

УДК 577.218
©Коллектив авторов

HEDGEHOG-СИГНАЛИНГ И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕЙРООНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

С.А. Черепанов^{1*}, В.П. Баклаушев^{1,2}, А.Н. Габашивили¹,
И.И. Шепелева¹, В.П. Чехонин^{1,2}

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет
имени Н.И. Пирогова, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1;
эл. почта: cherep-rsmu@yandex.ru

²Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии
имени В.П. Сербского, 119991, Москва, Кропоткинский пер., д.23

Проанализированы современные представления о механизмах функционирования сигнального пути Hedgehog (НН) и его влиянии на клеточные процессы в нормальном эмбриогенезе и при нейроонкологических заболеваниях, особенно в развитии глиом высокой степени злокачественности. Охарактеризованы основные белки, образующие данный сигнальный путь. Приведены современные данные о влиянии пути НН на процессы пролиферации, миграционной активности и инвазивности, опухолевого неогенеза и приобретения опухолевыми клетками химиорезистентности. Отдельно рассмотрена роль белков пути НН в процессе эпителиально-мезенхимального перехода и при возникновении и поддержании опухолевых стволовых клеток. Показаны перспективы создания новых противоопухолевых препаратов на основе ингибиторов сигнального пути НН.

Ключевые слова: мультиформная глиобластома, сигнальный путь Hedgehog, полипептид Shh, транскрипционные факторы GLI.

DOI: 10.18097/PBMC20156103332

ВВЕДЕНИЕ

Мультиформная глиобластома – самая злокачественная из первичных нейроэпителиальных опухолей головного мозга. Средняя продолжительность жизни после постановки диагноза мультиформной глиобластомы не превышает 12-15 месяцев. Существующие методы терапии, такие как резекция опухоли, химиотерапия и радиотерапия малоэффективны. Для разработки более эффективных и специфичных методов терапии необходимо ясное понимание конкретных механизмов онкогенеза, поиск конкретных мишеней среди белков сигнальных путей, вовлеченных в онкогенез. Почти все сигнальные пути, принимающие участие в эмбриональном развитии, регуляции пролиферации и миграции, так или иначе, задействованы в глиомогенезе. Большое количество исследований посвящено проонкогенным свойствам таких путей, как PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/Akt (протеинкиназа, относящаяся к семейству протеинкиназ B), MAPK (митоген-активируемая протеинкиназа)/ERK (киназа, регулируемая внеклеточным сигналом), PLC (фосфолипаза C)/PKC

(протеинкиназа C), WNT (комбинация Wingless (бескрылый) и Int), Notch1 (трансмембранный рецепторный белок человека), mTOR (mammalian target of rapamycin, серин-треониновая протеинкиназа) и некоторым другим [1]. Относительно недавно появились исследования, показывающие возможное вовлечение в онкогенез вообще и в глиомогенез в частности сигнального пути НН [2, 3]. Название этого сигнального пути происходит от одноименного полипептида Hedgehog, ген которого, впервые обнаруженный у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, участвует в регуляции процессов эмбрио- и морфогенеза [4, 5]. В дальнейшем гены, кодирующие полипептид Hedgehog (Hh), были описаны и у позвоночных. У млекопитающих обнаружены три гомолога полипептида Hedgehog: Desert (Dhh), Indian (Ihh) и Sonic (Shh). Dhh – ближайший гомолог полипептиду Hh дрозофилы. Все они играют роль в процессах развития организма, но наиболее изученным на сегодняшний день является полипептид и одноименный путь Sonic Hedgehog (Shh) [6]. Shh-сигналинг играет важную роль в процессе

* - адресат для переписки

нормального эмбриогенеза. У мышей с нокаутом генов, кодирующих белки пути Shh, отмечалось нарушение развития головного мозга, скелета, мускулатуры, пищеварительного тракта и лёгких [7-9].

Классический НН-сигналинг инициируется, когда растворимые лиганды Shh, Dhh или Ihh связываются с трансмембранным рецептором Patched (PTCH) в результате чего выключается его ингибирующее влияние на трансмембранный рецептор Smoothened (SMO), который в свою очередь активирует семейство транскрипционных факторов GLI (ассоциированный с глиомой онкоген) (GLI1, GLI2 и GLI3), регулирующих экспрессию генов, кодирующих белки пути НН (рис. 1) [4].

Интерес нейроонкологов к пути НН (Shh) обусловлен, прежде всего, тем, что ингибирование НН-сигналинга с помощью селективного алкалоида циклопамина уменьшает степень инвазивности глиобластомы и инактивирует субпопуляцию стволоподобных клеток глиобластомы, с которой связывают развитие рецидивов и продолженного роста опухоли [10]. Таким образом, модулирование активности этого пути с помощью специфических ингибиторов, поиск которых в настоящее время активно проводится различными фармацевтическими компаниями, может способствовать созданию новых средств терапии активно рецидивирующих глиом [2].

Цель данного обзора – охарактеризовать ключевые компоненты и механизмы функционирования пути НН в аспекте их участия в развитии глиальных опухолей.

1. РЕГУЛЯЦИЯ ПУТИ HEDGEHOG

1.1. Белки, образующие путь HEDGEHOG

Полипептид Sonic Hedgehog (Shh) – хорошо известный пара- и аутокринный лиганд позвоночных [4]. В нормальном диапазоне концентраций он поддерживает деление стволовых клеток, а повышение его концентрации приводит к aberrантной пролиферации стволовых клеток с последующей их трансформацией в опухолевые стволовые клетки, что в дальнейшем способствует развитию онкологических заболеваний головного мозга, молочных желез, лёгких, простаты, кожи [4, 5, 11]. Предшественник Shh – пропептид (46 кДа), проявляющий аутокаталитическую активность, – расщепляется с образованием N-концевого Shh (19 кДа) и C-концевого Shh (27 кДа), роль последнего неизвестна [12]. Перед секрецией Shh подвергается модификации, в результате которой к С-концу присоединяется молекула холестерина [13]. При паракринной регуляции необходимо взаимодействие Shh с белком PTCH1 (transmembrane

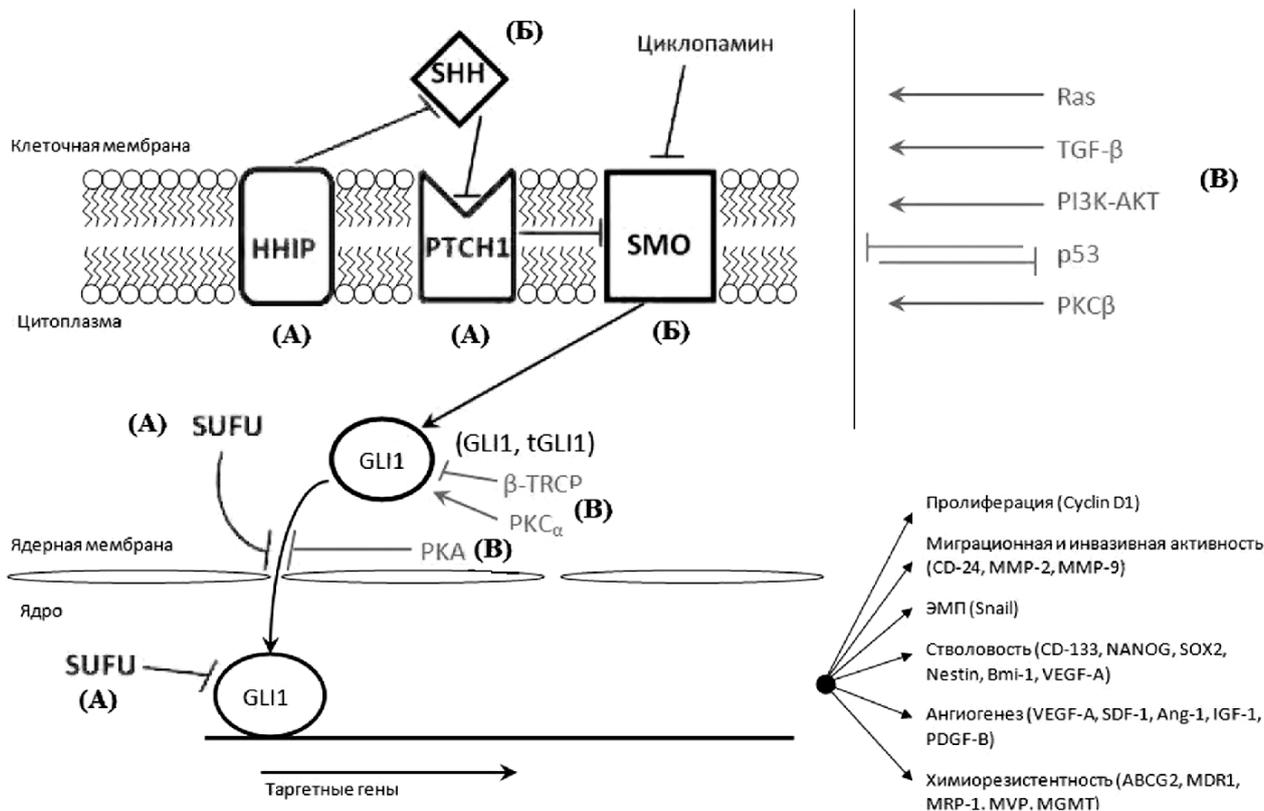


Рисунок 1. Схема функционирования основных компонентов сигнального пути НН. Буквой (А) обозначены факторы, препятствующие эффекту сигнального пути, (Б) - активаторы сигнального пути. Буквой (В) обозначены соединения других сигнальных путей, принимающих участие в регуляции пути НН. → обозначено активирующее влияние, ⊥ обозначено ингибирующее влияние. ЭМП - эпителиально-мезенхимальный переход.

protein patched, 12-трансмембранный рецептор, локализация кодирующего его гена: 9q22.3). В отсутствие Shh, PTCH1 ингибирует действие рецептора SMO (Smoothed, рецептор, сопряженный с G-белками, кодирующий его ген локализован на 7p32.3). Предполагается, что PTCH1 “накачивает” 3 β -гидроксистероид, провитамин D₃, которые связывают SMO, приводя к ингибированию последнего. При этом провитамин D₃ является более мощным ингибитором SMO, чем циклопамин (широко применяемый ингибитор SMO, обладающий тератогенными свойствами) [14].

Если Shh взаимодействует с PTCH1, то рецептор PTCH1 теряет возможность ингибировать рецептор SMO, в результате чего SMO находится в активном состоянии. После этого SMO активирует факторы транскрипции GLI, принадлежащие семейству белков, содержащих, так называемые “цинковые пальцы”: GLI1/GLI2 – активаторы и GLI3 – репрессор [2].

Если SMO функционирует как онкоген и в большинстве клеточных линий медуллобластомы, астроцитомы и в первичных образцах наблюдается высокая экспрессия мРНК SMO, то PTCH1 является геном опухолевой супрессии в сигнальном пути HH [4, 15]. Кроме того PTCH1 является геном-мишенью для факторов транскрипции GLI, которые изменяют экспрессию мРНК PTCH1, что наблюдалось в 50% клеточных линий медуллобластомы и астроцитомы [15-17].

HHIP – (Hedgehog interacting protein) – гликопротеин (ген *Hhip* локализован на 4q31.21 - 31.3), являющийся эндогенным антагонистом для Shh, Ihh, Dhh [18]. В результате их ингибирования не происходит ингибирование PTCH1, действие рецептора SMO тормозится, и путь находится в неактивном состоянии. В клеточных линиях и в первичных образцах астроцитомы и медуллобластомы отмечается низкий уровень экспрессии мРНК *Hhip*, в сравнении с нормальными клетками [19].

SUFU – (Suppressor of fused) – негативный регулятор пути HH (ген локализован на 10q24.3). Он препятствует транспорту факторов транскрипции GLI через цитоплазму в ядро, в результате чего факторы GLI не взаимодействуют с генами-мишенями и не изменяют уровень их экспрессии [4]. Известно несколько вариантов сплайсинга SUFU, участвующих в регуляции пути HH [20]. Мутации в *SUFU* (как и отсутствие самого SUFU) предрасполагают к развитию медуллобластомы, [21]. В клеточных линиях и первичных образцах астроцитомы, медуллобластомы уровень мРНК *SUFU*, ниже, чем в сравнении в нормальных клетках [4].

Ген *GLII* человека (ассоциированный с глиомой онкоген) был впервые обнаружен в 1987 году в линии человеческой глиобластомы D259MG. Локализация гена – 12 хромосома (12q13.3-14.1) [22, 23]. Ген состоит из 3318 пар нуклеотидов, кодирующих белок GLI1 с массой 150 кДа. Транскрипционный фактор GLI1 содержит пять последовательно расположенных цинковых пальцев; 2-5 цинковые пальцы могут связываться с 5'-GACCACCA-3'

последовательностью ДНК генов-мишеней [24]. GLI1 – наиболее изученный транскрипционный фактор пути HH, регулирующий экспрессию множества генов. GLI2 и GLI3 также участвуют в регуляции экспрессии генов. Мутации, приводящие к нарушению структуры цинковых пальцев, инактивируют действие факторов транскрипции GLI, что по сути выключает сигнальный путь HH. Высокая экспрессия гена *GLII* отмечается не только в опухолях головного мозга, но и в опухолях кожи [2].

В 2008 году был открыт вариант сплайсинга GLI1, кодирующий белок GLI1ΔN, лишённый 128 N-концевых аминокислотных остатков (а.о.) (см. рис. 2). У данной изоформы отсутствует SUFU-связывающий домен, и, следовательно, SUFU не должен препятствовать проникновению GLI1ΔN в ядро. Однако, вопреки ожиданию об активном функционировании этой изоформы, GLI1ΔN характеризуется сниженной способностью перемещаться в ядро и влиять на транскрипцию генов-мишеней. GLI1ΔN обнаруживается как в обычных, так и в опухолевых клеточных линиях [25]; при этом GLI1ΔN не обнаружен в наиболее изученной линии клеток глиобластомы человека U87MG [26].

В 2009 г. был открыт белок tGLI1, образующийся в результате альтернативного сплайсинга РНК *GLII* (см. рис. 2) [26]. В отличие от GLI1, в tGLI1 отсутствует 41 а.о., а в самом белке присутствуют все известные функциональные домены белка GLI1: домен с цинковыми пальцами, домен трансактивации, NLS-домен (сигнал ядерной локализации, от англ. Nuclear Localization Signal), SUFU-связывающий домен, домены, связанные с деградацией. tGLI1 сохраняет способность перемещаться в ядро и регулировать экспрессию целевых генов [26]. tGLI1 экспрессирован в клеточных линиях и первичных образцах мультиформной глиобластомы и почти не обнаруживается в нормальных тканях мозга и других органов [26, 27].

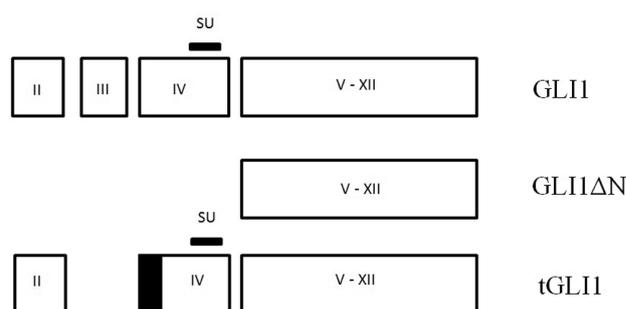


Рисунок 2. Структура человеческого гена *GLII* и его сплайсинговые варианты. Ген *GLII* состоит из 12 экзонов (обозначены прямоугольниками), включая нетранслируемый первый экзон. В кодировании GLI1 участвуют экзоны со второго по двенадцатый. В кодировании GLI1ΔN не принимают участие экзоны со второго по четвертый, в результате чего у белка отсутствуют 128 а.о. При кодировании tGLI1 не используются третий и часть четвертого экзонов (выделено чёрным цветом), что приводит к отсутствию 41 а.о. по сравнению с GLI1. SU - SUFU-связывающий домен.

Поскольку молекулярная масса двух изоформ *GLI1* и *tGLI1* составляет 150 и 146 кДа соответственно, различить две изоформы с помощью иммуноблоттинга довольно сложно. Существующие антитела связываются как с *GLI1*, так и с *tGLI1* [26, 27]. Вероятно, из-за этих технических ограничений в течение более чем 20 лет исследований пути НН не был открыт белок *tGLI1*. В свете новых данных становится понятным, что часть известных функций *GLI1* может на самом деле принадлежать транскрипционному фактору *tGLI1* [28]. Современные методы ПЦР в комплексе с гель-электрофорезом позволяют точно отличить данные изоформы между собой.

1.2. Регуляция *GLI*, не связанная с сигнальным путём *HEDGEHOG*

Хотя сигнальный путь НН является первичным механизмом регуляции *GLI1*, имеются данные о том, что транскрипционный фактор *GLI1* может регулироваться другими сигнальными путями [29-36]. Например, было показано стимулирующее влияние белка *Ras* (семейство малых впервые обнаруженных у крыс с саркомой G-белков) на проникновение *GLI1* в ядро [29-31]. *GLI1* взаимодействует с опухолевым супрессором *p53*, подавляя его экспрессию, а *p53* оказывает аналогичное воздействие на данный транскрипционный фактор [32]. Стимулирующий эффект на *GLI1* оказывают сигнальные пути *TGF-β-Smad* (*TGF* – трансформирующий фактор роста, *Smad* – гомолог белков *Sma* (от *small* – малый) и *MAD* (*mothers against decapentaplegic*)), *PI3K-AKT* и протеинкиназы *Ca* (*PKCα*) [31, 33, 34]. Протеинкиназа *Caδ* (*PKCδ*) и протеинкиназа *A* (*PKA*) служат негативными регуляторами *GLI1* [34, 35]. Ингибирующий эффект *PKA* обусловлен удержанием *GLI1* в цитоплазме и торможением проникновения последнего в ядро [35]. В процессах деградации и ацетилирования *GLI1* принимает участие отдельный механизм, включающий *β-TRCP* (*beta-transducin repeat containing protein*), *cul3* (*cullin3*)/*BTP* (2,6-бис(1,2,3-триазол-4-ил)пиримидин) [2]. *β-TRCP E3* лигаза может модифицировать транскрипционный фактор *GLI3* из онкогена в супрессор пути НН. Вышеупомянутый *SUFU* (см. раздел 1.1.) не только препятствует транспорту *GLI1* в ядро, но и ингибирует активность *GLI1* как транскрипционного фактора [2]. Интерактом белков пути НН пересекается с сигнальным путём *Notch* [36].

1.3. Заболевания, связанные с мутациями в генах сигнального пути *HEDGEHOG*

Мутация в гене *Shh* приводит к врождённому пороку центральной нервной системы – голопрозэнцефалии у новорожденных, при которой отсутствует конечный мозг, разделенный на полушария [37, 38].

Синтезированный полипептид *Shh* подвергается расщеплению и модификации холестерином (см. раздел 1.1.). Дефекты в процессах биосинтеза

холестерина лежат в основе синдрома Смит-Лемли-Опица – аутосомно-рецессивного заболевания, основными проявлениями которого являются: микроцефалия, аутизм, пороки сердца, пониженный мышечный тонус, птоз, синдактилия, полидактилия, крипторхизм. Дополнительные нарушения в сигнальном пути могут приводить к более тяжёлым формам заболевания [39, 40].

Мутации в генах *PTCH1*, *PTCH2*, *SMO* обнаруживаются при базально-клеточной карциноме и медуллобластоме [41]. Мутации, инактивирующие *PTCH1*, приводят к трихоэпителиоме, плоскоклеточному раку пищевода, карциноме мочевого пузыря и синдрому Горлина или множественной эндокринной неоплазии [42].

Гиперэкспрессия *GLI1* отмечается при глиомах, рабдомиосаркоме, остеосаркоме, В-клеточной лимфоме, базально-клеточной карциноме. Степень экспрессии *GLI1* коррелирует со степенью злокачественности опухоли при саркомах [22, 42, 43].

Мутации в гене человека *GLI3* причастны к развитию врожденных дефектов: синдрому цефалополисиндактилии Грейга, синдрому Паллистера-Холла, постаксиальной полидактилии типов А, В, преаксиальной полидактилии четвёртого типа [42, 44, 45]. Мутации в *SUFU* способствуют развитию медуллобластомы [21].

2. ИЗМЕНЕНИЯ СИГНАЛЬНОГО ПУТИ *HEDGEHOG* ПРИ ГЛИОМАХ

В отличие от медуллобластом, выделенных в отдельную молекулярную подгруппу, в которой развитие опухоли обусловлено мутациями в генах *SUFU*, *PTCH1*, *SMO* и амплификации *GLI1* и *GLI2* [41], роль НН-сигналинга при глиомах не столь очевидна. Среди генетических нарушений компонентов пути НН при глиомах достоверно показана только амплификация гена *GLI1*, наблюдающаяся в небольшом количестве клинических случаев [3, 46, 47].

Об активной роли сигнального пути НН можно судить по экспериментам с ингибитором *SMO* циклопамином, который уменьшает экспрессию *GLI1* во многих клеточных линиях, в том числе *U87MG*, *U251*, *SHG-44*. При этом в опухолевых клетках наблюдается индукция апоптоза [46], уменьшение их миграционной активности и способностей инвазии [48, 49]. Ингибирование клеточного роста циклопамином зависит от дозы и времени культивирования клеток с препаратом [48]. Аналогичные эксперименты, проведённые с клеточной линией человеческой глиобластомы *A172*, у которой изначально отсутствовала экспрессия *GLI1* и *Shh*, не приводили к уменьшению жизнеспособности, ингибированию клеточного роста, миграционной и инвазивной способностям [48-50]. Всё это свидетельствует о том, что в диапазоне исследуемых концентраций (2,5 мкМ – 10 мкМ) циклопамин действует как ингибитор сигнального пути, а не как цитостатический препарат [48, 50].

В ряде работ наличие GLI1 в первичных образцах глиом оценивали иммуногистохимическими методами или с помощью электрофореза в агарозном геле [15]. С помощью иммуногистохимических методов было показано, что количество GLI1 позитивных клеток при глиомах четвертой степени злокачественности выше, чем при глиомах третьей степени [48]. Активность GLI1 было предложено оценивать по его ядерной локализации [48, 50]. Более надежной является методика количественной ПЦР в реальном времени, однако с её помощью получены довольно неоднозначные данные об уровне экспрессии *GLI1* в первичных образцах глиом. С одной стороны, отмечается гиперэкспрессия *GLI1* при глиомах III и IV степени злокачественности [50]. С другой стороны, есть данные, что уровень экспрессии *GLI1* в глиобластомах не превышает уровня в контрольных образцах, полученных из височной доли пациентов с эпилепсией [51]. Вместе с тем, в литературе неоднократно отмечается повышение уровня экспрессии *GLI1* в большинстве клеточных линий глиобластом и низкий уровень экспрессии *GLI1*, сопоставимый с контрольным в клеточных линиях, полученных из первичных образцов опухолей [15, 50, 52]. Некоторые авторы утверждают, что при глиобластомах сигнальный путь HH находится в инактивированном состоянии, в отличие от образцов глиомы второй и третьей степени злокачественности, то есть олигодендроглиом, астроцитом и анапластических астроцитом. По некоторым данным, активации этого сигнального пути происходит при рецидивирующих глиобластомах [51]. Например, гиперэкспрессия *GLI1* отмечается при рецидивах, возникающих после курса химиотерапии [53].

Предполагается, что среди гетерогенной популяции глиобластом существуют HH-зависимые и HH-независимые опухоли. Первые характеризуются высокой активностью Notch и PDGFR (рецептор тромбоцитарного фактора роста), в то время как для HH-независимых глиобластом показано уменьшение уровня PTEN (phosphatase and tensin homolog, фосфатаза с двойной субстратной специфичностью) и повышением активности сигнального пути PI3K-AKT [54]. Отсутствие экспрессии *GLI1* может объясняться наличием HH-независимых глиобластом [54]. Потерю PTEN и увеличение активности сигнального пути PI3K-AKT связывают с наиболее злокачественными и инвазивными глиобластомами и наименее благоприятным прогнозом [55].

Активность сигнального пути HH и экспрессия *Shh* и *GLI1* значительно выше в PTEN-экспрессирующих глиобластомах, в то время как уровень PTCH1 в них ниже. Таким образом, активный путь HH встречается при PTEN-позитивных глиобластомах. В случае, если экспрессия PTEN потеряна из-за генетических повреждений, то активированы альтернативные сигнальные пути, включая PI3K-AKT-mTOR, что может приводить к выключению сигнального пути HH [54].

При первичных глиобластомах не обнаружено изменений в экспрессии *PTCH1*, ген которого служит мишенью для транскрипционного фактора GLI1 [15, 51]. При глиомах первой, второй и третьей степени злокачественности обнаружено повышение уровня экспрессии *PTCH1* в 2, 6 и 9 раз соответственно. Более 87% PTCH1-позитивных клеток были Vmi-1-позитивными (V cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1), что говорит о том, что PTCH1 может быть маркером прогениторных клеток глиом [51]. Понижение экспрессии *PTCH1* отмечается в клеточных линиях глиобластомы и медуллобластомы [15].

Другой группой авторов отмечается неоднозначность результатов, полученных с помощью популярных иммунофлуоресцентных методов и количественного ПЦР в реальном времени [56]. В качестве оптимального метода оценки активности транскрипционного фактора GLI1 в культурах клеток предлагается использовать репортерный ген люциферазы. Ими было обнаружено отсутствие корреляции между экспрессией *GLI1* и активностью репортерного гена. При этом, в культуре глиобластомы T98 репортерная активность была наивысшей, а экспрессия *GLI1* была невысокой и сопоставимой с экспрессией в клеточных линиях, полученных из первичных образцов, и ниже, чем в линии U87MG. Причина данного несоответствия может заключаться в пострансляционном ингибировании GLI1 изоформы, что требует дополнительного изучения. К тому же, следует иметь в виду, что высокий уровень экспрессии *GLI1* совсем не означает высокую активность пути HH [56].

В эксперименте по культивированию клеток мышиной PDGF-индуцированной глиомы на ростовой среде с сывороткой, работу GLI1 и GLI2 анализировали по репортерной активности люциферазы [57]. При инкубации клеток с Shh люциферазная активность не повышалась, что было расценено авторами как инактивированное состояние сигнального пути HH. С другой стороны, клетки, образующие нейросферы, выращенные в присутствии эпидермального ростового фактора и основного фактора роста фибробластов, имели высокую активность GLI1 и GLI2 [57]. Таким образом, культивирование клеток на среде с сывороткой может приводить к инактивации пути HH [50, 51, 57]. Аналогичные данные получены и для клеток медуллобластомы, теряющих GLI1 активность в экспериментах *in vitro* [58].

В CD133-позитивных клетках и туморосферах HH-сигналинг находится в активном состоянии, увеличен синтез Shh, повышен уровень SMO [50, 59]. Использование циклопана и ингибиторов HH-сигналинга ведёт к уменьшению сферообразования, уменьшению пролиферации клеток и уменьшению уровня GLI1 [50, 60, 61]. При этом дополнительное добавление лиганда Shh приводило к увеличению сферообразования, экспрессии SMO, GLI1 и GLI2 [60, 62].

Всё это свидетельствует о роли HH-сигналинга в формировании стволовых опухолевых клеток и туморогенезе при мультиформной глиобластоме.

В экспериментах на мышах с PDGF-индуцированной глиомой было показано, что Shh обнаруживается преимущественно в астроцитах и эндотелиальных клетках, окружающих опухоль [57]. При этом эндотелиальные клетки здорового зрелого мышинного мозга не экспрессируют *Shh*. Аналогичные данные были получены на образцах человеческой глиобластомы и олигодендроглиомы [3, 57]. Предполагается, что путём паракринной регуляции молекулами Shh клетки перитуморозного пространства влияют на активность сигнального пути в опухолевых клетках [3, 57]. Есть версии, что кроме эндотелиоцитов и астроцитов перитуморозного пространства источником лиганда Shh в опухоли могут быть нейрональные и неопластические клетки [50, 51, 53, 57, 60, 63]. При этом в остальных клетках глиомы Shh отсутствует или его количество снижено [64]. Однако существует и альтернативное предположение, что клетки глиомы могут и сами синтезировать Shh, независимо от экзогенной секреции [50].

О влиянии микроокружения на активацию сигнального пути свидетельствуют и следующие данные, полученные при совместном культивировании опухолевых стволовых клеток глиобластомы GL261 и эндотелиоцитов b.END3 [65, 66]. В этих условиях в эндотелиоцитах наблюдали увеличение экспрессии *Shh* и *GLII* и уменьшение экспрессии *Hhip*. Параллельно в культуре GL261 отмечено повышение числа CD133-позитивных клеток, увеличение способности клеток к сферообразованию, повышение экспрессии *GLII* и генов, ассоциированных со стволовостью. Аналогичные данные отмечаются при совместном культивировании клеток линии U251 с эндотелиоцитами HUVEC. Ингибирование сигнального пути HH как в эндотелиоцитах, так и в культурах глиобластом приводило к исчезновению эффектов [65, 66].

Таким образом, опухолевые клетки глиобластомы могут индуцировать синтез Shh в эндотелиоцитах, что в свою очередь приводит к активации пути HH в клетках глиобластомы. Возможно, влияние GL261 на эндотелиоциты осуществляется посредством VEGF (фактор роста эндотелия сосудов)-опосредованной стимуляции [65, 66].

2.1. Ингибирование и активация пути HEDGEHOG

В настоящее время обнаружено более 200 соединений, которые могут оказывать эффект на сигнальный путь HH [2, 67].

Среди веществ, проходящих клинические испытания, выделяют три типа ингибирования пути Shh [2, 67]:

- ингибирование полипептида Shh с помощью антител к полипептиду и химических соединений, например, роботникинина;

- ингибирование рецептора SMO при помощи циклопана и его производных (PI-926, СусТ), а также синтетических соединений (GDC-0449, XL-139/BMS833923, LY2940680 и др.);

- ингибирование транскрипционного фактора GLII при помощи HPI-1, HPI-2, GANT-56.

Отсутствие полного понимания молекулярных механизмов функционирования пути HH при развитии опухоли, побочные эффекты при терапевтических дозах, а также отсутствие стратегий по преодолению химиорезистентности препятствуют внедрению ингибиторов в клиническую практику [2, 67].

Искусственная активация пути HH возможна за счёт трансфекции онкогенов, принимающих участие в пути, либо за счёт ингибирования супрессоров сигнального пути HH [68].

3. ВЛИЯНИЕ ИЗОФОРМ GLII НА ФЕНОТИП ОПУХОЛИ

Гиперэкспрессия гена *GLII* отмечается при различных онкологических заболеваниях, таких как глиомы, гепатоцеллюлярная карцинома, аденокарцинома желудка, рак пищевода, рак молочной железы, меланома, рабдомиосаркома, аденокарцинома поджелудочной железы [26-28, 30, 69-71].

GLI1ΔN обнаруживаются как в обычных, так и в опухолевых клетках (за исключением линии клеток U87MG) [25]. Экспрессия *tGLII*, выраженная в клеточных линиях и первичных образцах мультиформной глиобластомы и рака молочной железы, практически отсутствует в нормальных клетках мозга и тканей других органов [26, 27].

tGLII и GLII могут оказывать разное влияние на регуляцию генов, определяющих опухолевый фенотип, ответственных за пролиферацию, миграционную и инвазивную активность, рост, ангиогенез, появление опухолевых стволовых клеток, химиорезистентность [28].

3.1. Пролиферация

GLII регулирует пролиферацию при эмбриональном развитии и онкологических заболеваниях. У мышей с мутацией в гене *Shh*, приводящей, в конечном счёте, к уменьшению уровня GLII, отмечается недоразвитость головного мозга. Инъекции мРНК *GLII* головастикам приводили к формированию гиперплазий по всей нервной трубке [72]. Голопрозэнцефалия новорождённых также связана с мутациями в гене *Shh* [42]. С другой стороны, использование циклопана или малых интерферирующих РНК к мРНК *GLII* приводило к уменьшению пролиферации и уменьшению размеров опухоли [73].

В экспериментах *in vivo* на мышах, увеличение экспрессии *GLII* в клетках эпидермиса сопровождалось гиперпролиферативными поражениями кожи [74]. Направленное увеличение экспрессии *GLII* в эпителиальных клетках молочных желёз мышей приводило к гиперплазии и развитию опухоли [75].

С другой стороны, использование малых интерферирующих РНК к *GLII* при воспалительном метастатическом раке молочных желез снижало пролиферацию и увеличивало апоптоз в ткани опухоли [76].

С открытием изоформы *tGLI1* было показано, что транскрипционный фактор *tGLI1* оказывает больший эффект на пролиферацию клеток рака молочных желез, нежели фактор *GLI1* [27]. В экспериментах с использованием клеток линии MDA-MB-231, трансфицированных плазмидными ДНК с *tGLII*, *GLII* и контрольной плазмидой, отмечено увеличение пролиферации клеток в случае с трансфекцией плазмиды *tGLII* по сравнению с контролем и плазмидой *GLII* [27].

В экспериментах с трансфекцией плазмидных ДНК *tGLII* и *GLII* в клетки линии U87 не было обнаружено различий во влиянии на пролиферацию в экспериментах *in vitro*, но таковые отличия наблюдались в экспериментах *in vivo*, что объясняется авторами дополнительным влиянием микроокружения [26, 28].

Изоформа *GLI1ΔN* не оказывала значительного влияния на пролиферацию клеток в экспериментах *in vitro* [25]. Возможность влияния *GLI1ΔN* на опухолевый рост в экспериментах *in vivo* не исследована [28].

3.2. Миграционная и инвазионная активность

Снижение экспрессии гена *GLII* при меланоме приводит к уменьшению клеточной миграции, инвазии, опухолевого роста и уменьшению количества метастазов в лёгких мышей [71]. На культурах клеток воспалительного метастатического рака молочной железы было показано, что увеличение экспрессии *GLII* приводит к увеличению миграционной активности клеток [76]. Ингибитор рецептора SMO циклопамин уменьшает способность клеток меланомы к формированию метастазов в лёгких и уменьшает инвазивность клеток рака простаты [31, 77]. Уровень экспрессии *GLII* позитивно коррелирует со стадией опухоли и лимфатическим статусом при раке молочной железы, и высокий уровень экспрессии *GLII* позволяет делать вывод о наименее благоприятном прогнозе [78].

С открытием изоформы *tGLI1* возник вопрос, какой из транскрипционных факторов в большей степени оказывает влияние на миграционную и инвазивную активность опухолевых клеток. Результаты двух исследований с использованием плазмидной трансфекции, показали, что для культуры клеток мультиформной глиобластомы U87MG и культуры клеток рака молочной железы MDA-MB-231 фактор *tGLI1* оказывает большее влияние на миграцию и инвазию чем *GLI1* [26, 27].

В работе с трансфекцией *tGLII* и *GLII* в клетки культуры U87MG было показано [26], что в клетках с повышенной экспрессией *tGLII* наблюдается значительное увеличение экспрессии 75 генов и менее выраженное увеличение экспрессии ещё 26 генов

по сравнению с клетками с повышенной экспрессией *GLII*, а также с контрольными клетками. Одним из таких дифференциально экспрессирующихся генов является ген, кодирующий белок CD24, который может влиять на молекулы клеточной адгезии и тем самым на процессы миграции, инвазии, метастазирования [26]. Для клеток культуры MDA-MB-231 аналогичные данные были получены для CD24, кроме того, в клетках с повышенной экспрессией *tGLII* была также обнаружена повышенная экспрессия генов, кодирующих матриксные металлопротеинкиназы MMP-2 и MMP-9, которые ассоциированы со способностью к инвазии [27].

3.3. Влияние на эпителиально-мезенхимальный переход

Помимо увеличенной способности к пролиферации, миграции и инвазивности для эпителиальных опухолей характерен так называемый эпителиально-мезенхимальный переход, в результате которого эпителиальные клетки меняют свой фенотип на мезенхимальный. При этом процессе наблюдается подавление экспрессии гена E-кадгерина, увеличение экспрессии гена виментина, генов транскрипционных факторов Snail и Twist, а также генов других мезенхимальных маркеров [79].

Есть данные, что *GLI1* может влиять на эпителиально-мезенхимальный переход, увеличивая экспрессию гена *Snail*, что, в свою очередь, приводит к уменьшению уровня E-кадгерина [74].

В экспериментах *in vivo* на мышах при имплантации эпителиальных клеток с плазмидной трансфекцией гена *GLII* отмечены гиперпролиферативные поражения кожи и увеличение уровня экспрессии гена транскрипционного фактора Snail [74]. При использовании циклопамина, ингибирующего *GLI1*, наблюдается уменьшение экспрессии гена *Snail* [80]. Влияние *tGLI1* на эпителиально-мезенхимальный переход изучено недостаточно.

3.4. Влияние на опухолевые стволовые клетки

В настоящее время всё чаще и чаще рассматривается тема опухолевых стволовых клеток [60]. Считается, что такие клетки контролируют развитие опухоли, обладают ограниченной способностью к делению и являются наиболее химиорезистентными клетками [60, 62]. Опухолевые стволовые клетки характеризуются наличием определенных маркеров, основным из которых считается CD133.

В клетках, полученных из мультиформной глиобластомы, была обнаружена экспрессия гена транскрипционного фактора NANOG, принимающего участие в регуляции самообновления стволовых клеток [81]. Эти клетки оказались способными к сферообразованию, что характерно только для недифференцированных клеток [81]. NANOG контролирует стволовость этих клеток, в то время как ингибирование NANOG уменьшает пролиферацию

клеток и способность к сферообразованию и образованию опухоли [81]. Повышенное количество NANOG обнаружено в CD133-позитивных клетках одновременно с повышенным количеством GLI1, GLI2, OCT4 (транскрипционный фактор Octamer-4) и нестина. Уменьшение экспрессии гена транскрипционного фактора NANOG приводит к снижению уровня GLI1, OCT4 и нестина, что расценивается как потеря маркеров стволовости при ингибировании NANOG [81]. Увеличение уровня GLI1, связанное с ингибированием трансмембранного рецептора PTCH1, отражается на увеличении уровня NANOG [81].

Гиперэкспрессия *GLI1* в клетках головного мозга мышей приводит к повышению таких маркеров стволовости, как SOX2 (sex determining region Y-box 2, транскрипционный фактор), нестин, Bmi-1, CD133, что сопровождается гиперпролиферацией [32].

GLI1 участвует в формировании фенотипа стволовых клеток и при других заболеваниях. Так, при раке молочной железы в клетках из туморосфер отмечено 20-кратное превышение уровня GLI1 по сравнению с остальными, дифференцированными клетками опухоли [60]. Белок Shh увеличивает, а циклопамин уменьшает образование туморосфер; это свидетельствует в пользу того, что сигнальный путь HH участвует в формировании фенотипа опухолевых стволовых клеток при раке молочной железы. Кроме того, гиперэкспрессия *GLI1* или *GLI2* увеличивает способность клеток к сферообразованию [60, 62, 82].

В ближайшее время предстоит выяснить, в одинаковой ли степени на формирование фенотипа стволовых клеток влияют оба фактора GLI1 и tGLI1. Однако, как уже отмечалось выше, tGLI1 в большей степени влияет на целевые гены, чем фактор GLI1 [28]; tGLI1 влияет на экспрессию гена белка VEGF-A, избыточную продукцию которого связывают с фенотипом стволовых опухолевых клеток [27, 83, 84]. Кроме того, клетки с повышенной экспрессией *tGLI1* характеризуются повышенной способностью к миграции и инвазии, что, предположительно, характерно для стволовых опухолевых клеток.

GLI1ΔN слабо влияет на гены-мишени по сравнению с двумя другими факторами, поэтому можно предположить, что GLI1ΔN не влияет на формирование фенотипа стволовых опухолевых клеток [28].

3.5. Влияние на ангиогенез

Ангиогенез регулируется соотношением проангиогенных (VEGF, SDF-1 (Stromal cell-derived factor 1, хемокин), Ang-1 (ангиопоэтин-1)) и антиангиогенных факторов (таких как тромбоспондин-1). В опухолевых клетках этот баланс нарушается за счёт секреции проангиогенных факторов, повышающих сосудистую проницаемость и запускающих рост неопластических микрососудов, напрямую коррелирующий с темпом развития опухоли. Именно поэтому в последнее время

ангиогенез привлекает внимание исследователей в терапии онкологических заболеваний.

Клетки аденокарциномы поджелудочной железы имеют повышенный уровень GLI1, а циклопамин, уменьшая уровень этого белка, уменьшает рост опухоли и ангиогенез в тканях опухоли. В экспериментах на бестимусных мышках с имплантированными клетками опухоли введение циклопamina приводило к уменьшению ангиогенеза и экспрессии проангиогенных факторов (VEGF-A, SDF-1, Ang-1, IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1), PDGF-B) [85]. В экспериментах на первичных образцах глиобластомы ингибирование GLI1 приводило к уменьшению количества VEGF в клетках и уменьшению способности клеток к ангиогенезу [86]. Таким образом, есть все основания считать, что GLI1 обладает проангиогенным эффектом.

Влияние tGLI1 на экспрессию *VEGF-A* в клетках рака молочной железы и глиобластомы выше, чем влияние фактора GLI1 [27, 87]. На линиях и первичных образцах глиобластомы tGLI1 более эффективно влияет на процессы ангиогенеза, чем GLI1; в частности, tGLI1 (но не GLI1) может связываться с промотором гена гепараназы и увеличивать количество этого фермента, способного разрушать компоненты внеклеточного матрикса, способствуя инвазии, ангиогенезу и метастазированию опухоли [87].

3.6. Влияние на процессы химиорезистентности

Считается, что резистентность клеток к химиотерапии ассоциирована с более агрессивным фенотипом, что предполагает худший прогноз для пациентов [88].

Химиорезистентные клетки могут выживать при химио- и радиотерапии, а через некоторое время после прекращения курса лечения могут давать рецидив, уже не поддающийся терапии химиопрепаратами.

К факторам химиорезистентности относят наличие ABC-переносчиков, устойчивость к апоптозу, повышенный уровень гипоксии в опухолевых клетках, более эффективные механизмы репарации поврежденной ДНК, наличие определённых микроРНК и др. [88].

ABC-переносчики, такие как P-gp, ABCG2, MRP1 и другие, позволяют клеткам “выкачивать” разнообразные экзогенные вещества, вследствие чего последние не оказывают своего повреждающего действия. Фермент MGMT (O⁶-Метилгуанин-ДНК-метилтрансфераза) ликвидирует метилирующий эффект темозоломида и ряда химиопрепаратов на ДНК, в результате чего MGMT-позитивные клетки продолжают активно делиться. МикроРНК (miR) за счёт влияния на трансляцию мРНК вовлечены во множество клеточных процессов. Пониженную регуляцию miR-21 связывают с резистентностью к темозоломиду. Также было обнаружено, что в химиорезистентных клетках имеется повышенное содержание miR-195, miR-455-3P и miR10a [88, 89].

Зачастую несколько факторов, объединённых общими внутриклеточными механизмами, могут способствовать химиорезистентности в одной клетке [88]. В настоящее время наибольший интерес вызывает вопрос о существовании механизма, приводящего к активации разных факторов химиорезистентности.

Сигнальный путь НН через транскрипционный фактор GLI1 способен влиять на экспрессию генов ABC переносчиков ABCG2, MDR1, MRP1 и генов *MVP* и *MGMT*, принимающих участие в формировании химиорезистентности [53, 90, 91]. Показано, что GLI1 влияет на экспрессию *MGMT*, связываясь с GLI1-связывающим сайтом в его промотере [92]. У пациентов рецидивы мультиформной глиобластомы коррелировали с уровнем экспрессии GLI1. Химиопрепараты и циклопамин значительно увеличивали гибель клеток и уровень апоптоза [53]. Аналогичные данные были продемонстрированы при ингибировании GLI1 в культуре клеток рака яичников [91].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то, что один из главных компонентов сигнального пути GLI1 был обнаружен в клетках глиобластомы более 20 лет назад, на сегодняшний день функционирование пути НН при злокачественных глиомах, как и роль компонентов и генов-мишеней этого пути в глиомагенезе, изучены недостаточно. Есть много данных о его активирующей роли в процессах пролиферации, ангиогенеза, миграции, инвазии, химиорезистентности, образования стволовых опухолевых клеток, которые подчас вступают в противоречие друг с другом [50, 51, 54, 57, 58]. Вместе с тем, уже сейчас не вызывает сомнений существование подгруппы PTEN-позитивных мультиформных глиобластом, характеризующихся повышенной активностью пути НН. Очевидно, что персонализированный подбор терапии для таких пациентов должен включать применение новых ингибиторов НН-сигналинга. С другой стороны, попытки применения ингибиторов Shh, SMO и GLI1 в подгруппе НН-независимых глиобластом могут дискредитировать это перспективное направление разработки новых противоопухолевых средств.

Очень интересным феноменом представляется подтвержденная многими исследователями активация пути НН в стволоподобных опухолевых клетках, образующих туморосферы [60, 62, 82]. Об этом свидетельствует повышенное содержание Shh и SMO в этих клетках. Опыты с ингибитором пути НН циклопамин, показавшие уменьшение пролиферативной и миграционной активности, а также снижение сферообразования в этих клетках (наряду с уменьшением уровня GLI1) однозначно свидетельствуют об участии НН-сигналинга в формировании стволовых опухолевых клеток [60, 62]. Гиперэкспрессия GLI1 в клетках головного мозга, приводящая к повышению таких маркеров

стволовости как SOX2, нестин, Vmi-1, CD133, также подтверждает участие НН-сигналинга в туморогенезе, ассоциированном со стволоподобными опухолевыми клетками [32]. Развитие данного направления, создание новых высокоселективных ингибиторов Shh, SMO или GLI1 может способствовать появлению новых высокоэффективных средств персонализированной терапии НН-зависимых низкодифференцированных глиом.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 13-04-40202-Н КОМФИ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kwiatkowska A., Symons M. (2013) Adv. Experim. Med. Biol., **986**, 121-141.
2. Xie J., Bartels C.M., Barton S.W., Gu D. (2013) OncoTargets Therapy, **6**, 1425-1435.
3. Teglund S., Toftgard R. (2010) Biochim. Biophys. Acta – Review on Cancer, **1805**, 181-208.
4. Shahi M.H., Rey J.A., Castresana J.S. (2012) Exp. Opin. Ther. Targets, **16**, 1227-1238.
5. Nusslein-Volhard C., Wieschaus E. (1980) Nature, **287**, 795-801.
6. Ingham P.W., McMahon A.P. (2001) Genes Devel., **15**, 3059-3087.
7. Ekker S.C., Ungar A.R., Greenstein P., von Kessler D.P., Porter J.A., Moon R.T., Beachy P.A. (1995) Current Biology: CB, **5**, 944-955.
8. Ramalho-Santos M., Melton D.A., McMahon A.P. (2000) Development, **127**, 2763-2772.
9. Motoyama J., Liu J., Mo R., Ding Q., Post M., Hui C.C. (1998) Nat. Genet., **20**, 54-57.
10. Balbous A., Renoux B., Cortes U., Milin S., Guilloteau K., Legigan T., Rivet P., Boissonnade O., Martin S., Triptana C. et al. (2014) Mol. Cancer Ther., **13**, 2159-2169.
11. Lewis E.B. (1978) Nature, **276**, 565-570.
12. Bumcrot D.A., Takada R., McMahon A.P. (1995) Mol. Cell. Biol., **15**, 2294-2303.
13. Porter J.A., Young K.E., Beachy P.A. (1996) Science, **274**, 255-259.
14. Bijlsma M.F., Spek C.A., Zivkovic D., van de Water S., Rezaee F., Peppelenbosch M.P. (2006) PLoS Biol., **4**(8), e232.
15. Shahi M.H., Lorente A., Castresana J.S. (2008) Oncol. Rep., **19**, 681-688.
16. Zedan W., Robinson P.A., Markham A.F., High A.S. (2001) J. Pathol., **194**, 473-477.
17. Shahi M.H., Holt R., Rebhun R.B. (2014) PloS One, **9**(5), e96593.
18. Chuang P.T., McMahon A.P. (1999) Nature, **397**, 617-621.
19. Shahi M.H., Schiapparelli P., Afzal M., Sinha S., Rey J.A., Castresana J.S. (2011) Tumour Biol., **32**, 113-127.
20. Stone D.M., Murone M., Luoh S., Ye W., Armanini M.P., Gurney A., Phillips H., Brush J., Goddard A., de Sauvage F.J. et al. (1999) J. Cell Sci., **112**, 4437-4448.
21. Taylor M.D., Liu L., Raffel C., Hui C.C., Mainprize T.G., Zhang X., Agatep R., Chiappa S., Gao L., Lowrance A. et al. (2002) Nat. Genet., **31**, 306-310.
22. Kinzler K.W., Bigner S.H., Bigner D.D., Trent J.M., Law M.L., O'Brien S.J., Wong A.J., Vogelstein B. (1987) Science, **236**, 70-73.

23. Arheden K., Ronne M., Mandahl N., Heim S., Kinzler K.W., Vogelstein B., Mitelman F. (1989) *Hum. Gen.*, **82**, 1-2.
24. Kinzler K.W., Vogelstein B. (1990) *Molec. Cell. Biol.*, **10**, 634-642.
25. Shimokawa T., Tostar U., Lauth M., Palaniswamy R., Kasper M., Toftgard R., Zaphiropoulos P.G. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 14345-14354.
26. Lo H.W., Zhu H., Cao X., Aldrich A., Ali-Osman F. (2009) *Cancer Res.*, **69**, 6790-6798.
27. Cao X., Geradts J., Dewhirst M.W., Lo H.W. (2012) *Oncogene*, **31**, 104-115.
28. Carpenter R.L., Lo H.W. (2012) *Vitamins and Hormones*, **88**, 115-140.
29. Ji Z., Mei F.C., Xie J., Cheng X. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 14048-14055.
30. Nolan-Stevaux O., Lau J., Truitt M.L., Chu G.C., Hebrok M., Fernandez-Zapico M.E., Hanahan D. (2009) *Genes Devel.*, **23**, 24-36.
31. Stecca B., Mas C., Clement V., Zbinden M., Correa R., Piguet V., Beermann F., Ruiz i Altaba A. (2007) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **104**, 5895-5900.
32. Stecca B., Ruiz i Altaba A. (2009) *EMBO J.*, **28**, 663-676.
33. Dennler S., Andre J., Alexaki I., Li A., Magnaldo T., ten Dijke P., Wang X.J., Verrecchia F., Mauviel A. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 6981-6986.
34. Cai Q., Li J., Gao T., Xie J., Evers B.M. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 2150-2158.
35. Sheng T., Chi S., Zhang X., Xie J. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 9-12.
36. Schreck K.C., Taylor P., Marchionni L., Gopalakrishnan V., Bar E.E., Gaiano N., Eberhart C.G. (2010) *Clin. Cancer Res.*, **16**, 6060-6070.
37. Belloni E., Muenke M., Roessler E. et al. (1996) *Nat. Genet.*, **14**, 353-356.
38. Nanni L., Ming J.E., Bocian M. et al. (1999) *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 2479-2488.
39. Kelley R.L., Roessler E., Hennekam R.C., Feldman G.L., Kosaki K., Jones M.C., Palumbos J.C., Muenke M. (1996) *Am. J. Med. Genet.*, **66**, 478-484.
40. Tint G.S., Irons M., Elias E.R., Batta A.K., Frieden R., Chen T.S., Salen G. (1994) *N. E. J. Med.*, **330**, 107-113.
41. Taylor M.D., Northcott P.A., Korshunov A. et al. (2012) *Acta Neuropathol.*, **123**, 465-472.
42. Villavicencio E.H., Walterhouse D.O., Iannaccone P.M. (2000) *Am. J. Hum. Genet.*, **67**, 1047-1054.
43. Roberts W.M., Douglass E.C., Peiper S.C., Houghton P.J., Look A.T. (1989) *Cancer Res.*, **49**, 5407-5413.
44. Kalff-Suske M., Wild A., Topp J. et al. (1999) *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 1769-1777.
45. Vortkamp A., Gessler M., Grzeschik K.H. (1991) *Nature*, **352**, 539-540.
46. Hui A.B., Lo K.W., Yin X.L., Poon W.S., Ng H.K. (2001) *Lab. Invest.*, **81**, 717-723.
47. Mao X., Hamoudi R.A. (2000) *Cancer Genet. Cytogenet.*, **122**, 87-92.
48. Wang K., Pan L., Che X., Cui D., Li C. (2010) *J. Neurooncol.*, **98**, 319-327.
49. Wang K., Pan L., Che X., Cui D., Li C. (2010) *Neurol. Res.*, **32**, 975-980.
50. Bar E.E., Chaudhry A., Lin A. et al. (2007) *Stem cells*, **25**, 2524-2533.
51. Ehtesham M., Sarangi A., Valadez J.G., Chanthaphaychith S., Becher M.W., Abel T.W., Thompson R.C., Cooper M.K. (2007) *Oncogene*, **26**, 5752-5761.
52. Katayam M., Yoshida K., Ishimori H., Katayama M., Kawase T., Motoyama J., Kamiguchi H. (2002) *J. Neurooncol.*, **59**, 107-115.
53. Cui D., Xu Q., Wang K., Che X. (2010) *J. Neurol. Sci.*, **288**, 156-166.
54. Xu Q., Yuan X., Liu G., Black K.L., Yu J.S. (2008) *Stem cells*, **26**, 3018-3026.
55. Phillips H.S., Kharbanda S., Chen R. et al. (2006) *Cancer Cell*, **9**, 157-173.
56. Braun S., Oppermann H., Mueller A. et al. (2012) *Cancer Biol. Ther.*, **13**, 487-495.
57. Becher O.J., Hambarzumyan D., Fomchenko E.I. et al. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 2241-2249.
58. Sasai K., Romer J.T., Lee Y., Finkelstein D., Fuller C., McKinnon P.J., Curran T. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 4215-4222.
59. Ulasov I.V., Nandi S., Dey M., Sonabend A.M., Lesniak M.S. (2011) *Mol. Med.*, **17**, 103-112.
60. Clement V., Sanchez P., de Tribolet N., Radovanovic I., Ruiz i Altaba A. (2007) *Curr. Biol.*: CB, **17**, 165-172.
61. Takezaki T., Hide T., Takanaga H., Nakamura H., Kuratsu J., Kondo T. (2011) *Cancer Sci.*, **102**, 1306-1312.
62. Uchida H., Arita K., Yunoue S., Yonezawa H., Shinsato Y., Kawano H., Hirano H., Hanaya R., Tokimura H. (2011) *J. Neurooncol.*, **104**, 697-704.
63. Sarangi A., Valadez J.G., Rush S., Abel T.W., Thompson R.C., Cooper M.K. (2009) *Oncogene*, **28**, 3468-3476.
64. Abiria S.A., Williams T.V., Munden A.L., Grover V.K., Wallace A., Lundberg C.J., Valadez J.G., Cooper M.K. (2014) *J. Neurooncol.*, **119**, 243-251.
65. Yan G.N., Lv Y.F., Yang L., Yao X.H., Cui Y.H., Guo D.Y. (2013) *Oncol. Lett.*, **6**, 1524-1530.
66. Yan G.N., Yang L., Lv Y.F., Shi Y., Shen L.L., Yao X.H., Guo Q.N., Zhang P., Cui Y.H., Zhang X. et al (2014) *J. Pathol.*, **234**(1). DOI: 10.1002/path.4349.
67. Yang L., Xie G., Fan Q., Xie J. (2010) *Oncogene*, **29**, 469-481.
68. Marini K.D., Payne B.J., Watkins D.N., Martelotto L.G. (2011) *Growth Factors*, **29**, 221-234.
69. Huang S., He J., Zhang X., Bian Y., Yang L., Xie G., Zhang K., Tang W., Stelter A.A., Wang Q. et al (2006) *Carcinogenesis*, **27**, 1334-1340.
70. Ma X., Sheng T., Zhang Y., Zhang X., He J., Huang S., Chen K., Sultz J., Adegboyega P. A., Zhang H. et al (2006) *Int. J. Cancer*, **118**, 139-148.
71. Das S., Harris L.G., Metge B.J., Liu S., Riker A.I., Samant R.S., Shevde L.A. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 22888-22897.
72. Dahmane N., Sanchez P., Gitton Y., Palma V., Sun T., Beyna M., Weiner H., Ruiz i Altaba A. (2001) *Development*, **128**, 5201-5212.
73. Wang G., Zhang Z., Xu Z., Yin H., Bai L., Ma Z., Decoster M.A., Qian G., Wu G. (2010) *Bioch. Bioph. Acta*, **1803**, 1359-1367.
74. Li X., Deng W., Nail C.D., Bailey S.K., Kraus M.H., Ruppert J.M., Lobo-Ruppert S.M. (2006) *Oncogene*, **25**, 609-621.
75. Fiaschi M., Rozell B., Bergstrom A., Toftgard R. (2009) *Cancer Res.*, **69**, 4810-4817.
76. Thomas Z.I., Gibson W., Sexton J.Z., Aird K.M., Ingram S.M., Aldrich A., Lyerly H.K., Devi G.R., Williams K.P. (2011) *Br. J. Cancer*, **104**, 1575-1586.
77. Sheng T., Li C., Zhang X., Chi S., He N., Chen K., McCormick F., Gatalica Z., Xie J. (2004) *Mol. Cancer*, **3**, 29.
78. ten Haaf A., Bektas N., von Serenyi S., Losen I., Arweiler E.C., Hartmann A., Knuchel R., Dahl E. (2009) *BMC Cancer*, **9**, 298.
79. Lo H.W., Hsu S.C., Xia W., Cao X., Shih J.Y., Wei Y., Abbruzzese J.L., Hortobagyi G.N., Hung M.C. (2007) *Cancer Res.*, **67**, 9066-9076.

80. Liao X., Siu M.K., Au C.W., Wong E.S., Chan H.Y., Ip P.P., Ngan H.Y., Cheung A.N. (2009) *Carcinogenesis*, **30**, 131-140.
81. Zbinden M., Duquet A., Lorente-Trigos A., Ngwabyt S.N., Borges I., Ruiz i Altaba A. (2010) *EMBO J.*, **29**, 2659-2674.
82. Liu S., Dontu G., Mantle I.D., Patel S., Ahn N.S., Jackson K.W., Suri P., Wicha M.S. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 6063-6071.
83. Oka N., Soeda A., Inagaki A., Onodera M., Maruyama H., Hara A., Kunisada T., Mori H., Iwama T. (2007) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **360**, 553-559.
84. Ricci-Vitiani L., Pallini R., Biffoni M. et al. (2010) *Nature*, **468**, 824-828.
85. Nakamura K., Sasajima J., Mizukami Y. et al. (2010) *PLoS One*, **5**(1), e8824.
86. Hsieh A., Ellsworth R., Hsieh D. (2011) *J. Cell. Physiol.*, **226**, 1118-1127.
87. Zhu H., Carpenter R.L., Han W., Lo H.W. (2013) *Cancer Lett.*, **1**, 51-61.
88. Haar C.P., Hebbar P., Wallace G.C., Das A., Vandergrift W.A. 3rd, Smith J.A., Giglio P., Patel S.J., Ray S.K., Banik N.L. (2012) *Neurochem. Res.*, **37**, 1192-1200.
89. Shi L., Chen J., Yang J., Pan T., Zhang S., Wang Z. (2010) *Brain Res.*, **1352**, 255-264.
90. Queiroz K.C., Ruela-de-Sousa R.R., Fuhler G.M., Aberson H.L., Ferreira C.V., Peppelenbosch M.P., Spek C.A. (2010) *Oncogene*, **29**, 6314-6322.
91. Chen Y., Bieber M.M., Teng N.N. (2013) *Mol. Carcinog.*, **53**, 625-634.
92. Yoon J.W., Gilbertson R., Iannaccone S., Iannaccone P., Walterhouse D. (2009) *Int. J. Cancer*, **124**, 109-119.

Поступила: 06. 10. 2014.

HEDGEHOG SIGNALING IN THE PATHOGENESIS OF NEURO-ONCOLOGY DISEASES

S.A. Cherepanov¹, V.P. Baklaushev^{1,2}, A.N. Gabashvili¹, I.I. Shepeleva¹, V.P. Chekhonin^{1,2}

¹Pirogov Russian National Research Medical University,

1 Ostrovityanova str., Moscow, 117997 Russia; e-mail: cherep-rsmu@yandex.ru

²Serbsky National Research Center for Social and Forensic Psychiatry,

23 Kropotkinskij per., Moscow, 119991 Russia

The review summarizes current knowledge on the Hedgehog signaling pathway, its role in normal embryogenesis and/or initiation and progression of neuro-oncological diseases, especially of high-grade gliomas, the most malignant neuroepithelial tumors. The main proteins forming the Hedgehog signaling pathway include Shh, PTCH1, SMO, HHIP, SUFU and GLI1 isoforms. Effects of other signaling pathways on the family of transcription factors GLI and other proteins are described. The review summarizes modern data about the impact of the Hedgehog signaling pathway on proliferation, migration activity and invasiveness, and also on tumor neoangiogenesis and tumor cell chemoresistance. The role of the Hedgehog signaling pathway in origin of cancer stem cells and epithelial-mesenchymal transition is also analyzed. Some prospects for new anticancer drugs acting on components of the Hedgehog signaling pathway inhibitors are demonstrated.

Key words: glioblastoma multiforme, Hedgehog signaling pathway, Shh protein, transcription factor GLI.