммунотерапия с помощью моноклональных антител к PD-L1 или дефицит AhR значительно подавляли БП-индуцированный РЛ у мышей. Дальнейшее исследование образцов опухоли выявило, что у 37 пациентов с НМКРЛ, полу-

чавших анти-PD-1 терапию пембролизумабом, 13/16 (81,3%) больных, достигших частичного ответа или стабилизации заболевания, показывали высокие уровни AhR, тогда как 12/16 (75%) пациентов с прогрессированием заболевания обнаруживали низкие уровни AhR в опухолевых тканях. Ингибиторы AhR проявили значительную противоопухолевую активность и синергизм с антителами против PD-L1 в моделях РЛ на мышах [6].

Эти результаты продемонстрировали, что табачный дым позволяет эпителиальным клеткам легкого уходить от адаптивного иммунитета для стимуляции онкогенеза, а AhR предсказывает реакцию на иммунотерапию и представляет собой привлекательную терапевтическую мишень.

Другим механизмом AhR-опосредованной иммуносупрессии может быть синтез избыточного количества Куп, который катализируется ферментом IDO (indoleamine 2,3-dioxygenase). Как и в злокачественных клетках, Куп может усиливать экспрессию PD-L1 в макрофагах, дендритных и других иммунокомпетентных клетках, где AhR активен [40]. Так, недавно было показано участие AhR в IFN γ -контролируемой экспрессии PD-L1 и IDO в клетках плоскоклеточного рака полости рта [9]. Более того, на дистальном промоторе гена *PD-L1* находятся 2 *XRE*-подобных элемента связывания AhR, что способствует активации экспрессии данного гена лигандами AhR [39].

Похожие механизмы показаны и для такого аутоиммунного заболевания, как системная красная волчанка (СКВ). Недавно было показано участие PD-1 и PD-L1 в патогенезе и развитии СКВ через активацию AhR. В данном случае значительную роль играет кинуренин, который повышается в сыворотке больных СКВ. AhR важен для поддержания иммунной толерантности и развития различных иммунных субпопуляций, что подчеркивает потенциальную роль AhR в иммунобиологии PD-1 [41].

Для плоскоклеточного РЛ характерно частое увеличение уровня PD-L1, что помогает опухоли избегать иммунного надзора [42]. Было показано, что дефицит фосфатазы и гомолога тензина (PTEN) и/или p53 способствует сверхэкспрессии PD-L1 [6]. В рамках этого механизма можно рассматривать результаты, показавшие, что TRC (tumor-repopulating cells) стимулируют активацию PD-1 в цитотоксических CD8⁺ Т-клетках через межклеточный обмен Куп, который активирует AhR [9].

IFN γ , продуцируемый CD8⁺ Т-клетками, стимулирует высвобождение высоких концентраций этого метаболита триптофана, продуци-

руемого TRC, который переносится в соседние CD8⁺ Т-клетки через транспортеры SLC7A8 и PAT4. Куп индуцирует и активирует AhR и тем самым повышает экспрессию PD-1. Путь Куп–AhR подтвержден как у мышей с опухолями, так и у больных раком, и его блокада может повысить эффективность противоопухолевой адоптивной Т-клеточной терапии [9]. Следовательно, такой механизм активации PD-1 может иметь потенциальное иммунотерапевтическое применение.

Необходимо отметить сложные сигнальные взаимодействия оси AhR–микроРНК–PD-L1, так как микроРНК, в особенности AhR-регулируемые микроРНК, принимают непосредственное участие в регуляции иммунных контрольных точек и могут способствовать росту и прогрессированию опухоли. Так, AhR-зависимые онкогенные miR-193 и miR-93 нацеливаются на мРНК PD-L1 и регулируют его уровень в клетке [37, 43]. Нарушение уровня экспрессии данных микроРНК может приводить к развитию рака, в том числе РЛ. Сигаретный дым приводит к значительному снижению многих онкогенных микроРНК, в том числе микроРНК, регулирующих мРНК PD-L1, что приводит к инициации и дальнейшей прогрессии РЛ [44].

Таким образом, AhR, регулируя экспрессию PD-1 и PD-L1, играет важную роль в ингибировании противоопухолевого иммунитета. Иммуносупрессивная роль AhR в опухолях может способствовать развитию новой терапевтической стратегии лечения РЛ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Научные открытия, сделанные за последнее десятилетие, существенно дополнили наши представления о роли AhR в канцерогенезе легкого. Традиционно считалось, что этот фактор транскрипции играет ключевую роль на начальных этапах канцерогенеза, когда он активируется лигандами экзогенного происхождения, такими как БП, и другими ПАУ, что сопровождается усилением экспрессии его генов-мишеней, прежде всего, цитохрома P450 семейства 1. Результатом таких событий является образование электрофильных метаболитов ПАУ, приводящее к возникновению аддуктов с ДНК и, как следствие, к возникновению мутаций. Активное исследование лигандов AhR привело к выявлению новых эндогенных соединений, таких как метаболит триптофана кинуренин, что существенно расширило наше понимание роли данного рецептора, особенно в иммунном ответе. Исследование

экспрессии AhR-регулируемых генов позволило расширить знания о роли AhR в физиологических процессах. Среди таких генов важно отметить гены иммунных контрольных точек *PD-1* и *PD-L1*, которые содержат *DRE*-элементы, следовательно, могут активироваться AhR. Экспериментально доказано, что курение, приводящее к активации данного рецептора, способствует «ускользанию» опухоли от иммунного надзора. Так как иммунотерапия с применением ингибиторов PD-1 и PD-L1 является на сегодня одним из терапевтических подходов в лечении РЛ, понимание роли AhR в формировании иммунологического статуса опухоли будет способствовать улучшению терапии рака и открытию новых перспективных методов лечения.

Вклад авторов. Д.А. Ахметова, Л.Ф. Гуляева – концепция обзорной статьи; Д.А. Ахметова, В.В. Козлов, Л.Ф. Гуляева – сбор и анализ литературы, написание и редактирование текста обзора; Д.А. Ахметова – создание иллюстраций.

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00065 – «Поиск новых мишеней для диагностики и терапии плоскоклеточного рака легких»).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- World health organization (WHO) (2020) Estimated number of deaths in 2020, worldwide, both sexes, all ages (excl. NMSC), *Glob. Cancer Obs.*, **144**.
- Molina, J. R., Yang, P., Cassivi, S. D., Schild, S. E., and Adjei, A. A. (2008) Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship, *Mayo Clin. Proc.*, **83**, 584-594, doi: 10.4065/83.5.584.
- Дюбкова Т. П. (2008) Химический состав табачного дыма: токсические и канцерогенные эффекты на организм человека, *Медицинская Панорама*, 38.
- International Agency for Research on Cancer (IARC) (2014) Chemical agents and related occupations, *IARC Monogr.*, **100**, 423-428.
- Tsay, J. J., Tchou-Wong, K. M., Greenberg, A. K., Pass, H., and Rom, W. N. (2013) Aryl hydrocarbon receptor and lung cancer, *Anticancer Res.*, **33**, 1247-1256.
- Wang, G. Z., Zhang, L., Zhao, X. C., Gao, S. H., Qu, L. W., et al. (2019) The Aryl hydrocarbon receptor mediates tobacco-induced PD-L1 expression and is associated with response to immunotherapy, *Nat. Commun.*, **10**, 1125, doi: 10.1038/S41467-019-08887-7.
- Xue, P., Fu, J., and Zhou, Y. (2018) The aryl hydrocarbon receptor and tumor immunity, *Front. Immunol.*, **3**, 9-28, doi: 10.3389/fimmu.2018.00286.
- Disner, G. R., Lopes-Ferreira, M., and Lima, C. (2021) Where the aryl hydrocarbon receptor meets the microRNAs: literature review of the last 10 years, *Front. Mol. Biosci.*, **8**, doi: 10.3389/fmolb.2021.725044.
- Liu, Y., Liang, X., Dong, W., Fang, Y., Lv, J., et al. (2018) Tumor-repopulating cells induce PD-1 expression in CD8⁺ T cells by transferring kynurenine and AhR activation, *Cancer Cell*, **33**, 480-494, doi: 10.1016/J.CCELL.2018.02.005.
- Yang, S., Zhang, Z., and Wang, Q. (2019) Emerging therapies for small cell lung cancer, *J. Hematol. Oncol.*, **12**, 47, doi: 10.1186/S13045-019-0736-3.
- Yoshikawa, Y., Izawa, T., Hamada, Y., Takenaga, H., Wang, Z., et al. (2021) Roles for B[a]P and FICZ in subchondral bone metabolism and experimental temporomandibular joint osteoarthritis via the AhR/Cyp1a1 axis, *Sci. Rep.*, **11**, 14927, doi: 10.1038/s41598-021-94470-4.
- San Jose, C., Cabanillas, A., Benitez, J., Carrillo, J. A., Jimenez, M., et al. (2010) CYP1A1 gene polymorphisms increase lung cancer risk in a high-incidence region of Spain: a case control study, *BMC Cancer*, **10**, 463, doi: 10.1186/1471-2407-10-463.
- Alexandrov, K., Rojas, M., and Satarug, S. (2010) The critical DNA damage by benzo(a)pyrene in lung tissues of smokers and approaches to preventing its formation, *Toxicol. Lett.*, **198**, 63-68, doi: 10.1016/j.toxlet.2010.04.009.
- Hanyu, S., Jie, L., and Haiqing, G. (2021) Benzo(α)pyrene induces oxidative stress and inflammation in human vascular endothelial cells through AhR and NF-κB pathways, *Microvasc. Res.*, **137**, 104179, doi: 10.1016/j.mvr.2021.104179.
- Moorthy, B., Chu, C., and Carlin, D. J. (2015) Polycyclic aromatic hydrocarbons: from metabolism to lung cancer, *Toxicol. Sci.*, **145**, 5-15, doi: 10.1093/TOXSCI/KFV040.
- Vázquez-Gómez, G., Rocha-Zavaleta, L., Rodríguez-Sosa, M., Petrosyan, P., and Rubio-Lightbourn, J. (2018) Benzo[a]pyrene activates an AhR/Src/ERK axis that contributes to CYP1A1 induction and stable DNA adducts formation in lung cells, *Toxicol. Lett.*, **289**, 54-62, doi: 10.1016/j.toxlet.2018.03.012.
- Nebert, D. W. (2017) Aryl hydrocarbon receptor (AHR): 'pioneer member' of the basic-helix/loop/helix per-arnt-sim (bHLH/PAS) family of 'sensors' of foreign and endogenous signals, *Prog. Lipid Res.*, **67**, 38-57, doi: 10.1016/J.PLIPRES.2017.06.001.

18. Shinde, R., and McGaha, T. L. (2018) The aryl hydrocarbon receptor: connecting immunity to the microenvironment, *Trends Immunol.*, **39**, 1005-1020, doi: 10.1016/j.it.2018.10.010.
19. Bock, K. W. (2019) Aryl hydrocarbon receptor (AHR): from selected human target genes and crosstalk with transcription factors to multiple AHR functions, *Biochem. Pharmacol.*, **168**, 65-70, doi: 10.1016/J.BCP.2019.06.015.
20. Zhu, K., Meng, Q., Zhang, Z., Yi, T., He, Y., et al. (2019) Aryl hydrocarbon receptor pathway: role, regulation and intervention in atherosclerosis therapy, *Mol. Med. Rep.*, **20**, 4763, doi: 10.3892/MMR.2019.10748.
21. Thatcher, T. H., Maggirwar, S. B., Baglole, C. J., Lakatos, H. F., Gasiewicz, T. A., et al. (2007) Aryl hydrocarbon receptor-deficient mice develop heightened inflammatory responses to cigarette smoke and endotoxin associated with rapid loss of the nuclear factor-kappaB component RelB, *Am. J. Pathol.*, **170**, 855-864, doi: 10.2353/ajpath.2007.060391.
22. Wang, K., Li, Y., Jiang, Y. Z., Dai, C. F., Patankar, M. S., et al. (2013) An endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand inhibits proliferation and migration of human ovarian cancer cells, *Cancer Lett.*, **340**, 63-71, doi: 10.1016/j.canlet.2013.06.026.
23. Shimba, S., Komiyama, K., Moro, I., and Tezuka, M. (2002) Overexpression of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) accelerates the cell proliferation of A549 cells, *J. Biochem.*, **132**, 795-802, doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a003289.
24. Dere, E., Lo, R., Celius, T., Matthews, J., and Zacharewski, T. R. (2011) Integration of genome-wide computation DRE search, AhR ChIP-chip and gene expression analyses of TCDD-elicited responses in the mouse liver, *BMC Genomics*, **12**, 365, doi: 10.1186/1471-2164-12-365.
25. Yang, S. Y., Ahmed, S., Satheesh, S. V., and Matthews, J. (2018) Genome-wide mapping and analysis of aryl hydrocarbon receptor (AHR)- and aryl hydrocarbon receptor repressor (AHRR)-binding sites in human breast cancer cells, *Arch. Toxicol.*, **92**, 225-240, doi: 10.1007/S00204-017-2022-X.
26. Wright, C. M., Larsen, J. E., Colosimo, M. L., Barr, J. J., Chen, L., et al. (2010) Genetic association study of CYP1A1 polymorphisms identifies risk haplotypes in nonsmall cell lung cancer, *Eur. Respir. J.*, **1**, 152-159, doi: 10.1183/09031936.00120808.
27. Schwarz, D., Kisselev, P., Cascorbi, I., Schunck, W. H., and Roots, I. (2001) Differential metabolism of benzo[a]pyrene and benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol by human CYP1A1 variants, *Carcinogenesis*, **22**, 453-459, doi: 10.1093/carcin/22.3.453.
28. Singh, A. P., Pant, M. C., Ruwali, M., Shah, P. P., Prasad, R., et al. (2010) Polymorphism in cytochrome P450 1A2 and their interaction with risk factors in determining risk of squamous cell lung carcinoma in men, *Cancer Biomark*, **8**, 351-359, doi: 10.3233/CBM-2011-0224.
29. B'chir, F., Pavanello, S., Knani, J., Boughattas, S., Arnaud, M. J., et al. (2009) CYP1A2 genetic polymorphisms and adenocarcinoma lung cancer risk in the Tunisian population, *Life Sci.*, **84**, 779-784, doi: 10.1016/j.lfs.2009.03.008.
30. Deng, S. Q., Zeng, X. T., Wang, Y., Ke, Q., and Xu, Q. L. (2013) Meta-analysis of the CYP1A2-163C>A polymorphism and lung cancer risk, *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, **14**, 3155-3158, doi: 10.7314/APJCP.2013.14.5.3155.
31. Elfaki, I., Mir, R., Almutairi, F. M., and Abu Duhier, F. M. (2018) Cytochrome P450: polymorphisms and roles in cancer, diabetes and atherosclerosis, *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **19**, 2057-2070, doi: 10.22034/APJCP.2018.19.8.2057.
32. Chen, P. F., He, X. F., Huang, G. H., Wang, W., and Qiu, Z. H. (2016) Association between the CYP1B1 polymorphisms and lung cancer risk: a meta-analysis, *Technol. Cancer Res. Treat.*, **15**, 73-82, doi: 10.1177/1533034615598866.
33. Lin, S., and Gregory, R. I. (2015) MicroRNA biogenesis pathways in cancer, *Nat. Rev. Cancer*, **15**, 321-333, doi: 10.1038/nrc3932.
34. Lo, S. N., Wang, C. W., Chen, Y. S., Huang, C. C., Wu, T. S., et al. (2017) Berberine activates aryl hydrocarbon receptor but suppresses CYP1A1 induction through miR-21-3p stimulation in MCF-7 breast cancer cells, *Molecules*, **2017**, 22, doi: 10.3390/molecules22111847.
35. Rogers, S., Souza, A. R., Zago, M., Iu, M., Guerrina, N., et al. (2017) Aryl hydrocarbon receptor (AhR)-dependent regulation of pulmonary miRNA by chronic cigarette smoke exposure, *Sci Rep.*, **7**, 40539, doi: 10.1038/srep40539.
36. Ovchinnikov, V. Y., Antonets, D. V., and Gulyaeva, L. F. (2018) The search of CAR, AhR, ESRs binding sites in promoters of intronic and intergenic microRNAs, *J. Bioinform. Comput. Biol.*, **16**, 1-20, doi: 10.1142/S0219720017500299.
37. Filippov, S. V., Yarushkin, A. A., Yakovleva, A. K., Kozlov, V. V., and Gulyaeva, L. F. (2020) The effect of benzo[a]pyrene on the expression of AhR-regulated microRNA in lungs of female and male rats, *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B: Biomedical Chemistry*, **14**, 347-355, doi: 10.1134/S199075082004006X.
38. Zhang, S., Kim, K. H., Jin, U. H., Pfent, C., Cao, H., et al. (2012) Aryl hydrocarbon receptor agonists induce microRNA-335 expression and inhibit lung metastasis of estrogen receptor negative breast cancer cells, *Mol. Cancer Ther.*, **11**, 108-118, doi: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0548.
39. Alsaab, H. O., Sau, S., Alzhrani, R., Tatiparti, K., Bhise, K., et al. (2017) PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome, *Front. Pharmacol.*, **8**, 561, doi: 10.3389/fphar.2017.00561.
40. Kenison, J. E., Wang, Z., Yang, K., Snyder, M., Quintana, F. J., et al. (2021) The aryl hydrocarbon

- receptor suppresses immunity to oral squamous cell carcinoma through immune checkpoint regulation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **118**, e2012692118, doi: 10.1073/pnas.2012692118.
41. Curran, C. S., Gupta, S., Sanz, I., and Sharon, E. (2019) PD-1 immunobiology in systemic lupus erythematosus, *J. Autoimmun.*, **97**, 1-9, doi: 10.1016/j.jaut.2018.10.025.
42. Bylicki, O., Paleiron, N., Rousseau-Bussac, G., and Chouaïd, C. (2018) New PDL1 inhibitors for non-small cell lung cancer: focus on pembrolizumab, *Oncotargets Ther.*, **11**, 4051-4064, doi: 10.2147/OTT.S154606.
43. Fan, J., Yin, Z., Xu, J., Wu, F., Huang, Q., et al. (2020) Circulating microRNAs predict the response to anti-PD-1 therapy in non-small cell lung cancer, *Genomics*, **112**, 2063-2071, doi: 10.1016/J.YGENO.2019.11.019.
44. Iqbal, M. A., Arora, S., Prakasam, G., Calin, G. A., and Syed, M. A. (2019) MicroRNA in lung cancer: role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance, *Mol. Aspects Med.*, **70**, 3-20, doi: 10.1016/J.MAM.2018.07.003.

A NEW INSIGHT AT THE ROLE OF AhR IN LUNG CARCINOGENESIS

Review

D. A. Akhmetova^{1*}, V. V. Kozlov^{2,3}, and L. F. Gulyaeva^{1,2}

¹ Novosibirsk National Research State University, 630090 Novosibirsk, Russia; e-mail: dinara.arturovna@gmail.com

² Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Federal Research Center for Fundamental and Translational Medicine, 630117 Novosibirsk, Russia

³ Department of Thoracic Oncology № 3, Novosibirsk Regional Clinical Oncology Center, 630108 Novosibirsk, Russia

Lung cancer (LC), one of the most common malignant neoplasms, is the leading cause of high cancer mortality worldwide. Smoking is a risk factor for almost all histological types of LC. Benzo(a)pyrene (BP), one of the main constituents of cigarette smoke, can cause cancer. It has been established that its toxic effect can develop in the following ways: genotoxic (formation of adducts with DNA) and non-genotoxic or epigenetic. The latter is less known, although it is known that BP activates aryl hydrocarbon receptor (AhR), which regulate the transcription of many target genes, including microRNAs, which can lead to the initiation and enhancement of malignant cell transformation. Recent studies are evaluating the role of AhR in the regulation of immune checkpoints, as cigarette smoke and BP induce AhR-regulated expression of *PD-L1* in lung epithelial cells *in vitro* and *in vivo*. In addition, kynurenine (a metabolite of tryptophan) has been found to stimulate *PD-1* expression in cytotoxic CD8⁺ T cells by activating AhR. Current research is of great importance for AhR-mediated suppression of antitumor immunity expressed in malignant cells. All this makes us rethink the role of AhR in lung carcinogenesis and investigate the mechanisms of its activation by exogenous and endogenous ligands. This review highlights the current understanding of the functional features of AhR and its role in the pathogenesis of LC.

Keywords: lung cancer, AhR, cigarette smoke, benzo[a]pyrene, PD-1, PD-L1