

ОБЗОРЫ

©Коллектив авторов

РОЛЬ ТЕТРАСПАНИНОВ И ПРОТЕАЗ ЭКЗОСОМ В ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

Н.В. Юнусова^{1,3}, Е.А. Тузутова^{1}, С.Н. Тамкович^{2,4,5}, И.В. Кондакова¹*

¹НИИ онкологии Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, 634009, Томск, пер. Кооперативный, 5; эл. почта: etugutova@mail.ru

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, Новосибирск

³Сибирский государственный медицинский университет, Томск

⁴Новосибирский государственный университет, Новосибирск

⁵Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск

Широко представленные в экзосомах мажорные (CD9, CD63 CD81) и другие (CD82, CD151, Tspan8) тетраспанины взаимодействуют с различными белками, формируя функциональные тетраспаниновые комплексы. Показано, что в состав тетраспаниновых комплексов входят различные белки, в том числе протеазы. Тетраспанин-ассоциированные протеазы экзосом (ADAM-протеазы, MMPs, EMMPRIN) играют важную роль в процессах клеточной подвижности, миграции, инвазии и формировании метастазов. Протеазы, неассоциированные с тетраспанинами, также вносят существенный вклад в опухолевую прогрессию. Они дестабилизируют межклеточные контакты, способствуют миграции и инвазии опухолевых клеток, участвуют в регуляции экспрессии IGF-I, VEGF, активированных форм транскрипционных факторов. Значимость других протеаз экзосом в процессах опухолевой прогрессии уточняется.

Ключевые слова: экзосомы, тетраспанины, протеазы, опухолевая прогрессия

DOI: 10.18097/PBMC20186402123

ВВЕДЕНИЕ

Экзосомы представляют собой мембранные везикулы размером 30-100 нм, секретлируемые во внеклеточное пространство различными типами клеток, в том числе и опухолевыми [1]. Они обнаружены во многих биологических жидкостях, таких как плазма, сыворотка крови, моча, слюна, грудное молоко, спинномозговая жидкость, бронхоальвеолярная жидкость, а также в патологических экссудатах, например, в асците. Экзосомы участвуют во многих физиологических (презентация антигена, иммунный ответ, воспаление, индукция ангиогенеза, межклеточная коммуникация) и патологических процессах (аутоиммунные заболевания, участие в патогенезе преэклампсии и атеросклероза, в опухолевом росте; формирование

преметаастатических ниш, метастазирование опухолей и формирование химиорезистентности) [2]. Поэтому исследование экзосом для диагностики и мониторинга опухолевого роста является актуальной проблемой онкологии, в частности для первичной диагностики и контроля развития метастатических процессов [1, 3].

Белковый состав экзосом разнообразен и включает в себя как общие везикулярные белки, так и специфические, которые отражают их происхождение из родительских клеток. К общим относятся и белки высококонсервативного семейства тетраспанинов, необходимые для связывания и транспортировки микроРНК (CD63, CD81 и CD9), а также Alix и Tsg101, участвующие в транспортировке и биогенезе экзосом, интегрин, белки теплового шока HSP60, HSP70, HSP90. Экзосомы богаты белками цитоскелета (F- и G-актин)

Принятые сокращения: ADAM10 и ADAM17 - протеазы семейства ADAM с функцией шеддаз; Cdc42 - регулятор клеточного цикла; cGMP - цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат; CXCR4 - хемокиновый рецептор 4 типа; EGFR1 - рецептор эпидермального фактора роста 1 типа; EMMPRIN - внеклеточный индуктор матриксных металлопротеиназ; eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота; EpcAM - адгезивная молекула эпителиальных клеток; FAK - фокально адгезивная киназа; FGF2 - фактор роста фибробластов-2; HER2 - рецептор эпидермального фактора роста 2 типа; HGF - фактор роста гепатоцитов; HIF-1 - фактор, индуцируемый гипоксией-1; hK2 - калликреин человека-2; HSPs - белки теплового шока; IGFBP - белок, связывающий инсулиноподобный фактор роста; IGF-I - инсулиноподобный фактор роста 1; iRHM2 - некаталитическая внутримембранная ромбоидная протеаза-2; L1-CAM - L1 молекула клеточной адгезии; MAPK - митоген-активируемая протеинкиназа; MMPs - матриксные металлопротеиназы; NO - оксид азота; PAPP-A - сывороточный протеин А, ассоциированный с беременностью; PI3K - фосфотидилинозитол-3-киназа; PI4K - фосфотидилинозитол-4-киназа; PKC - протеинкиназа С; PSA - простат-специфический антиген; Rac1 - внутриклеточный белок из суперсемейства GTPаз; SDF1 - фактор стромальных клеток-1; Smad2/3 - компоненты TGFβ-опосредованного сигнального пути; Erk1/2 - члены семейства митоген-активируемых протеинкиназ; JNK - член семейства митоген-активируемых протеинкиназ; TGF-α - трансформирующий фактор роста альфа; TGFβ - трансформирующий фактор роста бета; TNFα - фактор некроза опухолей альфа; TSP1 - тромбоспондин-1; Tspan8 - тетраспанин-8; uPA - активатор плазминогена урокиназного типа; VCAM-1 - васкулярная молекула клеточной адгезии-1; VEGF - фактор роста эндотелия сосудов; VEGFR1 - рецептор фактора роста эндотелия сосудов 1 типа.

* - адресат для переписки



Рисунок 1. Тетраспанины, тетраспанин-ассоциированные и тетраспанин-неассоциированные белки экзосом.

и актинсвязывающими белками (кофилин-1, профилин-1, тубулины), несут GTPазы семейства Rab и аннексины, которые способствуют слиянию мембран [4-6] (рис. 1).

1. ТЕТРАСПАНИНЫ КАК ВАЖНЫЙ КОМПОНЕНТ ЭКЗОСОМ

Тетраспанины – семейство мембранных белков, включающее 33 представителя. Они содержат 4 трансмембранных фрагмента и две внеклеточные петли – EC1-короткую и EC2-длинную (рис. 2), именно последняя отвечает за взаимодействие с другими белками. Тетраспанины формируют так называемые богатые тетраспанинами микродомены, взаимодействующие с большим количеством трансмембранных и цитозольных сигнальных белков. Их основными партнёрами

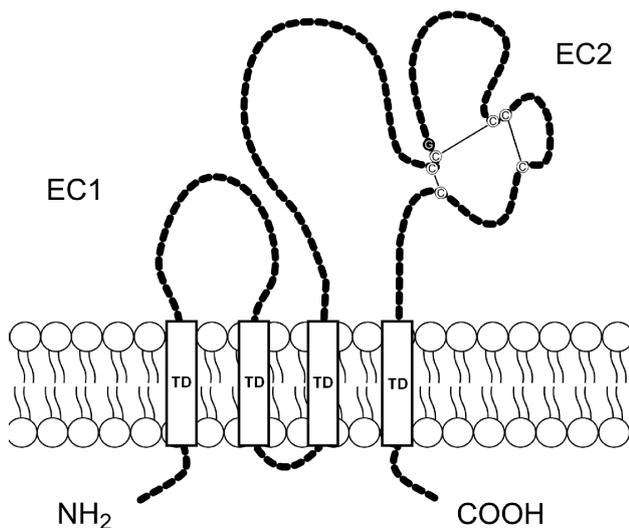


Рисунок 2. Структура тетраспанинов: EC1 - короткая внеклеточная петля, EC2 - длинная внеклеточная петля, TD - трансмембранные домены, линиями отмечены дисульфидные мосты, связывающие цистеин-обогащённые районы (адаптировано из [8]).

являются сами тетраспанины, интегрин, рецепторы адгезии, сигнальные рецепторы, матриксные металлопротеиназы [7]. Микродомены цитоплазматической мембраны, обогащённые тетраспанинами, необходимы для внутриклеточной передачи сигналов и регулирования многих процессов [8].

Тетраспанины CD9, CD63, CD81 относят к экзосомальным биомаркерам, поскольку в составе экзосомальных мембран их концентрация достаточно высока [6]. Взаимодействуя с различными молекулами и формируя надмолекулярные комплексы, они участвуют в биогенезе экзосом, сортировке экзосомальных белков, клеточной адгезии, поглощении экзосом клетками-реципиентами и презентации экзосомами антигенов с последующим иммунным ответом [9]. В крови здоровых доноров наиболее часто встречаются экзосомы с экспрессией CD9 и CD24, секретируемые эндотелиоцитами и клетками крови. При злокачественных новообразованиях происходит перераспределение субпопуляций экзосом. Так, в наших исследованиях было выявлено, что при колоректальном раке увеличивается доля экзосом, секретированных эндотелиоцитами и тканевыми макрофагами (CD9, CD81, CD63), а доля экзосом с экспрессией CD24 снижается [10, 11].

Другими важными тетраспанинами, экспрессирующимися как в тканях, так и в экзосомах, являются CD151 и Tspan8. CD151 (GP-27, TSPAN-24) представляет собой белок плазматической мембраны, который образует тетраспаниновые сети с интегринными ($\alpha3\beta1$, $\alpha6\beta1$, $\alpha7\beta1$ и $\alpha6\beta4$), внутриклеточными сигнальными молекулами (P14K и PKC), белками суперсемейства иммуноглобулинов и другими тетраспанинами, такими как CD9, CD81 и CD63 [12]. Основными функциями CD151 являются поддержание целостности эпителиальных клеток, агрегация тромбоцитов, регуляция слияния мембран, подвижность клеток, а также участие в ангиогенезе и метастазировании опухолей [13]. Чаще всего CD151 экспрессируется в эндотелиальных клетках и

тромбоцитах, а также гиперэкспрессируется в ряде злокачественных опухолей (рак предстательной железы, рак желудка, рак эндометрия и мелкоклеточный рак лёгкого) [14, 15]. CD151 располагается внутриклеточно в эндосомальных и лизосомальных везикулах, следовательно, он может высвобождаться из клеток в составе экзосом [16]. Действительно, было показано, что при раке предстательной железы высвобождаются экзосомы, обогащённые CD151 [17]. Tspan8 является одним из членов семейства тетраспанинов, который также образует тетраспаниновые сети с разными мембранными белками, например, интегринами. Tspan8 обнаружен в экзосомах, секретируемых клетками карциномы поджелудочной железы и колоректальных карцином [18, 19].

В литературе нет чёткого определения тетраспанин-ассоциированных белков. Чаще всего к этой группе относят белки, формирующие постоянные или динамично формирующиеся связи с тетраспанинами. Например, к тетраспанин-ассоциированным белкам относят CD36 и CD47. CD36 представляет собой мультилигандный рецептор, встречающийся на поверхности тромбоцитов, эндотелиальных клеток, мононуклеарных фагоцитов, адипоцитов, гепатоцитов, миоцитов [20]. Изначально он был идентифицирован как гликопротеин IV на тромбоцитах. CD36 является также транслоказой жирных кислот, а связывание TSP1 с CD36 ингибирует поглощение миристиата эндотелиальными клетками и мириститат-зависимую активацию Src-киназы и cGMP-сигнализацию [21]. На эндотелиальных клетках CD36 является рецептором тромбоспондина-1 (TSP-1) и функционирует как отрицательный регулятор ангиогенеза, играет роль в ингибировании роста опухоли, воспалении и других патологических процессах [22].

CD47 представляет собой мембранный гликопротеин суперсемейства иммуноглобулинов, содержащий IgV-подобный внеклеточный домен, пять трансмембранных мотивов и короткий внутриклеточный домен [23]. Он экспрессируется на плазматической мембране всех гемопоэтических

и большинства других типов клеток. CD47 участвует в ряде клеточных процессов, включая пролиферацию, апоптоз, адгезию, миграцию, а также играет важную роль в иммунной регуляции [24]. CD47 является единственным высокоаффинным рецептором TSP-1, который опосредует ингибирование ангиогенеза при физиологических концентрациях лиганда [25]. Связывание с CD36 требует более высоких концентраций TSP-1, которые превышают физиологическую практически в 100 раз [26]. Экспрессия TSP-1 значительно увеличивается в опухоли и окружающих её тканях, поэтому его функциональная активность может быть опосредована более сложным механизмом, включая CD36 и CD47 [27]. TSP-1 представляет собой крупный гликопротеин, который, как известно, сверхэкспрессируется в опухолевой строме. Он является первым идентифицированным ингибитором эндогенного ангиогенеза, однако в опухолях его функция существенно изменена [28]. Нормальная плазма крови человека содержит низкие, но значимые уровни растворимой формы TSP-1, которая является физиологическим регулятором эндогенной передачи сигналов оксида азота [29]. Асцитическая жидкость также содержит TSP-1 в растворимой форме [30].

Тетраспанин-ассоциированные белки CD36 и CD47 были идентифицированы в экзосомах, секретируемых клетками опухолей различной локализации [31]. Таким образом, тетраспанины являются важными клеточными и экзосомальными компонентами, так как они, взаимодействуя с широким спектром молекул, участвуют в передаче сигналов и регулируют многие процессы, включая канцерогенез.

2. ТЕТРАСПАНИН-АССОЦИИРОВАННЫЕ И ТЕТРАСПАНИН-НЕАССОЦИИРОВАННЫЕ ПРОТЕАЗЫ ЭКЗОСОМ

Ферменты составляют до 32% белкового состава экзосом [32] (рис. 3). Важную роль в функциональной активности экзосом играют протеазы – ферменты класса гидролаз, расщепляющие пептидные связи

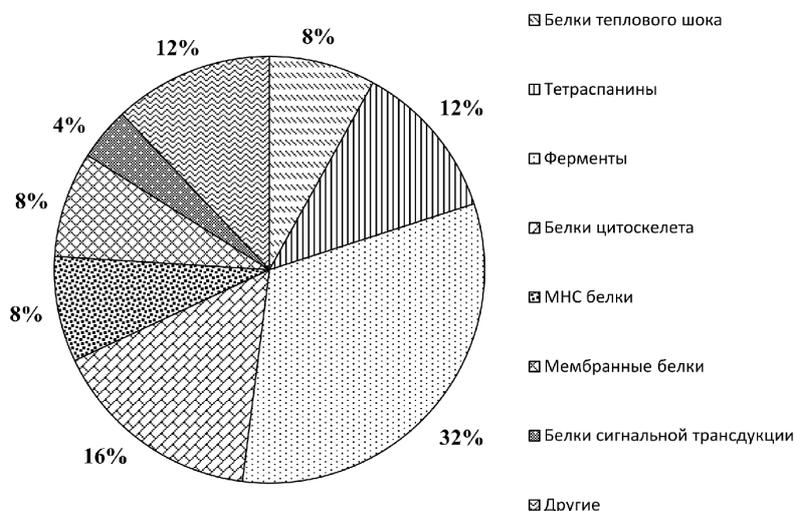


Рисунок 3. Функциональные группы белков экзосом.

РОЛЬ ТЕТРАСПАНИНОВ И ПРОТЕАЗ ЭКЗОСОМ В ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

в белках и пептидах. Экзосомальные протеазы можно разделить на три группы: тетраспанин-ассоциированные (структурно и функционально связанные) и тетраспанин-неассоциированные, а также протеазы с неизвестной локализацией в экзосомах (рис. 4).

К тетраспанин-ассоциированным протеазам относятся ADAMs (a disintegrin and metalloproteinases), MMPs (матриксные металлопротеазы) и EMMPRIN. ADAMs представляют собой многофункциональные белки, которые осуществляют так называемый шеддинг – ограниченный примембранный протеолиз белков, приводящий к отщеплению внеклеточного домена трансмембранных белков, тем самым регулируя клеточную адгезию, миграцию и межклеточные взаимодействия [33]. Семейство ADAM-протеаз состоит из 22 членов, идентифицированных в геноме человека, из которых только 12 (ADAM8, 9, 10, 12, 15, 17, 19, 20, 21, 28, 30 и 33) кодируют активные ферменты. ADAM10 и ADAM17 являются наиболее известными членами этого семейства. ADAM10 обнаруживается в экзосомах, секретируемых разными типами клеток, в про- и зрелой форме. ADAM17 также идентифицируется в экзосомах из различных линий опухолевых клеток, он вовлечён в процессинг CD44, TGF- α и амфирегулина [34, 35].

Субстратами шеддаз являются рецепторы ростовых факторов (EGFR1, HER2, TGF β -III β), рецепторы адгезии L1-CAM, CD44, Fas-L рецептор апоптоза, E-кадгерин и N-кадгерин. В результате шеддинга происходит модификация клеточных рецепторов с изменением сигналинга от рецепторов ростовых факторов и адгезии, а также появление в биологических жидкостях растворимых форм рецепторов: sCD44, sEGFR1, sHER2, sTGF β -III β , sFasL [36, 37]. Большинство растворимых форм этих рецепторов индуцируют клеточную подвижность, что может влиять на метастатический потенциал [33, 38].

В настоящее время идентифицировано более 23 членов семейства MMPs. Субстратами для MMPs являются коллаген IV типа, эластин, фибронектин и ламинин, а также белки клеточной поверхности – E-кадгерин, фибрин и интерлейкин-1, следовательно, они модулируют

взаимодействие клеток и внеклеточного матрикса [39]. В нормальных физиологических условиях активность MMPs регулируется на уровне транскрипции, посттрансляционной модификации, а также ингибируется тканевыми ингибиторами металлопротеиназ, α_2 -макроглобулином и тромбоспондинами [40]. Наиболее часто в составе экзосом обнаруживают MMP-2 и MMP-9, которые относятся к семейству секретируемых или мембрано-ассоциированных цинк-зависимых протеаз [41]. TSP-2 может регулировать активность MMP-2, образуя комплекс, облегчающий эндоцитоз. TSP-1 ингибирует активацию proMMP-2 и proMMP-9 и модулирует продукцию MMP-2 [42].

EMMPRIN (CD147, базигин) представляет собой гликопротеин клеточной поверхности, который принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов и высоко экспрессируется на поверхности многих клеток [43]. Его сверхэкспрессия выявлена при опухолях разной локализации, таких как: плоскоклеточная карцинома ротовой полости [44], остеосаркома [45], рак молочной железы [46] и рак яичников [47]. Клеточные линии карциномы яичника человека OVCAR3, SKOV3 и A2780 выделяют везикулы с разным уровнем EMMPRIN и стимулируют проангиогенную активность эндотелиальных клеток пупочной вены человека в зависимости от его уровня экспрессии [48].

К тетраспанин-неассоциированным протеазам относятся PAPP-A (Pregnancy-associated plasma protein-A) и 20S протеасомы. PAPP-A относится к подсемейству паппа-лизинов и представляет собой металлопротеиназу, которая модулирует активность и биодоступность инсулиноподобного фактора роста-1 путём расщепления его комплекса с белками, связывающими инсулиноподобный фактор роста IGFBP4 и IGFBP5 [49]. Первоначально высокая концентрация PAPP-A была обнаружена в плазме беременных женщин, впоследствии была доказана его роль в качестве модулятора ряда патологических процессов [50]. Протеомный анализ экзосом клеточных линий различных опухолей выявил наличие в них PAPP-A [31, 34].



Рисунок 4. Тетраспанин-ассоциированные и тетраспанин-неассоциированные протеазы экзосом.

Протеасомная система представлена двумя каталитическими комплексами: 20S-протеасомами и 26S-протеасомами. Протеолиз происходит непосредственно в 20S-протеасоме, коровая (основная) часть которой состоит из 4 гептамерных колец и имеет структуру $\alpha 1-7$; $\beta 1-7$; $\beta 1-7$; $\alpha 1-7$ (рис. 5) [51]. Активация 20S-протеасомы происходит путём присоединения к внешним α -субъединицам регуляторных частиц (19S, PA28). β -субъединицы являются каталитическими компонентами протеасомы, в частности $\beta 1$, $\beta 2$ и $\beta 5$ проявляют каспазоподобную, трипсиноподобную и химотрипсинподобную активность соответственно [52]. Выделяют два пула протеасом – внутриклеточный и циркулирующий. Одним из вариантов существования протеасом во внеклеточном пространстве может быть выход из экзосом, так как в этих внеклеточных везикулах были выявлены альфа- и бета-цепи 20S-протеасомы [53]. При патологических состояниях количество внеклеточных циркулирующих протеасом (свободных и входящих в состав экзосом) в плазме крови повышается. Выявлена их роль в патогенезе различных злокачественных новообразований [54, 55].

Кроме того, выделяют класс экзосомальных протеаз с неизвестной локализацией в экзосомах, к которому относят гепараназу, uPA, калликреины и другие белки.

Гепараназа – это эндогликозидаза, расщепляющая гепарансульфат, которая участвует в деградации и ремоделировании внеклеточного матрикса. Синтезируется в качестве латентного предшественника (65 кДа), затем подвергается протеолитической обработке L-катепсином с образованием субъединиц 8 кДа и 50 кДа, которые гетеродимеризуются с образованием высокоактивного фермента.

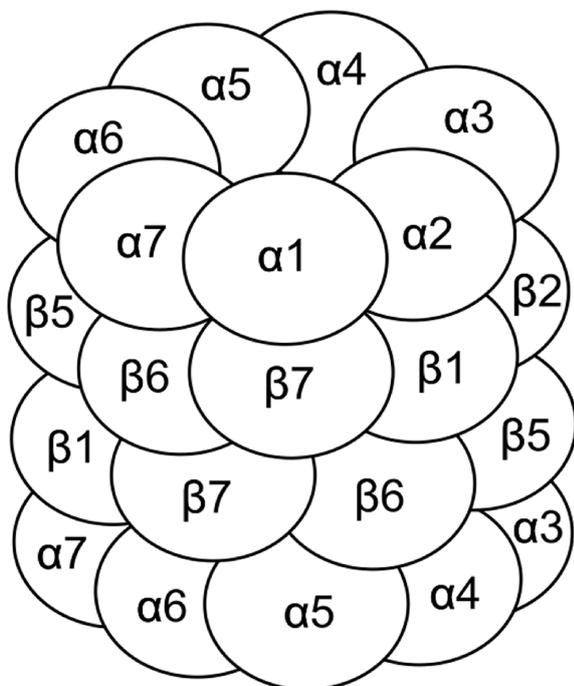


Рисунок 5. Строение 20S-протеасомы (коровая часть): $\alpha 1-7$ - α -субъединицы, $\beta 1-7$ - β -субъединицы (адаптировано из [118]).

Помимо каталитической активности гепараназа свойственна и неферментативная активность: экспрессия гепараназы на поверхности клеток вызывает прочную клеточную адгезию, усиливает передачу сигналов Akt [56]. Гепараназа существует в мембраносвязанной и свободной форме, встречается в поздних эндосомах и лизосомах. Добавление гепараназы в клеточную культуру MCF-7 сопровождается усилением экспрессии CD63 на поверхности экзосом, в то время как экспрессия CD9 и CD81 остается неизменной [57]. Гепараназа выявлена во внеклеточных везикулах, выделенных из асцитической жидкости больных раком яичников [34, 58].

uPA представляет собой сериновую протеазу (53 кДа). uPA катализирует превращение пламиногена в плазмин – сериновую протеазу широкого спектра действия, которая расщепляет многочисленные компоненты внеклеточного матрикса, включая фибрин, ламинин, фибронектин и витронектин. uPA синтезируется в виде каталитически неактивного одноцепочечного полипептида, который после протеолитического расщепления переходит в активную форму – двухцепочечный пептид. В опухолевых клетках происходит дисрегуляция uPA, изменяется его экспрессия и активность, что приводит к увеличению потенциала клеточной инвазии [59]. Протеолитически активный uPA обнаружен во внеклеточных везикулах, выделенных из асцита больных раком яичников [34].

Калликреин-2 (hK2) представляет собой сериновую протеазу, сходную с PSA (гомология последовательности ДНК 80%), но в отличие от PSA протеолитическая активность hK2 значительно выше [60]. Калликреин человека 11 (hK11) также является сериновой протеазой, повышенный уровень его обнаружен в сыворотке у больных раком яичников [61] и раком предстательной железы [62]. Калликреин-2 и калликреин-11 выявлены в экзосомах мочи больных раком предстательной железы [63].

3. РОЛЬ ТЕТРАСПАНИНОВ И ПРОТЕАЗ ЭКЗОСОМ В ПРОГРЕССИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Полагают, что тетраспанины и протеазы экзосом играют важную роль в прогрессии злокачественных новообразований.

CD151 в сочетании с TGF- β способствует инвазии и метастазированию посредством активации сигнальных путей Smad2/3, c-Akt, Erk1/2, JNK, JUN и MMP-9 [64]. CD151 усиливает пролиферацию кератиноцитов путём активации транскрипционного фактора STAT3, регулятора клеточной пролиферации и апоптоза [65]. Нокдаун CD151 снижает интегрин-опосредованную миграцию и инвазию клеток через FAK и Rac1-опосредованную сигнализацию [66]. CD151 связан с ламинин-связывающими интегринами и участвует в процессах клеточной миграции через активацию Ras, Rac1, Cdc42 [67]. Участие CD151 в регуляции клеточной подвижности обусловлено его воздействием на протеазы.

РОЛЬ ТЕТРАСПАНИНОВ И ПРОТЕАЗ ЭКЗОСОМ В ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

Так, в ассоциации с MMP14 он регулирует шеддазную активность ADAM10 и ADAM17 [68]. Выявлено, что сверхэкспрессия CD151 в опухолевой ткани коррелирует с плохой выживаемостью онкологических больных [69].

Экспрессия Tspan8 коррелирует с метастатическим потенциалом карциномы печени, толстой кишки и поджелудочной железы [70]. Ассоциация Tspan8 и α 6 β 4 активирует паксиллин и FAK, тем самым поддерживая клеточную подвижность. При колоректальном раке Tspan8 обладает, по-видимому, проинвазивным потенциалом, взаимодействуя с α 6 β 4-интегрином, протеинкиназой C, E-кадгерином, клаудином-7, EpCAM и CD44 [71]. На ксеногенной модели мышей показано, что специфические антитела к Tspan8 уменьшают подвижность клеток, блокируют ангиогенез опухоли *in vivo* и ингибируют рост колоректального рака [72]. Таким образом, Tspan8 ответственен за подвижность клеток, а CD151 вносит вклад в адгезию и деградацию матрикса, участвуя в метастазировании опухолей.

Экзосомальные CD151 и Tspan8 взаимодействуют с SDF1 (stromal cell-derived factor1), CXCR4 (C-X-C chemokine receptor type 4), VEGFR1, что влияет на формирование лимфогенных метастазов. CD151- и Tspan8-позитивные экзосомы поддерживают деградацию внеклеточного матрикса, участвуют в ремоделировании стромы, метастазировании опухолей, что доказано на BSp73ASML клеточной линии аденокарциномы поджелудочной железы крыс [73]. Избыточная экспрессия Tspan8 в экзосомах, полученных из BSp73ASML клеточной линии, способствует селективному отбору белков в экзосомы, включая VCAM-1 и α 4-интегрин, которые участвуют в преимущественном связывании их с эндотелиальными клетками [74].

В экзосомах структурные тетраспанины CD151 и Tspan8 в наибольшей степени связаны с экспрессией и активностью тетраспанин-ассоциированных ADAM-протеаз и MMPs. В экзосомах преобладают зрелые формы ADAM10 и ADAM17. Время и механизм включения зрелых металлопротеиназ во внеклеточные везикулы и активация их проформ остаются неизвестными. Известно, что ADAM10 проявляет протеолитическую активность в мультивезикулярных тельцах, следовательно, зрелая ADAM10 уже включена в экзосомы [75]. ADAM10 способствует шеддингу E-кадгерина, наличие растворимой формы которого во внеклеточной среде приводит к потере межклеточных контактов, что облегчает миграцию клеток, тем самым увеличивая метастатический потенциал [76]. Экзосомальные EpCAM и CD46 из асцитической жидкости больных раком яичников расщепляются ADAM-металлопротеиназами, что приводит к появлению их растворимых форм [77]. Примембранный протеолиз CD23, L1CAM и CD44, опосредованный ADAM10, может происходить в мультивезикулярных тельцах внутри клеток, а также в экзосомах, высвобождающихся из RPMI 8866 В-клеточной линии хронической миелоидной лейкемии, OVMz и SKOV3ip клеточных линий

карцином яичников [78]. Данный протеолиз в мультивезикулярных тельцах может объясняться повышенной доступностью сайта связывания ADAM10 в CD23 в условиях эндосомального pH [75]. Снижение активности iRHOM2 (некаталитическая внутримембранная ромбоидная протеаза 2) не влияло на высвобождение ADAM10 из экзосом, следовательно, включение зрелого ADAM10 в экзосомы не было опосредовано данным белком. В последнее время в исследованиях показано, что транслокация про-ADAM10 от эндоплазматического ретикулума к комплексу Гольджи, ферментативный процессинг и перенос к цитоплазматической мембране опосредованы членами подгруппы TspanC8 – Tspan5, 10, 14, 15, 17 и 33 [79]. Активность ADAM10 также модулируется за счёт взаимодействия с тетраспанинами CD9, CD81, CD82 [80]. Данные тетраспанины присутствуют в экзосомах и могут регулировать включение зрелого ADAM10 в экзосомы и его протеолитическую активность. ADAM17 переносится в эндоплазматический ретикулум в неактивной латентной форме, которая взаимодействует с неактивным белком iRHOM2. Это способствует транслокации про-ADAM17 в комплекс Гольджи, где он активируется фуриновой протеинконвертазой [81]. Снижение уровня iRHOM2 в клетках A549 подавляет не только созревание и уровень поверхностной экспрессии ADAM17, но также предотвращает высвобождение зрелого ADAM17 в составе экзосом. Мечение антителами ADAM17 в клетках A549, стимулированных форбол-12-миристан-13-ацетатом, показало, что, по крайней мере, часть зрелого ADAM17 в экзосомах была получена из поверхностного-ассоциированного зрелого ADAM17 в составе липидных рафтов, богатых флотилином. Эти данные свидетельствуют о том, что зрелая ADAM17 в экзосомах получена из комплекса Гольджи и клеточной поверхности [82].

Сверхэкспрессия ADAM17 индуцирует подвижность опухолевых клеток рака простаты *in vitro* [83]. ADAM17 контролирует TNF α и EGFR сигнальные пути [84]. В клеточных линиях опухолей головного мозга, культивируемых в гипоксических условиях, увеличился уровень экспрессии ADAM17, активность которого коррелировала с увеличением инвазии опухолевых клеток [85]. При раке толстой кишки ADAM17 сверхэкспрессируется независимо от стадии или степени злокачественности опухоли и участвует в процессах пролиферации и ангиогенеза [86]. При почечноклеточном раке ингибирование ADAM-17 уменьшает инвазию и блокирует образование опухоли [87]. Нокдаун ADAM17 с использованием малых интерферирующих РНК в клеточной линии карциномы молочной железы HMT3522 S1 снижает прогрессирование опухоли [88]. На клеточных культурах A549 (эпителиальная клеточная линия альвеолярной легочной карциномы), MDA-MB-231 (клеточная линия эпителиального рака молочной железы), HEK293 (линия клеток эмбриональной почки человека) и THP-1 (линия клеток моноцитарной лейкемии человека) показано высвобождение ADAM17 в экзосомах, который затем способствует

расщеплению своих субстратов на более отдалённых клетках [89]. Масс-спектрометрический анализ протеома экзосом клеточной линии эпителиального рака молочной железы MDA-MB-231 и линии аденокарциномы поджелудочной железы HPAF-II показал, что комбинации интегринов экзосом связаны с образованием специфических метастазов. Комбинация $\alpha\beta4$ и $\alpha\beta1$ интегринов ассоциирована с метастазами в лёгких, а $\alpha\nu\beta$ и $\alpha\nu\beta3$ интегрины связаны с метастазами в печени и головном мозге. Так как ADAM протеазы экзосом взаимодействуют с интегринными, то можно предположить, что связь ADAM - интегрины поддерживает органотропность метастазов [39].

В патофизиологических условиях, например при раке, высокая внеклеточная активность MMPs способствует росту опухоли, тканевой инвазии, ангиогенезу и метастазированию [90]. Известно, что активность MMP-2 и MMP-9 играет ключевую роль в инвазии клеток меланомы [91]. Высокий уровень MMP-2 и MMP-9 в плазме крови у больных колоректальным раком и раком желудка коррелирует с метастазами в лимфатические узлы [92]. Сверхэкспрессия MMP-2 связана с плохим прогнозом у больных немелкоклеточным раком лёгких и раком яичников [93].

Внеклеточные везикулы, высвобождающиеся из клеточной культуры рака молочной железы 8701-BC и клеток фибросаркомы HT-1080, содержат MMP-9 в про- и зрелой форме с протеолитической активностью [39]. Перенос экзосомами MMP-2, MMP-3, MMP-9 и MT1-MMP увеличивает их содержание в отдалённых от первичной опухоли участках, в частности в лимфатических узлах и ткани лёгкого [94]. Graves и соавт. показали, что внеклеточные везикулы асцита при раке яичников содержат протеолитические ферменты, включая MMP-2, MMP-9. Взаимодействие богатых MMPs везикул со стромальными клетками может потенциально активировать многочисленные ферментативные процессы и сигнальные каскады, которые будут способствовать метастазированию рака яичников [95].

EMMPRIN облегчает секрецию MMP-1, MMP-3, MMP-9 из опухолевых клеток, фибробластов и клеток эндометрия, что приводит к деградации базальной мембраны и внеклеточного матрикса, тем самым ведёт к распространению опухоли [96]. Известно, что EMMPRIN, выделенный из опухолевых клеток, паракринным способом стимулирует продукцию матричных металлопротеиназ соседними фибробластами [97]. Кроме того, он также стимулирует экспрессию фактора роста эндотелия сосудов и гиалуроновой кислоты, что приводит к ангиогенезу и множественной лекарственной устойчивости, которая, возможно, развивается путём активации фосфатидилинозитол-3-гидроксикиназы (PI3K) и митоген-активированных протеинкиназ (МАРК) [98]. Повышенная секреция EMMPRIN с сопутствующим увеличением секреции MMP-9 может обеспечивать более высокий метастатический потенциал, поскольку повышенная экспрессия этих

двух белков выявлена при раке предстательной железы и плоскоклеточной карциноме шейки матки и является плохим прогностическим показателем для данных пациентов [99]. Внеклеточные везикулы, секретлируемые линиями раковых клеток MCF-7, MDA-MB-231, L3.6pL и Hek293Fp1, стимулируют секрецию EMMPRIN и MMP-9 [100]. Экзосомы опухолевых клеток доставляют EMMPRIN в фибробласты, тем самым увеличивая продукцию MMPs и способствуя опухолевой инвазии и метастазированию [101].

CD36 и CD47 действуют как ключевые интеграторы множественных сигналов, регулирующих рост и распространение опухоли как положительно, так и отрицательно. Активация данных рецепторов оказывает влияние на прогрессирование рака, непосредственно модулируя поведение раковых клеток или воздействуя на стромальные клетки опухоли [102]. CD47 гиперэкспрессируется при многих типах гемопозитических опухолей [103], а также при солидных опухолях яичников, молочной железы, толстой кишки [104]. Исследования показали, что высокий уровень экспрессии CD47 коррелирует с плохим клиническим прогнозом при раке желудка и раке мочевого пузыря [105, 106]. CD36 идентифицирован во внеклеточных везикулах, выделенных из асцитической жидкости больных колоректальным раком [107]. CD47 обнаружен в экзосомах мочи при раке мочевого пузыря [108]. Они также были идентифицированы в экзосомах, секретлируемых клетками опухолей различной локализации [31].

Повышенные уровни TSP-1 обнаружены в крови пациентов со злокачественными новообразованиями молочной железы, лёгких, желудочно-кишечного тракта и репродуктивной системы [109]. Этот белок ингибирует ангиогенез путём прямого воздействия на миграцию эндотелиальных клеток, пролиферацию, выживание, апоптоз и антагонизм активности VEGF. TSP-1 ингибирует ангиогенные реакции, стимулируемые FGF2, VEGF и лизофосфатидной кислотой, а также каскад протеинкиназ Akt, eNOS, NO, cGMP, стимулированный VEGF [110].

TSP-1 и его рецептор CD47 экспрессируются на экзосомах, полученных из Т-клеток. Экзосомы, высвобождающиеся из Т-лимфоцитов, модулируют реакции эндотелиальных клеток на VEGF через CD47 [111]. Экзосомы ингибируют проангиогенную активность эндотелиальных клеток через CD36 с участием NADPH и Fyn-киназа-опосредованной активации ROS [112].

К тетраспанин-неассоциированным протеазам относятся PAPP-A, 20S-протеасомы, возможно и другие протеазы. Растворимая форма PAPP-A может играть ключевую роль в прогрессировании рака яичников, так как его высокая протеолитическая активность обнаружена в асците у данных больных, коррелирует с большим объёмом асцитической жидкости и является одним из предикторов эффективности неаодьювантной химиотерапии [113, 114]. Выявлено, что PAPP-A играет важную роль в регуляции содержания инсулиноподобных факторов

роста (ИФР-I, ИФР-II), VEGF, активированных форм NF-κB и α-субъединиц HIF-1 в тканях рака эндометрия [115]. Известно, что RAPP-A сверхэкспрессируется и секретируется клетками меланомы с мезенхимальным фенотипом, тем самым участвует в миграции и инвазии опухоли. Эти результаты были подтверждены *in vivo*: нокдаун RAPP-A снижал инвазивный потенциал клеток меланомы в развивающейся нервной трубке куриного эмбриона [116]. В исследованиях Рап и соавт. было показано, что секретируемый RAPP-A, в отличие от клеточно-ассоциированного, связан с ростом и прогрессированием опухоли [117]. RAPP-A выявлен в опухолевых экзосомах [34], однако его роль остаётся не до конца выясненной.

Показано, что протеасомы принимают участие в регуляции процессов клеточной адгезии и подвижности. Эндцитоз E-кадгерина может быть приостановлен ингибированием протеасом в нормальных и злокачественных клетках, что приводит к стабилизации межклеточных контактов. Таким образом, протеасомы вовлечены в дестабилизацию поверхностного E-кадгерина [118]. Ремоделирование актинового цитоскелета занимает ключевую позицию в процессах клеточной миграции, адгезии и взаимодействия опухолевых клеток с внеклеточным матриксом и регулируется на разных уровнях большим количеством белков. Предполагается, что некоторые актинсвязывающие белки разрушаются при участии протеасом: кофилин, гельзолин, формин, филамины [119]. Однако, в настоящее время не ясно, какое значение для процессов инвазии и метастазирования может иметь явление деградации актинсвязывающих и других белков убиквитин-протеасомной системой в экзосомах и его возможное нарушение при злокачественном росте.

Для ряда экзосомальных протеаз в настоящее время невозможно установить их преимущественную локализацию, поэтому можно выделить класс протеаз с неизвестной локализацией в экзосомах, куда можно отнести гепараназу, uPA и калликреины, возможно и другие белки. Сверхэкспрессия гепараназы в опухолях человека коррелирует с метастатическим потенциалом и снижением послеоперационной выживаемости [120]. Повышение уровня гепараназы в клетках миеломы путём добавления к клеткам рекомбинантного активного фермента гепараназы регулирует экспрессию матричной MMP-9, VEGF, HGF, что приводит к агрессивному фенотипу опухоли [121]. Химиотерапия при миеломе резко стимулирует секрецию экзосом, содержащих высокие уровни гепараназы [122].

Повышенная экспрессия uPA усиливает пролиферацию, миграцию и инвазию опухолевых клеток и играет ключевую роль в развитии метастазов, действуя за счёт активации плазмينا и посредством нескольких сигнальных путей. Сверхэкспрессия uPA при плоскоклеточной карциноме головы и шеи связана с высокой стадией T, низкой степенью дифференцировки, наличием метастазов в

лимфатических узлах и плохим клиническим прогнозом [123]. На клеточных линиях рака молочной железы показано, что одновременный нокдаун uPA и MMP-9 малыми интерферирующими РНК снижает инвазивный и метастатический потенциал опухолевых клеток [124]. Внеклеточные везикулы асцита при раке яичников содержат в своём составе uPA, который может способствовать метастазированию рака яичников [95].

Калликреин-2 и калликреин-11 обладают каталитической активностью сериновой протеазы и могут активировать друг друга, а также другие молекулы, такие как факторы роста и цитокины. Калликреин-2 может быть вовлечён в канцерогенез и метастазирование рака предстательной железы. Повышенная экспрессия калликреина-2 коррелирует с высокой скоростью пролиферации эпителиальных клеток предстательной железы [125]. Сверхэкспрессия калликреина-11 может играть важную роль в инвазии и метастазировании колоректального рака [126]. Данные калликреины обнаружены в экзосомах опухолевых клеток [32], однако их роль в опухолевой прогрессии предстоит выяснить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мажорные (CD9, CD63, CD81) и другие (CD82, CD151, Tspan8) тетраспанины, широко представленные в экзосомах, взаимодействуют с различными белками, формируя функциональные тетраспаниновые комплексы. Тетраспаниновые комплексы включают в себя различные белки, в том числе протеазы. Тетраспанин-ассоциированные протеазы экзосом (ADAM-протеазы, MMPs, EMMPRIN) играют важную роль в процессах клеточной подвижности, миграции, инвазии и формировании метастазов. Также существенный вклад в опухолевую прогрессию вносят протеазы, неассоциированные с тетраспанинами. Они дестабилизируют межклеточные контакты, способствуют миграции и инвазии опухолевых клеток, участвуют в регуляции содержания ИФР-I, ИФР-II, VEGF, активированных форм транскрипционных факторов. Значимость других протеаз экзосом в процессах опухолевой прогрессии уточняется.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Томской области в рамках научного проекта №18-415-703006.

ЛИТЕРАТУРА

1. Properzi F., Logozzi M., Fais S. (2013) *Biomark. Med.*, **7**, 769-778.
2. Yoon Y.J., Kim O.Y., Gho Y.S. (2014) *BMB Reports.*, **47**, 531-539.
3. Тихонова М.В., Карачунский А.И., Поспелов В.И., Румянцев С.А., Румянцев А.Г. (2017) *Российский журнал детской гематологии и онкологии*, **4**, 40-45.

4. Ogawa Y., Miura Y., Harazono A., Kanai-Azuma M., Akimoto Y., Kawakami H., Yamaguchi T., Toda T., Endo T., Tsubuki M., Yanoshita R. (2011) *Biol. Pharm. Bull.*, **34**(1), 13-23.
5. Kondakova I.V., Yunusova N.V., Spirina L.V., Kolomiets L.A., Villert A.B. (2014) *Russ. J. Bioorgan. Chem.*, **40**(6), 681-687.
6. Andreu Z., Yanez-Mo M. (2014) *Front. Immunol.*, **5**, 442.
7. Detchokul S., Williams E.D., Parker M.W., Frauman A.G. (2014) *Br. J. Pharmacol.*, **171**, 5462-5490.
8. Yanez-Mo M., Barreiro O., Gordon-Alonso M., Sala-Valdes M., Sanchez-Madrid F. (2009) *Trends Cell Biol.*, **19**, 434-446.
9. Чевкина Е.М., Щербаков А.М., Журавская А.Ю., Семина С.Е., Комельков А.В., Красильников М.А. (2015) *Успехи молекулярной онкологии*, **2**, 8-20.
10. Тамкович С.Н., Юнусова Н.В., Стахеева М.Н., Сомов А.К., Фролова А.Е., Кирюшина Н.А., Афанасьев С.Г., Григорьева А.Е., Лактионов П.П., Кондакова И.В. (2017) *Биомед. химия*, **63**, 165-169. DOI: 10.18097/PBMC20176302165.
11. Yunusova N.V., Tamkovich S.N., Stakheeva M.N., Grigor'eva A.A., Somov A.K., Tugutova E.A., Kolomiets L.A., Molchanov S.V., Afanas'ev S.G., Kakurina G.V., Choinzonov E.L., Kondakova I.V. (2017) *AIP Conference Proceedings* 1882, 020080. ISBN: 978-0-7354-1562-1. DOI: 10.1063/1.5001659.
12. Sterk L.M., Geuijen C.A., Van Den Berg J.G., Claessen N., Weening J.J., Sonnenberg A. (2002) *J. Cell Sci.*, **115**, 1161-1173.
13. Kumari S., Devi G., Badana A., Dasari V.R., Malla R.R. (2015) *Biomark. Cancer*, **7**, 7-11.
14. Ha S.Y., Do I.G., Lee J., Park S.H., Park J.O., Kang W.K., Choi M.G., Lee J.H., Bae J.M., Kim S., Kim K.M., Sohn T.S. (2014) *Annals Surgical Oncology*, **21**, 1099-1106.
15. Kwon M.J., Seo J., Kim Y.J., Kwon M.J., Choi J.Y., Kim T.E., Lee D.H., Park S., Shin Y.K., Han J., Choi Y.L. (2013) *Lung Cancer*, **81**, 109-116.
16. Liu L., He B., Liu W.M., Zhou D., Cox J.V., Zhang X.A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 31631-31642.
17. Sandvig K., Llorente A. (2012) *Mol. Cell Proteomics*, **11**, M111.012914. DOI: 10.1074/mcp.M111.012914.
18. Heiler S., Wang Z., Zöller M. (2016) *World J. Gastroenterol.*, **22**, 5971-6007.
19. Choi D.S., Lee J.M., Park G.W., Lim H.W., Bang J.Y., Kim Y.K., Kwon K.H., Kwon H.J., Kim K.P., Ghoo Y.S. (2007) *Proteome Res.*, **6**, 4646-4655.
20. Silverstein R.L., Febbraio M. (2009) *Sci. Signal.*, **2**(72):re3. DOI: 10.1126/scisignal.272re3.
21. Jiménez B., Volpert O.V., Crawford S.E., Febbraio M., Silverstein R.L., Bouck N. (2000) *Nat. Med.*, **6**, 41-48.
22. Dawson D.W., Pearce S.F., Zhong R., Silverstein R.L., Frazier W.A., Bouck N.P. (1997) *J. Cell Biol.*, **138**, 707-717.
23. Brown E.J., Frazier W.A. (2001) *Trends Cell Biol.*, **11**, 130-135.
24. Wang H.S., Pei F., Chen Z., Zhang L. (2016) *J. Dent. Res.*, **95**(6), 697-703.
25. Kaur S., Martin-Manso G., Pendrak M.L., Garfield S.H., Isenberg J.S., Roberts D.D. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 38923-38932.
26. Isenberg J.S., Ridnour L.A., Dimitry J., Frazier W.A., Wink D.A., Roberts D.D. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 26069-26080.
27. Kazerounian S., Yee K.O., Lawler J. (2008) *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 700-712.
28. Jeanne A., Schneider C., Martiny L., Dedieu S. (2015) *Front. Pharmacol.*, **6**, 252.
29. Isenberg J.S., Frazier W.A., Roberts D.D. (2008) *Cell. Mol. Life Sci.*, **65**, 728-742.
30. Kodama J., Hashimoto I., Seki N., Hong A. (2001) *Anticancer Res.*, **21**, 2983-2987.
31. Hurwitz S.N., Rider M.A., Bundy J.L., Liu X., Singh R.K., Meckes D.G. Jr. (2016) *Oncotarget*, **7**, 86999-87015.
32. Тамкович С.Н., Тутанов О.С., Лактионов П.П. (2016) *Биологические мембраны*, **33**(3), 163-175.
33. Matthews A.L., Noy P.J., Reyat J.S., Tomlinson M.G. (2017) *Platelets*, **28**(4), 333-341.
34. Keller S., König A.K., Marmé F., Runz S., Wolterink S., Koensgen D., Mustea A., Sehouli J., Altevogt P. (2009) *Cancer Lett.*, **278**(1), 73-81.
35. Groth E., Pruessmeyer J., Babendreyer A., Schumacher J., Pasqualon T., Dreytmueller D., Higashiyama S., Lorenzen I., Grötzinger J., Cataldo D., Ludwig A. (2016) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1863**, 2795-2808.
36. Lee S.B., Schramme A., Doberstein K., Dummer R., Abdel-Bakky M.S., Keller S., Altevogt P., Oh S.T., Reichrath J., Oxmann D., Pfeilschifter J., Mihic-Probst D., Gutwein P. (2010) *J. Invest. Dermatol.*, **130**, 763-773.
37. Levine S.J. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 14177-14181.
38. Perez-Torres M., Valle B.L., Maihle N.J., Negron-Vega L., Nieves-Alicea R., Cora E.M. (2008) *Exp. Cell. Res.*, **314**, 2907-2918.
39. Shimoda M., Khokha R. (2017) *Biochim. Biophys. Acta.*, **1864**, 1989-2000.
40. Baker A.H., Edwards D.R., Murphy G. (2002) *J. Cell Sci.*, **115**, 3719-3727.
41. Runz S., Keller S., Rupp C., Stoeck A., Issa Y., Koensgen D., Mustea A., Sehouli J., Kristiansen G., Altevogt P. (2007) *Gynecol. Oncol.*, **107**, 563-571.
42. Egeblad M., Werb Z. (2002) *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 161-174.
43. Xin X., Zeng X., Gu H., Li M., Tan H., Jin Z., Hua T., Shi R., Wang H. (2016) *Sci Rep.*, **6**, 32804.
44. Monteiro L.S., Delgado M.L., Ricardo S., Garcez F., do Amaral B., Pacheco J.J., Lopes C., Bousbaa H. (2014) *Biomed Res. Int.*, **14**, 905680.
45. Futamura N., Nishida Y., Urakawa H., Kozawa E., Ikuta K., Hamada S., Ishiguro N. (2014) *Tumour Biol.*, **35**, 5159-5165.
46. Liu F., Cui L., Zhang Y., Chen L., Wang Y., Fan Y., Lei T., Gu F., Lang R., Pringle G.A., Zhang X., Chen Z., Fu L. (2010) *Breast Cancer Res. Treat.*, **124**(3), 677-688.
47. Zhao S.H., Wang Y., Wen L., Zhai Z.B., Ai Z.H., Yao N.L., Wang L., Liu W.C., Chen B.L., Li Y., Yang H. (2013) *J. Transl. Med.*, **11**, 92.
48. Millimaggi D., Mari M., D'Ascenzo S., Carosa E., Jannini E.A., Zucker S., Carta G., Pavan A., Dolo V. (2007) *Neoplasia*, **9**, 349-357.
49. Laursen L.S., Overgaard M.T., Søre R., Boldt H.B., Sottrup-Jensen L., Giudice L.C., Conover C.A., Oxvig C. (2001) *FEBS Lett.*, **504**, 36-40.
50. Li X., Liu Q., Zhou T., Zhao S., Zhou S. (2008) *Med. Hypotheses*, **70**, 597-599.
51. Brooks P., Fuertes G., Murray R.Z., Bose S., Knecht E., Rechsteiner M.C., Hendil K.B., Tanaka K., Dyson J., Rivett J. (2000) *Biochem. J.*, **346**, 155-161.
52. Kisselev A.F., Callard A., Goldberg A.L. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 8582-8590.
53. Шашова Е.Е., Колегова Е.С., Кондакова И.В., Завьялов А.А. (2015) *Сибирский онкологический журнал*, **6**, 76-82.
54. Kondakova I.V., Spirina L.V., Shashova E.E., Koval V. D., Kolomiets L.A., Chernyshova A.L., Slonimskaya E.M. (2012) *Russ. J. Bioorgan. Chem.*, **38**, 89-92.

55. Shashova E.E., Lyupina Yu.V., Glushchenko S.A., Slonimskaya E.M., Savenkova O.V., Kulikov A.M., Gornostaev N.G., Kondakova I.V., Sharova N.P. (2014) Plos One, **9**(10), 11. DOI: 10.1371/journal.pone.0109933.
56. Ilan N., Elkin M., Vlodayvsky I. (2006) Int. J. Biochem. Cell Biol., **38**, 2018-2039.
57. Roucourt B., Meeussen S., Bao J., Zimmermann P., David G. (2015) Cell Res., **25**(4), 412-428.
58. Vlodayvsky I., Elkin M., Abboud-Jarrous G., Levi-Adam F., Fuks L., Shafat I., Ilan N. (2008) Connect Tissue Res., **49**, 207-210.
59. Santibanez J.F. (2017) Protein Pept. Lett., DOI:10.2174/0929866524666170818161132
60. Potter S.R., Partin A.W. (2000) Rev. Urol., **2**, 221-222.
61. Diamandis E.P., Borgoco C.A., Scorilas A., Harbeck N., Dorn J., Schmitt M. (2004) Clin. Biochem., **37**(9), 823-829.
62. Diamandis E.P., Okui A., Mitsui S., Luo L.Y., Soosaipillai A., Grass L., Nakamura T., Howarth D.J., Yamaguchi N. (2002) Cancer Res., **62**(1), 295-300.
63. Principe S., Jones E.E., Kim Y., Sinha A., Nyalwidhe J.O., Brooks J., Semmes O.J., Troyer D.A., Lance R.S., Kislinger T., Drake R.R. (2013) Proteomics, **13**, 1667-1671.
64. Sadej R., Romanska H., Kavanagh D., Baldwin G., Takahashi T., Kalia N., Berdichevski F. (2010) Cancer Res., **70**, 6059-6070.
65. Li Q., Yang X.H., Xu F., Sharma C., Wang H.X., Knoblich K., Rabinovitz I., Granter S.R., Hemler M.E. (2013) Oncogene, **32**, 1772-1783.
66. Yang X.H., Richardson A.L., Torres-Arzayus M.I., Zhou P., Sharma C., Kazarov A.R., Andzelm M.M., Strominger J.L., Brown M., Hemler M.E. (2008) Cancer Res., **68**, 3204-3213.
67. Hong I.K., Jeoung D.I., Ha K.S., Kim Y.M., Lee H.S. (2012) J. Biol. Chem., **287**, 32027-32029.
68. Yáñez-Mó M., Gutiérrez-López M.D., Cabañas C. (2011) Cell Mol. Life Sci., **68**, 3323-3335.
69. Romanska H.M., Potemski P., Krakowska M., Mieszkowska M., Chaudhri S., Kordek R., Kubiak R., Speirs V., Hanby A.M., Sadej R., Berdichevski F. (2015) Brit. J. Cancer, **113**, 1350-1357.
70. Greco C., Bralet M.P., Ailane N., Dubart-Kupperschmitt A., Rubinstein E., Le Naour F., Boucheix C. (2010) Cancer Res., **70**, 7674-7683.
71. Hemler M.E. (2014) Nat. Rev. Cancer, **14**, 49-60.
72. Ailane N., Greco C., Zhu Y., Sala-Valdés M., Billard M., Casal I., Bawa O., Opolon P., Rubinstein E., Boucheix C. (2014) Front. Physiol., **5**, 364.
73. Yue S., Mu W., Zöller M. (2013) Eur. J. Cancer, **49**, 2934-2948.
74. Nazarenko I., Rana S., Baumann A., McAlear J., Hellwig A., Trendelenburg M., Lochnit G., Preissner K.T., Zöller M. (2010) Cancer Res., **70**, 1668-1678.
75. Mathews J.A., Gibb D.R., Chen B.H., Scherle P., Conrad D.H. (2010) J. Biol. Chem., **285**, 37531-37541.
76. Maretzky T., Reiss K., Ludwig A., Buchholz J., Scholz F., Proksch E., de Strooper B., Hartmann D., Saftig P. (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **102** (26), 9182-9187.
77. Burbano C., Rojas M., Vasquez G., Castano D. (2015) Mediators Inflamm., **2015**, 267590.
78. Headland S.E., Jones H.R., Norling L.V., Kim A., Souza P.R., Corsiero E., Gil C.D., Nerviani A., Dell'Accio F., Pitzalis C. (2015) Sci. Transl. Med., **7**, 315ra190.
79. Quek C., Hill A.F. (2017) Biochem. Biophys. Res. Commun., **483**, 1178-1186.
80. Arduise C., Abache T., Li L., Billard M., Chabanon A., Ludwig A., Mauduit P., Boucheix C., Rubinstein E., Le Naour F. (2008) J. Immunol., **181**, 7002-7013.
81. Lopez-Verrilli M.A., Picou F., Court F.A. (2013) Glia, **61**, 1795-1806.
82. Raimondo F., Morosi L., Chinello C., Magni F., Pitto M. (2011) Proteomics, **11**, 709-720.
83. Ali N., Knauper V. (2007) J. Biol. Chem., **282**, 37378-37388.
84. Peschon J.J., Slack J.L., Reddy P., Stocking K.L., Sunnarborg S.W., Lee D.C., Russell W.E., Castner B.J., Johnson R.S., Fitzner J.N. et al. (1998) Science, **282**, 1281-1284.
85. Zheng X., Jiang F., Katakowski M., Kalkanis S.N., Hong X., Zhang X., Zhang Z.G., Yang H., Chopp M. (2007) Cancer Sci., **98**, 674-684.
86. Hirao T., Nanba D., Tanaka M., Ishiguro H., Kinugasa Y., Doki Y., Yano M., Matsuura N., Monden M., Higashiyama S. (2006) Exp Cell Res., **312**(3), 331-339.
87. Franovic A., Robert I., Smith K., Kurban G., Pause A., Gunaratnam L., Lee S. (2006) Cancer Res., **66**, 8083-8090.
88. Kenny P.A., Bissell M.J. (2007) J. Clin. Invest., **117**(2), 337-345.
89. Groth E., Pruessmeyer J., Babendreyer A., Schumacher J., Pasqualon T., Dreymueller D., Higashiyama S., Lorenzen I., Grötzinger J., Cataldo D., Ludwig A. (2016) Biochim. Biophys. Acta., **1863**(11), 2795-2808.
90. Huang K.J., Sui L.H. (2012) Med. Oncol., **29**(1), 318-323.
91. Schnaeker E.M., Ossig R., Ludwig T., Dreier R., Oberleithner H., Wilhelm M., Schneider S.W. (2004) Cancer Res., **64**, 8924-8931.
92. Araújo R.F. Jr., Lira G.A., Vilaça J.A., Guedes H.G., Leitão M.C., Lucena H.F., Ramos C.C. (2015) Pathol. Res. Pract., **211**(1), 71-77.
93. Ekinci T., Ozbay P.O., Yiğit S., Yavuzcan A., Uysal S., Soyly F. (2014) Ginekol Pol., **85**(2), 121-130.
94. D'Souza-Schorey C., di Vizio D. (2014) Expert Rev. Proteom., **11**, 251-253.
95. Graves L.E., Ariztia E.V., Navari J.R., Matzel H.J., Stack M.S., Fishman D.A. (2004) Cancer Res., **64** (19), 7045-7049.
96. Grass G.D., Toole B.P. (2015) Biosci Rep., **36**(1), e00283.
97. Sidhu S.S., Mengistab A.T., Tauscher A.N., LaVail J., Basbaum C. (2004) Oncogene, **23**(4), 956-963.
98. Gao J., Hu Z., Liu J., Liu D., Wang Y., Cai M., Zhang D., Tan M., Lin B. (2014) Med. Oncol., **31**(5), 920.
99. Yu W., Liu J., Xiong X., Ai Y., Wang H. (2009) Pathol. Res. Pract., **205**, 709-715.
100. Redzic J.S., Kendrick A.A., Bahmed K., Dahl K.D., Pearson C.G., Robinson W.A., Robinson S.E., Graner M.W., Eisenmesser E.Z. (2013) PLoS One, **8**, e71225. DOI: 10.1371/journal.pone.0071225.
101. Zhang F.F., Zhu Y.F., Zhao Q.N., Yang D.T., Dong Y.P., Jiang L., Xing W.X., Li X.Y., Xing H., Shi M. (2014) Eur. J. Pharmacol., **738**, 83-90.
102. Kazerounian S., Yee K.O., Lawler J. (2008) Cell. Mol. Life Sci., **65**, 700-712.
103. Chao M.P., Alizadeh A.A., Tang C., Myklebust J.H., Varghese B., Gill S., Jan M., Cha A.C., Chan C.K., Tan B.T. et al (2010) Cell, **142**(5), 699-713.
104. Willingham S.B., Volkmer J.P., Gentles A.J., Sahoo D., Dalerba P., Mitra S.S., Wang J., Contreras-Trujillo H., Martin R., Cohen J.D. et al. (2012) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **109**(17), 6662-6667.
105. Yoshida K., Tsujimoto H., Matsumura K., Kinoshita M., Takahata R., Matsumoto Y., Hiraki S., Ono S., Seki S., Yamamoto J., Hase K. (2015) Cancer Med., **4**, 1322-1333.
106. Chan K.S., Espinosa I., Chao M., Wong D., Ailles L., Diehn M., Gill H., Presti J. Jr., Chang H.Y., van de Rijn M., Shortliffe L., Weissman I.L. (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106**, 14016-14021.

107. Choi D.S., Park J.O., Jang S.C., Yoon Y.J., Jung J.W., Choi D.Y., Kim J.W., Kang J.S., Park J., Hwang D. et al. (2011) *Proteomics*, **11**, 2745-2751.
108. Chen C.L., Lai Y.F., Tang P., Chien K.Y., Yu J.S., Tsai C.H., Chen H.W., Wu C.C., Chung T., Hsu C.W., Chen C.D., Chang Y.S., Chang P.L., Chen Y.T. (2012) *J. Proteome Res.*, **11**, 5611-5629.
109. Nie S., Lo A., Wu J., Zhu J., Tan Z., Simeone D.M., Anderson M.A., Shedden K.A., Ruffin M.T., Lubman D.M. (2014) *J. Proteome Res.*, **13**, 1873-1884.
110. Isenberg J.S., Martin-Manso G, Maxhimer J.B., Roberts D.D. (2009) *Nat. Rev. Cancer*, **9**, 182-194.
111. Kaur S., Singh S.P., Elkahlon A.G., Wu W., Abu-Asab M.S., Roberts D.D. (2014) *Matrix Biol.*, **37**, 49-59.
112. Ramakrishnan D.P., Hajj-Ali R.A., Chen Y., Silverstein R.L. (2016) *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, **36**(3), 534-544.
113. Boldt H.B., Conover C.A. (2011) *Endocrinology*, **152**(4), 1470-1478.
114. Yunusova N.V., Villert A.B., Spirina L.V., Frolova A.E., Kolomiets L.A., Kondakova I.V. (2016) *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, **17**(12), 5315-5320.
115. Yunusova N.V., Spirina L.V., Kondakova I.V., Kolomiets L.A., Chernyshova A.L., Koval V.D., Nedosekov V.V., Savenkova O.V. (2013) *Biology Bulletin*, **40**(3), 253-259.
116. Prithviraj P., Anaka M., McKeown S.J., Permezel M., Walkiewicz M., Cebon J., Behren A., Jayachandran A. (2015) *Oncotarget*, **18**, 15953-15965.
117. Pan H., Hanada S., Zhao J., Mao L., Ma M.Z. (2012) *PLoS One*, **7**, e48799. DOI: 10.1371/journal.pone.0048799
118. Коваль В.Д., Кондакова И.В., Спирина Л.В. (2012) *Вопросы онкологии*, **58**(4), 473-480.
119. Yoo Y., Ho H.J., Wang C., Guan J.L. (2010) *Oncogene*, **29**(2), 263-272.
120. Vlodaysky I., Elkin M., Abboud-Jarrou G., Levi-Adam F., Fuks L., Shafat I., Ilan N. (2008) *Connect Tissue Res.*, **49**, 207-210.
121. Ramani V.C., Yang Y., Ren Y., Nan L., Sanderson R.D. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**(8), 6490-6509.
122. Bandari S.K., Purushothaman A., Ramani V.C., Brinkley G.J., Chandrashekar D.S., Varambally S., Mobley J.A., Zhang Y., Brown E.E., Vlodaysky I., Sanderson R.D. (2017) *Matrix Biol.*, S0945-053X(17)30166-X.
123. Yoshizawa K., Nozaki S., Kitahara H., Kato K., Noguchi N., Kawashiri S., Yamamoto E. (2011) *Oncol. Rep.*, **26**(6), 1555-1560.
124. Moirangthem A., Bondhopadhyay B., Mukherjee M., Bandyopadhyay A., Mukherjee N., Konar K., Bhattacharya S., Basu A. (2016) *Sci. Rep.*, **6**, 21903.
125. Shang Z., Niu Y., Cai Q., Chen J., Tian J., Yeh S., Lai K.P., Chang C. (2014) *Tumour Biol.*, **35**, 1881-1890.
126. Yu X., Tang H.Y., Li X.R., He X.W., Xiang K.M. (2010) *Med. Oncol.*, **27**(1), 40-44.

Поступила: 11. 09. 2017.
Принята к печати: 24. 02. 2018.

THE ROLE OF EXOSOMAL TETRASPANINS AND PROTEASES IN TUMOR PROGRESSION

N.V. Yunusova^{1,3}, E.A. Tugutova¹, S.N. Tamkovich^{2,4,5}, I.V. Kondakova¹

¹Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 5 Kooperativny str., Tomsk, 634009 Russia; e-mail: etugutova@mail.ru

²Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

³Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

⁴Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁵Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

Major (CD9, CD63, CD81) and others (CD82, CD151, Tspan8) tetraspanins are widely represented in exosomes, where they interact with various proteins and form functional tetraspanin complexes. Tetraspanin complexes include proteases. Tetraspanin-associated exosomal proteases (ADAM proteases, MMPs, EMMPRIN) play an important role in the processes of cell motility, migration, invasion and formation of metastases. Also, a significant contribution to tumor progression is made by proteases that are not associated with tetraspanins. They destabilize intercellular contacts, promote migration and invasion of tumor cells, participate in the regulation of the expression IGF-I, VEGF and transcription factors activation/deactivation. The role of other proteases of exosomes in the processes of tumor progression is being clarified.

Key words: exosomes, tetraspanins, proteases, tumor progression