

К.И. Нестерова¹, Е.Ю. Глинка², В.Н. Перфилова³,
А.А. Нестерова³, К.Д. Капланов⁴



¹Университет Торонто, Торонто, Канада

²Исследовательский центр Кинана, больница св. Михаила, Торонто, Канада

³Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Российская Федерация

⁴Городская клиническая больница им. С.П. Боткина, Москва, Российская Федерация

Антивозрастной белок Клото как новый потенциальный супрессор опухолевого роста

С момента своего открытия 20 лет назад белок Клото активно изучается во всем мире. Выявлено, что его изомер α -Клото тесно связан с процессами старения и обладает антивозрастными свойствами. В экспериментальных работах было показано, что α -Клото универсально воздействует на многие биологические механизмы, ведущие к гиперпластическим изменениям клеток и тканей, ингибирует известные канцерогенные пути с вовлечением инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), фактора роста фибробластов (FGFs), трансформирующего фактора роста β 1 (TGF β 1), Wnt, P53/p21, а также воздействует на путь окислительного стресса (oxidative stress response). Все больше научных данных указывает на то, что белок Клото влияет на развитие таких видов злокачественных опухолей, как рак молочной и поджелудочной желез, легких, желудка, гепатокарциномы и др. В данном обзоре рассматривается роль α -Клото в онкогенезе, его влияние на основные сигнальные пути развития злокачественных опухолей и возможности регуляции его экспрессии.

Ключевые слова: Клото, канцерогенез, сигнальный путь

Для цитирования: Нестерова К.И., Глинка Е.Ю., Перфилова В.Н., Нестерова А.А., Капланов К.Д. Антивозрастной белок Клото как новый потенциальный супрессор опухолевого роста. Вестник РАМН. 2023;78(1):24–44. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2242>

Введение

Белок Клото (БК) — это мультифункциональный белок, активное изучение которого продолжается в течение последних 20 лет. Усилиями ученых было выявлено несколько изоформ белка Клото: альфа, бета и гамма. Считается, что α -Клото тесно связан с процессами старения [1, 2]. Этот факт установлен японскими учеными в 1997 г. после того, как у одной из исследуемых мышей случайно был поврежден локус гена, находившегося вблизи от трансгена, экспрессирующего белок

натрий-водородного обменника. Данное вмешательство вызвало мутацию в нетранслируемом участке, приведшую к удалению 8 тыс. нуклеотидных пар, находящихся за 6 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.) перед сайтом старта транскрипции. При этом кодирующая часть гена не была повреждена, но его экспрессия значительно снизилась, сформировав kl-/kl-фенотип с признаками раннего старения и укорочением жизненного цикла. У животных были выявлены инфертильность, атрофия кожи, остеопороз, эмфизема, атеросклероз и признаки нейродегенерации. Впоследствии отмечалось, что при усиленной

К.И. Nesterova¹, E.Yu. Glinka², V.N. Perfilova³, A.A. Nesterova³, K.D. Kaplanov⁴

¹University of Toronto, Toronto, Canada

²Keenan Research Centre, St. Michael's Hospital, Toronto, Canada

³Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation

⁴City Clinical Hospital Named after S.P. Botkin, Moscow, Russian Federation

Antiaging Klotho Protein as a Prospective Novel Tumor Suppressor

α -Isomer of Klotho Protein has been actively studied over the past 20 years. It has been found that α -Klotho is closely associated with aging and has anti-aging properties. Besides, it is involved in development of malignant tumor diseases. Its universal influence on many biological mechanisms leading to hyperplastic changes in cells and tissues has been proven experimentally. Recent studies demonstrated inhibitory effect of α -Klotho on the classical carcinogenic pathways such as insulin-like growth factor 1 (IGF1), fibroblast growth factor (FGFs), transforming growth factor β 1 (TGF β 1), Wnt, P53/p21, oxidative stress response pathways. Impeding effect of α -Klotho protein on the development of such types of malignant tumors as breast, pancreatic, lung, stomach, hepatocarcinoma, and others is proven in a number of cases. This review describes the role of α -Klotho in oncogenesis, its involvement and influence on the main signaling pathways known for their role in the development of malignant tumors, and the possibility of regulating its expression.

Keywords: Klotho, carcinogenesis, signaling

For citation: Nesterova KI, Perfilova VN, Glinka EYu, Nesterova AA, Kaplanov KD. Antiaging Klotho Protein as a Prospective Novel Tumor Suppressor. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2023;78(1):24–44. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2242>

экспрессии данного гена, наоборот, продолжительность жизни животных увеличивалась, а признаки старения исчезали. Таким образом были открыты антивозрастной белок и кодирующий его ген, названные в честь греческой богини Клото (дочери Зевса), которая плетет нити человеческой жизни [1, 2].

Новые работы свидетельствуют об участии α -Клото не только в процессе старения, но и в регуляции механизмов, задействованных в развитии многих заболеваний, в том числе опухолевых [3]. На 2020 г., в соответствии с Globocan 2020, общее количество новых случаев онкологических заболеваний для лиц старше 50 лет составляло 15 380 886 человек в сравнении с 3 312 203 эпизодами для людей до 50 лет [4]. Известно, что канцерогенез и старение разделяют общие биологические механизмы, которые ведут к дегенеративным и гиперпластическим изменениям клеток и тканей, обусловленным антагонистически плеiotропным действием одних и тех же генов [5, 6]. Кроме того, в процессе старения происходит накопление повреждений ДНК, которые вместе с геномной нестабильностью вносят вклад в опухолеобразование. При этом происходят потеря или ингибирование генов, ответственных за выявление и репарацию повреждений ДНК, что стимулирует постоянную активацию сигнальных путей, поддерживающих онкогенез [7–9].

Недавние работы показывают ингибирующее влияние α -Клото на известные канцерогенные пути, такие как пути активации инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1), фактора роста фибробластов (FGFs), трансформирующего фактора роста β 1 (TGF β 1), Wnt, P53/p21, путь окислительного стресса (oxidative stress response). Стоит заметить, что из известных в настоящее время трех изомеров БК именно α -Клото обладает указанными функциями [10, 11].

В данном обзоре рассматриваются роль БК в онкогенезе, его участие и влияние на основные сигнальные пути канцерогенеза и возможности регуляции его экспрессии.

Строение гена и белка Клото. Факторы, регулирующие его экспрессию

Ген *KL*, кодирующий БК, расположен на 13-й хромосоме и является высококонсервативным у человека, мыши, крысы, а также у рыбок данио-рерио (*Danio rerio*) и *Caenorhabditis* (один из подвидов нематод). Более того, БК высокогомологичен среди различных видов животных и у человека. В частности, последовательность аминокислот БК человека на 98% совпадает с мышиним. Ген БК (α -Клото) охватывает 50 т.п.н. Два его транскрипта кодируют мембранную и секреторную формы [10–12] (рис. 1).

Внеклеточный домен мембраносвязанного БК состоит из 1012 аминокислот (135 kDa) и включает в себя N-терминальную последовательность, KL1 и KL2. Домен KL1 включает аминокислоты от 51 до 506, KL2 — 515–953. Анализ аминокислотной последовательности БК показывает, что его внеклеточные домены схожи по структуре с β -гликозидазой. Однако рекомбинантный БК обладает очень низкой гликозидазной активностью. Возможно, в процессе посттрансляционной модификации и взаимодействия с определенными субстратами (например, стероидными β -глюкуронидами) эта активность повышается [13].

Мембраносвязанный БК может быть расщеплен протеазами (секретазами) ADAM10, ADAM17 и BACE1,

и тогда образуется укороченный БК, также известный как растворимый (циркулирующий), высвобождающийся в виде KL1 либо и KL1 и KL2 (см. рис. 1) [10, 11, 14]. Также существует секреторируемый БК, который возникает в результате альтернативного сплайсинга и состоит из 549 а.о., содержит N-концевой сигнальный пептид, за которым следует только домен KL1 [10, 11].

Экспрессия БК в основном осуществляется в почках и сосудистых сплетениях головного мозга. Однако, помимо этого, она обнаружена в эндотелии кровеносных сосудов, эндокринных (поджелудочная железа) и репродуктивных органах, в нервной ткани [15, 16].

Необходимо отметить, что циркулирующие формы БК (секретируемая и внеклеточная растворимая формы) найдены в тех клетках и тканях, где данный белок не экспрессируется. Этот факт объясняет появление признаков старения во всех органах и тканях при нокауте *KL*, что показано в ряде работ [17]. Было выявлено, что промоторный участок гена БК человека имеет длину в 500 нуклеотидов, расположен перед сайтом инициации транскрипции и играет ключевую роль в регуляции транскрипционного процесса. Промоторный участок *KL* не имеет ТАТА-бокса и содержит четыре потенциальных сайта связывания для Sp1 (specificity protein 1 — человеческий фактор транскрипции, участвующий в экспрессии генов на раннем этапе развития организма), который взаимодействует с Oct 1 (octamer-binding transcription factors) и усиливает транскрипцию БК [10, 18].

Что касается подробного описания кодирующей части гена БК (человека, мыши и крысы), а также процессов транскрипции, трансляции, посттрансляционной модификации, информация об этом содержится в работах Y. Xu и Z. Sun [10] и Y. Matsumura et al. [19].

Предполагается, что к промотору гена БК человека могут присоединяться следующие факторы транскрипции:

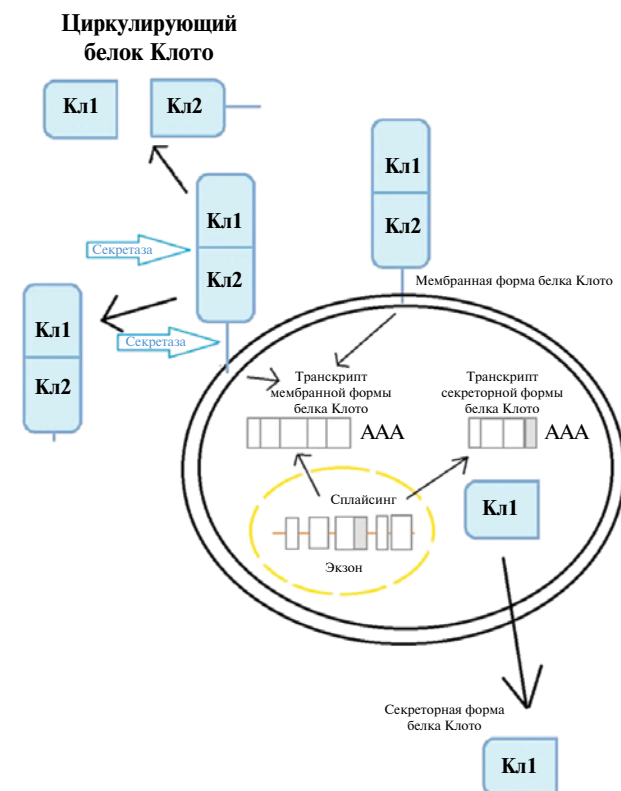


Рис. 1. Формы белка Клото (адаптировано по [17])

Примечание: Кл1 — домен KL1; Кл2 — домен KL2.

Lyf-1 (the lymphoid transcription factor), Ap2 (apetala 2), PAX4 (paired box 4), Mzf1 (myeloid zinc finger 1), helix-loop-helix (HLH) белок, с-Мус, E47, ферменты семейства Myo. Последние три могут взаимодействовать с E-боксом (enhancer box). При этом считается, что факторы транскрипции, связывающиеся с начальными 300 т.п.н. промоторного участка, ингибируют экспрессию БК, а с конечными 200 т.п.н. — стимулируют [10].

Промотор *KL* содержит интенсивно метилированные CpG-участки (цитозин-гуаниновые островки), что предполагает супрессию БК, транскрипция которого ингибируется эпигенетически через гиперметилирование [20–23].

Гиперметилирование промоторного участка БК осуществляется ферментами семейства ДНК метилтрансфераз (DNMT). Наиболее вероятными кандидатами являются DNMT3a и DNMT3b. Они обладают крайне низкой субстратной специфичностью, но селективность метилирования достигается за счет их взаимодействия с факторами транскрипции Sp-1, PPAR- γ , AP-1. Такая кооперация предполагает активацию факторов транскрипции и их ядерную транслокацию для достижения прямого взаимодействия с DNMT3 [24–26]. В aberrантном метилировании ДНК участвует также протоонкогенный фактор EVI-1 [27].

На сегодняшний день открыто множество факторов, как ингибирующих, так и активирующих экспрессию БК, однако точные механизмы их действия до конца не выявлены [10, 28–30]. К ингибирующим агентам можно отнести микро-РНК-339 и -556, которые способны подавлять экспрессию многих генов, влияя на трансляцию или разрушая мРНК [31, 32]. Экспрессия также снижается при взаимодействии с промотором *KL* белков — супрессоров опухолей p16 и p53 [18]. Ангиотензин II, вероятно, подавляет транскрипцию БК через повышение концентрации TGF- β 1 (transforming growth factor beta), p38 (tumor protein 38), p53 (tumor protein 53) [10, 33, 34]. Описан еще ряд факторов, снижающих экспрессию гена БК. К ним относят окислительный стресс [35], ядерный фактор κ B (NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), любые воспалительные процессы и сопровождающие их медиаторы воспаления (NF- κ B, TNF- α , TNF-подобный слабый индуктор апоптоза (TWEAK)) [18, 36].

Увеличивают экспрессию БК хелатные комплексы, связывающие железо и тем самым уменьшающие концентрацию активных форм кислорода [35, 37]. Еще один активатор — PPAR- γ (peroxisome proliferator — activated receptor gamma, рецептор к глитазону), стимуляция которого повышает экспрессию БК на мышечных моделях через PPAR- γ связывающие сайты. Они расположены на 5'-нетранслируемом участке 3686–3698 т.п.н. вверх от стартового кодона гена БК, который локализован на значительном расстоянии от кодирующего региона. В связи с этим предполагается, что регуляция экспрессии БК происходит с помощью непрямых взаимодействий, которые на данный момент не определены [38].

Другие важные факторы, тесно связанные с БК и регуляцией его экспрессии, — это FGF23 (fibroblast growth factor 23), витамин D₃ (1,25-dihydroxycholecalciferol), а также кальций и фосфат. FGF23 участвует в гомеостазе кальция и фосфата через подавление функции Npt2a/c (котранспортеров натрия/фосфата типа 2 в проксимальных канальцах нефрона) и нарушение синтеза кальцитриола (D₃), таким образом уменьшая реабсорбцию кальция и фосфата в кровь. При этом БК повышает

средство FGF23 к FGFR и усиливает влияние FGF23 на описанные выше процессы. Вместе с тем примечательно, что витамин D₃, а также кальций и фосфат значительно повышают транскрипцию *KL*. Было замечено, что FGF23 увеличивает продукцию TNF- α , который, в свою очередь, снижает экспрессию БК. В целом необходимо более подробно изучить взаимодействия БК и FGF23, чтобы объяснить двойственное действие FGF23 на БК, минеральный обмен и механизмы старения [10, 39].

На сегодняшний день нет лекарственных препаратов, разработанных специально для регуляции экспрессии БК, но показано, что некоторые из них, уже известные, например фозиноприл и лозартан, повышают его продукцию [40, 41].

Что касается регуляции экспрессии циркулирующей (растворимой) формы БК, она осуществляется посредством модуляции активности секретаз (металлопротеиназ) ADAM10 и ADAM17, которые могут ингибироваться ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислотой), EGTA, TAPI-1, Timp-1. Инсулин, напротив, увеличивает активность металлопротеиназ. Трансфекция *KL* либо с ADAM10, либо с ADAM17 усиливает расщепление БК, тогда как с микро-РНК, специфичными к ADAM10 и ADAM17, — ингибирует. Эффект инсулина отменяется, когда ADAM10 или ADAM17 подавляются, а также при действии вортманнина, ингибитора фосфоинозитид-3-киназы (PI3K) [14].

Сообщается также, что существует альтернативный сплайсинг гена α -Клото, который возможен у мышей и людей, но не у крыс. В результате альтернативного сплайсинга транскрипт (мРНК) гена α -Клото содержит нуклеотидную последовательность, которая кодирует только домен KL1, а не его мембранную часть, что вполне возможно благодаря преждевременному стоп-кодону между экзонами *KL*, так как это может привести к укорочению БК во время транскрипции. При этом нет ни убедительных доказательств, ни опровержений, что данный транскрипт активно транслируется с образованием укороченного белка α -Клото — некоторые работы показали, что он разрушается через нонсенс-медирированный распад мРНК. Хотя в то же время при снижении синтеза мембранного БК происходит заметный рост транскрипции сплайсируемого БК со снижением распада его мРНК. В целом сложно судить о наличии секретируемого БК непосредственно в плазме крови или других жидкостях, так как используемые методы диагностики с применением антител обнаруживают домен KL1 в любой содержащей его форме БК [42].

Кроме того, есть данные, косвенно указывающие, что даже если секретируемый БК существует, его функциональная активность может стоять под вопросом, так как ни KL1, ни KL2 не обладают биологически значимой гликозидазной активностью, поэтому секретируемый БК не может служить ферментом. В дополнение к этому оба tandemных домена необходимы для взаимодействия между лигандом FGF23 и БК, таким образом, изолированный домен KL1 не действует как корецептор [43]. Однако стоит отметить, что, вероятно, функции БК не только сводятся к активации FGF23 — существует большое количество исследований, показывающих различные эффекты как мембранного КЛ, так и отдельно его домена КЛ1.

В последующих разделах обзора описано влияние и взаимодействие БК с различными типами злокачественных опухолей, а также проведен краткий анализ возможных способов применения его в онкологии.

Опухолевые заболевания желудочно-кишечного тракта и белок Клото

При изучении свойств БК было замечено, что его экспрессия в опухолевых тканях значительно отличается (в основном в сторону понижения) от экспрессии в соседних прилегающих здоровых тканях. Это продемонстрировано на препаратах злокачественных опухолей поджелудочной железы и желудка, колоректального, эзофагиального, гепатоцеллюлярного рака и др. [23, 44–50]. Обнаружено, что БК играет существенную роль в развитии рака желудка и эзофагальной карциномы [23, 44–46]. Показано, что он значительно подавляет рост этих опухолей через различные сигнальные пути, такие как IGF-1 и Wnt/ β -катенин-зависимый путь (рис. 2) [44, 46, 47, 49, 50].

Исследование, проведенное X. Tang et al. (2016), выявило значительно повышенную концентрацию растворимого БК у 40 пациентов с плоскоклеточным раком пищевода в сравнении с контролем ($p < 0,001$) [44]. Они также показали, что экспрессия БК в опухолевой ткани снижается и обратно пропорционально коррелирует с клинической и гистологической стадиями злокачественного новообразования, а также с длительностью жизни пациентов после обнаружения опухоли ($p < 0,01$). В то же время авторы отмечали высокий уровень экспрессии β -катенина в клетках плоскоклеточного рака пищевода по сравнению со здоро-

выми клетками, что имело обратную зависимость по отношению к уровню экспрессии БК. Результаты твердофазного иммуоферментного анализа показали, что уровень растворимого БК у пациентов с опухолью был значительно выше ($461,50 \pm 43,30$ пг/мл), чем в контрольной группе ($239,37 \pm 20,65$ пг/мл) ($p < 0,001$). Таким образом, предполагается, что растворимый (циркулирующий) БК может использоваться как новый маркер для оценки прогноза и прогрессии злокачественного процесса [46].

L. Wang et al. (2011), изучая БК и развитие рака желудка, выявили, что экспрессия БК в тканях первичной карциномы желудка, а также во всех исследуемых клеточных культурах рака желудка (линии AGS, KATO III, MKN28, MKN45, NCI-N87, SNU1, SNU16) была снижена. При этом продемонстрировано, что эктопическая экспрессия БК подавляла рост опухоли через индукцию апоптоза, супрессию ERK фосфорилирования и экспрессию p21. Снижение экспрессии БК объяснялось гиперметилированием цитозин-гуаниновых (CpG) островков промотора транскрипции БК, что вело к ускоренному росту опухолевых клеток рака желудка. Применение деметилирующего агента — азануклеотида — повышало экспрессию БК. Важно отметить, что, согласно L. Wang et al., гиперметилированный промотор гена БК коррелировал с менее благоприятным прогнозом развития опухолевого процесса. Мультивариантная регрессия Кокса показала, что гиперметилирование промотора *KL* является незави-

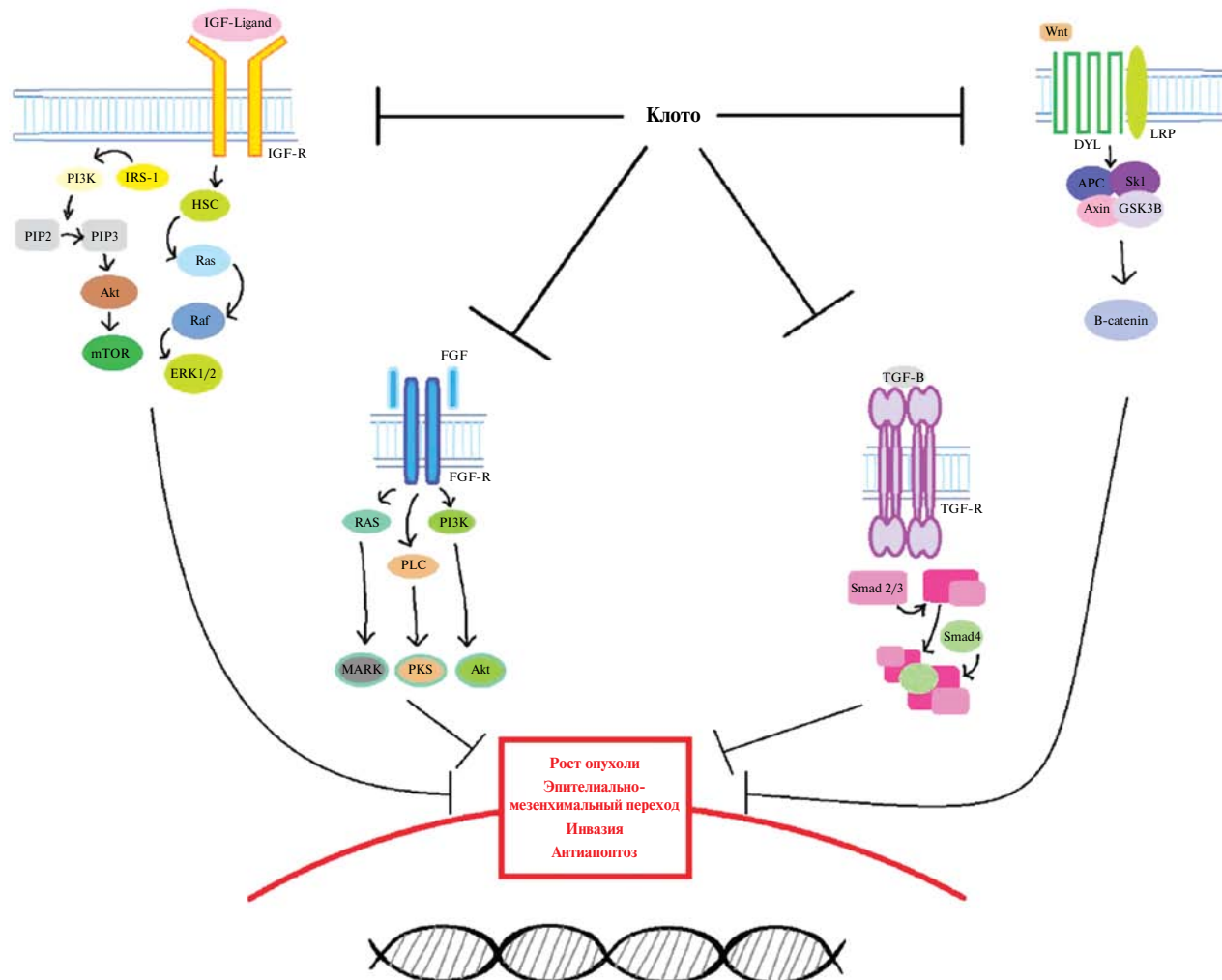


Рис. 2. Белок Клото ингибирует сигнальные пути FGF, IGF, WNT и TGF- β , что приводит к снижению роста, миграции и инвазии опухоли, пролиферации клеток (адаптировано по [115])

ющие CCL2, частично останавливало пролиферацию и инвазию клеток колоректального рака *in vitro*. Авторы показали, что *in vivo* рекомбинантный БК ингибировал рост опухоли, стимулированный стареющими фибробластами. При этом в них происходило подавление фосфорилирования NF-κB и уменьшение экспрессии и секреции CCL2. Данный механизм может стать новым перспективным терапевтическим направлением в лечении колоректального рака [57].

Относительно недавно было открыто, что БК играет значительную роль в печеночном онкогенезе, оказывая супрессивное влияние на злокачественные клетки печени и на ключевой для развития гепатокарцином Wnt/β-катенин-зависимый путь передачи сигнала, что обуславливает антиопухолевый эффект БК (см. рис. 2) [49, 50, 58].

Нельзя не отметить, что в 2013 г. L. Chen et al. представили другие, противоречащие данные, в соответствии с которыми БК активировал VEGFR2/PAK1-путь, способствуя прогрессии опухоли и ее метастазированию [59].

В 2016 г. X. Tang et al. опубликовали новые результаты об экспрессии БК в опухолевой ткани печени и в прилегающих здоровых тканях, а также о его влиянии на активность Wnt/β-катенин-зависимого пути [49]. В работе было изучено 52 гистологических образца злокачественных новообразований печени и 54 — из прилегающих здоровых тканей (клинические параметры были доступны по всем 52 случаям). С помощью иммуногистохимического анализа было обнаружено, что экспрессия Клото в опухоли была значительно снижена по сравнению со здоровыми тканями, а также статистически значимо обратно пропорционально коррелировала с клинической стадией и уровнем злокачественности. Экспрессия БК в клеточных культурах была выше в нормальных клетках печени линии L02, чем в культуре клеток гепатоцеллюлярной карциномы Hep G1, G2, SMMC-7721. Трансфекция плазмидой, кодирующей KL, в культуры опухолевых клеток линии Hep G2 вызвала повышение экспрессии БК, снижение пролиферации клеток на 43% и двукратную активацию апоптоза по сравнению с клетками контрольной группы. С помощью вестерн-блоттинга было также продемонстрировано ингибирование Wnt/β-катенин-зависимого пути при усиленной продукции БК, что подтвердилось снижением секреции β-катенина и угнетением его транслокации из цитоплазмы в ядро. Это, в свою очередь, уменьшало экспрессию c-myc и циклина D1 — мишени Wnt/β-катенин-зависимого пути. В то же время ингибирование БК в опухолевых клетках линии Hep G2 с использованием siRNA-kl характеризовалось усиленной их пролиферацией и активацией Wnt/β-катенин-зависимого пути.

Интерес специалистов вызвал эксперимент с введением растворимого рекомбинантного Клото непосредственно в опухолевую ткань *in vitro* и *in vivo* бестимусным (атимическим) мышам nude, которым предварительно внедрили клетки гепатокарциномы линии SMMC-7721. Результатом работы стала значительная редукция роста гепатомы (гепатокарциномы) пропорционально объему введенных доз. Эти же авторы обнаружили достоверное повышение концентрации эндогенного циркулирующего БК в плазме у 20 пациентов с вновь диагностированными гепатокарциномами по сравнению с контрольной группой [49].

Данный факт наводит нас на несколько важных вопросов, требующих изучения: во-первых, каков механизм повышения концентрации БК в крови при сниженной его экспрессии в самой опухоли и, во-вторых, почему высокие концентрации БК в крови не препятствуют развитию опухоли, в то время как при введении БК в опухолевую ткань

напрямую наблюдается ее регрессия. Одно из возможных объяснений этому — присутствие десмопластической стромы вокруг скоплений раковых клеток, что, как известно, способствует резистивности опухолей [60].

Одна из гипотез, объясняющая повышение уровня циркулирующего БК, может быть связана с его компенсаторным ускоренным «срезанием» металлопротеиназами с поверхности клеток здоровых органов и тканей наряду с изменением баланса экспрессии между полномерной и укороченной формами. В то же время нам не встретилось точных данных относительно корреляции плазменной концентрации секретируемого БК у пациентов с опухолевыми заболеваниями.

В отношении рака поджелудочной железы БК также демонстрирует свою роль как супрессор опухолевого роста. L. Abramovitz et al. (2011) с помощью иммуногистохимических (ИГХ) методов на 18 микропрепаратах рака поджелудочной железы показали, что экспрессия БК значительно снижалась в 83% (15/18) случаев по сравнению с нормальными здоровыми тканями ($p = 0,002$). В культурах раковых клеток поджелудочной железы — Colo357, MiaPaCa2 и Pac1 — эта группа ученых также определила присутствие гиперметилированных промоторов гена БК, что приводит к ингибированию его экспрессии. При трансфекции HA-tagged-klotho вектора в клетки линий Colo357, MiaPaCa2, Pac1, BON-1 и здоровые неопухолевые клетки линии НЕК-293 раковые колонии в культурах опухолевых клеток подавлялись, а здоровые клетки нормально пролиферировали. Растворимый БК, введенный в клеточные опухолевые культуры, также ингибировал независимый от прикрепления рост злокачественных клеток (anchorage-independent growth) и заметно сокращал размеры опухоли на ксенографтах. Более того, h-KL (человеческий БК с полной длиной) и h-KL1 (БК, содержащий домен KL1) были одинаково эффективны *in vitro*. В работе авторы показали ингибирующее влияние обеих форм БК на IGF- и bFGF-зависимые пути и их мишени (IRS1, АКТ, ERK1/2), хотя было найдено небольшое отличие в воздействии на степень фосфорилирования АКТ и ERK1/2. При введении h-KL1 наблюдался более низкий уровень фосфорилирования вышеприведенных киназ, чем при введении целого БК. h-KL1 не влиял на состояние АКТ и ERK1/2 в почках, в отличие от h-KL. В целом обе формы показали себя эффективными, но с точки зрения безопасности h-KL1 имеет несколько больше преимуществ [47].

В работах по изучению аденокарциномы панкреатического протока было показано, что экспрессия Клото в образцах опухолевой ткани была снижена и отрицательно коррелировала с высоким содержанием микро-РНК-504, а ее ингибирование привело к реэкспрессии БК в экспериментальной модели. Было также установлено, что экспрессия БК в аденокарциноме поджелудочной железы подавляется микро-РНК-199a, а повышение экспрессии приводит к ингибированию mTOR — одной из мишеней Akt1/2 и MEK/ERK пути в клетках линии Panc1 [78]. Таким образом, введение БК может быть потенциально новым терапевтическим подходом при аденокарциноме поджелудочной железы [61, 62].

Опухолевые процессы органов дыхательной системы и белок Клото

B. Chen et al. (2010) в своем исследовании, выполненном на клетках рака легких линии A549 (human lung

adenocarcinoma cell line), продемонстрировали, что экспрессия мембранного БК в них была значительно ниже по сравнению со здоровой легочной тканью ($p < 0,05$). При экспрессии трансмембранного и растворимого БК с использованием плазмидного вектора рост клеток значительно замедлялся, начинался апоптоз, снижалась инвазивная активность. Другая важная клиническая находка заключалась в том, что эффект БК зависел от дозы и/или концентрации его в клетке. Последнее может стать новым прогностическим маркером прогрессирования злокачественного новообразования [63].

Также обнаружено, что БК играет особую роль в регуляции Wnt/ β -катенин-зависимого сигнального пути, повышенная стимуляция которого, в соответствии со многими предыдущими работами, считается одним из основных и важных путей легочного канцерогенеза (см. рис. 2). С помощью вестерн-блоттинга было выявлено, что повышенная экспрессия БК в клетках линий аденокарциномы легких A549 и H1975 привела к существенному снижению активных форм β -катенина и экспрессии лиганда Wnt/ β -катенин-зависимого пути — Wnt3a, а также к ингибированию экспрессии генов-мишеней Wnt-пути — c-Мус, Циклин D1, что характеризуется замедлением ракового роста [64].

Позднее В. Chen et al. (2018) в своей другой работе продемонстрировали, что повышение экспрессии БК в стареющих легочных фибробластах играет положительную роль в супрессии роста и прогрессирования немелкоклеточного рака легких через его негативную регуляцию SASP (senescence-associated secretory phenotype) и подавление продукции и секреции IL-6 и IL-8 стареющими легочными фибробластами, что приводит к значительному угнетению роста раковых клеток, их мезенхимально-эпителиальной трансформации и инвазивной активности [65].

Замечена связь БК с мелкоклеточным раком легких и крупноклеточной нейроэндокринной карциномой легкого. J. Usuda et al. (2011) и В. Brominska et al. (2019), анализируя клинические данные и результаты, полученные ИГХ методом, продемонстрировали, что сохраненная экспрессия БК коррелирует с более высокой послеоперационной выживаемостью, снова указывая на то, что это может служить маркером благоприятного прогноза [66, 67]. В другой работе Т. Ibi et al. (2017) отмечают, что у пациентов с продвинутой стадией сквамозного рака легких экспрессия БК была обнаружена только в 13% случаев, в то время как при карциноме *in situ* выявлялась в 100% случаев [68].

Вместе с тем есть работы, в которых отсутствует значимая разница в концентрации растворимого БК в плазме пациентов с вновь диагностированным раком легких в сравнении с контрольной группой (45 и 43 пациента соответственно) [69]. Разноречивые данные диктуют необходимость более детального изучения и сопоставления результатов в соответствии с различными формами белка, стадиями и тяжестью опухолевых процессов.

Следует добавить, что применение БК вместе с химиотерапевтическими препаратами может считаться одним из перспективных направлений в лечении рака легких. Так, в экспериментах на клеточных линиях рака легкого человека (A549, H460, неустойчивых и устойчивых к цисплатину; SK-MES-1, резистентных к доцетакселу; SPC-A-1/DTX; SPC-A-1) Y. Wang et al. (2013) и Т. Chen et al. (2016) установили, что БК ослаблял резистентность к цисплатину. Эти же наблюдения были воспроизведены *in vivo* с использованием ксенографтов на бестимусных

мышях. Снижение устойчивости к химиотерапевтическому препарату достигалось благодаря ингибированию аутофагии, PI3k/Akt-пути и активации апоптоза [70, 71]. Данные результаты могли бы найти прямое приложение в исследовании новых подходов к химиотерапии.

Антиканцерогенный эффект белка Клото при опухолевых заболеваниях мочеполовой системы

Что касается рака яичников и БК, то данные остаются пока противоречивыми. L. Lu et al. (2008) изучили экспрессию общего и секретируемого БК, а также IGFs в тканях эпителиального рака яичников у 189 пациентов для выявления корреляции между уровнем БК и риском прогрессии заболевания. По данным авторов, экспрессия общего БК определялась у 73,5% пациентов. Было обнаружено, что его высокий уровень прямо пропорционально коррелировал с высоким риском прогрессии заболевания: секретируемый Клото, как показала данная работа, был ассоциирован с низким уровнем дифференцировки злокачественных клеток, большими размерами опухоли, активным метастазированием (отношение рисков = 1,97). В то же время наблюдалась повышенная экспрессия IGF-I, IGFBP-3, которая могла стимулировать ангиогенез и опухолевый рост [72].

При этом другие исследования обнаруживают антиканцерогенную активность БК при злокачественной опухоли яичников. I. Lojkin et al. (2015) в своей работе наблюдали снижение уровня мРНК БК в 16 из 19 клеточных культур эпителиального рака яичников. ИГХ-окрашивание подтвердило высокую экспрессию БК в здоровых тканях яичников и сниженную в клеточных культурах и гистологических препаратах эпителиального рака яичника. При этом сниженная экспрессия была также напрямую ассоциирована с положительным BRCA-статусом, что означает дефект генов *BRCA1* и *BRCA2* (гены, кодирующие белки, способные восстанавливать поврежденную ДНК) и предрасположенность к развитию некоторых видов рака. При лечении растворимым БК происходило снижение выживаемости раковых клеток, порога их чувствительности к цисплатину и экспрессии мезенхимальных онкомаркеров. Было обнаружено, что данные эффекты связаны с подавлением IGF-индуцированного ERK1/2 фосфорилирования и, вероятно, с ингибированием транскрипционной активности эстрогенных рецепторов [73].

Еще одна группа исследователей (Y. Yan et al., 2017) в своей работе продемонстрировала замедление прогрессии рака яичников при стимулировании экспрессии БК. Сравнение экспрессии БК у группы наблюдения (120 пациентов с раком яичников) и контроля выявило следующее: высокая экспрессия белка наблюдалась у группы контроля, и значительно более низкие показатели регистрировались у пациентов со злокачественными новообразованиями яичников ($p < 0,01$). В экспериментах *in vivo* введение рСМV6-Клото в опухоли, индуцированные имплантацией клеток аденокарциномы яичников A2780 мышам линии nude, вызывало выраженный антиканцерогенный эффект: наблюдалось уменьшение размеров опухолевых узлов и снижение пролиферации в группе рСМV6-Klotho по сравнению с контролем — рСМV6-вектор ($p < 0,01$). Было замечено, что низкая экспрессия БК коррелирует с высоким уровнем экспрессии мРНК IL-6 и его концентрацией

в плазме мышей фенотипа Клото—/—, что способствует опухолевой прогрессии [74].

Согласно литературным данным, рак шейки матки — самая частая причина смерти среди онкологических заболеваний пациенток репродуктивного возраста. Плоскоклеточный рак встречается в 80% инвазивных карцином шейки матки, а различные формы аденокарциномы составляют большую часть остальных опухолей. S. Aviel-Ronen et al. (2016) проанализировали экспрессию БК в когорте пациенток с плоскоклеточным раком и аденокарциномой шейки матки и отметили ее более низкий уровень в опухолях по сравнению с окружающими нормальными тканями. Кроме того, при сравнительном анализе экспрессия БК в обоих типах опухолей более высокая была у пациенток с плоскоклеточным раком, чем с аденокарциномой [75].

Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, которые показали снижение концентрации мРНК, кодирующей БК, у нескольких клеточных линий рака шейки матки. Было выявлено гиперметилирование участков CpG в клеточных линиях, не экспрессирующих БК: CaSki (эпителиоидная карцинома шейки матки), SNU-17 и SNU-1299 (рак шейки матки) и в 41% (9 из 22) случаев инвазивной карциномы. Также было обнаружено, что деацетилирование гистонов является основным механизмом эпигенетического сайленсинга для БК в клеточной линии SiHa (рак шейки матки). Эктопическая экспрессия секреторируемой формы БК ингибировала Wnt-путь и антиклоногенную активность в клетках рака шейки матки линии CaSki, включая снижение уровней активного β -катенина, подавление генов-мишеней T-клеточного фактора/ β -катенина, таких как *c-MYC* и *CCND1* (*Cyclin D1*), и ингибирование роста опухолевых колоний. Также выявлено, что БК подавляет эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), играющий важную роль в прогрессировании и метастазировании рака шейки матки [76, 77].

Участие БК в торможении роста злокачественных новообразований молочных желез было впервые исследовано I. Wolf et al. (2008) [78]. С помощью метода ИГХ они обнаружили, что существенно более низкая экспрессия БК наблюдается в тканях опухоли (ductal carcinoma, invasive carcinoma, carcinoma *in situ*), в то время как в здоровых тканях экспрессия сохраняется на высоком уровне. При изучении образцов опухолевой ткани было замечено, что уровень дифференцировки злокачественных клеток прямо пропорционально коррелирует с уровнем экспрессии БК и обратно пропорционально — с индексом пролиферации. Повышение экспрессии БК и введение растворимого БК понижают, в то время как уменьшение экспрессии повышает пролиферацию раковых клеток. Более того, высокое содержание БК подавляет активацию сигнального пути IGF-1 (insulin-like growth factor 1), задействованного в злокачественной трансформации лактоцитов, и в то же время активирует фактор транскрипции ССАТ/энхансер-связывающий белок β , который является ингибитором пролиферации раковых клеток. С помощью коиммунопреципитации было обнаружено взаимодействие между БК и IGF-1-рецептором, которое ведет к ингибированию последнего. Помимо угнетающего влияния на сигнальный путь IGF-1, БК участвует в модулировании эффекта β -FGF (fibroblast growth factor β)-зависимого сигнального пути, активируя его. При этом роль β -FGF и его пути в развитии рака молочной железы достаточно неоднозначны. По некоторым данным, этот лиганд ингибирует пролиферацию опухолевых клеток,

однако есть работы, которые противоречат таким результатам. Очевидно, вопрос требует более детальных исследований, особенно изучения взаимоотношения между β -FGF и БК, а также активации пути ERK1/2 при стимуляции FGFR. Одно из возможных объяснений наблюдаемых противоречий состоит в том, что активация ERK1/2 одновременно нивелируется модуляцией/активацией FOXO3a также через эффект БК [78–81].

I. Wolf et al. (2008) и T. Rubinek et al. (2012) одними из первых начали изучать механизм подавления экспрессии БК в опухолевых клетках на ранних стадиях рака молочных желез. Сниженная экспрессия БК, наблюдаемая при гиперплазии средней степени или атипичной гиперплазии протоков молочных желез, была объяснена метилированием и деацетилированием промоторного участка *KL*, которые коррелировали с низким уровнем мРНК БК в раковых клетках. Лечение рака молочных желез деметилирующим агентом 5-аза-2-дезоксцитидин повышало экспрессию БК в 150 раз. SANA (suberoylanilide bishydroxamide, ингибитор деацетилазы) восстанавливал деацетилированный участок НЗК9 в области промотора БК в раковых клетках. Таким образом, было высказано предположение, что метилирование и деацетилирование ДНК — основная причина ингибирования гена БК и, вполне возможно, является одним из ранних предвестников развития злокачественного заболевания [78, 82].

В другой работе H. Ligumsky et al. (2015) обнаружили, что повышение экспрессии KL1, но не KL2 ингибировало рост опухолевых клеток. KL1, введенный *in vivo*, значительно снижал прогрессирование опухоли на ксенографтах MDA-MB-231 у бестимусных мышей. Предполагается, что существует функциональная разница между доменами БК, что может найти свое применение в клинической медицине [83].

Помимо влияния на IGF-рецептор, БК может модулировать энергетический обмен раковых клеток. Выявлено, что БК стимулирует АМФК (аденозин монофосфат киназу) через активирование LKB1 (liver kinase B1, киназа печени B1), ингибируя рост и пролиферацию опухолевых клеток. БК также влияет на уровень эндоплазматического Ca^{2+} , его транспорт через SOC (store-operated Ca^{2+} -channels, депо-управляемые Ca^{2+} -каналы) и мембранный потенциал митохондрий в злокачественных клетках молочных желез, снижая вход ионов кальция в клетку и в эндоплазматический ретикулум (ЭР). Таким образом, показанная значимая роль БК в тонких метаболических процессах, обеспечивающих развитие опухолей, диктует необходимость его дальнейшего глубокого изучения [84].

Интерес вызывают еще одни данные, полученные группой I. Wolf et al. (2010). В своих работах исследователи рассмотрели взаимосвязь между генетическими факторами риска развития опухоли — BRCA1 и BRCA2 — и генетическими вариантами *KL*. Гетерозиготность варианта гена *KL-VS* у женщин (ashkenazi jewish women) — носителей BRCA1 была ассоциирована с увеличением риска развития рака молочных желез и яичников (отношение рисков — 1,40; 95%-й доверительный интервал — 1,08–1,83; $p = 0,01$). Эти данные означают, что присутствие *KL-VS* может указывать на высокую вероятность развития рака среди носителей мутаций BRCA1 [85].

Результаты многочисленных работ показали, что существует возможная корреляция между концентрацией БК в плазме и наличием опухоли, а также ее стадией. Например, предоперационная концентрация растворимого (циркулирующего) БК у 160 пациенток с ренальной карциномой ранней стадии была ниже, чем у пациен-

тов с более продвинутой стадией рака, и коррелировала с размером и клинической стадией злокачественного опухолевого процесса. При светлоклеточном раке почек общая выживаемость пациентов коррелировала с уровнем экспрессии БК в опухоли ($p < 0,001$): высокий уровень ассоциировался с более благоприятным прогнозом, чем низкий. Как повышение экспрессии БК, так и введение рекомбинантного белка в клетки опухоли тормозило ЭМП и подавляло экспрессию мезенхимальных маркеров (виментин, N-кадгерин). Инвазивная активность снижалась посредством подавления PI3K/AKT/pGSK-beta/SNAI 1-зависимого пути [86, 87].

Позже J.-H. Kim et al. (2016) описали, что опухолевые ткани пациентов со светлоклеточным раком почек характеризуются низкой экспрессией БК, высокой — IGF-1R по сравнению с прилегающими здоровыми тканями и коррелируют со степенью прогрессирования рака. Таким образом, более высокий уровень БК рассматривается авторами как положительный прогностический критерий. Повышение его содержания сопровождалось значительным подавлением роста колоний опухолевых клеток рака почек (ccRc, Sakil) и активации IGF-1-стимулированной Akt [88].

В случае уrogenитальной карциномы Y. Zhu et al. показали, что выживаемость пациентов с высокой экспрессией БК была значительно выше, чем с низкой. Отмечено, что он подавлял ЭМП, миграцию и инвазию почечно-клеточного рака [86]. ИГХ-исследования дают возможность предположить, что БК также способен супрессировать опухоль мочевого пузыря [89].

Антионкогенный эффект белка Клото при опухолях эктодермальной и мезенхимальной природы

Выявлено, что БК участвует в регулировании развития практически всех часто встречающихся злокачественных новообразований. Помимо вышеуказанных видов, он подавляет развитие липосарком, остеосарком, меланомы, мультиформной глиобластомы, Т-клеточной и диффузной В-крупноклеточной лимфом.

Во многих случаях показано, что причиной снижения уровня БК в опухолевой ткани является гиперметилирование промоторного участка этого гена, что подавляет его экспрессию. В этом свете примечательно, что опубликовано совсем мало исследований, посвященных изменению концентрации циркулирующего БК при солидных злокачественных опухолях. Особый интерес в данном контексте вызывают работы J. Pako et al. (2020) [69], X. Tang et al. (2016) [46], M. Gigante et al. (2015) [87], данные которых достаточно противоречивы. Так, например, работа J. Pako et al. не показала значимой разницы в плазменной концентрации БК у пациентов с раком и без, в то же время исследования X. Tang et al. и M. Gigante et al. продемонстрировали корреляцию между уровнем БК в плазме крови и наличием диагностированной опухоли [46, 69, 87]. Также примечательно, что во многих работах прямое введение рекомбинантного целого БК или только КЛ1-домена в солидные новообразования значительно ингибировало рост опухолей, что может стать новой возможностью их лечения [47, 49, 54, 57, 78, 83, 86, 90].

Показано, что рецептор инсулиноподобного фактора роста 1 (insulin-like growth factor 1 receptor, IGF-1R) и его сигнальный путь часто гиперактивированы при липосаркомах. Группой V. Delcroix et al. (2018) [91] было вы-

явлено, что в низкодифференцированных липосаркомах экспрессия БК резко снижена, а содержание фосфорилированной ERK1/2 существенно повышено. При увеличении экспрессии БК отмечались значительное уменьшение фосфорилирования эффекторов IGF-1R-зависимого пути, подавление пролиферации опухолевых клеток, снижение резистивности к гемцитабину, тапсигаргину (ТГ), АВТ-737 (ингибитор bcl-2), а также рост индекса апоптоза и его маркеров. Помимо влияния на IGF-R-ERK1/2-путь, БК модулировал TRPC6 (transient receptor potential canonical), нарушая вход Ca^{2+} внутрь клетки и снижая цитозольные колебания концентрации Ca^{2+} . Это может быть непрямым свидетельством того, что БК модулирует эффект PI3K-сигнального пути независимо от активации АКТ. Было показано, что БК усиливает утечку Ca^{2+} из ЭР через открытие TLC-каналов (translocon-protein complex Ca^{2+} channels). Это, возможно, ведет к более высокой чувствительности опухолевых клеток к препаратам, вызывающим стресс эндоплазматического ретикулума (гемцитабин, АВТ 737, ТГ), увеличивая вход Ca^{2+} в митохондрии и стимулируя апоптоз. Таким образом, применение стрессоров ЭР вместе с повышением экспрессии БК приводит к более выраженному подавлению опухолевого роста и апоптозу через воздействие на гомеостаз кальция в опухолевых клетках и на сигнальные пути IGF-1, ERK1/2, PI3K. В клиническом отношении, согласно доступным базам данных (GENT database), у пациентов с низкодифференцированной липосаркомой слабая экспрессия БК также ассоциирована с низкой выживаемостью [91, 92].

Исследователями показано, что трансфекция клеток остеосаркомы лентивирусным вектором, кодирующим БК, привела к уменьшению размера опухолевого ксенографта и пролиферативного индекса. При этом наблюдалось снижение доли PAS-положительных клеток (PAS-реакция (periodic acid — schiff), или Шик-реакция, для выявления гликогена в клетках), что свидетельствовало об уменьшении продукции гликогена и изменении клеточного метаболизма при повышенном уровне БК. Увеличенная экспрессия БК коррелировала с повышенным уровнем апоптоза клеток остеосаркомы и сниженной частотой метастазирования по сравнению с группой контроля [93].

При изучении влияния БК на меланому было замечено, что снижение его экспрессии ведет к повышенной активации Wnt/5a-зависимого пути, одного из главных сигнальных путей метастазирования опухоли и причины ее резистентности к химиотерапии. Рекомбинантный БК снижал активность данного сигнального пути в клеточных культурах, нарушал интернализацию Wnt/5a, ингибировал кальций-зависимую протеазу — кальпаин, что способствовало уменьшению расщепления филамина, подвижности клеток меланомы и клеточной инвазии [90].

Мультиформная глиобластома (МГ) является наиболее распространенным и летальным раком центральной нервной системы. Современные терапевтические стратегии, включая хирургию, химиотерапию и лучевую терапию, имеют ограниченный эффект в отношении увеличения продолжительности жизни пациентов с глиобластомой. Медиана времени выживания от первоначального диагноза составляет 12–18 мес. Выявлено, что экспрессия БК значительно коррелирует с прогнозом МГ. Результаты, полученные при исследовании 22 человеческих образцов, показали, что клеточные линии МГ, обработанные растворимым БК, имели значительно

более низкую выживаемость и скорость пролиферации по сравнению с контрольными опухолевыми клетками. Исследователями показана корреляция экспрессии БК и метилирования его промотора с выживаемостью пациентов с МГ. Данные свидетельствуют о супрессорной роли БК в развитии опухоли [94].

T-клеточная и В-гигантоклеточная лимфомы, по данным авторов, демонстрировали сниженную экспрессию БК. При повышении его уровня было замечено ограничение активации таких онкогенных путей, как IGF-1R/ERK1/2, IGF-1R/АКТ, что вело к заметному снижению пролиферации злокачественных клеток и усилению их апоптоза [95, 96].

Основные работы, обсуждаемые в статье, с информацией о виде опухоли, исследованных клеточных линиях, уровне экспрессии БК, предполагаемых механизмах и выявленных эффектах нами представлены в сводной таблице (см. приложение).

Антиканцерогенный потенциал белка Клото

Изучение многофункционального БК представляет собой весьма перспективное направление в борьбе со злокачественными опухолями и другими возраст-ассоциированными заболеваниями. Однако на сегодняшний день не существует ни одного разработанного метода лечения с его использованием, который проходил бы клинические испытания. Это можно объяснить экономическими сложностями производства рекомбинантного БК, недостаточностью методов разработки генной терапии и знаний всех эффектов и фармакокинетики БК.

Хотя прямой терапии БК на сегодня нет, было замечено, что такие широко используемые препараты, как агонисты PPAR γ , витамин D, тестостерон, ресвератрол, иАПФ, блокаторы АТ1-рецепторов, статины, повышают исходный уровень БК *in vitro* и *in vivo* у экспериментальных животных. Однако у людей достоверного повышения уровня БК при использовании перечисленных препаратов не обнаружено. При постоянном присутствии факторов, подавляющих его экспрессию, или при полном отсутствии способности синтезировать БК, например, почками при тяжелой хронической почечной недостаточности подобные эффекты становятся нестабильными и краткосрочными. Таким образом, применение данных веществ для повышения уровня БК крайне ограничено [97].

В лабораторных условиях было использовано несколько методов, которые повышали экспрессию БК в тканях. К первому — генетическому — относится введение генетического материала, кодирующего БК, в клетки/органы-мишени или системно. Трансфекция *KL* приводила к значительному подавлению роста и распространения раковых клеток как *in vitro*, так и *in vivo*. В целом генная терапия, весьма вероятно, может стать одним из самых перспективных и успешных направлений будущего лечения злокачественных заболеваний [97].

Новые генные технологии с использованием аденовирусных векторов, в том числе и для переноса *KL*, весьма перспективны. Данный способ обладает большой эффективностью и удовлетворительной точностью доставки нужных генов, слабой патогенностью и высокой степенью безопасности, однако может индуцировать иммунный ответ [98, 99].

В подтверждение того, что генная терапия с использованием аденовирусных векторов способна изменить

множественные системные патогенетические пути, вовлеченные в развитие болезней, ассоциированных с возрастом, говорят следующие результаты. N. Davidsohn et al. (2019) перенесли три признанных гена антистарения, такие как a-Klotho, FGF21 и sTGF β R2 (soluble form of mouse transforming growth factor receptor 2), в организм мышей с четырьмя моделями возраст-ассоциированных заболеваний — диабет, ожирение, сердечная недостаточность, почечная недостаточность. Было обнаружено, что сочетанное использование двух векторов в одном препарате успешно лечило все четыре заболевания. Хотя авторы не использовали онкологические животные модели, тем не менее данные результаты доказывают, что эти гены влияют на разные пути старения и перспективны в отношении успешного лечения злокачественных новообразований как возраст-ассоциированного феномена [100].

Многообещающие результаты также наблюдались при использовании мини-кольцевых плазмид, кодирующих *KL*. Y.J. Shin et al. (2019) повысили экспрессию БК через введение их *in vivo*. Работа проводилась на мышах с патологией почек. Локальная экспрессия БК сохранялась более 30 дней, концентрация в крови — в течение 10 дней после одной инъекции. Терапевтический эффект выражался в снижении концентрации креатинина и уровня фиброза при ишемическом/реперфузионном синдроме и молатеральном стенозе мочеточника. Хотя этот метод не рассматривался на опухолевых моделях, можно предположить, что стимулированная экспрессия БК с помощью мини-кольцевых плазмид может стать возможным и эффективным подходом к восстановлению эндогенной экспрессии БК. Положительными сторонами данного метода являются таргетность, отсутствие иммуногенности, легкость приготовления, стабильность репликации и экспрессии [101].

Деметилирование — еще один способ повысить экспрессию БК. Аберрантное ДНК-метилирование промоторов генов, участвующих в процессах клеточного старения и апоптоза, включая *KL*, наблюдается при множестве опухолей, и, как было отмечено выше, метилирование промотора *KL* — один из главных механизмов его ингибирования [96]. Деметилирование промотора *KL* с помощью 5-аза-2-дезоксцитидина в экспериментах *in vitro* и *in vivo* приводило к значительному повышению продукции БК [23, 82, 102]. Однако этот препарат не обладает селективностью.

Активация ТЕТ (ten-eleven translocation (TET) methylcytosine dioxygenases) сопровождается деметилированием промотора БК и повышает его экспрессию [103, 104]. Уровень метилирования зависит от баланса между процессами активации метилтрансфераз, диоксигеназ и их регулирования. Очевидно, процессы, регулирующие экспрессию и активность ТЕТ и DNMT3a и b, в частности фосфорилирование, могут быть мишенью для терапевтической интервенции. Повышения уровня БК можно достичь, подавляя метилирование его промотора ингибиторами ДНК метилтрансфераз или активируя ТЕТ, что может быть выполнено с использованием ингибиторов двух протеинкиназ — MEK и GSK3 [105].

Новые технологии с использованием CRISPR-Cas9 и метилцитозин диоксигеназы, как было показано экспериментально, успешно деметилируют CpG-островки промоторов различных генов-супрессоров, тем самым восстанавливая их функции. Таким образом, данный подход имеет высокий потенциал в лечении опухолей со сниженной экспрессией БК в результате метилированно-го промотора [106–108].

Относительно недавно были открыты небольшие молекулы, которые, вероятно, способны напрямую влиять на транскрипцию БК и тем самым индуцировать синтез эндогенной мРНК, ответственной за синтез БК. Дальнейшее изучение этих регуляторных частиц поможет открыть новые фармакологические пути повышения экспрессии БК [109].

Другим более доступным методом может быть введение рекомбинатного БК (рБК). Так, например, М.С. Ни et al. (2017) [110] использовали мини-насосы для введения БК интраперитонеально мышам с хронической почечной недостаточностью, что привело к заметному улучшению ее течения и снижению фиброобразования. Было замечено, что рБК достаточно эффективен и стабилен даже при смене мини-насосов с частотой только раз в месяц. Это означает, что создание формы его доставки с медленным высвобождением в виде имплантата или инъекции — вполне реальное будущее и в онкологии тоже [110, 111].

Возможность введения только одного из доменов БК также важна, так как это позволит более направленно влиять на конкретные механизмы. При этом сам вес молекулы домена значительно меньше, что выступает неоспоримым преимуществом перед рБК. Так, как показали L. Abramovitz et al. (2011), именно домен KL1 обладает достаточной противоопухолевой активностью, не вызывая при этом, в отличие от рБК, изменения уровня фосфата, кальция, глюкозы в плазме крови [47]. Следует отметить, что белковые молекулы меньшего размера быстрее выделяются почками, и поддержание их уровня в циркуляции может потребовать более частого введения, что уменьшает экономические преимущества от их использования по сравнению с полной формой.

Заключение

Таким образом, многофункциональный БК, помимо многих положительных эффектов, проявляет себя как универсальный супрессор опухолевого роста и злокачественной трансформации. Во многих видах опухолей наблюдается заметно сниженная экспрессия БК по сравнению со здоровыми окружающими тканями, часто ассоциированная с более неблагоприятным прогнозом. Очевидно, экспрессия БК может служить новым биомаркером прогноза опухолевых заболеваний.

В то же время стимуляция экспрессии БК ведет к значительному торможению опухолевого прогресса. Введение рБК или KL1 *in vitro* в клеточные культуры *in vivo* — интраперитонеально, локально или системно — также существенно снижает опухолевый рост, активирует апоптоз, нарушает миграцию злокачественных клеток и эпителиально-мезенхимальную трансформацию. Данные эффекты обусловлены воздействием БК на различные сигнальные пути онкогенеза, такие как Wnt/ β -катенин; IGF-1R/TGFB1/PI3K/Akt/SNAI-1, ERK1/2, FGFR, а также на TRPC6, UPR, влияя на стрессовый ответ ЭПР.

Таким образом, развитие лечебных методик, направленных на модуляцию уровня БК, может привести к прорыву в лечении опухолевых заболеваний.

В то же время остается еще ряд вопросов, которые не позволяют переводить исследования БК в формат клинических испытаний. Во-первых, химическая структура его лиганд-связывающего центра полностью не описана и точный противоопухолевый механизм воздействия недостаточно изучен. Наличие определенных рецепторов, связывающих БК, также на данный момент недостаточно четко описано. Активность его секреторируемой формы в контексте канцерогенеза требует более глубокого изучения.

Хотя на сегодняшний день считается, что домен KL1 обладает интегральной противоопухолевой активностью в сравнении с полным рекомбинантным БК и может стать более удобной формой лечения, уточнение функциональных отличий между различными доменами — необходимая задача фундаментальной науки. Говоря о рекомбинантном БК, терапия им может быть затруднена в связи с большой молекулярной массой и возможной нестабильностью молекулы, в то же время большая молекулярная масса тормозит почечную экскрецию белка и способствует его более длительной циркуляции, что имеет свои положительные последствия.

Экспериментальные работы по изучению БК, связанные с генными методиками, демонстрируют обнадеживающие результаты, однако не решены вопросы, связанные с дозой введения векторов, поддержанием уровня экспрессии, созданием нужной концентрации, контролем специфичных и системных эффектов.

Тем не менее число работ, показывающих положительное модулирующее влияние БК на течение и патогенетические пути канцерогенеза, постоянно растет. Применение препаратов БК может стать перспективным терапевтическим направлением в онкологии — области, которая остро нуждается в новых и эффективных методах лечения.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Рукопись подготовлена и опубликована за счет финансирования по месту работы авторов.

Конфликт интересов. Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

Участие авторов. К.И. Нестерова — концепция и дизайн статьи, поисково-аналитическая работа, написание текста, редактирование; Е.Ю. Глинка — написание статьи, научное и техническое редактирование, утверждение окончательного варианта статьи; В.Н. Перфилова — научное и техническое редактирование, ответственность за целостность всех частей статьи; А.А. Нестерова — техническое редактирование, оформление библиографического списка; К.Д. Капланов — редактирование, поисково-аналитическая работа. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997;390(6655):45–51. doi: <https://doi.org/10.1038/36285>
2. Нестерова А.А., Глинка Е.Ю., Тюренков И.Н., и др. Белок клото — универсальный регулятор физиологических процессов в организме // *Успехи физиологических наук*. — 2020. — Т. 51. —

- № 2. — С. 88–104. [Nesterova AA, Glinka EYu, Tyurenkov IN, et al. Universal Protein Klotho — Regulator of Physiological Processes in the Organism. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2020;51(2): 88–104. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.31857/S0301179820020083>
3. Xie B, Chen J, Liu B, et al. Klotho acts as a tumor suppressor in cancers. *Pathol Oncol Res*. 2013;19(4):611–617. doi: <https://doi.org/10.1007/s12253-013-9663-8>
 4. GLOBOCAN 2021: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2020.
 5. White MC, Holman DM, Boehm JE, et al. Age and cancer risk: A potentially modifiable relationship. *Am J Prev Med*. 2014;46(3Suppl):S7–15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2013.10.029>
 6. Berben L, Floris G, Wildiers H, et al. Cancer and Aging: Two Tightly Interconnected Biological Processes. *Cancers (Basel)*. 2021;13(6):1400. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13061400>
 7. Siametis A, Niotis G, Garinis GA. DNA Damage and the Aging Epigenome. *J Invest Dermatol*. 2021;141(4S):961–967. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2020.10.006>
 8. Patel J, Baptiste BA, Kim E, et al. DNA damage and mitochondria in cancer and aging. *Carcinogenesis*. 2020;41(12):1625–1634. doi: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgaa114>
 9. Negrini S, Gorgoulis VG, Halazonetis TD. Genomic instability — an evolving hallmark of cancer. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010;11(3):220–228. doi: <https://doi.org/10.1038/nrm2858>
 10. Xu Y, Sun Z. Molecular basis of Klotho: From gene to function in aging. *Endocr Rev*. 2015;36(2):174–193. doi: <https://doi.org/10.1210/er.2013-1079>
 11. Wang Y, Sun Z. Current understanding of klotho. *Ageing Res Rev*. 2009;8(1):43–51. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2008.10.002>
 12. Tyurenkov IN, Perfilova VN, Nesterova AA, et al. Klotho Protein and Cardio-Vascular System. *Biochemistry (Mosc)*. 2021;86(2):132–145. doi: <https://doi.org/10.1134/S0006297921020024>
 13. Tohyama O, Imura A, Iwano A, et al. Klotho is a novel beta-glucuronidase capable of hydrolyzing steroid beta-glucuronides. *J Biol Chem*. 2004;279(11):9777–9784. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M312392200>
 14. Chen CD, Podvin S, Gillespie E, et al. Insulin stimulates the cleavage and release of the extracellular domain of Klotho by ADAM10 and ADAM17. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(50):19796–19801. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0709805104>
 15. Lim K, Groen A, Molostvov G, et al. α -Klotho Expression in Human Tissues. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(10):E1308–E1318. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1800>
 16. Lim K, Halim A, Lu T-S, et al. Klotho: A Major Shareholder in Vascular Aging Enterprises. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18):4637. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20184637>
 17. Bian A, Neyra JA, Zhan M, et al. Klotho, stem cells, and aging. *Clin Interv Aging*. 2015;10:1233–1243. doi: <https://doi.org/10.2147/CIA.S84978>
 18. Turan K, Ata P. Effects of intra- and extracellular factors on anti-aging klotho gene expression. *Genet Mol Res*. 2011;10(3):2009–2023. doi: <https://doi.org/10.4238/vol10-3gmr1261>
 19. Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Iida T, et al. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;242(3):626–630. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.8019>
 20. King GD, Rosene DL, Abraham CR. Promoter methylation and age-related downregulation of Klotho in rhesus monkey. *Age (Dordr)*. 2012;34(6):1405–1419. doi: <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9315-4>
 21. Azuma M, Koyama D, Kikuchi J, et al. Promoter methylation confers kidney-specific expression of the Klotho gene. *FASEB J*. 2012;26(10):4264–4274. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.12-211631>
 22. Young G-H, Wu V-C. KLOTHO methylation is linked to uremic toxins and chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2012;81(7):611–612. doi: <https://doi.org/10.1038/ki.2011.461>
 23. Wang L, Wang X, Wang X, et al. Klotho is silenced through promoter hypermethylation in gastric cancer. *Am J Cancer Res*. 2011;1(1):111–119.
 24. Xu T-H, Liu M, Zhou XE, et al. Structure of nucleosome-bound DNA methyltransferases DNMT3A and DNMT3B. *Nature*. 2020;586(7827):151–155. doi: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2747-1>
 25. Zhang Z-M, Lu R, Wang P, et al. Structural basis for DNMT3A-mediated de novo DNA methylation. *Nature*. 2018;554(7692):387–391. doi: <https://doi.org/10.1038/nature25477>
 26. Pacaud R, Sery Q, Oliver L, et al. DNMT3L interacts with transcription factors to target DNMT3L/DNMT3B to specific DNA sequences: role of the DNMT3L/DNMT3B/p65-NF κ B complex in the (de-)methylation of TRAF1. *Biochimie*. 2014;104:36–49. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2014.05.005>
 27. Senyuk V, Premanand K, Xu P, et al. The oncoprotein EVI1 and the DNA methyltransferase Dnmt3 co-operate in binding and de novo methylation of target DNA. *PLoS One*. 2011;6(6):e20793. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020793>
 28. Tataranni T, Biondi G, Cariello M, et al. Rapamycin-induced hypophosphatemia and insulin resistance are associated with mTORC2 activation and Klotho expression. *Am J Transplant*. 2011;11(8):1656–1664. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03590.x>
 29. King GD, Chen C, Huang MM, et al. Identification of novel small molecules that elevate Klotho expression. *Biochem J*. 2012;441(1):453–461. doi: <https://doi.org/10.1042/BJ20101909>
 30. Mizuno I, Takahashi Y, Okimura Y, et al. Upregulation of the klotho gene expression by thyroid hormone and during adipose differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *Life Sci*. 2001;68(26):2917–2923. doi: [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(01\)01092-x](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(01)01092-x)
 31. Mehi SJ, Maltare A, Abraham CR, et al. MicroRNA-339 and microRNA-556 regulate Klotho expression in vitro. *Age (Dordr)*. 2014;36(1):141–149. doi: <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9555-6>
 32. Hawkins PG, Morris KV. RNA and transcriptional modulation of gene expression. *Cell Cycle*. 2008;7(5):602–607. doi: <https://doi.org/10.4161/cc.7.5.5522>
 33. Yoon HE, Ghee JY, Piao S, et al. Angiotensin II blockade upregulates the expression of Klotho, the anti-ageing gene, in an experimental model of chronic cyclosporine nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(3):800–813. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq537>
 34. Wolf G, Wenzel U, Burns KD, et al. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors. *Kidney Int*. 2002;61(6):1986–1995. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00365.x>
 35. Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, et al. Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line. *Nephron Exp Nephrol*. 2005;101(2):e67–e74. doi: <https://doi.org/10.1159/000086500>
 36. Shimizu H, Bolati D, Adijiang A, et al. Indoxyl sulfate downregulates renal expression of Klotho through production of ROS and activation of nuclear factor-kB. *Am J Nephrol*. 2011;33(4):319–324. doi: <https://doi.org/10.1159/000324885>
 37. Saito K, Ishizaka N, Mitani H, et al. Iron chelation and a free radical scavenger suppress angiotensin II-induced downregulation of klotho, an anti-ageing gene, in rat. *FEBS Lett*. 2003;551(1–3):58–62. doi: [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(03\)00894-9](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(03)00894-9)
 38. Behera R, Kaur A, Webster MR, et al. Inhibition of Age-Related Therapy Resistance in Melanoma by Rosiglitazone-Mediated Induction of Klotho. *Clin Cancer Res*. 2017;23(12):3181–3190. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-17-0201>
 39. Ewendt F, Feger M, Föller M. Role of Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) and α Klotho in Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2021;8:601006. doi: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.601006>
 40. Zhou Q, Lin S, Tang R, et al. Role of Fosinopril and Valsartan on Klotho Gene Expression Induced by Angiotensin II in Rat Renal Tubular Epithelial Cells. *Kidney Blood Press Res*. 2010;33(3):186–192. doi: <https://doi.org/10.1159/000316703>

41. Tang R, Zhou Q-L, Ao X, et al. Fosinopril and losartan regulate klotho gene and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase expression in kidneys of spontaneously hypertensive rats. *Kidney Blood Press Res.* 2011;34(5):350–357. doi: <https://doi.org/10.1159/000326806>
42. Mencke R, Harms G, Moser J, et al. Human alternative Klotho mRNA is a nonsense-mediated mRNA decay target inefficiently spliced in renal disease. *JCI Insight.* 2017;2(20):e94375. doi: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.94375>
43. Chen G, Liu Y, Goetz R, et al. α -Klotho is a non-enzymatic molecular scaffold for FGF23 hormone signalling. *Nature.* 2018;553(7689):461–466. doi: <https://doi.org/10.1038/nature25451>
44. Xie B, Zhou J, Shu G, et al. Restoration of klotho gene expression induces apoptosis and autophagy in gastric cancer cells: tumor suppressive role of klotho in gastric cancer. *Cancer Cell Int.* 2013;13(1):18. doi: <https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-18>
45. Qu Y, Dang S, Hou P. Gene methylation in gastric cancer. *Clin Chim Acta.* 2013;424:53–65. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.05.002>
46. Tang X, Fan Z, Wang Y, et al. Expression of klotho and β -catenin in esophageal squamous cell carcinoma, and their clinicopathological and prognostic significance. *Dis Esophagus.* 2016;29(3):207–214. doi: <https://doi.org/10.1111/dote.12289>
47. Abramovitz L, Rubinek T, Ligumsky H, et al. KLI internal repeat mediates klotho tumor suppressor activities and inhibits bFGF and IGF-I signaling in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(13):4254–4266. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-2749>
48. Arbel Rubinstein T, Reuveni I, Hesin A, et al. A transgenic model reveals the role of Klotho in pancreatic cancer development and paves the way for new Klotho-based Therapy. *Cancers (Basel).* 2021;13(24):6297. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13246297>
49. Tang X, Wang Y, Fan Z, et al. Klotho: a tumor suppressor and modulator of the Wnt/ β -catenin pathway in human hepatocellular carcinoma. *Lab Invest.* 2016;96(2):197–205. doi: <https://doi.org/10.1038/labinvest>
50. Sun H, Gao Y, Lu K, et al. Overexpression of Klotho suppresses liver cancer progression and induces cell apoptosis by negatively regulating wnt/ β -catenin signaling pathway. *World J Surg Oncol.* 2015;13:307. doi: <https://doi.org/10.1186/s12957-015-0717-0>
51. He X-J, Ma Y-Y, Yu S, et al. Up-regulated miR-199a-5p in gastric cancer functions as an oncogene and targets klotho. *BMC Cancer.* 2014;14:218. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-218>
52. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(9):2999–3004. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0307323101>
53. Pan J, Zhong J, Gan LH, et al. Klotho, an anti-senescence related gene, is frequently inactivated through promoter hypermethylation in colorectal cancer. *Tumour Biol.* 2011;32(4):729–735. doi: <https://doi.org/10.1007/s13277-011-0174-5>
54. Arbel Rubinstein T, Shahmoon S, Zigmund E, et al. Klotho suppresses colorectal cancer through modulation of the unfolded protein response. *Oncogene.* 2019;38(6):794–807. doi: <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0489-4>
55. Li X-X, Huang L-Y, Peng J-J, et al. Klotho suppresses growth and invasion of colon cancer cells through inhibition of IGF1R-mediated PI3K/AKT pathway. *Int J Oncol.* 2014;45(2):611–618. doi: <https://doi.org/10.3892/ijo.2014.2430>
56. Li Q, Li Y, Liang L, et al. Klotho negatively regulated aerobic glycolysis in colorectal cancer via ERK/HIF1 α axis. *Cell Commun Signal.* 2018;16(1):26. doi: <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0241-2>
57. Liu Y, Pan J, Pan X, et al. Klotho-mediated targeting of CCL2 suppresses the induction of colorectal cancer progression by stromal cell senescent microenvironments. *Mol Oncol.* 2019;13(11):2460–2475. doi: <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12577>
58. Shu G, Xie B, Ren F, et al. Restoration of klotho expression induces apoptosis and autophagy in hepatocellular carcinoma cells. *Cell Oncol (Dordr).* 2013;36(2):121–129. doi: <https://doi.org/10.1007/s13402-012-0118-0>
59. Chen L, Liu H, Liu J, et al. Klotho endows hepatoma cells with resistance to anoikis via VEGFR2/PAK1 activation in hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2013;8(3):e58413. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0058413>
60. Hernandez-Gea V, Toffanin S, Friedman SL, et al. Role of the microenvironment in the pathogenesis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2013;144(3):512–527. doi: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.01.002>
61. Jiang B, Gu Y, Chen Y. Identification of novel predictive markers for the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Invest.* 2014;32(6):218–225. doi: <https://doi.org/10.3109/07357907.2014.905586>
62. Zhang G, Zhai N, Zhang X. Alkannin represses growth of pancreatic cancer cells based on the down regulation of miR-199a. *Biofactors.* 2020;46(5):849–859. doi: <https://doi.org/10.1002/biof.1613>
63. Chen B, Wang X, Zhao W, et al. Klotho inhibits growth and promotes apoptosis in human lung cancer cell line A549. *J Exp Clin Cancer Res.* 2010;29(1):99. doi: <https://doi.org/10.1186/1756-9966-29-99>
64. Chen B, Ma X, Liu Sh, et al. Inhibition of lung cancer cells growth, motility and induction of apoptosis by Klotho, a novel secreted Wnt antagonist, in a dose-dependent manner. *Cancer Biol Ther.* 2012;13(12):1221–1228. doi: <https://doi.org/10.4161/cbt.21420>
65. Chen B, Liang Y, Chen L, et al. Overexpression of Klotho Inhibits HELF Fibroblasts SASP-related Protumoral Effects on Non-small Cell Lung Cancer Cells. *J Cancer.* 2018;9(7):1248–1258. doi: <https://doi.org/10.7150/jca.23967>
66. Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, et al. Klotho predicts good clinical outcome in patients with limited-disease small cell lung cancer who received surgery. *Lung Cancer.* 2011;74(2):332–337. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.03.004>
67. Brominska B, Gabryel P, Jarmołowska-Jurczyszyn D, et al. Klotho expression and nodal involvement as predictive factors for large cell lung carcinoma. *Arch Med Sci.* 2019;15(4):1010–1016. doi: <https://doi.org/10.5114/aoms.2018.75889>
68. Ibi T, Usuda J, Inoue T, et al. Klotho expression is correlated to molecules associated with epithelial-mesenchymal transition in lung squamous cell carcinoma. *Oncol Lett.* 2017;14(5):5526–5532. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.6862>
69. Pako J, Bikov A, Barta I, et al. Assessment of the circulating klotho protein in lung cancer patients. *Pathol Oncol Res.* 2020;26(1):233–238. doi: <https://doi.org/10.1007/s12253-018-0441-5>
70. Wang Y, Chen L, Huang G, et al. Klotho sensitizes human lung cancer cell line to cisplatin via PI3k/Akt pathway. *PLoS One.* 2013;8(2):e57391. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057391>
71. Chen T, Ren H, Thakur A, et al. Decreased Level of Klotho Contributes to Drug Resistance in Lung Cancer Cells: Involving in Klotho-Mediated Cell Autophagy. *DNA Cell Biol.* 2016;35(12):751–757. doi: <https://doi.org/10.1089/dna.2016.3437>
72. Lu L, Katsaros D, Wiley A, et al. Klotho expression in epithelial ovarian cancer and its association with insulin-like growth factors and disease progression. *Cancer Invest.* 2008;26(2):185–192. doi: <https://doi.org/10.1080/07357900701638343>
73. Lojkin I, Rubinek T, Orsulic S, et al. Reduced expression and growth inhibitory activity of the aging suppressor klotho in epithelial ovarian cancer. *Cancer Lett.* 2015;362(2):149–157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.03.035>
74. Yan Y, Wang Y, Xiong Y, et al. Reduced Klotho expression contributes to poor survival rates in human patients with ovarian cancer, and overexpression of Klotho inhibits the progression of ovarian cancer partly via the inhibition of systemic inflammation in nude mice. *Mol Med Rep.* 2017;15(4):1777–1785. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.6172>
75. Aviel-Ronen S, Rubinek T, Zadok O, et al. Klotho expression in cervical cancer: differential expression in adenocarcinoma

- and squamous cell carcinoma. *J Clin Pathol*. 2016;69(1):53–57. doi: <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2015-202929>
76. Lee J, Jeong D-J, Kim J, et al. The anti-aging gene KLOTHO is a novel target for epigenetic silencing in human cervical carcinoma. *Mol Cancer*. 2010;9:109. doi: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-9-109>
 77. Qureshi R, Arora H, Rizvi MA. EMT in cervical cancer: Its role in tumour progression and response to therapy. *Cancer Lett*. 2015;356(2 Pt B):321–331. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.09.021>
 78. Wolf I, Levanon-Cohen S, Bose S, et al. Klotho: a tumor suppressor and a modulator of the IGF-1 and FGF pathways in human breast cancer. *Oncogene*. 2008;27(56):7094–7105. doi: [10.1038/onc.2008.292](https://doi.org/10.1038/onc.2008.292)
 79. Fenig E, Szyper-Kravitz M, Yerushalmi R, et al. Basic fibroblast growth factor mediated growth inhibition in breast cancer cells is independent of ras signaling pathway. *Oncol Rep*. 2002;9(4):875–877.
 80. Korah RM, Sysounthone V, Golowa Y, et al. Basic fibroblast growth factor confers a less malignant phenotype in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Cancer Res*. 2000;60(3):733–740.
 81. Lim SW, Jin L, Luo K, et al. Klotho enhances FoxO₃-mediated manganese superoxide dismutase expression by negatively regulating PI₃K/AKT pathway during tacrolimus-induced oxidative stress. *Cell Death Dis*. 2017;8(8):e2972. doi: <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.365>
 82. Rubinek T, Shulman M, Israeli S, et al. Epigenetic silencing of the tumor suppressor klotho in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;133(2):649–657. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1824-4>
 83. Ligumsky H, Rubinek T, Merenbakh-Lamin K, et al. Tumor Suppressor Activity of Klotho in Breast Cancer Is Revealed by Structure-Function Analysis. *Mol Cancer Res*. 2015;13(10):1398–1407. doi: <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-15-0141>
 84. Shmulevich R, Nissim TB, Wolf I, et al. Klotho rewires cellular metabolism of breast cancer cells through alteration of calcium shuttling and mitochondrial activity. *Oncogene*. 2020;39(24):4636–4649. doi: <https://doi.org/10.1038/s41388-020-1313-5>
 85. Wolf I, Laitman Y, Rubinek T, et al. Functional variant of KLOTHO: a breast cancer risk modifier among BRCA1 mutation carriers of Ashkenazi origin. *Oncogene*. 2010;29(1):26–33. doi: <https://doi.org/10.1038/onc.2009.301>
 86. Zhu Y, Xu L, Zhang J, et al. Klotho suppresses tumor progression via inhibiting PI3K/Akt/GSK3β/Snail signaling in renal cell carcinoma. *Cancer Sci*. 2013;104(6):663–671. doi: <https://doi.org/10.1111/cas.12134>
 87. Gigante M, Lucarelli G, Divella C, et al. Soluble Serum αKlotho Is a Potential Predictive Marker of Disease Progression in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(45):e1917. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000001917>
 88. Kim J-H, Hwang K-H, Lkhagvadorj S, et al. Klotho plays a critical role in clear cell renal cell carcinoma progression and clinical outcome. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2016;20(3):297–304. doi: <https://doi.org/10.4196/kjpp.2016.20.3.297>
 89. Hori S, Miyake M, Onishi S, et al. Clinical significance of α and βKlotho in urothelial carcinoma of the bladder. *Oncol Rep*. 2016;36(4):2117–2125. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2016.5053>
 90. Camilli TC, Xu M, O'Connell MP, et al. Loss of Klotho during melanoma progression leads to increased filamin cleavage, increased Wnt5A expression, and enhanced melanoma cell motility. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2011;24(1):175–186. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1755-148X.2010.00792.x>
 91. Delcroix V, Mauduit O, Tessier N, et al. The Role of the Anti-Aging Protein Klotho in IGF-1 Signaling and Reticular Calcium Leak: Impact on the Chemosensitivity of Dedifferentiated Liposarcomas. *Cancers (Basel)*. 2018;10(11):439. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers10110439>
 92. Shen B, Kwan H-Y, Ma X, et al. cAMP activates TRPC6 channels via the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (PKB)-mitogen-activated protein kinase kinase (MEK)-ERK1/2 signaling pathway. *J Biol Chem*. 2011;286(22):19439–19445. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.210294>
 93. Li Y, Xiao H-J, Xue F. Overexpression of klotho suppresses growth and pulmonary metastasis of osteosarcoma *in vivo*. *Genet Mol Biol*. 2020;43(2):e20190229. doi: <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2019-0229>
 94. Peshes-Yeloz N, Ungar L, Wohl A, et al. Role of Klotho Protein in Tumor Genesis, Cancer Progression, and Prognosis in Patients with High-Grade Glioma. *World Neurosurg*. 2019;130:e324–e332. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.06.082>
 95. Zhou X, Fang X, Jiang Y, et al. Klotho, an anti-aging gene, acts as a tumor suppressor and inhibitor of IGF-1R signaling in diffuse large B cell lymphoma. *J Hematol Oncol*. 2017;10(1):37. doi: <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0391-5>
 96. Zhou X, Zhang Y, Li Y, et al. Klotho suppresses tumor progression via inhibiting IGF-1R signaling in Tcell lymphoma. *Oncol Rep*. 2017;38(2):967–974. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2017.5744>
 97. Neyra JA, Hu MC. Potential application of klotho in human chronic kidney disease. *Bone*. 2017;100:41–49. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2017.01.017>
 98. Santiago-Ortiz JL, Schaffer DV. Adeno-associated virus (AAV) vectors in cancer gene therapy. *J Control Release*. 2016;240:287–301. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.01.001>
 99. Kotterman MA, Schaffer DV. Engineering adeno-associated viruses for clinical gene therapy. *Nat Rev Genet*. 2014;15(7):445–451. doi: <https://doi.org/10.1038/nrg3742>
 100. Davidsohn N, Pezone M, Vernet A, et al. A single combination gene therapy treats multiple age-related diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019;116(47):23505–23511. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1910073116>
 101. Shin YJ, Luo K, Quan Y, et al. Therapeutic challenge of minicircle vector encoding klotho in animal model. *Am J Nephrol*. 2019;49:413–423. doi: <https://doi.org/10.1159/000499863>
 102. Seo M, Kim MS, Jang A, et al. Epigenetic suppression of the anti-aging gene KLOTHO in human prostate cancer cell lines. *Anim Cells Syst (Seoul)*. 2017;21(4):223–232. doi: <https://doi.org/10.1080/19768354.2017.1336112>
 103. Scourzic L, Mouly E, Bernard OA. TET proteins and the control of cytosine demethylation in cancer. *Genome Med*. 2015;7(1):9. doi: <https://doi.org/10.1186/s13073-015-0134-6>
 104. Gu Y, Chen J, Zhang H, et al. Hydrogen sulfide attenuates renal fibrosis by inducing TET-dependent DNA demethylation on Klotho promoter. *FASEB J*. 2020;34(9):11474–11487. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.201902957RR>
 105. Bauer C, Göbel K, Nagaraj N, et al. Phosphorylation of TET proteins is regulated via O-GlcNAcylation by the O-linked N-acetylglucosamine transferase (OGT). *J Biol Chem*. 2015 Feb 20;290(8):4801–4812. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.605881>
 106. Taghbalout A, Du M, Jillette N, et al. Enhanced CRISPR-based DNA demethylation by Casilio-ME-mediated RNA-guided coupling of methylcytosine oxidation and DNA repair pathways. *Nat Commun*. 2019;10(1):4296. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12339-7>
 107. Liu XS, Wu H, Ji X, et al. Editing DNA Methylation in the Mammalian Genome. *Cell*. 2016;167(1):233–247.e17. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.056>
 108. Xu X, Tao Y, Gao X, et al. A CRISPR-based approach for targeted DNA demethylation. *Cell Discov*. 2016;2:16009. doi: <https://doi.org/10.1038/celldisc.2016.9>
 109. King GD, Chen C, Huang MM, et al. Identification of novel small molecules that elevate Klotho expression. *Biochem J*. 2012;441(1):453–461. doi: <https://doi.org/10.1042/BJ20101909>
 110. Hu MC, Shi M, Gillings N, et al. Recombinant α-Klotho may be prophylactic and therapeutic for acute to chronic kidney disease progression and uremic cardiomyopathy. *Kidney Int*. 2017;91(5):1104–1114. doi: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.10.034>

111. Mencke R, Olauson H, Hillebrands JL. Effects of Klotho on fibrosis and cancer: A renal focus on mechanisms and therapeutic strategies. *Adv Drug Deliv Rev.* 2017;121:85–100. doi: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.009>
112. Chen B, Zhao H, Li M, et al. SHANK1 facilitates non-small cell lung cancer processes through modulating the ubiquitination of Klotho by interacting with MDM2. *Cell Death Dis.* 2022;13(4):403. doi: <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04860-3>
113. Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, et al. Klotho is a novel biomarker for good survival in resected large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. *Lung Cancer.* 2011;72(3):355–359. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2010.10.008>
114. Dehghani M, Brobey RK, Wang Y, et al. Klotho inhibits EGF-induced cell migration in Caki-1 cells through inactivation of EGFR and p38 MAPK signaling pathways. *Oncotarget.* 2018;9(42):26737–26750. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25481>
115. Abolghasemi M, Yousefi T, Maniati M, et al. The interplay of Klotho with signaling pathway and microRNAs in cancers. *J Cell Biochem.* 2019;120(9):14306–14317. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.29022>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Нестерова Алла Анатольевна, к.м.н., доцент [*Alla A. Nesterova*, MD, PhD, Associate Professor]; адрес: 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1 [address: 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russia]; e-mail: aanesterova2013@gmail.com, SPIN-код: 5640-5539, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7249-3906>

Нестерова Кристина Игоревна, врач-терапевт, резидент программы «Внутренние болезни» [*Kristina I. Nesterova*, MD, Medical Resident, Internal Medicine PGY-1]; e-mail: kristinachka2013@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6377-7552>

Глинка Елена Юрьевна, исследователь [*Yelena Yu. Glinka*, Researcher]; e-mail: glinka51@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0187-2559>

Перфилова Валентина Николаевна, д.б.н., профессор [*Valentina N. Perfilova*, PhD in Biology, Professor]; e-mail: vnperfilova@mail.ru, SPIN-код: 3291-9904, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2457-8486>

Капланов Камил Даниялович, к.м.н. [*Kamil D. Kaplanov*, MD, PhD]; e-mail: kamil.kaplanov75@gmail.com, SPIN-код: 5051-9022, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6574-0518>

38

Приложение

Механизмы противоопухолевого действия белка Клото

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Печень	Печеночно-клеточный рак [49]. Клетки линий: HepG1; Hep G2; SMMC-7721, L02 (клетки сравнения – здоровые гепатоциты плода)	52 гистологических образца тканей опухоли; 54 гистологических образцов здоровой ткани. Экспрессия БК в 61,5% клеток ткани опухоли против 98% клеток, экспрессирующих БК в здоровой ткани ($p < 0,05$). Экспрессия БК была статистически выше в клетках линии L02, чем в клетках линий HepG1; HepG2; SMMC-7721	Эпигенетическое ингибирование через гиперметилирование снижает синтез БК	Ингибирование Wnt/ β -catenin пути; активация апоптоза и аутофагии
Молочная железа	Рак молочной железы [78]. Клетки линий MCF-7, MDA-MB-231, MDA-MB-436, SK-BR-3, T-47D и BT-474, MCF-12A (клетки сравнения)	58 образцов инвазивного протокового рака; 47 образцов протокового рака <i>in situ</i> ; 11 образцов нормальной ткани молочных желез. Экспрессия БК в 90% клеток здоровой ткани (линия L02), в 17% клеток при раке <i>in situ</i> , в 22% клеток инвазивного протокового рака. Высокая экспрессия БК в нормальных клетках молочной железы линии MCF-12A а также в высокодифференцированных MCF-7 клетках по сравнению с клетками линий MDA-MB-231, MDA-MB-436, SK-BR-3, T-47D и BT-474	Гиперметилирование промоторов ДНК БК, деацелирование гистонов	Ингибирование IGF-1-R, активация сигнального пути через FGF; дефосфорилирование IRS-1, AKT1, GSK3 β , ERK-1 и ERK-2; активация факторов транскрипции CCAAT/(C/EBP) а и b

Приложение. Продолжение

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Молочная железа	Протоковый рак молочных желез [82]. Клетки линий MCF-7 и MDA-MB-231	39 образцов здоровой ткани; 2 образца с гиперплазией легкой степени; 18 образцов с гиперплазией средней степени; 3 образца с атипичной гиперплазией протоков. Экспрессия БК была снижена в 33% образцов с атипичной гиперплазией протоков и в образцах со средней степенью гиперплазии	Гиперметилование промотора <i>KL</i> на 33% в CpG-островках; деацитилирование лизиновых остатков гистонов в промоторных регионах <i>KL</i>	Данная информация не указана
Поджелудочная железа	Аденокарцинома поджелудочной железы [47]. <i>Клеточные линии</i> Panc1, Mia-PaCa2, Colo357	5 образцов здоровой ткани продемонстрировали высокую экспрессию БК в экзокринных протоках, сниженную экспрессию в островковых клетках и отсутствие экспрессии в стромальной ткани. Отсутствие экспрессии БК и существенно сниженная экспрессия БК выявлена в 83% (в 15 из 18) образцов ткани. <i>аденокарциномы</i> . Сниженная экспрессия иРНК БК в 80% (в 4 из 5) образцов аденокарциномы по сравнению с парной прилегающей здоровой тканью, где снижение иРНК БК не отмечалось	Гиперметилование промоторов <i>KL</i> ; ингибирование синтеза БК через воздействие микро-РНК199а	Ингибирование IGF- и bFGF-зависимых путей и их мишеней (IRS1, АКТ, ERK1/2)
	Аденокарцинома протоков поджелудочной железы (АППЖ) [61]	164 образца ткани с АППЖ — отсутствие ИГХ окрашивания на БК в 123 (75%) образцах. Отсутствие БК в 3,4% всех образцов здоровой прилегающей ткани. Существенно сниженная экспрессия иРНК БК в АППЖ ($RQ = 1,536 \pm 0,650$; $p < 0,001$) по сравнению с здоровой тканью ($RQ = 13,564 \pm 2,726$; $p < 0,001$)	Из 83 образцов АППЖ — 59,3% с полным метилированием промоторов <i>KL</i> , 10% — с частичным метилированием, 31% — без метилирования	Ингибирование фосфорилирования IGF1R
Желудок	Аденокарцинома желудка [23]	Экспрессия БК была значительно снижена в 22 образцах аденокарциномы желудка по сравнению с 22 образцами здоровой прилегающей ткани	Метилирование промоторов <i>KL</i> (46% в образцах опухолевой ткани), отсутствие метилирования в здоровой ткани, нарушение трансляции БК через связывание микро-РНК-199а-5p с иРНК БК	Ингибирование IGF-1/ PI3K/Akt1/mTOR сигнального пути; активация апоптоза и повышение экспрессии p21
Пищевод	<i>Сквамно-клеточный</i> рак пищевода (СКРП) (стадии I–IV) [46]	148 образцов здоровой ткани — экспрессия БК в 74 (50,0%) образцах. 160 образцов СКРП — экспрессия БК в 48 (30,0%) образцах опухолевой ткани	Данная информация в работе не указана	Ингибирование WNT β -catenin-пути

Приложение. Продолжение

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Кишечник	Колоректальный рак (аденокарцинома) [55]	Уровень экспрессии <i>KL</i> был значительно снижен в раковых тканях по сравнению с таковым в соседних неопухолевых тканях (60,3% против 77,9%; $p = 0,022$)	Гиперметилирование CpG-островков	Ингибирование GF1R/PI3K/АКТ сигнального пути
	Колоректальный рак (аденокарцинома) [54]	676 образцов опухолевой ткани из The Cancer Genome Atlas (TCGA) показали сниженную экспрессию иРНК БК во всех стадиях рака	Гиперметилирование CpG-островков	Ингибирование Wnt/ β -catenin пути; активация UPR-ассоциированных генов СНОР, оказывающих ингибирующее воздействие на рост опухолевых клеток в присутствии БК
Легкие	Немелкоклеточный рак легкого [64]. Клеточная линия A549 (аденокарцинома легких)	Низкая экспрессия иРНК БК в опухолевых клетках по сравнению со здоровой тканью	Данная информация в работе не указана	Ингибирование insulin/IGF-1R пути
	Немелкоклеточный рак легкого [112]	4 (20%) из 5 образцов немелкоклеточного рака легкого демонстрировали существенное снижение экспрессии БК по сравнению со 100%-й экспрессией в образцах здоровой ткани	SHANK1 способствует деградации БК через взаимодействие БК с MDM2. Из 6 образцов немелкоклеточного рака легкого 4 образца показали низкую экспрессию БК, но высокую экспрессию SHANK; 2 других образца показали низкую экспрессию SHANK1, но высокую экспрессию БК	Ингибирование активации Wnt- β -catenin-пути; ингибирование интернализации Wnt3a
	Сквамно-клеточная карцинома легких [66]	30 образцов опухолевой ткани от 30 пациентов, из них: 8 образцов — стадия IA; 7 образцов — стадия IB; 4 — стадия IIA; 3 — стадия IIB; 3 — стадия IIIA; 4 — стадия IIIB; 1 — стадия IV. 60% из 30 пациентов/образцов демонстрировали положительную экспрессию БК, что было ассоциировано с более благоприятным клиническим прогнозом независимо от проведенной химиотерапии (коэффициент риска = 0,088; 95%-й доверительный интервал: 0,019–0,409; $p = 0,002$)	Данная информация в работе не указана	Данная информация в работе не указана

Приложение. Продолжение

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Легкие	Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома [113]	30 пациентов/30 образцов опухолевой ткани, из них: 2 (6,7%) пациента с IA стадией, 12 (40%) — со стадией IB, 3 (10%) — со стадией IIA, 3 (10%) — со стадией IIB, 4 (13,3%) — со стадией IIIA, 5 (16,6%) — со стадией IIIB и 1 (3,3%) — со стадией IV. 10 пациентов (33,3%) сохранили экспрессию БК, 20 пациентов (66,7%) продемонстрировали ее значительное снижение или отсутствие. Уровень экспрессии БК прямо пропорционально коррелировал с выживаемостью оперированных пациентов. Уровень экспрессии БК выступил независимым прогностическим фактором при многомерном анализе (отношение рисков = 4,92; 95%-й доверительный интервал: 1,04–23,24; $p = 0,044$)	Данная информация в работе не указана	Данная информация в работе не указана
	Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома, атипичный и типичный карциноид [67]	Всего было исследовано 48 пациентов/тканевых образцов опухолевой ткани. 36 (75%) имели положительное ИГХ окрашивание на БК, 12 (25%) пациентов были БК-отрицательными. Отдаленные результаты наблюдения: среди БК-отрицательных пациентов в живых осталось 2, умерло — 10. Продолжительность выживания была значительно выше в БК-положительных случаях ($p = 0,024$). Экспрессия БК выступила независимым прогностическим фактором	Данная информация в работе не указана	Ингибирование сигнальных путей IGF, FGF, Wnt
	Плоскоклеточная (сквамозно-клеточная) карцинома легких [68]. Клеточная линия SQ5	Всего 40 пациентов/образцов опухолевой ткани, из них: 10 пациентов с ранней стадией заболевания — экспрессия БК в 100%; 30 пациентов с инвазивной формой — экспрессия БК наблюдалась только у 4 пациентов (13%)	Данная информация в работе не указана	БК регулирует белки, связанные с эпителиально-мезенхимальным переходом <i>in vitro</i> . Показано, что БК ингибирует экспрессию N-кадгерина, являющегося мезенхимальным маркером; ингибирование сигнальных путей IGF-1, Wnt, TGF- β 1
Яичники	Эпителиальный рак яичников [72]	Всего 189 пациентов. 73,5% пациентов продемонстрировали экспрессию общего БК (секретируемого и мембранного); экспрессия секретируемого БК была выявлена в 70% образцов опухолевой ткани	Данная информация в работе не указана	Уровень секретируемого БК коррелирует с повышенной экспрессией IGF-I (A, B), IGFBP-3 ($r = 0,21$, $p = 0,034$; $r = 0,28$, $p = 0,004$; $r = 0,34$, $p < 0,001$, соответственно)

Приложение. Продолжение

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Яичники	Эпителиальный рак яичников [73]. Клеточные линии: CSOC882, CaOV3, TOV 21G, OV 2008, 3A, UWB1-289VECTOR, UWB1-289BRCA1, CaOV-4, A2780, SKOV-3, OVCA432, OVCAR-3, OVKAP-5, TOV 112Д, OV-90, CSOC 1031, EC2, ПА1, OVKAP-8	Значительно сниженная экспрессия иРНК БК в 16 из 19 клеточных линий эпителиального рака яичников. Опухолевые тканевые образцы: 89% всех опухолей имели степень 3 и 81% — стадию III. Среди них: эпителиальная карцинома яичников — 176 образцов, первичная перитонеальная карцинома — 55, аденокарцинома маточных труб — 10, BRCA-ассоциированная аденокарцинома — 42. Экспрессия БА в здоровых тканях — 100%. Экспрессия БА среди всех опухолевых препаратов — 59% в среднем	Данная информация в работе не указана	Ингибирование IGF-1-пути
	Эпителиальный рак яичников [74]	Здоровая ткань — 78 образцов/препаратов, опухолевая ткань — 120 образцов/препаратов. БК-экспрессия: здоровая ткань — 100%, опухолевая — 61%	Данная информация в работе не указана	БК повышает уровень экспрессии иРНК воспалительных цитокинов IL-6 и IL-1β, что способствует системному воспалению
Почки	Почечно-клеточный рак (ПКР, светлоклеточный рак почки) [87]	Нормальная ткань — 20 образцов; опухолевая ткань — 20 образцов. Уровень экспрессии БК (ИГХ окрашивание) коррелировал с уровнем дифференцировки, степенью пролиферации и стадией опухолевого заболевания. БК активно экспрессировался на канальцевом уровне в здоровой ткани у пациентов с ПКР с гистопатологической стадией G1–G2, и его экспрессия значительно снижалась там же у пациентов со стадией G3–G4, а также в метастазах. В опухолевых образцах экспрессия БК была незначительной у пациентов с G1–G2, а у пациентов с G3–G4 и M1 экспрессия была неопределяемой. Здоровая ткань — 18 образцов; опухолевая — 18 образцов (qRT-PCR-метод). 100%-я экспрессия БК в здоровой ткани, экспрессия БК в 10% опухолевых образцов	Данная информация в работе не указана	Данная информация в работе не указана

Приложение. Продолжение

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Почки	Почечно-клеточный рак/светлоклеточный рак почки [86]. Клеточные линии 786-O, OS-RC-2, ACHN, Caki-1, Rensa	Более низкие уровни БК и иРНК БК в четырех линиях клеток ПКР человека 786-O, OS-RC-2, ACHN, Caki-1 и одной линии Rensa по сравнению с нормальными эпителиальными клетками проксимальных канальцев почек. Всего 125 тканевых образцов почечно-клеточного рака, из которых 56 образцов демонстрировали низкую экспрессию БК, 69 образцов — высокую экспрессию белка. Внутриопухолевые уровни БК постепенно снижались по мере прогрессирования заболевания от стадии I до IV (TNM)	Данная информация в работе не указана	Ингибирование PI3K/AKT/pGSK-beta/SNAI1-зависимого пути
	Почечно-клеточный рак/светлоклеточный рак почки [114]	От 2 до 20-кратного снижения экспрессии мРНК БК в опухолевых изолятах по сравнению со здоровой тканью	Данная информация в работе не указана	Ингибирование EGFR-пути через ингибирование его вторичных сигнальных мессенджеров (FAK-pY861, ERK1/2, PI3K, Shc, SPRY2)
	Почечно-клеточный рак/светлоклеточный рак почки (ПКР/СКРП) [88]	126 микропрепарата опухолевой ткани окрашены методом ИГХ и 17 парных образцов исследованы методом иммуноблоттинга. Уровень экспрессии БК был снижен в опухолевых тканях по сравнению с прилегающими неопухолевыми	Данная информация в работе не указана	Экспрессия и фосфорилирование IGF-1R были повышены в опухолевых тканях. Предполагается, что обратная корреляция экспрессии БК и IGF-1R может способствовать развитию ПКР/СКРП. Ингибирование IGF-1R/PI3K/Akt-сигнального пути
Рак крови	Диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома [95]	Экспрессия БК в образцах ткани (20) с реактивной гиперплазией — 80%; экспрессия БК в образцах с опухолью (50) — 14%.	Данная информация в работе не указана	Ингибирование IGF-1R/ERK1/2, IGF-1R/AKT сигнального пути
	Т-клеточная лимфома [96]	35 образцов/препаратов с Т-клеточной лимфомой и 20 нормальных лимфатических узлов. Среди опухолевых образцов: НК/Т-клеточная лимфома (n = 12), периферическая Т-клеточная неспецифицированная лимфома (n = 7), ангиоиммунобластная Т-клеточная лимфома (n = 6), кожная Т-клеточная лимфома (n = 6), Т-клеточная лимфома, ассоциированная с энтеропатией (n = 4). Уровни экспрессии БК были значительно ниже в тканях Т-клеточных лимфом — 14% (5 из 35), тогда как в нормальных лимфатических узлах экспрессия БК составила 75% (15 из 20)	Данная информация в работе не указана	Ингибирование IGF-1R/ERK1/2, IGF-1R/AKT

Приложение. Окончание

Место опухоли	Тип опухоли	Экспрессия БК в опухоли	Механизм снижения экспрессии	Эффект воздействия БК в опухолях
Мышцы/ кости	Низкодифференцированная липосаркома [91]	Уровень иРНК БК значительно снижен в 61 образце опухолевой ткани по сравнению с 49 образцами нормальной жировой ткани	Данная информация в работе не указана	Ингибирование IGF-R-ERK1/2, PI3K. Модулирование TRPC6 нарушает вход Ca ²⁺ внутрь клетки и снижает цитозольные колебания концентрации Ca ²⁺ , открытие TLC-каналов, что, возможно, ведет к более высокой чувствительности раковых клеток к препаратам, вызывающим стресс ЭР (гемцитабин, АВТ 737, ТГ), тем самым увеличивая вход Ca ²⁺ в митохондрии и стимулируя апоптоз
44 Шейка матки	Карцинома шейки матки [76]. Клеточные линии C-33A, CaSki, HeLa, SiHa, SNU-17, SNU-703, SNU1160, SNU-1299	4 образца со слабовыраженными плоскоклеточными внутриэпителиальными поражениями (LSIL), 6 образцов с сильно выраженными плоскоклеточными внутриэпителиальными поражениями (HSIL), инвазивная карцинома — 10 образцов ткани. Экспрессия БК: LSIL — 100%. HSIL — 100%, инвазивная карцинома — 60%	Гиперметилирование промотора <i>KL</i> ; деацетилирование гистонов в клетках линии SiHa	Ингибирует сигнальный Wnt-путь в клетках линии CaSki
Простата	Аденокарцинома простаты [102]. Клеточные линии: 22Rv1, U145, PC-3	Экспрессия иРНК Клото в клетках линии 22Rv1 составила 100%, в клеточной линии DU145 — 4%, в клеточной линии PC-3 — 1%	Гиперметилирование	Данная информация в работе не указана
Кожа	Меланома [90]	100% невусов (<i>n</i> = 23) и 90% первичных поражений (<i>n</i> = 21) продемонстрировали положительную экспрессию БК; висцеральные метастазы меланомы (<i>n</i> = 36) были БК положительны с меньшей интенсивностью в 66% (<i>n</i> = 36)	Данная информация в работе не указана	Подавляет Wnt5A-путь, нарушая интернализацию Wnt5A через снижение синдекана 1 и 4. Ингибирование кальпаина и, как следствие, снижение расщепления филламинов имеет решающее значение для подвижности клеток меланомы