

РОЛЬ И МЕХАНИЗМЫ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ МЕЛАНОМЫ

С.В. Чулкова^{1,2}, Д.А. Рябчиков¹, И.А. Дудина³, И.В. Савченко², А.В. Егорова²,
И.А. Гладилина^{1,2}, Н.Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»
Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

³ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр ФМБА России»; Россия, 115682 Москва, Ореховый бульвар, 28

Контакты: Светлана Васильевна Чулкова chulkova@mail.ru

Несмотря на достигнутые успехи современной медицины в диагностике и лечении онкологических заболеваний, меланома кожи остается одной из ведущих причин смертности во всем мире: каждый 3-й случай меланомы заканчивается летальным исходом. Как известно, одной из основных причин летального исхода является высокая частота прогрессирования меланомы. Важно отметить, что механизмы прогрессирования меланомы разнообразны, и бурно развивающаяся область лекарственной терапии опухолей требует глубокого понимания их особенностей. Это прежде всего связано с тем, что данные процессы обуславливают формирование особых, минорных, опухолевых клонов, обладающих стволовыми свойствами. Они характеризуются повышенной резистентностью к терапии. Последнее служит основным препятствием к эффективному лечению больных меланомой. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) играет ведущую роль в приобретении метастатического потенциала клетками меланомы. Важным отличительным признаком ЭМП является изменение уровня экспрессии трансмембранных гликопротеинов, участвующих в клеточной адгезии. При ЭМП наблюдается как снижение уровня E-кадгерина, так и повышение экспрессии N-кадгерина. Такое переключение в различных классах молекул адгезии приводит к тому, что клетки меланомы теряют контакт с соседними кератиноцитами и начинают взаимодействовать с фибробластами и эндотелиальными клетками. Ключевым регулятором в индукции ЭМП при меланоме является сигнальный путь Notch1, который при активации ускоряет экспрессию N-кадгерина. Кроме того, ЭМП регулирует множество других путей — RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR, Wnt/β-катенин, нарушение регуляции которых сопряжено с развитием лекарственной устойчивости меланомы. В статье проведен анализ современных данных литературы о значимости ЭМП в канцерогенезе и прогнозе меланомы. Детально описаны механизмы ЭМП в современном понимании, известные на сегодняшний день прогностические факторы, а также потенциальные терапевтические мишени, влияющие на ЭМП и, соответственно, сдерживающие процесс метастазирования.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, E-кадгерин, меланома, опухолевые стволовые клетки, сигнальные пути

Для цитирования: Чулкова С.В., Рябчиков Д.А., Дудина И.А. и др. Роль и механизмы эпителиально-мезенхимального перехода в прогрессировании меланомы. Российский биотерапевтический журнал 2020;19(4):8–17.

DOI: 10.17650/1726-9784-2020-19-4-8-17



THE ROLE AND MECHANISMS OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION IN THE PROGRESSION OF MELANOMA

S.V. Chulkova^{1,2}, D.A. Ryabchikov¹, I.A. Dudina³, I.V. Savchenko², A.V. Egorova², I.A. Gladilina^{1,2}, N.N. Tupitsyn¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia;
24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovitianov St., Moscow 117997, Russia;

³Federal scientific clinical center of Federal Biomedical Agency of Russia; 28 Orekhov Boulevard, Moscow 115682, Russia

Despite the achievements of modern medicine in the diagnosis and treatment of oncological diseases, skin melanoma remains one of the leading causes of death worldwide: every third case of melanoma ends in death. As you know, one of the main causes of death is the high incidence of melanoma progression. It is important to note that the mechanisms of melanoma progression are diverse and the rapidly developing area of drug therapy for tumors requires a deep understanding of their characteristics. This is primarily due to the fact that these processes lead to the formation of special, minor tumor clones with stem properties. They are highly resistant to therapy. The latter is the main

obstacle to effective treatment of melanoma patients. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) plays a leading role in the acquisition of metastatic potential by melanoma cells. An important distinguishing feature of EMT is a change in the level of expression of transmembrane glycoproteins involved in cell adhesion. With EMT, both a decrease in the level of E-cadherin and an increase in the expression of N-cadherin are observed. Such a switch in different classes of adhesion molecules leads to the fact that melanoma cells lose contact with neighboring keratinocytes and begin to interact with fibroblasts and endothelial cells. The key regulator in EMT induction in melanoma is the Notch1 signaling pathway, which accelerates N-cadherin expression when activated. In addition, EMT also regulates many other pathways – RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR, Wnt/ β -catenin, the dysregulation of which is associated with the development of drug resistance in melanoma. The analysis was carried out in the article of modern literature data on the importance of EMT in carcinogenesis and prognosis of melanoma. The modern mechanisms of EMT, currently known prognostic factors, as well as potential therapeutic targets that affect EMT and, accordingly, inhibit the process of metastasis, are described in detail.

Keywords: epithelial-mesenchymal transition, E-cadherin, melanoma, tumor stem cells, signaling pathway

For citation: Chulkova S.V., Ryabchikov D.A., Dudina I.A. et al. The role and mechanisms of epithelial-mesenchymal transition in the progression of melanoma. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2020;19(4):8–17. (In Russ.).

Введение

Меланома — злокачественная опухоль нейроэктодермального происхождения, развивающаяся из меланоцитов, расположенных преимущественно в коже, но также встречающихся в слизистых оболочках, конъюнктиве, оболочках головного и спинного мозга. Из всех злокачественных новообразований кожи меланома является наиболее агрессивной опухолью, которая характеризуется высоким риском метастазирования даже на ранних стадиях опухолевого процесса и низкими показателями выживаемости больных. Меланома занимает 5-е место в структуре онкологической заболеваемости населения США [1]. В Российской Федерации среди всех злокачественных новообразований меланома находится на 14-м и 15-м месте по распространенности у женщин и мужчин соответственно [2]. Пятилетняя общая выживаемость больных меланомой зависит от многих факторов: первичной локализации опухоли, степени ее инвазии и митотического потенциала, возраста пациента, наличия драйверных мутаций, статуса лимфатических узлов и некоторых других показателей [3].

В последнее десятилетие произошла революция в понимании патогенеза меланомы. Выявление онкогенных мутаций, изучение молекулярной передачи сигналов, возникающих в результате этих мутаций, понимание иммунологии опухоли позволили изменить стратегии лечения. Новые молекулярно-направленные и иммуноориентированные агенты вошли в клиническую практику, что позволило улучшить показатели общей и безрецидивной выживаемости больных меланомой. Однако, несмотря на достигнутые результаты, многие механизмы прогрессирования меланомы все еще остаются невыясненными. К таким механизмам относятся эпителиально-мезенхимальный (ЭМП) и мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП).

Эпителиально-мезенхимальный переход в общем понимании — сложный эволюционно обусловленный процесс, посредством которого эпителиальные клет-

ки теряют полярность и способность к межклеточной адгезии, приобретают дополнительные свойства — подвижность и инвазивный потенциал, изменяя свой фенотип на мезенхимальный.

Эпителиально-мезенхимальный переход происходит во время нормального эмбрионального развития, обеспечивая миграцию клеток для формирования специализированных тканей, а также при регенерации тканей, фиброзе. Он также характерен для опухолевой трансформации клеток, при которой могут формироваться отдельные клоны опухолевых стволовых клеток (ОСК), играющие ключевую роль в развитии резистентности опухоли к традиционному лечению [4–6]. Иными словами, ЭМП способствует прогрессированию и метастазированию опухолей посредством приобретения клетками преимуществ в эффективной инвазии и распространении в отдаленные органы.

Механизмы и этапы

эпителиально-мезенхимального перехода

Известно, что основным моментом в ЭМП считается снижение экспрессии клетками основного белка клеточных контактов Е-кадгерина. В норме он закрепляется в мембране посредством функционального белка β -катенина, соединяющего его с белками цитоскелета, что обеспечивает стабильные контакты между эпителиоцитами. При возникновении эпигенетических или генетических изменений онкогенов или супрессорных генов происходит подавление экспрессии Е-кадгерина, приводящее к переходу в цитоплазму и ядро β -катенина и ослаблению адгезионных межклеточных контактов. Наряду с этим усиление экспрессии некоторых генов ведет к синтезу мезенхимальных белков (виментина, фибронектина, гладко-мышечного актина), металлопротеиназы, участвующей в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны, а изменение аффинности и соотношения интегриновых субъединиц сообщает клетке новую субстратную специфичность. Кроме того, изменяющееся соотношение интегринов

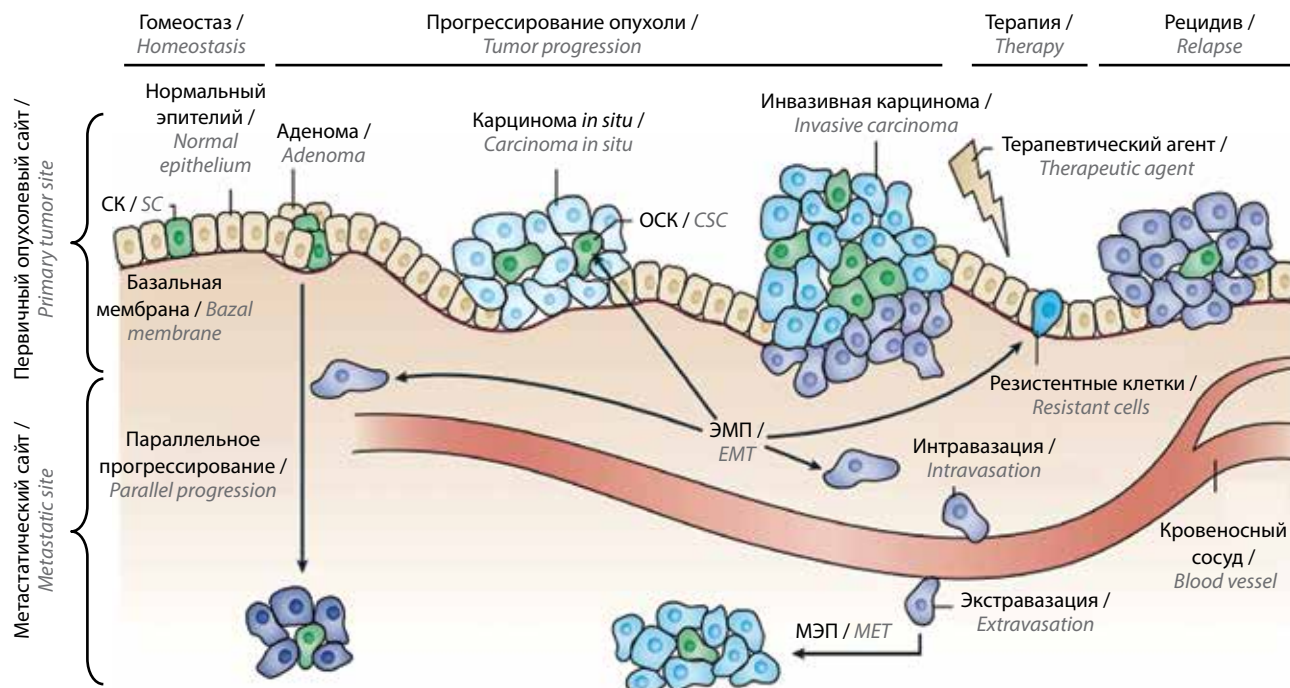


Рис. 1. Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) при злокачественных новообразованиях; СК – стволовая клетка; ОСК – опухолевая стволовая клетка; МЭП – мезенхимально-эпителиальный переход (адаптировано из [8])

Fig. 1. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) in malignant neoplasms; SC – stem cell; CSC – cancer stem cell; MET – mesenchymal-epithelial transition (adapted from [8])

оказывает влияние на активность протеолитических ферментов, реорганизацию цитоскелета и выживаемость опухолевой клетки. В совокупности все процессы ЭМП обеспечивают приобретение клетками дополнительной подвижности ввиду ослабления адгезии, инвазивных свойств, а также антиапоптотических и стволовоподобных фенотипов [4].

Следует отметить, что ЭМП не является полным в опухолевых клетках. Клетки находятся в переходном состоянии, одновременно экспрессируя продукты эпителиальных и мезенхимальных генов. Такие гибридные клетки при частичном ЭМП могут двигаться коллективно, в виде кластеров из многих клеток, причем они могут отличаться более агрессивными свойствами, чем клетки с полным ЭМП [7]. Самое интересное, что ЭМП является обратимым процессом: при достижении циркулирующей опухолевой клеткой подходящей метастатической ниши она перестает получать сигналы от первичной опухоли, и происходит обратный МЭП, обеспечивающий развитие вторичных очагов. Роль ЭМП при злокачественных опухолевых процессах представлена на рис. 1.

В целом реализация программ ЭМП, включающая нарушение межклеточной адгезии, изменение клеточной полярности, ремоделирование цитоскелета, изменение адгезии клеточного матрикса, приводя к улучшению миграционных и инвазивных свойств опухолевой клетки, вносит значительный вклад в прогрессирование опухолей.

Эпителиально-мезенхимальный переход и прогрессирование опухолей

Хорошо известно, что опухолевое микроокружение посредством различных цитокинов, факторов роста, молекул внеклеточного матрикса оказывает влияние на экспрессию генов, инициирующих программы ЭМП. Переключение экспрессии генов с эпителиального фенотипа на мезенхимальный происходит в результате активации сигнальных путей и различных механизмов, включающих ремоделирование хроматина, эпигенетические модификации, альтернативный сплайсинг, посттрансляционную регуляцию, а также изменений экспрессии микроРНК и транскрипционных факторов [8]. На сегодняшний день известно несколько факторов транскрипции, которые могут изменять эпителиальный статус клетки, а также потенциально способствовать приобретению дедифференцированными опухолевыми клетками стволовых свойств: SNAIL1 и SNAIL2, ZEB1 и ZEB2, Twist, E12/E47. Так, повышение экспрессии SNAIL1 напрямую ведет к подавлению транскрипции E-кадгерина, что сопровождается изменением адгезивных свойств, повышением способности опухолевых клеток к инвазии, развитием устойчивости к лекарственному воздействию [9, 10].

Интересно отметить, что ЭМП может быть достигнут только тогда, когда активированы все необходимые сигнальные пути и процесс полностью параллелен. Приобретение опухолевой клеткой необходимых

эпителиальных признаков. Хотя эпителиально-специфические факторы транскрипции мало изучены в контексте ЭМП, известно, что они определяют дифференцировку эпителиальной клетки.

Отмечено, что при эпителиальном статусе клетки преобладают несколько некодирующих РНК, определяющих другие пути, контролирующие ЭМП. Плотная петля отрицательной обратной связи образована miR-200 и miR-34 с несколькими факторами транскрипции ЭМП. Эпителиальный фенотип также поддерживается miR-101, которая способствует экспрессии E-кадгерина. Некодирующие РНК при мезенхимальном фенотипе, по-видимому, просто поддерживают его. Сплайсинг как при эпителиальном, так и при мезенхимальном фенотипе характеризуется определенными сплайсинговыми факторами (на рис. 2 – ESRP1, ESRP2, RBFOX2), которые определяют его специфические варианты. Белки, участвующие в различных регуляторных сетях, дополнительно контролируются как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровне, обеспечивая либо дополнительную поддержку, либо дестабилизируя их функцию. В настоящее время доказательства этого регуляторного уровня доступны для факторов транскрипции ЭМП (на рис. 2 отмечено сплошными стрелками) и менее ясны для транскрипционных факторов (ELF3, ELF5, GRHL2), которые поддерживают эпителиальный фенотип (на рис. 2 – пунктирные стрелки). ЭМП инициируется, когда баланс в этих регуляторных сетях нарушается (например, внеклеточными сигналами или неправильной регуляцией белка). Вместе с тем степень ЭМП и, соответственно, приобретение мезенхимальных или эпителиальных черт опухолевой клеткой дополнительно определяются тем, условно говоря, насколько наклонены весы в том или ином направлении.

Ключевым регулятором в индукции ЭМП при меланоме является сигнальный путь Notch, который при активации ускоряет экспрессию N-кадгерина, что сообщает клеткам инвазивную способность. Белок Notch является транспортным рецептором, осуществляющим передачу регуляторных воздействий при непосредственном контакте с клетками. При его участии осуществляется регуляция клеточной пролиферации, апоптоза, процессов метастазирования. Аберрантная активация сигнального пути Notch задействована в процессах формирования метастатических ниш, в поддержании выживания клеток-предшественников меланоцитов, меланобластов и стволовых клеток (СК) меланоцитов. Гиперэкспрессия рецепторов Notch и их лигандов (Jagged-1, Jagged-2 и Delta) коррелирует с ростом и прогрессированием меланомы [15].

Кроме того, ЭМП регулируется множеством других путей – RAS/RAF/MEK/ERK, PI3K/AKT/mTOR, Wnt/ β -катенин. Дисрегуляция сигнальных путей

Notch, Hedgehog, Wnt является причиной развития устойчивости меланомы к традиционным видам терапии, поскольку сигнальными молекулами Notch, Wnt обеспечивается баланс между самообновлением и дифференцировкой, покоем и пролиферацией ОСК, которые отличаются лекарственной резистентностью [16]. В связи с этим некоторые сигнальные пути рассматриваются как потенциальные терапевтические мишени. G. Kaushik и соавт. показали, что ингибирование передачи сигналов Notch-2 в клетках меланомы, обработанных Honokiol, приводит к ослаблению свойств ОСК меланомы [17].

Роль кадгеринов при меланоме

Кадгерины – кальций-зависимые молекулы, представляющие собой трансмембранные гликопротеины, участвующие в клеточной адгезии. В коже кадгерины обеспечивают плотные контакты между меланоцитами и/или кератиноцитами. Исследования *in vitro* показали, что снижение регуляции мембранной экспрессии эпителиального E-кадгерина и увеличение экспрессии нейронного N-кадгерина – параллельные процессы, обеспечивающие миграцию опухолевых клеток меланомы из первичного очага [18–21]. Одним из важных ранних этапов развития меланомы является нарушение опосредованного E-кадгерином адгезивного взаимодействия между меланоцитами и кератиноцитами, сопровождающееся повышенной экспрессией N-кадгерина, что способствует пролиферации и инвазивному поведению клеток меланомы. Экспрессия N- и E-кадгеринов частично регулируется геном ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase (CYLD) и белком цинкового пальца, кодируемым геном транскрипционного супрессора 1 семейства SNAIL (SNAI1) [22].

Исследования, включающие анализ опухолевой ткани из первичных очагов меланомы и ее метастазов, подтверждают роль нисходящей регуляции E-кадгерина в метастатическом потенциале [9, 23–25]. В этих работах провели сравнение экспрессии кадгерина в первичных и метастатических очагах меланомы, а также при доброкачественных поражениях и при меланоме [9, 10, 25, 26]. Основная концепция данных исследований заключается в том, что пониженная регуляция E-кадгерина является одним из аспектов сложного процесса, который позволяет опухолевой клетке «вырваться» из первичного места локализации в эпидермисе кожи. Например, G.M. Kreizenbeck и соавт. сообщили о статистически значимом снижении регуляции E-кадгерина при сравнении первичной опухоли с метастатическим очагом, а также установили корреляцию между улучшением выживаемости больных меланомой и повышением экспрессии E-кадгерина. Кроме того, авторы выявили, что некоторые первичные очаги меланомы с повышенным

уровнем N-кадгерина были более склонны к метастазированию в сравнении с другими очагами, которые имели более дифференцированный фенотип [10]. Интересные данные получены в работе R. Massoumi и соавт., которые обнаружили, что экспрессия *SNAIL* коррелирует с потерей экспрессии *CYLD* и активацией промотора N-кадгерина, а также связана с инвазивным поведением клеток и степенью инвазии меланомы [27]. В другом исследовании сообщается, что потеря E-кадгерина ассоциирована с мутацией протоонкогена *BRAF* и толщиной опухоли по Бреслоу более 1 мм, что было установлено при изучении образцов первичной опухоли у 68 больных меланомой [28]. В отношении *BRAF* интересные данные получены Q. Guo и соавт., которые показали, что *BRAF* активирует длительное некодирование РНК (*BANCR*), что индуцирует процессы ЭМП и способствует миграции опухолевых клеток [29].

Результаты изучения прогностической значимости E- и N-кадгерина при меланоме противоречивы. M.G. Tucci и соавт. показали, что низкий уровень E-кадгерина при меланоме является фактором неблагоприятного прогноза [30]. В другом исследовании I.M. Bachmann и соавт. сообщают, что экспрессия E- и N-кадгерина не имеет статистической значимости для прогнозирования выживаемости. При этом авторами обнаружено снижение экспрессии E-кадгерина и увеличение экспрессии N-кадгерина от первичной меланомы до метастатической меланомы [31]. G.M. Kreizenbeck и соавт. показали, что повышенная экспрессия N-кадгерина улучшала общую выживаемость, но значимость этого вывода была опровергнута при корректировке по клинико-патологическим параметрам [10].

В исследовании Sh. Yan и соавт. установлено, что более чем у половины больных меланомой наблюдалась картина E-кадгерин-положительной/N-кадгерин-отрицательной экспрессии в исследуемых образцах опухоли (64,3 % при первичной и 54,8 % при метастатической меланоме соответственно), в то время как около 1/3 пациентов имели положительную экспрессию обоих белков (31 % при первичной меланоме и 31 % при метастатической) [32]. Только в 4,8 % образцов первичной опухоли и 9,5 % образцов метастатических меланом обнаружен паттерн E-кадгерин-отрицательной/N-кадгерин-положительной экспрессии. В целом положительная экспрессия N-кадгерина наблюдалась в 35,7 % случаев при первичной меланоме и в 40,5 % — при метастатической, что свидетельствует о том, что обратная связь экспрессии N-кадгерина и E-кадгерина не является абсолютной.

Аналогичные гетерогенные паттерны экспрессии E-кадгерина и N-кадгерина были описаны L.M. Mikesch и соавт., которые проанализировали 695 образцов [21],

большинство из которых были получены из метастатических очагов меланомы. В своем исследовании авторы установили, что 36 % образцов опухоли были E-кадгерин-положительными/N-кадгерин-отрицательными, 23 % случаев — обратными. Кроме того, выявлено, что некоторые образцы характеризовались экспрессией обоих белков (17 %), а также полным отсутствием экспрессии (11 %). Некоторые опухоли не экспрессировали E-кадгерин или N-кадгерин, что, по мнению авторов, отражает более сложный контроль ЭМП. Также была оценена экспрессия кадгерина в 12 клеточных линиях меланомы. В то время как большинство клеточных линий экспрессировали N-кадгерин (58 %), только 25 % клеточных линий были E-кадгерин-положительными. Полученные результаты показывают, что в образцах опухоли больных меланомой более гетерогенные паттерны экспрессии, чем в клеточных линиях, что указывает на более сложный контроль ЭМП в интактном микроокружении опухоли.

Интересно, что меланомы *in situ* могут экспрессировать другие кадгерин-подобные белки, такие как дизаггерин или сосудистый эндотелиальный кадгерин, которые ассоциированы с агрессивным поведением опухоли и плохим прогнозом [33]. Авторы полагают, что, возможно, эти или другие кадгерин-подобные белки регулируются механизмами, выходящими за пределы сетей ЭМП. Поэтому требуются дальнейшие исследования микроокружения опухоли, продукции им цитокинов и их влияния на ЭМП.

CD133, факторы транскрипции

Совокупные мировые данные свидетельствуют, что метастазирование и рецидивирование меланомы тесно связаны с биологией CD133⁺ ОСК [34]. Известно, что CD133⁺-клетки проявляют ЭМП-фенотип и сохраняют свойства СК [35, 36]. Наряду с этим преобладание процессов ЭМП способствует генерации опухолевых клеток со стволовыми свойствами. При этом экспрессия CD133 посредством вовлечения ERK-пути облегчает процессы ЭМП. Вместе с тем такой медиатор ЭМП, как белок S100A4 — индуктор инвазивности опухолевых клеток, поддерживает способность ОСК к самообновлению, пластичности и сохранению стволовых свойств [37]. Так, S.A. Mani и соавт. показали, что ЭМП способствует развитию фенотипа ОСК: чрезмерная экспрессия транскрипционных факторов TWIST и SNAIL усиливает ЭМП в эпителиоцитах молочной железы человека, что проявляется экспрессией клетками CD44^{high}/CD24^{low} и более выраженной способностью образовывать маммосферы [38, 39].

Известно, что сигнальные пути Notch, Hedgehog, Wnt обеспечивают баланс между самообновлением и дифференцировкой, покоем и пролиферацией ОСК

при меланоме. Интересные данные получены D. Kumar и соавт., которые в своем исследовании показали, что рост и ангиогенез меланомы потенцируются популяцией ОСК (CD133⁺), что регулируется через сигнальный путь Notch1 – MAPK. Подавление экспрессии CD133 вело к уменьшению экспрессии гена *SNAIL* [40]. Последнее, учитывая, что данные транскрипционные факторы *SNAIL* играют ключевую роль в подавлении экспрессии эпителиальных белков, является важным событием. J. Yao и соавт. в экспериментальной работе выявили, что регуляторный белок сплайсинга эпителия 1 (*ESRP1*) был ассоциирован с ЭМП при меланоме, так же как и *SLUG* (*SNAIL2*), *SNAIL1* и *ZEB*. Авторы установили, что экспрессия эпителиальных маркеров была выше в опухолях с высоким уровнем *ESRP1*. Напротив, в опухолях с низким уровнем *ESRP1* отмечалась более высокая экспрессия мезенхимальных маркеров [41].

Недавние исследования показали, что индукторы ЭМП могут обладать антагонистическим влиянием в отношении прогрессирования меланомы. Повышенная экспрессия *SNAIL2* и *ZEB2* меланоцитами потенцирует онкосупрессорный эффект, тогда как активация *TWIST1* и *ZEB1* способствует неопластической трансформации меланоцитов [42]. *ZEB1* совместно с *miR-200c* играют ключевую роль в регуляции процессов ЭМП при меланоме. Экспрессия этого транскрипционного фактора регулируется *SLUG* (*SNAIL2*) через связывание с Е-боксами промотора [43]. Отмечено, что экспрессия *ZEB1* очень тесно связана с поддержанием стволовых свойств в клеточной линии меланомы B16F10 [44]. Нокдаун гена *ZEB1* приводил к ингибированию опухолевой активности линии B16F10: отмечалось снижение способности *ZEB1*-CD133⁺CD44⁺-клеток к пролиферации, миграции, инвазии, а также снижение их лекарственной устойчивости. Кроме того, авторами проведен эксперимент на мышах, которым перевивали линию *ZEB1*-CD133⁺CD44⁺-клеток меланомы. Отмечено подавление в опухолевой ткани экспрессии N-кадгерина и виментина, повышение экспрессии Е-кадгерина, что свидетельствовало о реверсии процессов ЭМП. Эти данные демонстрируют, что транскрипционный фактор *ZEB1* поддерживает фенотип ОСК и ЭМП в клетках меланомы [37]. Другими авторами также отмечено, что подавление экспрессии *ZEB1*, а также *TWIST1*, *SNAIL* ослабляет инвазивные свойства клеток меланомы [45]. *ZEB1* на сегодняшний день рассматривается как потенциальная терапевтическая мишень.

Высокая экспрессия фактора транскрипции *GLI2* в клетках меланомы связана с повышенным инвазивным потенциалом и потерей экспрессии Е-кадгерина [46]. Транскрипционный фактор *GLI2* рассматривается как эффектор сигнального пути Hedgehog [47].

Группа C.Y. Perrot и соавт. получили данные, показывающие, что *GLI2* посредством усиления транскрипции *ZEB1*, известного индуктора ЭМП, является значимым модулятором переключения процессов ЭМП и МЭП при меланоме. Подавление фактора *GLI2* приводило к восстановлению экспрессии Е-кадгерина в клеточной линии меланомы, за исключением тех линий, в которых он был гиперметилирован [46].

Транскрипционный фактор, связанный с микрофтальмом (Transcription factor associated with microphthalmos, *MITF*), также определяет судьбу меланоцитов. Через регуляцию транскрипционной сети *MITF* – *ZEB1* посредством *ZEB2* происходит правильная дифференцировка меланоцитов. В случае нокдауна *ZEB2* отмечается нарушение регулирующего влияния *MITF*, а параллельное повышение экспрессии *ZEB1*, молекул виментина и фибронектина приводит к прогрессированию меланомы [48].

Инсулиноподобный фактор роста, связывающий белок 5 (*IGFBP5*), оказывает супрессорное действие на процессы прогрессирования меланомы человека. В эксперименте установлено, что выраженная экспрессия *IGFBP5* приводит к подавлению процессов ЭМП и ослаблению экспрессии ключевых маркеров ОСК, таких как *NANOG*, *SOX2*, *OCT4*, *KLF4* и *CD133*. Нокдаун *IGFBP5* приводит к подавлению эпителиального и индуцированию мезенхималоподобного фенотипа, способствует миграции, инвазии и приобретению клетками свойств, характерных для ОСК. Поскольку фактор *IGFBP5* подавляет опухолевый рост и метастазирование меланомы, что происходит посредством ингибирования сигнальных путей *ERK1/2* и *P38*-MAPK, он может рассматриваться как терапевтическая мишень при меланоме. Белок семейства GTPase *IRGMI* индуцирует миграцию клеток меланомы линии B16, инвазию и ЭМП через полимеризацию F-актина [49].

Исследование факторов EphA2 или RacN17 позволило выявить, что в результате их гиперэкспрессии происходит индуцирование ЭМП, сопровождающееся усилением способности клеток меланомы к пролиферации, приобретением ими стволовых свойств, увеличением инвазивности опухоли [50]. TGF- β также действует как ключевой фактор в приобретении клетками мезенхимального фенотипа, приводящем к миграции клеток и их диссеминации, что продемонстрировано при нескольких видах злокачественных опухолей, включая меланому [39, 51, 52].

Известно, что некоторые солидные опухоли, включая меланому, характеризуются внеклеточным ацидозом. Интересные данные получены S. Peppicelli и соавт., которые в своей экспериментальной работе показали, что экспонирование клеток меланомы в кислой внеклеточной среде (pH = 6,7) приводит к повышению экспрессии мезенхимальных маркеров,

таких как N-кадгерин, виментин, в то время как экспрессия эпителиального специфического маркера, такого как E-кадгерин, снижается. Кроме того, авторы отметили, что кислая среда усиливала инвазивные свойства клеток меланомы и колонизацию опухолевыми клетками отдаленных органов, что происходило за счет усиления активности металлопротеиназ MMP-9 [53].

Заключение

Несмотря на новейшие разработки и использование современных лекарственных средств, результаты лечения меланомы далеки от удовлетворительных. Гетерогенность опухоли и непредсказуемость ее клинического поведения приводят к неэффективности традиционной терапии, что отражается на выживаемости больных. В статье отражена сложность процессов ЭМП при меланоме, описаны молекулы, сигнальные пути и транскрипционные факторы ЭМП и МЭП, которые играют решающую роль в канцерогенезе. Основным проявлением ЭМП является на-

рушение межклеточной адгезии и клеточной полярности.

Ключевую роль в индукции ЭМП при меланоме играет сигнальный путь Notch. Дисрегуляция сигнальных путей служит причиной развития лекарственной устойчивости меланомы, поскольку они обеспечивают баланс между самообновлением и дифференцировкой, покоем и пролиферацией ОСК.

Некоторые транскрипционные факторы детально изучены, и доказана их роль в прогрессировании меланомы. Факторы ZEB1, IGFBP5 рассматриваются в качестве перспективных терапевтических мишеней.

Гетерогенность экспрессируемых молекул, определяющих мезенхимальный или эпителиальный фенотип опухолевой клетки, требует более детального изучения, поскольку данные на этот счет недостаточны и противоречивы. Необходимы дальнейшие исследования микроокружения опухоли, метаболических изменений, продукции растворимых факторов и их влияния на ЭМП.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2019. *CA Cancer J Clin* 2019;69:7.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2019. 250 с. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Moscow: FGBU "MNI OI im. P.A. Gertsena" Ministry of Health of Russia, 2019. 250 p. (In Russ.)].
3. DeVita V.T., Rosenbergs S.A., Lawrence T.S. Cancer: Principles and Practice of Oncology, 11th edition. Wolters Kluwer, 2018. 1346 p.
4. Nieto M.A., Huang R.Y.-J., Jackson R.A., Thiery J.P. EMT: 2016. *Cell* 2016;166:21–45. DOI: 10.1016/j.cell.2016.06.028.
5. Lambert A.W., Pattabiraman D.R., Weinberg R.A. Emerging Biological Principles of Metastasis. *Cell* 2017;168:670–91. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.037.
6. Moustakas A., de Herreros A.G. Epithelial-mesenchymal transition in cancer. *Mol Oncol* 2017;11:715–7. DOI: 10.1002/1878-0261.12094.
7. Jolly M.K., Boareto M., Huang B. et al. Implications of the Hybrid Epithelial/Mesenchymal Phenotype in Metastasis. *Front Oncol* 2015;5:155. DOI: 10.3389/fonc.2015.00155.
8. De Craene B., Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013;13:97–110. DOI: 10.1038/nrc3447.
9. Sanders D.S., Blessing K., Hassan G.A. et al. Alterations in cadherin and catenin expression during the biological progression of melanocytic tumours. *Mol Pathol* 1999;52(3):151–7. DOI: 10.1136/mp.52.3.151.
10. Kreizenbeck G.M., Berger A.J., Subtil A. et al. Prognostic significance of cadherin-based adhesion molecules in cutaneous malignant melanoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17(4):949–58. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-2729.
11. Micalizzi D.S., Farabaugh S.M., Heide L.F. Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer: Parallels Between Normal Development and Tumor Progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2020;15(2):117–34. DOI: 10.1007/s10911-010-9178-9.
12. Lamouille S., Xu J., Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014;15(3):178–96. DOI: 10.1038/nrm3758.
13. Sistigu A., Di Modugno F., Manic G., Nisticò P. Deciphering the loop of epithelial-mesenchymal transition, inflammatory cytokines and cancer immunoediting. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2017;36:67–77. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2017.05.008.
14. Marcucci F., Stassi G., De Maria R. Epithelial-mesenchymal transition: a new target in anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2016;15:311–25. DOI: 10.1038/nrd.2015.13.
15. Moriyama M., Osawa M., Mak S.S. et al. Notch signaling via Hes1 transcription factor maintains survival of melanoblasts and melanocyte stem cells. *J Cell Biol* 2006;173:333–9. DOI: 10.1083/jcb.200509084.
16. Чулкова С.В., Маркина И.Г., Чернышева О.А. и др. Роль стволовых опухолевых клеток в развитии лекарственной резистентности меланомы. *Российский биотерапевтический журнал* 2019;18(2):6–14. DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-2-6-14. [Chulkova S.V., Markina I.G., Chernysheva O.A. et al. The role of stem tumor cells in the development of drug resistance of melanoma. *Rossiyskiy*

- bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2019;18(2):6–14. (In Russ.).
17. Kaushik G., Venugopal A., Ramamoorthy P. et al. Honokiol inhibits melanoma stem cells by targeting notch signaling. *Mol Carcinog* 2015;54(12):1710–21. DOI: 10.1002/mc.22242.
 18. Hsu M.Y., Meier F.E., Nesbit M. et al. E-cadherin expression in melanoma cells restores keratinocyte-mediated growth control and down-regulates expression of invasion-related adhesion receptors. *Am J Pathol* 2000;156(5):1515–25. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)65023-7.
 19. Li G., Satyamoorthy K., Herlyn M. N-cadherin-mediated intercellular interactions promote survival and migration of melanoma cells. *Cancer Res* 2001; 61(9):3819–25. PMID: 11325858.
 20. Kim J.E., Leung E., Baguley B.C., Finlay G.J. Heterogeneity of expression of epithelial-mesenchymal transition markers in melanocytes and melanoma cell lines. *Front Genet* 2013;4:97. DOI: 10.3389/fgene.2013.00097.
 21. Mikesh L.M., Kumar M., Erdag G. et al. Evaluation of molecular markers of mesenchymal phenotype in melanoma. *Melanoma Res* 2010;20(6):485–95. DOI: 10.1097/CMR.0b013e32833fab4.
 22. Barrallo-Gimeno A., Nieto M.A. The SNAIL genes as inducers of cell movement and survival: implications in development and cancer. *Development* 2005;132(14):3151–61. DOI: 10.1242/dev.01907.
 23. Sakamoto K., Imanishi Y., Tomita T. et al. Overexpression of SIP1 and down-regulation of E-cadherin predict delayed neck metastasis in stage I/II oral tongue squamous cell carcinoma after partial glossectomy. *Ann Surg Oncol* 2012;19(2):612–9. DOI: 10.1245/s10434-011-2052-1.
 24. Hazan R.B., Phillips G.R., Qiao R.F. et al. Exogenous expression of N-cadherin in breast cancer cells induces cell migration, invasion, and metastasis. *J Cell Biol* 2000;148(4):779–90. DOI: 10.1083/jcb.148.4.779.
 25. Sylve R., Karayiannakis A.J., Syrigos K.N. et al. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. *J Pathol* 1998;186(4): 350–5. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199812)186:4<350::AID-PATH181>3.0.CO;2-K.
 26. Valencak J., Kittler H., Schmid K. et al. Prognostic relevance of hypoxia inducible factor-1 α expression in patients with melanoma. *Clin Exp Dermatol* 2009;34(8):e962–4. DOI: 10.1111/j.1365-2230.2009.03706.x.
 27. Massoumi R., Kuphal S., Hellerbrand C. et al. Down-regulation of CYLD expression by SNAIL promotes tumor progression in malignant melanoma. *J Exp Med* 2009;206(1):221–32. DOI: 10.1084/jem.20082044.
 28. Mitchell B., Leone D.A., Feller J.K. et al. BRAF and epithelial-mesenchymal transition in primary cutaneous melanoma: a role for SNAIL and E-cadherin? *Hum Pathol* 2016;52:19–27. DOI: 10.1016/j.humpath.2015.12.030.
 29. Guo Q., Zhao Y., Chen J. et al. BRAF-activated long non-coding RNA contributes to colorectal cancer migration by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Oncol Lett* 2014;8(2):869–75. DOI: 10.3892/ol.2014.2154.
 30. Tucci M.G., Lucarini G., Brancorsini D. et al. Involvement of E-cadherin, β -catenin, Cdc42 and CXCR4 in the progression and prognosis of cutaneous melanoma. *Br J Dermatol* 2007;157(6):1212–6. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2007.08246.x.
 31. Bachmann I.M., Straume O., Puntervoll H.E. et al. Importance of P-cadherin, β -catenin, and Wnt5a/frizzled for progression of melanocytic tumors and prognosis in cutaneous melanoma. *Clin Cancer Res* 2005;11(24 Pt 1):8606–14. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0011.
 32. Yan Sh., Holderness B.M., Li Zh. et al. Epithelial-Mesenchymal Expression Phenotype of Primary Melanoma and Matched Metastases and Relationship with Overall Survival. *Anticancer Res* 2016;36(12):6449–56. DOI: 10.21873/anticancer.11243. PMID: 27919967.
 33. Nishizawa A., Nakanishi Y., Yoshimura K. et al. Clinicopathologic significance of dysadherin expression in cutaneous malignant melanoma: immunohistochemical analysis of 115 patients. *Cancer* 2005;103(8):1693–700. DOI: 10.1002/cncr.20984.
 34. Чулкова С.В., Маркина И.Г., Антипова А.С. и др. Роль стволовых опухолевых клеток в канцерогенезе и прогнозе меланомы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии* 2018;18(4):100–6. [Chulkova S.V., Markina I.G., Antipova A.S. et al. Role of stem tumor cells in carcinogenesis and prognosis of melanoma. *Vestnik Rossiyskogo nauchnogo centra rentgenoradiologii* = Bulletin of the Russian scientific center of roentgenology and radiology 2018;18(4):100–6. (In Russ.).]
 35. Ding Q., Miyazaki Y., Tsukasa K. et al. CD133 facilitates epithelial-mesenchymal transition through interaction with the ERK pathway in pancreatic cancer metastasis. *Mol Cancer* 2014; 13:15. DOI: 10.1186/1476-4598-13-15.
 36. Moon Y., Kim D., Sohn H., Lim W. Effect of CD133 overexpression on the epithelial-to-mesenchymal transition in oral cancer cell lines. *Clin Exp Metastasis* 2016;33(5):487–96. DOI: 10.1007/s10585-016-9793-y.
 37. Lo J.F., Yu C.C., Chiou S.H. et al. The epithelial-mesenchymal transition mediator S100A4 maintains cancer-initiating cells in head and neck cancers. *Cancer Res* 2011;71(5):1912–23. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2350.
 38. Morel A.P., Lièvre M., Thomas C. et al. Generation of breast cancer stem cells through epithelial-mesenchymal transition. *PLoS One* 2008;3(8):e2888. DOI: 10.1371/journal.pone.0002888.
 39. Mani S.A., Guo W., Liao M.J. et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008;133(4):704–15. DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.027.
 40. Kumar D., Kumar S., Gorain M. et al. Notch1-MAPK signaling axis regulates CD133⁺ cancer stem cell-mediated melanoma growth and angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2016;136(12):2462–74. DOI: 10.1016/j.jid.2016.07.024.
 41. Yao J., Caballero O.L., Huang Y. et al. Altered expression and splicing of ESRP1 in malignant melanoma correlates with epithelial-mesenchymal status and tumor-associated immune cytolytic activity. *Cancer Immunol Res* 2016;4(6):552–61. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-15-0255.
 42. Richard G., Puisieux A., Caramel J. Antagonistic functions of EMT-inducers in melanoma development: implications for cancer cell plasticity. *Cancer Cell Microenviron* 2014;1(1):e61. DOI: 10.14800/ccm.61.
 43. Wels C., Joshi S., Koefinger P. et al. Transcriptional activation of ZEB1 by Slug leads to cooperative regulation of the epithelial-mesenchymal transition-like phenotype in melanoma. *J Invest Dermatol* 2011;131(9):1877–85. DOI: 10.1038/jid.2011.142.
 44. Zhao F., He X., Wang Y. et al. Decrease of ZEB1 expression inhibits the B16F10 cancer stem-like properties. *Biosci Trends* 2015;9(5):325–34. DOI: 10.5582/bst.2015.01106.
 45. Asnaghi L., Gezgini G., Tripathy A. et al. EMT-associated factors promote invasive properties of uveal melanoma cells. *Mol Vis* 2015;21:919–29. PMID: 26321866.
 46. Perrot C.Y., Gilbert C., Marsaud V. et al. GLI2 cooperates with ZEB1 for transcriptional repression of CDH1 expression in human melanoma cells. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013;26(6): 861–73. DOI: 10.1111/pcmr.12149.
 47. Hui C.C., Angers S. Gli proteins in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2011;27:513–37.

- DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154048.
48. Denecker G., Vandamme N., Akay O. et al. Identification of a ZEB2-MITF-ZEB1 transcriptional network that controls melanogenesis and melanoma progression. *Cell Death Differ* 2014;21(8):1250–61. DOI: 10.1038/cdd.2014.44.
 49. Tian L., Li L., Xing W. et al. IRGM1 enhances B16 melanoma cell metastasis through PI3K-Rac1 mediated epithelial mesenchymal transition. *Sci Rep* 2015;5:12357. DOI: 10.1038/srep12357.
 50. Taddei M.L., Giannoni E., Morandi A. et al. Mesenchymal to amoeboid transition is associated with stem-like features of melanoma cells. *Cell Commun Signal* 2014;12:24. DOI: 10.1186/1478-811X-12-24.
 51. Schlegel N.C., von Planta A., Widmer D.S. et al. PI3K signalling is required for a TGF β -induced epithelial-mesenchymal-like transition (EMT-like) in human melanoma cells. *Exp Dermatol* 2015;24(1):22–8. DOI: 10.1371/journal.pone.0049419.
 52. Cantelli G., Orgaz J.L., Rodriguez-Hernandez I. et al. TGF- β -induced transcription sustains amoeboid melanoma migration and dissemination. *Curr Biol* 2015;25(22):2899–914. DOI: 10.1016/j.cub.2015.09.054.
 53. Peppicelli S., Bianchini F., Torre E., Calorini L. Contribution of acidic melanoma cells undergoing epithelial-to-mesenchymal transition to aggressiveness of non-acidic melanoma cells. *Clin Exp Metastasis* 2014;31(4):423–33. DOI: 10.1007/s10585-014-9637-6.

Вклад авторов

С.В. Чулкова: идея, анализ публикаций, написание статьи;
 Д.А. Рябчиков, И.В. Савченко: перевод публикаций, дизайн, оформление статьи;
 И.А. Дудина, А.В. Егорова: анализ рукописи, оформление статьи;
 И.А. Гладилина, Н.Н. Тупицын: анализ рукописи.

Authors' contributions

S.V. Chulkova: idea, analysis of publications, writing an article;
 D.A. Ryabchikov, I.V. Savchenko: translation of publications, design, article formatting;
 I.A. Dudina, A.V. Egorova: analysis of the manuscript, article design;
 I.A. Gladilina, N.N. Tupitsyn: analysis of the manuscript.

ORCID авторов/ ORCID of authors

С.В. Чулкова / S.V. Chulkova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>
 Д.А. Рябчиков / D.A. Ryabchikov: <https://orcid.org/0000-0003-2670-236>
 И.А. Дудина / I.A. Dudina: <https://orcid.org/0000-0001-6410-7120>
 И.В. Савченко / I.V. Savchenko: <https://orcid.org/0000-0003-2142-661X>
 А.В. Егорова / A.V. Egorova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>
 И.А. Гладилина / I.A. Gladilina: <https://orcid.org/0000-0002-2481-0791>
 Н.Н. Тупицын / N.N. Tupitsyn: <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 17.07.2020. Принята к публикации: 02.10.2020.

Article submitted: 17.07.2020. Accepted for publication: 02.10.2020.