

От трансмиссивных раков к новым видам

Панчин А.Ю.¹ Алешин В.В.² и Панчин Ю.В.^{1,2}

¹ Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН

² НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ

alexpanchin@yahoo.com

ypanchin@yahoo.com

Aleshin@genebee.msu.su

Абстракт. Лицевая опухоль тасманийского дьявола и венерическая саркома собаки – наиболее известные примеры трансмиссивных раковых опухолей. Подобное превращение раковых клеток в независимых паразитов известно также у хомяков и четырех видов моллюсков. Мы предполагаем, что некоторые упрощенные родственники более сложных современных животных могли эволюционировать из клеток трансмиссивных опухолей. Эта гипотеза предсказывает массовые потери ключевых генов, связанных с апоптозом у видов, упростившихся через стадию трансмиссивных раковых клеток. Из четырех рассмотренных нами таксонов упрощенных животных (*dicyemida*, *orthonectida*, *myxosporea* и *trichoplax*) паразитические книдарии *myxosporea* оказались наиболее подходящими кандидатами на подобное гипотетическое происхождение. В частности у всех пяти изученных видов этой группы отсутствуют все гомологи белка p53, а также все белки, содержащие каспазные домены или домены Bcl2. По количеству утраченных универсальных доменов, ассоциированных с апоптозом или раком, *myxosporea* обходят все контрольные виды, включая три вида одноклеточных родственников животных. Для дальнейшей проверки гипотезы мы предлагаем сравнить транскриптомы *myxosporea* и транскриптомы различных типов клеток неупрощенных родственных книдарий.

Ключевые слова: рак, видообразование, эволюция.

1 Введение

Опухоли можно рассматривать как результат эволюции клеток внутри организма [1, 2]. Иногда клетки приспособляются и выходят за пределы отведенных им тканей в форме метастаз, а иногда и за пределы исходного организма – в виде трансмиссивных раковых опухолей. Наиболее известные примеры трансмиссивных раковых опухолей – независимо возникшая не менее двух раз лицевая опухоль тасманийского дьявола [3] и венерическая саркома собаки, которая, по-видимому, возникла 11000 лет назад [4]. Подобные трансмиссивные раковые клетки, ставшие самостоятельными паразитами, находили у хомяков [5] и четырех видов моллюсков, причем один из них (*Polititapes aureus*) заражается клетками, ставшими раковыми в другом виде моллюска [3, 6]. Все это указывает на

распространенность трансмиссивных раковых опухолей в природе и на их способность выживать в течении достаточно длительных сроков. Скорее всего подобные процессы имели место и раньше, а значит можно предположить, что некоторые современные упрощенные виды животных являются потомками трансмиссивных раковых клеток.

Согласно этой гипотезе, у таксонов, прошедших через такую необычную стадию видообразования, мы бы ожидали увидеть массовые потери ключевых генов, связанных с апоптозом, исчезновение систем, функций и клеточных процессов, нарушающихся при канцерогенезе [7], в том числе и универсальных для всех животных.

С этой точки зрения мы рассмотрели четыре таксона, которые являются сильно упрощенными, согласно современным филогенетическим представлениям [8]: *dicyemida*, *orthonectida*, *мухоспора* и *trichoplax*. Первые три представляют собой паразитов.

2 Методы

Мы использовали программу HMMER (<http://hmmer.org/>) и проанализировали на наличие доменов PFAM (<https://pfam.xfam.org/>) восемь видов, являющихся кандидатами на происхождение из трансмиссивных раковых клеток. Среди них пять видов *мухоспора* (*Thelohanellus kitauei*, *Kudoa iwatai*, *Мухоболус церебралис*, *Sphaerомуха zaharoni*, *Enterомухум leei*), а также *Trichoplax adhaerens*, *Dicyema sp.* и *Intoshia linei*. В качестве контроля мы взяли 29 видов животных: *Hydra vulgaris*, *Nematostella vectensis*, *Acropora digitifera*, *Polypodium hydriforme*, *Echinococcus granulosus*, *Gyrodactylus salaries*, *Schistosoma mansoni*, *Adineta vaga*, *Drosophila melanogaster*, *Eurytemora affinis*, *Strigamia maritime*, *Ixodes scapularis*, *Peripatopsis capensis*, *Gordionus alpestris*, *Hypsibius dujardini*, *Ascaris suum*, *Toxocara canis*, *Caenorhabditis elegans*, *Romanomermis culicivorax*, *Priapululus caudatus*, *Saccoglossus kowalevskii*, *Strongylocentrotus purpuratus*, *Ciona intestinalis*, *Homo sapiens*, *Branchiostoma floridae*, *Mnemiopsis leidyi*, *Pleurobrachia bachei*, *Amphimedon queenslandica*, *Oscarella carmela*, а также 3 вида одноклеточных Holozoa – *Monosiga brevicollis*, *Capsaspora owczarzaki* и *Sphaeroforma arctic*.

Мы провели два типа анализа. Во-первых, мы проверили наличие в каждом геноме доменов, ассоциированных с раком. Такие домены определились с использованием списка “census of human cancer genes” [9] и по ключевому слову “apoptosis” в PFAM. Всего в PFAM нашлось 409 доменов, которые подходят хотя бы по одному из двух критериев и при этом встречаются не менее, чем в 15 из 29 видов животных (то есть является универсальными). Во-вторых, мы посмотрели универсальные для животных домены, которые отсутствуют у видов, рассматриваемых как кандидатов на происхождение из трансмиссивных раковых клеток.

3 Результаты

Пять видов *Mухосporea* утратили наибольшее количество доменов PFAM, ассоциированных с раком и апоптозом у других видов животных (Рис. 1). Это сравнение включает родственную для *Mухосporea* паразитическую книдарию *Polypodium* и три вида одноклеточных *Holozoa*. В частности, в отличие от всех остальных рассмотренных организмов, у всех пяти видов *Mухосporea* отсутствуют домены Caspase и Bcl2, играющих ключевую роль в апоптозе [10]. Поскольку у рассмотренных представителей *Dicyemida*, *Orthonectida* и *Trichoplax* мы нашли гены, связанные с апоптозом, содержащие данные домены, мы заключаем, что по отношению к этим таксонам, наша гипотеза, скорее всего фальсифицирована. Поэтому далее мы будем подробно рассматривать только группу *Mухосporea*.

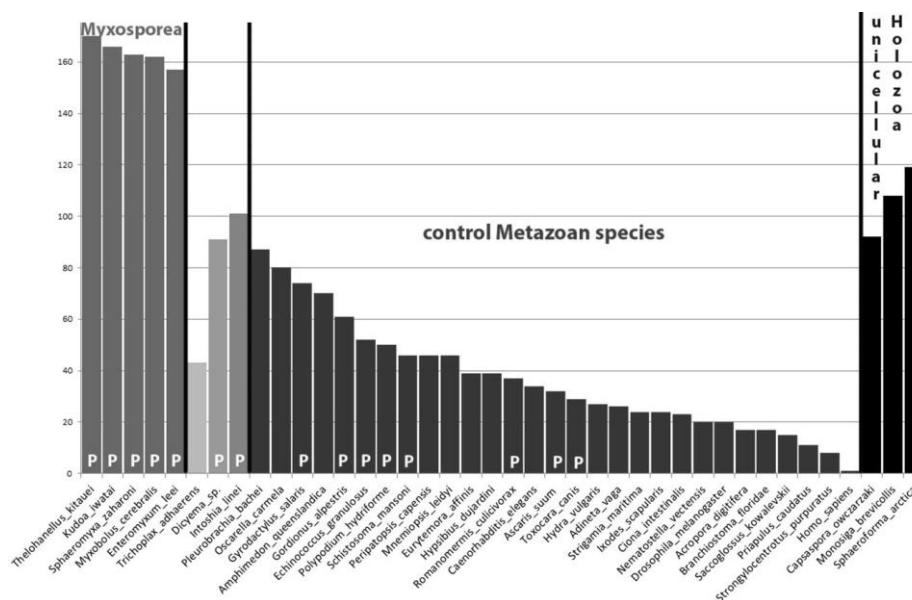


Рис. 1. Число утраченных PFAM доменов у разных групп животных и одноклеточных Holozoa. Паразитические виды отмечены латинской буквой P (Parasite).

У всех пяти исследованных видов *Mухосporea* нет доменов Peptidase_C14 (PF00656) Caspase, Apoptosis regulator proteins domain Bcl-2 family (PF00452) и Caspase recruitment CARD domain (PF00619), которые встречаются в белке Apoptotic protease activating factor – 1 (Araf-1), универсального и ключевого игрока, связанного с апоптозом как у позвоночных, так и беспозвоночных. Также у них отсутствует домен Calpain family cysteine protease (PF00648), вовлеченный в клеточную смерть и некроз [11] и домен Death domain (PF00531), присутствующий во многих белках, которые взаимодействуют с каспазами и регулируют апоптоз и воспаление. Домен NF-kappaB- RHD_DNA_bind domain

(PF00554) не найден у *Mухоспореа*, как и P53 DNA-binding domain (PF00870), входящий в состав белка p53 – известного супрессора опухолей у человека. Также можно отметить отсутствие домена TB2/DP1 (deleted in polyposis) (PF03134). Этот домен встречается в белке HVA22, отсутствие которого приводит к семейному аденоматозному полипозу, аутосомному доминантному наследственному онкологическому заболеванию у людей. На основании геномного анализа можно предположить, что у *Mухоспореа* отсутствует апоптоз, хотя это предположение требует экспериментальной проверки.

Сам факт утраты большого количества генов, в том числе связанных с апоптозом, не обязательно является следствием видообразования через переходную форму в виде трансмиссивной раковой опухоли. Возможно, что это просто следствие упрощения *Mухоспореа* в результате их адаптации к паразитическому образу жизни. Действительно, геномы этих организмов очень маленькие и содержат небольшое количество генов [12].

Для дальнейшей проверки нашей гипотезы можно попробовать привлечь данные сравнительной транскриптомики. Например, известно, что на транскрипционном уровне клетки HeLa по-прежнему больше всего похожи на клетки шейки матки, из которых они произошли [13], а транскриптом клеток лицевой опухоли тасманийского дьявола больше всего похож на транскриптом швановских клеток [14]. Поскольку у *Mухоспореа* имеются книды – стрекательные органеллы [15], более правдоподобным кажется их происхождение из тотипотентных мигрирующих стволовых клеток (i-cells) родственных книдарий или более специализированных предшественников книдобластов или самих книдобластов, вернувших себе способность к пролиферации [16]. Анализ транскриптомов отдельных клеток книдарий помог бы проверить нашу гипотезу.

Mухоспореа принадлежат к группе *Мухозоа*, в которой присутствует второй под-класс *Malacosporea*, который морфологически устроен гораздо сложнее [17]. Например, *Buddenbrockia* из этого подкласса, имеют сложную червеобразную жизненную стадию [18] и по-видимому обладают миоцитами [18], а так же вероятно имеют стадию похожую на бластулу и процесс похожий на гастрюляцию [19]. У *Mухоспореа* никаких признаков бластулы, эмбрионального развития или гастрюляции пока не обнаружено. Возможно, у представителей *Malacosporea* будут обнаружены недостающие у *Mухоспореа* гены, связанные с апоптозом, что было бы аргументом в пользу гипотезы о происхождении последних из трансмиссивного рака.

Стоит отметить, что хотя примеров трансмиссивных раков у книдарий еще не обнаружено, рак у представителей этой группы все же встречается [20]. Ближайшим родственником к *Мухозоа* внутри книдарий является *Polypodium* [12], который как и *Мухозоа* является паразитом рыб, но воспроизводится с использованием сложных свободноживущих медузоидных форм. В отличие от *Polypodium*, *Mухоспореа* могут передаваться, когда одна рыба съедает другую [21]. Это и могло бы быть механизмом передачи, который и позволил трансмиссивному раку распространиться. Известен случай, когда человек заболел раком, изначально возникшем в паразитической цестоде *Hymenolepis nana*, которой

пациент был заражен [22], то есть сценарий, когда рак паразита стал раком хозяина теоретически возможен.

4 Выводы

Среди четырех рассмотренных таксонов упрощенных животных, Mucosporaea обладают наибольшим числом признаков, которые мы бы ожидали увидеть у группы, возникшей из трансмиссивного рака: отсутствие ключевых доменов, связанных с апоптозом, и признаков эмбрионального развития, а также высокая степень упрощения морфологии, нетипичная даже для паразитов. Дальнейшая проверка гипотезы возможна с помощью методов сравнительной транскриптомики и геномного анализа родственных видов из группы Malacosporaea.

5 Благодарности

Авторы выражают благодарность Кириллу Михайлову за замечания и обсуждение статьи. Эта работа была поддержана грантом РФФИ 18-29-13014 мк.

Список литературы

1. Podlaha O, Riester M, De S, Michor F: Evolution of the cancer genome. *Trends Genet* 2012, 28(4):155-163.
2. Yates LR, Campbell PJ: Evolution of the cancer genome. *Nat Rev Genet* 2012, 13(11):795-806.
3. Metzger MJ, Villalba A, Carballal MJ, Iglesias D, Sherry J, Reinisch C, Muttray AF, Baldwin SA, Goff SP: Widespread transmission of independent cancer lineages within multiple bivalve species. *Nature* 2016, 534(7609):705-709.
4. Strakova A, Murchison EP: The cancer which survived: insights from the genome of an 11000 year-old cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2015, 30:49-55.
5. Copper HL, Mackay CM, Banfield WG: Chromosome Studies of a Contagious Reticulum Cell Sarcoma of the Syrian Hamster. *J Natl Cancer Inst* 1964, 33:691-706.
6. Metzger MJ, Reinisch C, Sherry J, Goff SP: Horizontal transmission of clonal cancer cells causes leukemia in soft-shell clams. *Cell* 2015, 161(2):255-263.
7. Hanahan D, Weinberg RA: Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011, 144(5):646-674.
8. Aleshin VV, Petrov NB: [Molecular evidence of regression in evolution of metazoa]. *Zh Obshch Biol* 2002, 63(3):195-208.
9. Futreal PA, Coin L, Marshall M, Down T, Hubbard T, Wooster R, Rahman N, Stratton MR: A census of human cancer genes. *Nat Rev Cancer* 2004, 4(3):177-183.
10. Kim R: Unknotting the roles of Bcl-2 and Bcl-xL in cell death. *Biochem Biophys Res Commun* 2005, 333(2):336-343.

11. Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J: The calpain system. *Physiol Rev* 2003, 83(3):731-801.
12. Chang ES, Neuhof M, Rubinstein ND, Diamant A, Philippe H, Huchon D, Cartwright P: Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015, 112(48):14912-14917.
13. Landry JJ, Pyl PT, Rausch T, Zichner T, Tekkedil MM, Stutz AM, Jauch A, Aiyar RS, Pau G, Delhomme N et al: The genomic and transcriptomic landscape of a HeLa cell line. *G3 (Bethesda)* 2013, 3(8):1213-1224.
14. Murchison EP, Tovar C, Hsu A, Bender HS, Kheradpour P, Rebbeck CA, Obendorf D, Conlan C, Bahlo M, Blizzard CA et al: The Tasmanian devil transcriptome reveals Schwann cell origins of a clonally transmissible cancer. *Science* 2010, 327(5961):84-87.
15. Canning EU, Okamura B: Biodiversity and evolution of the Myxozoa. *Adv Parasitol* 2004, 56:43-131.
16. Muller WA, Teo R, Frank U: Totipotent migratory stem cells in a hydroid. *Dev Biol* 2004, 275(1):215-224.
17. Okamura B, Gruhl A: Myxozoa + Polypodium: A Common Route to Endoparasitism. *Trends Parasitol* 2016, 32(4):268-271.
18. Jimenez-Guri E, Philippe H, Okamura B, Holland PW: Buddenbrockia is a cnidarian worm. *Science* 2007, 317(5834):116-118.
19. Canning EU, Curry A, Hill SL, Okamura B: Ultrastructure of *Buddenbrockia allmani* n. sp. (Myxozoa, Malacosporea), a parasite of *Lophopus crystallinus* (Bryozoa, Phylactolaemata). *J Eukaryot Microbiol* 2007, 54(3):247-262.
20. Robert J: Comparative study of tumorigenesis and tumor immunity in invertebrates and nonmammalian vertebrates. *Dev Comp Immunol* 2010, 34(9):915-925.
21. Yokoyama H, Grabner D, Shirakashi S: *Transmission Biology of the Myxozoa. Health and Environment in Aquaculture* 2012.
22. Muehlenbachs A, Bhatnagar J, Agudelo CA, Hidron A, Eberhard ML, Mathison BA, Frace MA, Ito A, Metcalfe MG, Rollin DC et al: Malignant Transformation of *Hymenolepis nana* in a Human Host. *N Engl J Med* 2015, 373(19):1845-1852.