

# Компоненты системы деградама в прогрессии плоскоклеточных карцином головы и шеи

Все процессы опухолевой прогрессии тесно связаны с протеолитическими системами — внутриклеточными, внеклеточными, внутримембранными. Множество работ указывает на то, что протеазы функционируют как часть обширной многовекторной сети протеолитических взаимодействий. Нарушение строго контролируемого равновесия системы протеолиза описано при ряде заболеваний, включая онкологические. Статья посвящена обзору имеющихся в современной литературе данных о вкладе внутриклеточного, внеклеточного и внутримембранного протеолиза в процессы прогрессирования плоскоклеточного рака головы и шеи. Конкретные механизмы взаимодействия протеолитических систем разных уровней и локализаций при прогрессировании опухолевого процесса как в целом, так и при плоскоклеточном раке головы и шеи в частности остаются малоизвестными. Многогранность функций и сложность взаимосвязей протеолитических систем выдвигает на первый план важность изучения участия всех компонентов деградама в прогрессии опухоли, что может прояснить сложные многозвеньевые механизмы канцерогенеза плоскоклеточного рака головы и шеи и выявить возможные маркеры прогрессии и/или мишени для терапевтических воздействий.

**Ключевые слова:** протеазы, деградом, плоскоклеточный рак головы и шеи, метастазирование, маркеры.

(Для цитирования: Какурина Г.В., Кондакова И.В., Чойнзон Е.Л. Компоненты системы деградама в прогрессии плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 684–693. Doi: 10.15690/vramn563)

В структуре общей онкологической заболеваемости злокачественные опухоли головы и шеи занимают шестое ранговое место и составляют от 15 до 20%. Основным морфологическим типом опухолей головы и шеи является плоскоклеточный рак. Считается, что основными причинами смертности при плоскоклеточном раке головы и шеи (ПРГШ) являются рецидивы, лимфогенное метастазирование и, относительно реже, гематогенные метастазы, при этом почти 40% больных ПРГШ погибают уже на первом году после постановки диагноза [1]. Таким образом, поиск информативных и надежных маркеров для диагностики метастазов и рецидивов до их клинического проявления считается одним из путей по улучшению результатов лечения онкологических больных, а также актуальной задачей для практической онкологии и предметом пристального внимания для молекулярных исследований [2, 3]. Для получения эффективных и надежных диагностикомов важно иметь ясное представление о биологических характеристиках опухоли, о молекуляр-

ных путях злокачественной трансформации и прогрессии опухолевого процесса. Изучение молекулярного профиля биологической агрессивности опухоли будет иметь большое значение не только для разработки диагностических панелей, но может создать в последующем платформу для поиска новых мишеней таргетной терапии.

Известно, что биологическая агрессивность опухоли определяется способностью опухолевых клеток к инвазии и метастазированию, что является следствием приобретения ими целого ряда фенотипических характеристик, включающих дисрегуляцию адгезивных взаимодействий опухолевых клеток, приобретение клеткой локомоторного фенотипа, индукцию ангиогенеза, пролиферацию и выживаемость клеток в новом, не свойственном им микроокружении, а также продуцирование протеолитических ферментов [4].

Доказано, что все процессы развития опухолей тесно связаны с протеолитическими системами — внутриклеточными, внеклеточными, внутримембранными. Результаты множества работ указывают на то, что протеазы функционируют как обширная многовекторная

G.V. Kakurina, I.V. Kondakova, E.L. Choinzonov

Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk, Russian Federation

## Degradome Components in Progression of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck

*The process of tumor progression is closely related to the intracellular, extracellular and intramembranous proteolysis. Many studies indicate that the proteases function as part of an extensive multidirectional network of proteolytic interactions. Disturbance of strictly controlled equilibrium of the proteolytic system is described in a number of diseases, including cancer. The paper presents a review of the available data concerning the contribution of intracellular, extracellular and intramembrane proteolysis to the process of squamous cell head and neck carcinoma. Specific mechanisms of interaction of different proteolytic systems in cancer progression both in general and in squamous cell head and neck carcinoma remain underinvestigated. The versatility of functions and complexity of the relationships between proteolytic systems highlights the importance of studying the participation of all degradome components in tumor progression that may clarify the multi-link complex mechanisms of carcinogenesis of squamous cell head and neck carcinoma and to identify markers of progression and/or a targets for therapeutic intervention.*

**Key words:** proteases, degradome, squamous head and neck cancer, metastasis, markers.

(For citation: Kakurina G.V., Kondakova I.V., Choinzonov E.L. Degradome Components in Progression of Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Vestnik Rossijskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 684–693. Doi: 10.15690/vramn563)

сеть протеолитических взаимодействий [5]. Комплекс протеаз, состав которого строго координируется клетками и тканью, участвует в модуляции микроокружения опухолевых клеток и носит название ракового деградомы, представлен по крайней мере 569 протеазами пяти каталитических классов [6]. Основную часть протеолитических ферментов человеческого организма составляют металлотержащие и сериновые протеазы, и, вероятно, поэтому большинство исследований ракового деградомы посвящены именно им [7–9].

Нарушение строго контролируемого равновесия системы протеолиза было показано при ряде патологий, таких как воспаления, сердечно-сосудистые, нейродегенеративные и онкозаболевания. Известно, что активность протеолитических систем зависит от уровня экспрессии генов, кодирующих протеазы, от уровня их активаторов и ингибиторов, а также, по последним данным, от экспрессии микроРНК, регулирующих экспрессию генов и содержание белков. Изучение роли и участия широкого спектра протеаз на разных стадиях онкогенеза, связи между передачей сигналов в клетки и протеолизом может быть полезным источником в поиске диагностических и прогностических маркеров и новых подходов в противоопухолевой терапии.

### Мембраноассоциированный протеолиз

Мембраноассоциированный, или внутримембранный, протеолиз в последнее время рассматривается как один из важных механизмов регуляции клеточных процессов. Внутримембранные или трансмембранные протеазы представляют собой интегральные мембранные белки с несколькими трансмембранными доменами. Субстраты этих протеаз, как правило, — трансмембранные белки, выполняющие широкий спектр биологически важных функций. Интегрированные в мембрану протеазы участвуют не только в деградации мембранных белков, но и в создании посредников, сигнальных молекул различных базовых клеточных процессов [10].

К внутримембранным протеазам относят мембранные и закоренные сериновые протеиназы (Type II Transmembrane Serine Protease, TTSP; матриптаза и др.), белки семейства металлопротеаз-дизинтегринов (A Disintegrin and Metalloproteinase, ADAM), внутримембранные аспарагиновые протеазы (Signal Peptide Peptidase, SPP: SPPL2B, SPPL2BA), протеазы из семейства внутримембранных металлопротеаз (двухсайтовая протеаза, S2P; участвует в жировом обмене), матриксные металлопротеиназы (Matrix Metalloproteinases, MMP) 14, 17 и др., ромбовидные сериновые протеазы (ромбоиды),  $\beta$ - (BACE-1) и  $\gamma$ -секретазу [11, 12].

Матриптаза — сериновая протеаза мембранного типа II (МП-SP-1, TADG-15, Epithin, ST-14, TMPRSS6) — синтезируется в виде неактивного одноцепочечного зимогена, широко экспрессируется в различных эпителиальных клетках и вовлечена в ангиогенез, деградацию внеклеточного матрикса, участвует в регуляции активатора плазминогена урокиназного типа и, возможно, в активации калликреинового каскада [13]. Активация матриптазы индуцируется кислой средой клеточного микроокружения. В физиологических условиях ингибитор матриптазы является ингибитором активатора фактора роста гепатоцитов-1 (Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor Type 1, HAI-1). Показано, что экспрессия матриптазы увеличена во многих типах опухолевых клеток,

включая рак молочной железы [14], простаты, яичников, почек, матки, толстой кишки, поджелудочной железы и пищевода, а также опухоли головы и шеи [15]. Кроме того, имеются данные, что избыточная экспрессия матриптазы в опухолевых клетках коррелирует с плохим прогнозом, в том числе и при плоскоклеточном раке полости рта [16]. *In vivo* показано, что нерегулируемая экспрессия матриптазы в эпидермальных кератиноцитах оказывает онкогенные эффекты через MET-АКТ-mTOR-сигнальный путь, а именно через матриптазаопосредованную HGF/SF-активацию сигнального пути PI3K/АКТ/mTOR, который отвечает за уход от апоптоза, рост, пролиферацию клеток, активацию метаболизма. Авторы отмечают, что показанный ими в данном исследовании протеазаопосредованный путь передачи сигнала может иметь отношение к большому числу эпителиальных злокачественных опухолей [17]. С другой стороны, роль матриптазы в канцерогенезе эпителиальных опухолей может значительно варьировать в зависимости от типа ткани и клеточного микроокружения. Так, в ткани кишечника отсутствие матриптазы приводит к нарушению целостности эпителия, что в конечном итоге способствует развитию инвазивной аденокарциномы: эти данные соответствуют оригинальному названию гена матриптазы — супрессор опухоли 14 (A Tumor Suppressor 14, ST14). Точный механизм, лежащий в основе участия матриптазы в прогрессировании рака, остается неизученным. Известно, что матриптаза имеет такие субстраты, как про-HGF (фактор роста гепатоцитов), рецептор PAR-2, про-простазин и про-MSP, которые могут быть вовлечены в зависимые от микроокружения эффекты воздействия матриптазы на опухолевую прогрессию [15, 17]. Несмотря на возросший интерес к этой протеазе как к участнику канцерогенеза при различных опухолях, изучение роли матриптазы в иницировании опухоли и прогрессии ПРГШ остается на уровне клеточных культур и экспериментов на животных [17–19].

Из трансмембранных протеаз наиболее изучены белки семейства металлопротеаз-дизинтегринов ADAM, которые вовлечены в протеолиз цитокинов, факторов роста и шеддинг их рецепторов, молекул клеточной адгезии, рецептора Notch, который является ключевым в сигнальной трансдукции различных клеток [20]. Одной из ключевых функций адамализинов является протеолитический процессинг Notch-рецепторов и их лигандов. ADAM-опосредованное расщепление Notch представляет собой первый шаг регулируемого внутримембранного протеолиза (риппинга) рецептора, что ведет к активации Notch-пути. Классическая модель активации Notch включает ADAM-опосредованный протеолиз как обязательный шаг перед последующим  $\gamma$ -секретазаопосредованным процессингом этого рецептора. Протеолитический процессинг Notch-лигандов модулирует силу и продолжительность Notch-сигналов, приводит к генерации растворимых внутриклеточных доменов лигандов и может поддерживать двустороннюю передачу сигналов между клетками [20]. В частности, шеддинг внеклеточного домена Notch с помощью ADAM-17 и ADAM-10 способствует активации процессов ангиогенеза опухоли [21]. ADAM-10-опосредованный шеддинг E-кадгерина способствует уменьшению межклеточной адгезии и миграции эпителиальных клеток в клеточной культуре [22]. Показано, что тканевая экспрессия нескольких протеиназ семейства ADAM (ADAM-8, ADAM-9, ADAM-17, ADAM-28, ADAMTS-1, ADAMTS-8 и ADAMTS-15) значительно выше в метастазирующих опухолях ПРГШ, а высокая

экспрессия в опухолевой ткани ADAM-8 коррелирует с низкой выживаемостью. Авторы отмечают, что сывороточные уровни ADAM не всегда имели такую же прогностическую ценность [23]. Эксперименты, использующие трансфекцию ADAM-12 или таргетинг siRNA ADAM-12 в клеточных линиях рака полости рта, показали, что данная протеаза усилила миграцию и инвазивность опухолевых клеток. При этом авторами была отмечена положительная корреляция между уровнем экспрессии белков ADAM-12 и HER-2 [24].

Мультисубъединичный внутримембранный протеазный комплекс  $\gamma$ -секретазы состоит из четырех белков — пресенилина, никастрина, APH-1 и PEN-2. Учитывая, что субстратов для  $\gamma$ -секретазы определено достаточно большое количество, то изучение ее экспрессии в качестве показателя прогрессии опухолевого процесса представляется очень интересным. Известно, что  $\gamma$ -секретазы участвует в шеддинге различных рецепторов, в том числе VEGFR-1, ErbB-4, IGF1-R, и вовлечена в регуляцию сигнального пути Notch [25], компоненты которого рассматриваются в качестве мишеней противоопухолевой терапии. В настоящее время ингибиторы  $\gamma$ -секретазы находятся в преclinical стадии исследования в качестве таргетной терапии для солидного рака нескольких локализаций, включая рак носоглоточной зоны [URL: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=secretase>]. Протеолиз рецепторов Notch  $\gamma$ -секретазой, в частности компонентом комплекса пресенилином, требуется для выхода мембранного компонента NICD в клетку с последующим перемещением к ядру. NICD регулирует транскрипцию генов, участвующих в реализации программ дифференцировки, пролиферации и апоптоза (ES-1, HEY, Cyclin D1, NRARP, NF-kB, p21, p53, p63, c-myc, IGF1-R, Survivin, Slug, Nanog) [26].

Семейство трансмембранных матриксных металлопротеиназ (MMP-МТ) включает несколько членов — MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-23A, MMP-23B, MMP-24, MMP-25. В литературе для МТ-MMP были описаны различные функции: и в качестве рецепторов, и активаторов для других MMP, и для локального протеолиза внеклеточного матрикса в околоклеточной области [27]. Анализ исследований экспрессии MMP у больных с раком различных локализаций показывает, что повышение экспрессии многих MMP, включая MMP-1, 2, 3, 7, 9, 13, 14, в первичной опухоли и/или метастазах позитивно ассоциировано с такими характеристиками, как низкая дифференцировка опухолевых клеток, высокая инвазивность рака, высокая метастатическая активность, плохой прогноз, сокращение продолжительности жизни [28]. По данным литературы, наиболее ассоциирована с опухолевым процессом MMP-14 [29]. Одним из механизмов участия MMP-14 в опухолевой прогрессии можно считать непосредственное ее влияние на эндопротеолитическую модификацию поверхностных рецепторов клетки, в том числе CD44, тканевую трансглутаминазу, и  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -интегрин, что позволяет опухолевой клетке регулировать рецепторный профиль в непрерывно изменяющейся окружающей среде экстраклеточного матрикса (ЭКМ) [30]. Координация экспрессии  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -интегрин и различных MMP показана на многих клеточных линиях [31, 32], что говорит о возможном протеолитическом процессинге интегрина рецептора для нужд опухолевой клетки и поддержания метастатического потенциала.

Неотъемлемая часть инвазии — процессы клеточной миграции, связанные с изменениями в цитоскелете [33]. Одним из ключевых клеточных процессов, ини-

цирующих начало инвазивной или метастатической программы опухолевой клетки, является эпителиально-мезенхимальный переход, результатом чего становится приобретение опухолевой клеткой фибробластоподобной морфологии, позволяющей поляризованную сборку цитоскелета в протрузии и ламеллоподии. В процессах сборки ламеллоподий участвует множество различных белков: члены семейства актиноподобных белков Arg и белки семейства WASP; G-белки (Rho, Rac и Cdc42), передающие сигнал на актиновый цитоскелет, что приводит к быстрой полимеризации актина в зонах образования инвадоподий [34]; белки семейства CAP, участвующие в ремоделировании цитоскелета, а также различные протеазы [35]. Способность раковых клеток формировать инвадоподии свидетельствует об агрессивности опухоли. Участки мембран, где происходит процесс сборки инвадоподии, богаты молекулами адгезии, белками, регулирующими сборку актина, тирозинкиназами, MMP и др. [36, 37]. Показано, что MMP-14 играет ключевую роль в инвазии путем взаимодействия и процессинга белков поверхности клеток, причем активность металлопротеиназы зависит от ее накопления на поверхности инвадоподии клеток. Накопление MMP-14 сопряжено с увеличенной экспрессией MMP-2 и MMP-9 в местах образования инвадоподий, и высокая экспрессия MMP-14, MMP-2, MMP-9 ассоциирована с инвазивным фронтом опухоли [37, 38]. При исследовании экспрессии генов в тканях больных ПРГШ показано, что у больных раком гортани и гортаноглотки уровень MMP-14 ассоциировался с содержанием ингибиторов тканевых металлопротеиназ (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, TIMP) 2 [39]. Показано, что экспрессия гена *MMP14* необходима для увеличения активности белка MMP-2 путем формирования тройного комплекса с про-MMP-2—TIMP-2—MMP-14 на поверхности клеток [40]. Известно, что MMP-2 специфически активна в отношении коллагена IV — ключевого структурного компонента базальных мембран [41].

Двухсайтовая протеаза относится к группе металлопротеаз, участвует в риппинге, например белков (SREBPs), участвующих в биосинтезе холестерина. S2P может функционировать в качестве антиоксиданта, что может быть связано с регуляцией активности НАДФН-оксидазы и экспрессии параоксаназы-2 (Paraoxonase-2, PON-2) [42], внутриклеточного антиоксидантного фермента из семейства гидролаз, повышение экспрессии которого является одним из защитных механизмов клетки от повреждающего действия свободных радикалов [43]. Однако для опухолевых клеток показано, что активность некоторых антиоксидантных ферментов снижается в фазе активной пролиферации и возрастает при переходе к фазе медленного стационарного роста *in vivo* [44]. Вероятно, эти факты могут объяснить устойчивость опухолевых клеток к свободно-радикальному повреждению [45]. О роли самой S2P в канцерогенезе известно крайне мало, работы единичны. Так, показано, что ингибирование активности этой протеазы ведет к накоплению белка SREBP-1 и фактора активации транскрипции (ATF-6), что индуцирует каспазоопосредованный апоптоз клеток липосаркомы. S2P предлагают в качестве диагностического маркера и терапевтической мишени при раке поджелудочной железы [патент «Targeting site-2 protease (s2p) for the treatment of pancreatic cancer». WO 2004078934 A2]. Таким образом, о роли этой протеазы в канцерогенезе известно крайне мало, поэтому биологическая роль, активность и функции S2P при физиологических и патологических состояниях требуют дальнейшего изучения.

Уникальным семейством считаются ромбоиды (RHBD-1, RHBD-2, митохондриальная Pcp-1) — внутримембранные сериновые протеазы, которые распределены в пределах плоскости мембраны и подвергаются гидролизу субстрата, находящиеся внутри или около трансмембранных областей. Недавно показано, что ромбоиды участвуют в регуляции многих важных клеточных функций, что дает веское основание для изучения механизмов этих ферментов в развитии различных патологий [46]. Так, на эпителиальных клетках человека (клеточные линии инвазивного рака молочной железы MDA-MB-231 и рака шейки матки) было показано, что избыточная экспрессия ромбоида RHBDL-2 приводит к усилению пролиферации клеток, снижению адгезии и подавлению апоптоза [47]. *In vitro* на клеточных линиях ПРГШ показано, что ромбоиды (RHBD-1) участвуют в активации рецептора эпидермального фактора роста (Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR). Эти данные убедительно свидетельствуют, что RHBD-1 является важным компонентом механизма, ответственного за продукцию активированных EGFR-лигандов. Инактивация гена *RHBD-1* приводит к снижению активации EGFR, снижению способности опухолевых клеток к выживанию, пролиферации и инвазии, что может представлять новую мишень в разработке противоопухолевых терапевтических агентов [48]. Учитывая, что этот класс протеаз открыт сравнительно недавно, то уточнение каталитических механизмов, субстратной специфичности и конкретных механизмов участия в патогенезе различных заболеваний будет способствовать развитию новых знаний в медицине в целом.

Таким образом, литературные данные свидетельствуют о бесспорно важном и существенном вкладе мембраноассоциированного (внутримембранного) протеолиза в развитие ПРГШ, и в ближайшем будущем это направление исследований, несомненно, будет пополнено новыми данными.

### Внутриклеточный протеолиз

Основными компонентами внутриклеточного протеолиза являются протеасомная, лизосомальная и кальпаиновая системы. К внутриклеточным протеолитическим системам также относят каспазы, нелизосомальные катепсины и другие протеазы. Все жестко регулируемые процессы внутриклеточного протеолиза необходимы для реализации множества базовых клеточных функций. Система внутриклеточного протеолиза вовлечена в регуляцию таких процессов, как пролиферация клеток, дифференциация, реакция на стресс и репарация ДНК.

Наиболее важную роль в деградации внутриклеточных белков играет протеасомная система, обладая трипсиноподобной, химотрипсиноподобной и каспазной активностью. Протеасомы играют важную роль в поддержании функциональной активности клеток, в частности в регуляции работы сигнальных систем, которые активируются при взаимодействии ростовых факторов с соответствующими рецепторами [49, 50]. Данные об участии протеасомной системы в механизмах метастазирования при ПРГШ в литературе малочисленны. Показано, что активность протеасом у больных злокачественными опухолями головы и шеи выше, чем в окружающей ткани. Показано, что поражение регионарных лимфоузлов у больных ПРГШ сопровождалось усилением процессов внутриклеточного протеолиза: с увеличением стадии опухоли происходило повышение

тотальной активности протеасом, снижение экспрессии LMP-2 субъединицы протеасом. Также было отмечено изменение экспрессии транскрипционного фактора NF-κарраВp50 и выявлены регрессионные зависимости экспрессии ядерного фактора NF-κарраВp65 от тотальной активности протеасом [51]. Вовлеченность внутриклеточных систем протеолиза в деградацию и процессинг белков, участвующих в контроле клеточного цикла, апоптозе и неоангиогенезе, привела к признанию протеасом в качестве терапевтической цели. Активно исследуются ингибиторы протеасом (бортезомиб, карфилзомиб, NPI-0052 и др.) в качестве монотерапии и в сочетании с другими противоопухолевыми средствами при различных опухолях — немелкоклеточном раке легкого, раке молочной железы, множественной миеломе и др. (URL: [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)).

Механизмы участия убиквитин-протеасомной системы в канцерогенезе включают контроль ангиогенеза путем убиквитинирования компонентов VEGFR-сигнального пути и способствуют деградации PDGFR, что ингибирует опосредованный VEGF и PDGF ангиогенез, а также протеасомальное разрушение α-субъединицы транскрипционного фактора HIF-1, нарушаемое в условиях гипоксии, что приводит к накоплению HIF-1 в опухолевых клетках и активации транскрипции генов, участвующих в ангиогенезе [49]. Также известно, что протеасомы участвуют в посттрансляционной модификации полипептида p105 — предшественника NF-κарраВp50, что ведет к появлению активных форм транскрипционного фактора NF-κарраВ. Была показана связь между содержанием транскрипционного фактора NF-κарраВ и уровнем продукции фактора HIF1, что, возможно, обеспечивает косвенное участие NF-κарраВp50 в регуляции уровня ростового фактора VEGF и процесса неоангиогенеза в ткани ПРГШ [52]. Есть данные, что протеасомная деградация HIF-1 с участием PP-2A ведет к нарушению адгезивных контактов с ЭКМ *in vitro* [53]. Протеомный анализ клеточных линий ПРГШ SCC-9 идентифицировал белки, участвующие в клеточной миграции и инвазии — FAK (киназа фокальных контактов), паксиллин, кортактин и HIF-1 (Cas-L/Nedd9). Причем HIF-1 присутствовал в местах формирования инвадоподобий локализованно с MMP-14. Авторы предполагают, что HIF1 может быть прогностическим фактором ПРГШ [54]. PP-2A и PPM-1B относятся к группе белков протеинфосфатаз (PPP и PPM): это многочисленная группа малоизученных ферментов, осуществляющих процесс дефосфорилирования различных субстратов, благодаря чему участвует в регуляции функциональной активности других ферментных систем. Протеинфосфатазы активно изучаются в качестве участников различных патологических процессов, в том числе и рака. Так, протеомный анализ сыворотки крови больных ПРГШ с метастазами показал увеличение содержания PPM-1B [55], что также свидетельствует об участии протеинфосфатаз в прогрессии данного заболевания.

Кальпаины представляют собой кальцийзависимые цитозольные цистеиновые протеиназы. В настоящее время известно 15 протеаз, из которых наиболее изучены и распространены кальпаин-1 и -2 и их специфический ингибитор кальпаистатин. Кальпаины — это протеазы «модуляторы», т.к. протеолиз, осуществляемый ими, является частичным, не деградирующим белок, а лишь изменяющим его структуру. Факт участия кальпаинов во многих клеточных процессах, таких как регуляция сигнальной, клеточной трансдукции и апоптоза, является

широко известным. Кальпаины участвуют в модуляции активности белков апоптоза, пролиферации и миграции клеток (p53, Bcl-2, Bcl-xl, Bid, Вах, каспазы-3, 7, 8, 9 и 12, NF-κВ). Несмотря на то, что многочисленные исследования подтверждают участие кальпаиновой системы в опухолевом росте, роль этих протеиназ в канцерогенезе во многом остается неясной. У больных ПРГШ отмечена связь увеличения активности кальпаинов с увеличением стадии заболевания и наличием метастазов в регионарные лимфоузлы [51].

Биологическая активность опухолевых клеток связана с продукцией некоторых катепсинов. Катепсины (лизосомальные протеазы) тесно связаны с инвазией и прогрессией ПРГШ. Для прогноза общей выживаемости у больных ПРГШ существенную помощь может оказать определение уровней экспрессии катепсинов D и H, стефинов A и B. В подгруппе пациентов с клинически неопределяемыми метастазами риск раннего рецидива можно оценить по внутриопухолевому содержанию MMP-2 и катепсина D, а риск развития метастазов наиболее велик при высоких уровнях стефинов A и B [41].

Каспазы (внутриклеточные цистеиновые аспартатспецифичные протеазы) участвуют в процессах апоптоза, некроза и воспаления. Для каждого типа клеток характерны уникальные каспазозависимые сигнальные пути. Регуляция сигнальных путей апоптоза и некроза с участием каспаз изучена достаточно полно [56]. Показано, что в опухолевых клетках могут нарушаться механизмы каспазоопосредованного каскада, приводящие к блокированию запуска апоптотической гибели, что способствует прогрессии злокачественного процесса, а также развитию резистентности к противоопухолевой терапии. Наиболее значимой инициаторной каспазой, приводящей к запуску рецепторопосредованного пути апоптоза, является каспаза-8. Митохондриальный путь апоптоза обычно опосредован активностью инициаторной каспазы-9. В обоих случаях ключевой эффекторной каспазой, приводящей к расщеплению клеточного субстрата, служит каспаза-3 [57]. *In vivo* показано, что определение мутаций гена, кодирующего каспазу-8, может служить маркером прогрессии ПРГШ [58].

Итак, в литературе представлен достаточно обширный пласт по изучению роли внутриклеточного протеолиза в прогрессии злокачественных новообразований. Появляются все новые данные по оценке внутриклеточных протеаз в прогрессии ПРГШ, расширяются знания о механизмах и функции вышеописанных протеаз при данной патологии. Эти новые знания, несомненно, будут полезны для создания новых, более точных диагностических инструментов и мишеней противоопухолевых препаратов.

### Внеклеточный протеолиз

С онкогенезом и в частности с метастазированием исторически были связаны внеклеточные протеазы в связи с их способностью выполнять «клиринг пути» для опухолевых клеток. Известно, что метастазирующие клетки и опухольассоциированные фибробласты для разрушения базальных мембран и межклеточного матрикса секретируют целый ряд ферментов — коллагеназы, расщепляющие коллаген ЭКМ; гепаразу, участвующую в гидролизе гепарансульфата — основного протеогликана базальной мембраны; катепсины — цистеиновые протеазы, которые в нормальных клетках локализуются перинуклеарно в лизосомах, а у метаста-

зирующих — на базальной поверхности клеток, что ассоциировано с инвазивным фронтом опухоли; плазмин, который участвует в деградации ЭКМ путем разрушения таких белков, как ламинин, фибронектин, тромбоспондин и др., а также через активацию предшественников матриксных металлопротеиназ (про-MMP); MMP, участвующих в разрушении почти всех компонентов межклеточного матрикса [41].

Сериновые протеазы (активатор плазминогена урокиназного типа, трипсин) достаточно широко исследованы на предмет взаимосвязи с опухолевой инвазией и метастазированием рака различных локализаций, в том числе при ПРГШ [59]. На основе механизмов действия ингибиторов сериновых протеаз в настоящее время изучаются препараты растительного происхождения: так, ингибитор ВБИ (Bowman-Birk Inhibitor) показал мощный антиканцерогенный эффект *in vivo* [60]. Однако при клиническом испытании в II-фазе этот ингибитор не был эффективен у больных с лейкоплакией слизистой оболочки полости рта по сравнению с плацебо [61].

К важнейшим протеазам, участвующим в опухолевой прогрессии, в том числе при ПРГШ, относят группу матриксных металлопротеиназ. Мультигенное семейство MMP, состоящее более чем из 20 секретируемых и связанных с поверхностью клетки цинкзависимых эндопептидаз, вовлечено в контроль роста злокачественных новообразований через метастазирование и ангиогенез. Важнейшими представителями семейства MMP являются различные неспецифические коллагеназы (MMP-1, MMP-8 и MMP-13) и специфические желатиназы (MMP-2 и MMP-9), матрилизин (MMP-7), стромелизины (MMP-3 и MMP-10). Активность MMP регулируется специфическими TIMP, из них три (TIMP-1, 2 и 4) секретируются в растворимой форме, а TIMP-3 связан с ЭКМ [62]. Субстратами для MMP могут быть не только компоненты ЭКМ, но и другие протеазы, а также хемотаксические молекулы, латентные формы факторов роста, растворимые и мембраноассоциированные белки, связывающие факторы роста, вследствие чего MMP регулируют различные процессы, включая ангиогенез, пролиферацию, апоптоз [9]. Количество вновь синтезируемых MMP регулируется в основном на уровне транскрипции, а протеолитическая активность существующих MMP контролируется как активацией проферментов, так и ингибированием активных ферментов эндогенными ингибиторами, α2-макроглобулином и TIMP [63]. Работы по исследованию системы MMP-TIMP в процессах опухолевой трансформации и прогрессии достаточно многочисленны, однако интерес к этой протеолитической системе как к участнику и возможному маркеру процессов опухолевого роста продолжает оставаться на высоком уровне. У больных ПРГШ показано неравномерное распределение компонентов системы MMP между опухолевыми и стромальными клетками: экспрессия MMP-1, 2, 9 и TIMP-2 значительно выше в строме, чем в опухоли, а экспрессия TIMP-1 и EMMPRIN наблюдалась преимущественно в клетках карциномы. Авторы для прогноза общей и безрецидивной двухлетней выживаемости рекомендуют определение уровней TIMP-1 и MMP-9 в сыворотке крови больных ПРГШ и TIMP-1, 2 и MMP-9, 2 для прогноза метастазов в течение 2 лет после лечения. Определение фоновых значений в сыворотке крови TIMP-1 и 2 возможно для прогноза эффективности лучевой и химиолучевой терапии ПРГШ [8, 62]. Также отмечено, что при ПРГШ экспрессия компонентов MMP в опухоли и содержание в сыворотке зависят от возраста больных,

стадии опухолевого процесса и гистологического типа новообразования [39].

Механизмы участия MMP в процессах прогрессии опухоли исследуются достаточно активно. Известно, что один из этапов опухолевой прогрессии — это приобретение клетками опухоли свойства отделяться от исходной клеточной массы в результате дезорганизации адгезивных свойств. В эпителиальных клетках основными белками, ответственными за адгезивные свойства, являются E-кадгерин и катенины, а за связывание клеток с коллагеном отвечают интегрины, которые участвуют также в передаче экстраклеточных сигналов до элементов цитоскелета; связывание клеток с другими компонентами ЭКМ и базальными мембранами осуществляется с помощью фибронектина и ламининов. Избыток интегринов, например, при плоскоклеточном раке полости рта, носоглотки и гортани коррелирует с высокой степенью злокачественности опухоли [64]. В последнее время получены доказательства, что участие интегринов в прогрессии опухолей тесно связано с экспрессией MMP. Так, *in vitro* было показано, что экспрессия  $\alpha\beta 3$ -интегрина — универсального рецептора для витронектина, фибронектина, остеопонтина, тромбоспондина — связана с экспрессией MMP-2, причем экспрессия MMP-2 была зарегистрирована раньше экспрессии  $\alpha\beta 3$ -интегрина на переднем крае мигрирующих клеток меланомы [65].

В механизмы приобретения инвазивного фенотипа эпителиальными клетками вовлечены процессы дезорганизации E-кадгерин-катениновых комплексов и сверхэкспрессия матриксных металлопротеиназ (MMPs) [66]. Нужно отметить тесную взаимосвязь между членами семейства металлопротеиназ в инициации всех этапов опухолевой прогрессии. Так, один из механизмов деградации E-кадгерина включает каскад активации EGFR протеазой ADAM-10, который приводит к стимуляции экспрессии MMP-9, который в свою очередь деградирует E-кадгерин. Шеддинг E-кадгерина приводит к перемещению  $\beta$ -катенина к ядру и ведет к усилению клеточной пролиферации. Кроме этого, сверхэкспрессия MMP-3 вызывает каскад событий, включая расщепление E-кадгерина, ведущих к инициации эпителиально-мезенхимального перехода [67].

Неотъемлемой частью инвазии являются процессы клеточной миграции, связанные с изменениями в цитоскелете, когда опухолевая клетка приобретает фибробластоподобную морфологию, позволяющую поляризованную сборку цитоскелета в протрузии и ламеллоподии. Большая роль в процессах сборки ламеллоподий, образования протрузий и инвадоподий отводится MMP мембранного типа, о чем писалось выше. Протеазы, участвующие в процессе созревания подосомы и инвадоподии, принадлежат к таким основным классам, как матриксные металлопротеиназы (MMP-2, MMP-9, MMP-14, ADAM), катепсины, сепсаза (поверхностно экспрессируемая сериновая протеаза) и урокиназный активатор плазминогена [29]. Как уже сообщалось выше, в процессах сборки ламеллоподий участвует множество различных белков. Так, например, показано, что экспрессия MMP-9 эпителиальными клетками дыхательных путей связана с экспрессией CAP-1 [68], белка семейства аденилилциклазаассоциированных протеинов (Catabolite Gene Activator Protein, CAP), относящихся к актинсвязывающим белкам, которые принимают участие в регуляции актинового цитоскелета и Ras/cAMP-сигнального пути. Предполагаемый механизм участия CAP-1 в регуляции подвижности клеток — комплекси-

рование с талином (белком, прикрепляющим актин к мембране) и киназой фокальных контактов (ФАК) [2, 3], активность которой сопряжена с увеличением синтеза MMP [69, 70]. У больных с ПРГШ, имеющих метастазы в регионарные лимфоузлы, при сравнительной оценке протеома сыворотки крови отмечено увеличение содержания CAP-1 по сравнению с группой больных без признаков метастазирования [55], в связи с чем авторы предлагают для прогноза агрессивности заболевания изучать минорные белки, такие как CAP-1, матриксный экстракцеллюлярный фосфогликопротеид (MEPE), протеинфосфатаза 1В (PPM-1В).

Известно, что до 95% ингибированных коллагеназ (MMP) в плазме крови находится в комплексе с  $\alpha 2$ -макроглобулином, поэтому определить функциональный вклад плазменного MMPs в процесс злокачественной прогрессии достаточно сложно [28]. Таким образом, важно изучать не только систему MMP-TIMP, но и неспецифические ингибиторы MMP. Так, при исследовании протеома сыворотки крови больных ПРГШ было обнаружено увеличение интенсивности окрашивания белковых полос, содержащих  $\alpha 2$ -макроглобулин, по сравнению с группой здоровых доноров, что говорит в пользу увеличения количества этого белка [55]. Возможно, увеличение  $\alpha 2$ -макроглобулина связано не только с его ингибирующим действием в отношении MMP. Если учесть, что комплекс  $\alpha 2$ -макроглобулин-протеиназа связывается с рецептором  $\alpha 2$ -макроглобулина (LDL-RP) и подвергается интернализации (погружение внутрь клетки) для деградации [71], а также данные о новых внутриклеточных механизмах регуляции активности MMP [72], можно предположить существование новых механизмов опухолевой прогрессии. Так, например, активная форма MMP-3 присутствует в ядерных компартментах злокачественных и нетрансформированных гепатоцитов, что представляет собой важный и не оцененный аспект функций MMP-3 [73].

Таким образом, участие внеклеточного протеолиза в развитии опухолевого процесса при ПРГШ имеет существенный объем, однако необходима детальная характеристика различных внеклеточных протеаз в ассоциации со всеми процессами опухолевой прогрессии. Обсуждение роли внеклеточных протеиназ при онкогенезе остается актуальным до настоящего времени, а понимание молекулярных механизмов сложного взаимодействия между опухолью и окружающей стромой представляет одну из основных проблем в онкологии. Выявление новых биологических функций MMP и идентификация новых субстратов, в том числе выходящая за пределы классической роли разрушения ЭКМ, имеют немаловажное значение для понимания механизмов опухолевой прогрессии и метастазирования.

### Протеолитическая сеть

Накоплено достаточно данных, чтобы с уверенностью сказать о существовании связи между протеолитическими системами. Так, например, доступны сведения об однонаправленном изменении внутриклеточного и внеклеточного протеолиза, в частности протеасомной активности и активности MMP [74]. В экспериментальных работах на кардиофибробластах стимуляция MMP была связана с активацией NF- $\kappa$ B, которая эффективно снижалась путем предварительной обработки клеток ингибиторами протеасом. Ингибирование протеасом в культуре клеток вело к ингибированию экспрессии MMP-2 и MMP-9.

В то же время, по некоторым данным, применение ингибиторов протеасом, напротив, повышало уровень MMP-2. Предполагается, что с помощью ингибиторов протеасом возможно избирательно регулировать синтез и биологическую активность некоторых металлопротеиназ [75]. Также экспериментально показано, что существует взаимосвязь внутриклеточного протеолиза с участием кальпаиновой системы и системы MMP: в клетках лимфомы человека линии ТНР-1 угнетение кальпаиновой системы ее специфическим ингибитором СР1В снижало экспрессию металлопротеиназ 2 и 9 [76]. Работы по связи мембраноассоциированного протеолиза с экстраклеточным процессом ферментативного разложения белка носят экспериментальный характер. Так, на клеточной линии рака желудка AZ521 было показано, что матриптаза активирует MMP-3: авторы предполагают, что активированная матриптазой MMP-3 так же, как и прямое действие матриптазы, поддерживает рост опухоли и ангиогенез, способствует деградации ЭКМ микроокружения опухолевой клетки [77]. Продемонстрировано также, что матриптаза участвует в процессинге активатора плазминогена урокиназного типа (pro-uPA), фактора роста гепатоцитов (pro-HGF/SF) [78] и рецептора PAR-2, индуцирует экспрессию генов *MMP-1*, *MMP-3* и *MMP-13* при остеоартрозе [79]. На клеточных линиях HSC-4 было показано, что MT1-MMP (MMP-14) вызывает шединг белка HAI-1, который активирует матриптазу, при этом клетки HSC-4 продемонстрировали характерный инвазивный рост в геле [80].

### Заключение

Таким образом, конкретные механизмы взаимодействия протеолитических систем, включающих протеазы разных локализаций при прогрессировании опухолевого процесса, как в целом, так и при ПРГШ остаются малоизвестными и требуют пристального изучения. Многогранность функций и сложность взаимосвязей протеолитических систем выдвигает на первый план важность изучения участия всех компонентов деградации в прогрессии опухоли, что поможет получить новые мишени для диагностики и терапевтического вмешательства. В этом аспекте мало изучена взаимосвязь мембраноассоциированного протеолиза с внутриклеточным и внеклеточным процессом разложения. Учитывая

экспериментальные наработки по фундаментальному значению мембраноассоциированного протеолиза в реализации многих клеточных функций и программ, при различных патологиях и канцерогенезе, будет актуальной оценка вклада мембраноассоциированных протеаз в прогрессию ПРГШ во взаимосвязи с внутриклеточным и внеклеточным протеолизом.

Знания о молекулярных механизмах онкогенеза становятся все более и более востребованными в клинической онкологии. Благодаря изучению и пониманию деталей молекулярных основ той или иной патологии будет создана своего рода платформа для клинической профилактической медицины. Существующие работы в области исследований патогенеза ПРГШ и понимание того, что протеолитические системы являются неотъемлемой частью молекулярных механизмов прогрессии данного заболевания, в конечном счете говорят об актуальности проблемы. Следует отметить, что многочисленные факты, свидетельствующие о повышенной экспрессии и активности, изменении локализации протеаз из различных классов, связанных с опухолевой прогрессией, секреции некоторых специфических протеаз в опухолевых клетках, не дают полной уверенности в использовании компонентов деградации для точного и индивидуального прогноза заболевания. Концепция использования ингибиторов протеаз для лечения онкозаболеваний, в том числе для ПРГШ, в конечном итоге оказалась достаточно сложной, так как составляющие компоненты опухолевой прогрессии не ограничиваются лишь протеолитической активностью протеаз, и развитие опухоли — это сложный мультистадийный процесс. На сегодняшний день остаются открытыми многие вопросы: например, какова доля вклада в прогрессию ПРГШ внутриклеточных, внутри-мембранных и внеклеточных протеолитических систем; существует ли баланс между этими системами; имеет ли место нарушение этого баланса при прогрессировании ПРГШ? Решение этих вопросов может прояснить сложные многозвеньевые механизмы канцерогенеза ПРГШ и выявить возможные маркеры прогрессии и/или мишени для терапевтических воздействий этого заболевания.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Чойнзонов ЕЛ, Балацкая ЛН, Кицманюк ЗД, Мухамедов МР, Дубский СВ. Реабилитация больных опухолями головы и шеи. Томск: Изд-во НТЛ. 2003. 296 с.
2. Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ. Постгеномные технологии в прогнозе метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Российский биотерапевтический журнал*. 2011;10(3):31–36.
3. Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ. Прогнозирование метастазирования плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Вопросы онкологии*. 2012;58(1):26–32.
4. Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(4):239–252. doi: 10.1038/nrc2618
5. Mason SD, Joyce JA. Proteolytic networks in cancer. *Trends Cell Biol*. 2011;21(4):228–237.
6. Edwards D. The Cancer Degradome: Proteases and Cancer Biology. *New York, London: Springer*. 2008. 926 p. doi: 10.1007/978-0-387-69057-5
7. Ugalde AP, Ordóñez GR, Quirós PM. Puente XS, López-Otín C. Metalloproteases and the degradome. *Methods Mol Biol*. 2010;622:3–29. doi: 10.1007/978-1-60327-299-5\_1
8. Клишо ЕВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Черемисина ОВ, Чижевская СЮ, Шишкин ДА. Прогностическая значимость определения металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных плоскоклеточным раком органов головы и шеи. *Онкохирургия*. 2011;3(1):17–22.
9. Спирина ЛВ, Кондакова ИВ, Клишо ЕВ, Какурина ГВ, Шишкин ДА. Металлопротеиназы как регуляторы неоангиогенеза в злокачественных новообразованиях. *Сибирский онкологический журнал*. 2007;1:67–71.
10. Lemberg MK, Freeman M. Functional and evolutionary implications of enhanced genomic analysis of rhomboid intramembrane proteases. *Genome Res*. 2007;17(11):1634–1646. doi: 10.1101/gr.6425307

11. Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL. Regulated Intramembrane Proteolysis: A Control Mechanism Conserved from Bacteria to Humans. *Cell*. 2000;100(4):391–398.
12. Lemberg MK. Intramembrane Proteolysis in Regulated Protein Trafficking. *Traffic*. 2011;12(9):1109–1118. doi: 10.1111/j.1600-0854.2011.01219.x
13. Magdolen V. Novel cancer related biomarkers. In: Kallikrein related peptidases. Ed. V Magdolen, CP. Sommerhoff, F Hans, S Manfred. Berlin: Walter de Gruyter. 2012. P. 226.
14. Welman A, Sproul D, Mullen P, Muir M, Kinnaird AR, Harrison DJ, Faratian D, Brunton VG, Frame MC. Diversity of Matriptase Expression Level and Function in Breast Cancer. *PLoS ONE*. 2012;7(4):e34182. doi: 10.1371/journal.pone.0034182
15. Kawaguchi M, Kataoka H. Mechanisms of Hepatocyte Growth Factor Activation in Cancer Tissues. *Cancers*. 2014;6(4):1890–1904. doi: 10.3390/cancers6041890
16. Cheng MF, Huang MS, Lin CS, Lin LH, Lee HS, Jiang JC, Hsia KT. Expression of matriptase correlates with tumour progression and clinical prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Histopathology*. 2014;65(1):24–34.
17. Szabo R, Rasmussen AL, Moyer AB, Kosa P, Schafer JM, Molinolo AA, Gutkind JS, Bugge TH. c-Met-induced epithelial carcinogenesis is initiated by the serine protease matriptase. *Oncogene*. 2011;30(17):2003–2016. doi: 10.1038/onc.2010.586
18. Lyons JG, Patel V, Roue NC, Fok SY, Soon LL, Halliday GM, Gutkind JS. Snail up-regulates proinflammatory mediators and inhibits differentiation in oral keratinocytes. *Cancer Res*. 2008;68(12):4525–4530. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-6735
19. Sales KU, Friis S, Konkel JE, Godiksen S, Hatakeyama M, Hansen KK, Rogatto SR, Szabo R, Vogel LK, Chen W, Gutkind JS, Bugge TH. Non-hematopoietic PAR-2 is essential for matriptase driven pre-malignant progression and potentiation of ras-mediated squamous cell carcinogenesis. *Oncogene*. 2015;34(3):346–356. doi: 10.1038/onc.2013.563
20. Алейник АН, Кондакова ИВ. Сигнальная система notch и онкогенез. *Вопросы онкологии*. 2012;58(5):593–596.
21. Gridley T. Notch signaling in vascular development and physiology. *Development*. 2007;134(15):2709–2718 doi: 10.1242/dev.004184
22. Maretzky T, Reiss K, Ludwig A, Buchholz J, Scholz F, Proksch E, de Strooper B, Hartmann D, Saftig P. ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and  $\beta$ -catenin translocation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(26):9182–9187 doi: 10.1073/pnas.0500918102
23. Zielinski V, Brunner M, Heiduschka G, Schneider S, Seemann R, Erovic B, Thurnher D. ADAM8 in squamous cell carcinoma of the head and neck: a retrospective study. *BMC Cancer*. 2012;12:76. doi: 10.1186/1471-2407-12-76
24. Rao VH, Kandel A, Lynch D, Pena Z, Marwaha N, Deng C, Watson P, Hansen LA. A positive feedback loop between HER2 and ADAM12 in human head and neck cancer cells increases migration and invasion. *Oncogene*. 2012;31(23):2888–28898 doi: 10.1038/onc.2011.460
25. Boulton ME, Cai J, Grant MB. Gamma-Secretase: a multifaceted regulator of angiogenesis. *J Cell Mol Med*. 2008;12(3):781–795. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00274.x
26. Egloff AM, Grandis JR. Molecular Pathways: Context dependent approaches to Notch targeting as cancer therapy. *Clin Cancer Res*. 2012;18(19):5188–5195. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2258
27. Romanic AM, Burns-Kurtis CL, Ao Z, Arleth AJ, Ohlstein EH. Upregulated expression of human membrane type-5 matrix metalloproteinase in kidneys from diabetic patients. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001;281(2):F309–317.
28. Рогова ЛН, Шестернина НВ, Замечник ТВ, Фастова ИА. Матриксные металлопротеиназы, их роль в физиологических и патологических процессах. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011;XVIII(2):86.
29. Murphy DA and Courtneidge SA. The ‘ins’ and ‘outs’ of podosomes and invadopodia: characteristics, formation and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12(7):413–426. doi: 10.1038/nrm3141
30. Ratnikov BI, Rozanov DV, Postnova TI, Baciu PG, Zhang H, DiScipio RG, Chestukhina GG, Smith JW, Deryugina EI, Strongin AY. An Alternative Processing of Integrin  $\alpha$  v subunit in tumor cells by membrane type-1 matrix metalloproteinase. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277:7377–7385. doi: 10.1074/jbc.M109580200
31. Albrechtsen R, Kveiborg M. ADAM12 redistributes and activates MMP-14, resulting in gelatin degradation, reduced apoptosis and increased tumor growth. *J Cell Sci*. 2013;126(P20):4707–4720. doi: 10.1242/jcs.129510
32. Берман АЕ, Козлова НИ, Морозевич ГЕ. Интегрины как потенциальная мишень для целевой терапии рака. *Биомедицинская химия*. 2013;59(3):239–248.
33. Спирина ЛВ, Кондакова ИВ. Миграция клеток и онкогенез. *Российский онкологический журнал*. 2010;3:49–53.
34. Machesky LM. Lamellipodia and filopodia in metastasis and invasion. *FEBS*. 2008;582(14):2102–2111. doi: 10.1016/j.febslet.2008.03.039
35. Yu X, Zech T, McDonald L, Gonzalez EG, Li A, Macpherson I, Schwarz JP, Spence H, Futó K, Timpson P, Nixon C, Ma Y, Anton IM, Visegrády B, Insall RH, Oien K, Blyth K, Norman JC, Machesky LM. N-WASP coordinates the delivery and F-actin-mediated capture of MT1-MMP at invasive pseudopods. *JCB*. 2012;199(3):527–544. doi: 10.1083/jcb.201203025
36. Miyazawa Y, Uekita T, Ito Y, Seiki M, Yamaguchi H, Sakai R. CDCP1 regulates the function of MT1-MMP and invadopodia mediated invasion of cancer cells. *Mol Cancer Res*. 2013;11(6):628–637. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0544
37. Poincloux R, Lizarraga F, Chavrier P. Matrix invasion by tumour cells: a focus on MT1-MMP trafficking to invadopodia. *J Cell Sci*. 2009;122(Pt.17):3015–3024. doi: 10.1242/jcs.034561
38. Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, Murakami K, Isozaki Y, Maruyama T, Yusup G, Qin W, Toyozumi T, Takahashi M, Suito H, Hu X, Sekino N, Matsubara H. MicroRNA-133a regulates the mRNAs of two invadopodia related proteins, FSCN1 and MMP14, in esophageal cancer. *Br J Cancer*. 2014;110(1):189–198. doi: 10.1038/bjc.2013.676
39. Малахова ЕВ, Кондакова ИВ, Черемисина ОВ, Какурина ГВ, Меньшиков КЮ. Экспрессия генов матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в тканях опухолей у больных раком гортани и гортаноглотки. *Сибирский онкологический журнал*. 2012;1:36–40.
40. Katayama A, Bando N, Kishibe K, Takahara M, Ogino T, Nonaka S. Expressions of matrix metalloproteinases in early stage oral squamous cell carcinoma as predictive indicators for tumor metastases and prognosis. *Clin Cancer Res*. 2004;10:634–640. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-0864-02
41. Клишо ЕВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Васильева ОС. Прогностическая значимость протеаз у больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2005;25(2):82–91.
42. Gu Y, Lee W, Shena J. Site-2 protease responds to oxidative stress and regulates oxidative injury in mammalian cells. *Sci Rep*. 2014;4:6268. doi: 10.1038/srep06268
43. Rosenblat M, Draganov D, Watson CE, Bisgaier CL, La Du BN, Aviram M. Mouse macrophage paraoxonase-2 activity is increased

- whereas cellular paraoxonase-3 activity is decreased under oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:468–474. doi: 10.1161/01.ATV.0000059385.95664.4D
44. Кондакова ИВ, Какурина ГВ, Смирнова ЛП, Борунов ЕВ. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами. *Сибирский онкологический журнал.* 2005;1:58–61.
  45. Кондакова ИВ, Загребельная ГВ. Влияние комбинации пероксидных радикалов с оксидом азота на синтез ДНК в опухолевых клетках. *Биомедицинская химия.* 2004;50(6):576–582.
  46. Freeman M. Rhomboid proteases and their biological functions. *Annu Rev Genet.* 2008;42:191–210. doi: 10.1146/annurev.genet.42.110807.091628
  47. Cheng TL, Lai CH, Jiang SJ, Hung JH, Liu SK, Chang BI, Shi GY, Wu HL. RHBDL2 Is a Critical Membrane Protease for Anoikis Resistance in Human Malignant Epithelial Cells. *Scientific World Journal.* 2014;2014:ID 902987.
  48. Zou H, Thomas SM, Yan ZW, Grandis JR, Vogt A, Li LY. Human rhomboid family-1 gene RHBDF1 participates in GPCR-mediated transactivation of EGFR growth signals in head and neck squamous cancer cells. *FASEB J.* 2009;23(2):425–432. doi: 10.1096/fj.08-112771
  49. Spirina LV, Yunusova NV, Kondakova IV, Kolomiets LA, Koval VD, Chernyshova AL, Shpileva OV. Association of growth factors, HIF-1 and NF- $\kappa$ B expression with proteasomes in endometrial cancer. *Molecular Biology Reports.* 2012;39:8655–8662. doi: 10.1007/s11033-012-1720-y
  50. Спирина ЛВ, Кондакова ИВ. Роль внутриклеточного специфического протеолиза в онкогенезе. *Вопросы онкологии.* 2008;54(6):690–694.
  51. Спирина ЛВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шарова НП, Чижевская СЮ, Шишкин ДА. Активность и субъединичный состав протеасом в плоскоклеточных карциномах головы и шеи. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2010;149(1):89–92.
  52. Spirina LV, Kondakova IV, Choyznzonov EL, Chigevskaya SY, Shishkin DA, Kulbakin DY. Expression of vascular endothelial growth factor and transcription factors HIF-1, NF-KB expression in squamous cell carcinoma of head and neck; association with proteasome and calpain activities. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2013;139:625–633. doi: 10.1007/s00432-012-1366-0
  53. Zheng M, McKeown-Longo PJ. Cell adhesion regulates Ser/Thr phosphorylation and proteasomal degradation of HEF1. *J Cell Sci.* 2006;119(Pt.1):96–103. doi: 10.1242/jcs.02712
  54. Lucas JT Jr., Salimath BP, Slomiany MG, Rosenzweig SA. Regulation of invasive behavior by vascular endothelial growth factor is HEF1-dependent. *Oncogene.* 2010;29(31):4449–4459. doi: 10.1038/onc.2010.185
  55. Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Чойнзонов ЕЛ, Шишкин ДА, Черемисина ОВ. Особенности протеома сыворотки крови больных плоскоклеточными карциномами головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2013;2(56):62–66.
  56. Pop C, Salvesen GS. Human Caspases: Activation, Specificity, and Regulation. *J Biol Chem.* 2009;284:21777–21781. doi: 10.1074/jbc.R800084200
  57. Miura M. Apoptotic and nonapoptotic caspase functions in animal development. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4(10). doi: 10.1101/cshperspect.a008664
  58. Li C, Egloff AM, Sen M, Grandis JR, Johnson DE. Caspase-8 mutations in head and neck cancer confer resistance to death receptor-mediated apoptosis and enhance migration, invasion, and tumor growth. *Mol Oncol.* 2014;8(7):1220–1230. doi: 10.1016/j.molonc.2014.03.018
  59. Harrison LB. Head and Neck Cancer: A Multidisciplinary Approach. Ed. Louis BH, Roy BS, Waun KH. 2013. *NY: Lippincott Williams & Wilkins.* 2004. 1077 p.
  60. Palavalli MH, Natarajan SS, Wang TT, Krishnan HB. Imbibition of Soybean Seeds in Warm Water Results in the Release of Copious Amounts of Bowman Birk Protease Inhibitor, a Putative Anticarcinogenic Agent. *J Agric Food Chem.* 2012;60(12):3135–3143. doi: 10.1021/jf205308w
  61. Armstrong WB, Taylor TH, Kennedy AR, Melrose RJ, Messadi DV, Gu M, Le AD, Perloff M, Civantos F, Goodwin WJ, Wirth LJ, Kerr AR, Meyskens FL Jr. Bowman birk inhibitor concentrate and oral leukoplakia: a randomized phase IIb trial. *Cancer Prev Res (Phila).* 2013;6(5):410–418. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-13-0004
  62. Кондакова ИВ, Клишо ЕВ, Савенкова ОВ, Шишкин ДА, Чойнзонов ЕЛ. Патогенетическая значимость системы матриксных металлопротеиназ при плоскоклеточном раке головы и шеи. *Сибирский онкологический журнал.* 2011;1:29–33.
  63. Gilles C, Polette M, Coraux C. Contribution of MT1-MMP and of human laminin-5  $\gamma$ 2 chain degradation to mammary epithelial cell migration. *J Cell Sci.* 2001;114:2967–2976.
  64. Мнихович МВ, Циперович К, Яхонсон М, Гитерман Ц, Гаврилюк АА, Фомина ЛВ, Гуминский ЮИ, Вернигородский СВ, Тернов ММ, Мигляс ВГ. Межклеточные взаимодействия при инвазии клеток: морфологические и молекулярно-биологические особенности. *Вісник морфології.* 2013;19(1):198–208.
  65. Jiao Y, Feng X, Zhan Y, Wang R, Zheng S, Liu W, Zeng X. Matrix metalloproteinase-2 Promotes  $\alpha$ v $\beta$ 3 Integrin Mediated Adhesion and Migration of Human Melanoma Cells by Cleaving Fibronectin. *PLoS One.* 2012;7(7):e41591. doi: 10.1371/journal.pone.0041591
  66. Nawrocki-Raby B, Gilles Ch, Polette M, Martinella-Catusse C, Bonnet N, Puchelle E, Foidart JM, Van Roy F, Birembaut P. E-Cadherin Mediates MMP Down-Regulation in Highly Invasive Bronchial Tumor Cells. *Am J Pathol.* 2003;163(2):653–661. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63692-9
  67. Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix Metalloproteinases: Regulators of the Tumor Microenvironment. *Cell.* 2010;141(1):52–67. doi: 10.1016/j.cell.2010.03.015
  68. Xie SS, Hu F, Tan M, Duan YX, Song XL, Wang CH. Relationship between expression of matrix metalloproteinase-9 and adenylyl cyclase-associated protein 1 in chronic obstructive pulmonary disease. *J Int Med Res.* 2014;42(6):1272–1284. doi: 10.1177/0300060514548290
  69. Hu Y, Xu S, Jin W, Yi Q, Wei W. Effect of the PTEN gene on adhesion, invasion and metastasis of osteosarcoma cells. *Oncol Rep.* 2014;32(4):1741–1747. doi: 10.3892/or.2014.3362
  70. Какурина ГВ, Кондакова ИВ, Черемисина ОВ, Шишкин ДА, Чойнзонов ЕЛ. Аденилил-циклаза-ассоциированный протеин-1 в развитии плоскоклеточных карцином головы и шеи. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2015;160(11):648–651.
  71. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci.* 2002;115(Pt.19):3719–3727. doi: 10.1242/jcs.00063
  72. Sawicki G. Intracellular regulation of matrix metalloproteinase-2 activity: new strategies in treatment and protection of heart subjected to oxidative stress. *Scientifica (Cairo).* 2013;2013:130451. doi: 10.1155/2013/130451. doi: 10.1155/2013/130451
  73. Hockenbery DM. MMPs in Unusual Places. *Am J Pathol.* 2006;169:1101–1103. doi: 10.2353/ajpath.2006.060553
  74. Кондакова ИВ, Какурина ГВ, Спирина ЛВ, Черемисина ОВ, Шишкин ДА. Оценка внеклеточного и внутриклеточного протеолиза при предопуховых и опухолевых заболеваниях гортани. *Сибирский онкологический журнал.* 2014;3:45–50.

75. Awasthi N, Wang-Su ST, Wagner BJ. Downregulation of MMP-2 and 9 by proteasome inhibition: a possible mechanism to decrease LEC migration and prevent posterior capsular opacification. *Invest. Ophthalmol Vis. Sci.* 2008;49(5):1998–2003. doi: 10.1167/iovs.07-0624
76. Popp O, Heidinger M, Ruiz-Heinrich L. The calpastatinderived calpain inhibitor CPIB reduces mRNA expression of matrix metalloproteinase-2 and 9 and invasion by leukemic THP-1 cells. *Biol Chem.* 2003;384:951–958. doi: 10.1515/BC.2003.107
77. Jin X, Yagi M, Akiyama N, Hirosaki T, Higashi S, Lin CY, Dickson RB, Kitamura H, Miyazaki K. Matrilysin activates stromelysin (MMP-3) and promotes tumor growth and angiogenesis. *Cancer Sci.* 2006;97(12):1327–1334. doi: 10.1111/j.1349-7006.2006.00328.x
78. Uhlund K. Matrilysin and its putative role in cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2006;63(24):2968–2978. doi: 10.1007/s00018-006-6298-x
79. Milner JM, Patel A, Davidson RK, Swingle TE, Desilets A, Young DA, Kelso EB, Donell ST, Cawston TE, Clark IM, Ferrell WR, Plevin R, Lockhart JC, Leduc R, Rowan AD. Matrilysin is a novel initiator of cartilage matrix degradation in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62(7):1955–1966. doi: 10.1002/art.27476
80. Domoto T, Takino T, Guo L, Sato H. Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 activates matrilysin. *Cancer Sci.* 2012;103(3):448–455. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.02162.x

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Какурина Гелена Валерьевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник  
Томского научно-исследовательского института онкологии

Адрес: 634050, Томск, пер. Кооперативный, д. 5, тел.: +7 (3822) 51-40-97, e-mail: kakurinagv@oncology.tomsk.ru

**Кондакова Ирина Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией биохимии  
опухолей Томского научно-исследовательского института онкологии

Адрес: 634050, Томск, пер. Кооперативный, д. 5, тел.: +7 (3822) 51-25-29, e-mail: kondakova@oncology.tomsk.ru

**Чойнзонов Евгений Лхамцыренович**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН,  
директор Томского научно-исследовательского института онкологии

Адрес: 634050, Томск, пер. Кооперативный, д. 5, тел.: +7 (3822) 51-10-39, e-mail: info@oncology.tomsk.ru