

©Коллектив авторов

## РЕЦЕПТОР АНТИМЮЛЛЕРОВА ГОРМОНА II ТИПА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

*А.Я. Рак<sup>1,2\*</sup>, А.В. Трофимов<sup>1</sup>, А.М. Ищенко<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов,  
197110, Санкт-Петербург, ул. Пудожская, 7; \*эл. почта: a.ya.rak@hpb.spb.ru

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский Государственный Университет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Рассмотрены свойства рецептора антимюллера гормона II типа (mullerian inhibiting substance receptor type II, MISRII) – трансмембранного сенсора, обладающего собственной серин/треонин протеинкиназной активностью, который запускает апоптоз клеток мюллера протока и формирование репродуктивной системы по мужскому типу в эмбриогенезе млекопитающих. По последним данным, гиперэкспрессия MISRII в постнатальном периоде наблюдается в клетках ряда опухолей яичников, молочной железы и простаты, а антимюллеров гормон (АМГ) обладает в отношении MISRII-позитивных опухолевых клеток проапоптотическим действием. Этот факт делает MISRII потенциальной мишенью для таргетной противораковой терапии. Лечение, основанное на направленном воздействии на MISRII, представляется более эффективной альтернативой традиционному и позволит существенно снизить дозу лекарственного агента за счёт его таргетной доставки к малигнизированным клеткам. Кроме того, антитела против MISRII могут быть использованы для диагностики ряда злокачественных новообразований. Однако механизм взаимодействия MISRII и АМГ до сих пор мало изучен, что затрудняет разработку новых противоопухолевых препаратов. В данном обзоре рассмотрены молекулярная структура и экспрессия MISRII в различных тканях и клеточных линиях, современные представления о механизме связывания АМГ с рецептором, а также данные о возможности использования MISRII как мишени для действия противоопухолевых препаратов на основе АМГ или MISRII-специфичных антител.

**Ключевые слова:** антимюллеров гормон; противоопухолевая терапия; рецептор; сигнальный путь; MISRII; AMHR2

**DOI:** 10.18097/PBMC20196503202

### ВВЕДЕНИЕ

Рецептор антимюллера гормона II типа (MISRII) является трансмембранным сенсором, обладающим собственной серин/треонин протеинкиназной активностью. Он специфичен по отношению к антимюллерову гормону (АМГ) – гликопротеину с молекулярной массой около 140 кДа, принадлежащему суперсемейству цитокинов трансформирующего фактора роста- $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ ) [1]. В отличие от других членов этого суперсемейства, экспрессия которых наблюдается в организме повсеместно, экспрессия АМГ тканеспецифична: в клетках Сертоли семенников и клетках гранулёзы яичников [1]. АМГ является одним из ключевых факторов, определяющих пол и регулирующих функционирование репродуктивной системы у млекопитающих [2]. Гормон обеспечивает регрессию мюллеровых протоков в мужских эмбрионах, а в постнатальном периоде жизни млекопитающих регулирует фолликулогенез [3], созревание половых клеток и функционирование половых желез [4]. Кроме того, во взрослом организме, благодаря своей проапоптотической активности, АМГ может участвовать в контроле канцерогенеза некоторых опухолей [5]. Показано, что рекомбинантный АМГ способен угнетать рост клеточных культур, происходящих из некоторых опухолей человека, клетки которых несут на своей поверхности MISRII [6].

Известен также рецептор АМГ I типа (mullerian inhibiting substance receptor type I, MISRI), принадлежащий семейству трансмембранных серин/треониновых протеинкиназ, подобных рецептору активина (activin receptor-like kinases, ALKs) и, возможно, участвующий в реализации сигнального пути, запускаемого АМГ. Неясно, какие именно ALKs могут являться MISRI [7]. Предположительно, функцию MISRI могут выполнять белки ALK2, 3, 6 (также известные как ACVR1, BMPRI1A и BMPRI1B, соответственно) [8, 9].

В отличие от рецепторов I типа, MISRII специфичен исключительно к АМГ. В связи с этим, будучи экспонированным на поверхности опухолевых клеток-мишеней, он может служить проводником сигнала к апоптозу этих клеток в результате взаимодействия с рекомбинантным АМГ или антителами к нему или быть адресатом для атаки АМГ в комплексе с цитостатиками [7, 10]. Кроме терапевтического действия [11], меченые визуализирующим маркером антитела против MISRII могут быть использованы для диагностики ряда злокачественных новообразований [12].

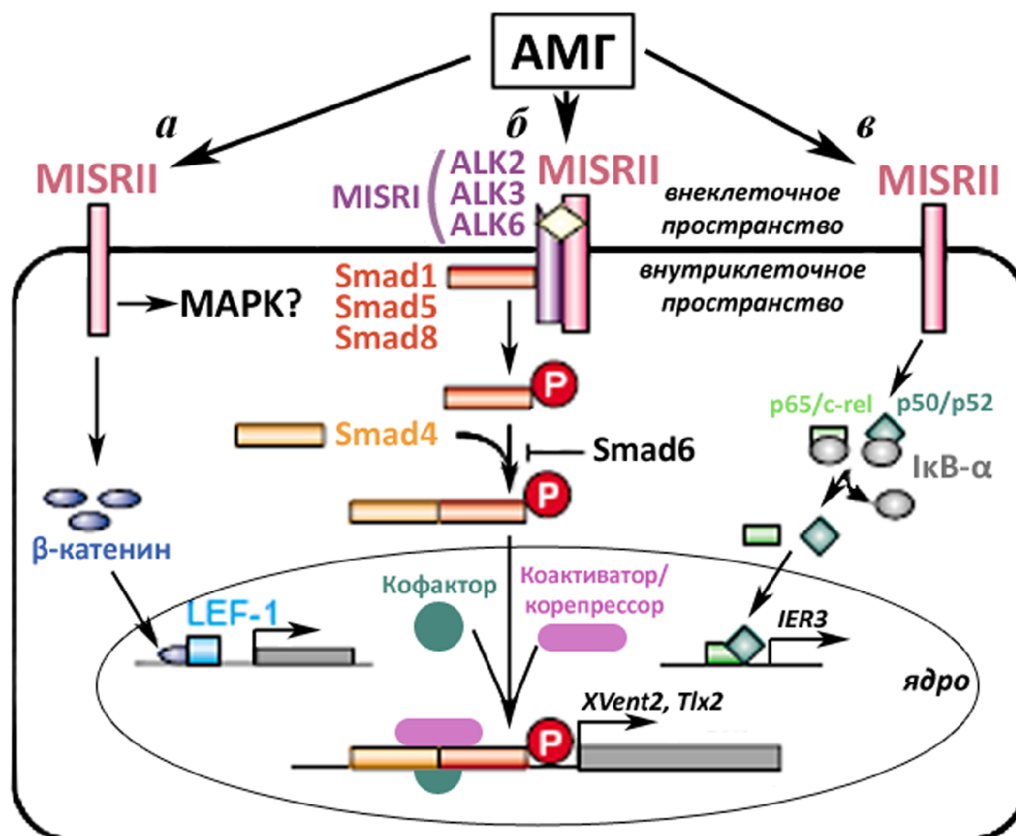
### 1. СИГНАЛЬНЫЙ ПУТЬ С УЧАСТИЕМ АМГ

Известно, что АМГ, взаимодействуя с MISRII, способен активировать несколько сигнальных каскадов. Наиболее детально изучен сигнальный путь, инициируемый связыванием гормона с MISRII и последующим образованием гетеромерного

лиганд-рецепторного комплекса с вовлечением молекул MISRI (рис. 1б). Комплекс AMГ/MISRII/MISRI осуществляет запуск сигнального каскада с участием вторичных посредников – белков семейства Smad, что, в конечном счёте, приводит к изменению экспрессии генов-эффекторов [13].

Рецепторы двух типов – MISRII и MISRI – имеют единственный трансмембранный домен и относятся к семейству рецепторов факторов суперсемейства TGF- $\beta$ . К членам последнего относятся также рецепторы костных морфогенетических белков (BMPs), факторов роста и дифференцировки (GDFs), ингибина, активина, нодала и TGF- $\beta$  [18]. По литературным данным, последовательность событий, происходящих после связывания лигандов – членов суперсемейства TGF- $\beta$  с соответствующими рецепторами, является сходной для всех лигандов этого суперсемейства [19, 20]. Активация сигнального пути начинается с взаимодействия лиганда с рецептором II типа, специфическим для каждого лиганда, что приводит к формированию гетеромерного комплекса, состоящего из рецепторов I и II типа (рис. 1б).

Затем рецептор II типа фосфорилирует рецептор I типа по GS-сайту (участок с двадцатью-тридцатью Gly-Ser-повторами) и таким образом активирует его серин/треонин протеинкиназную активность. Рецепторами I типа являются высокомолекулярные трансмембранные белки ALKs; механизм их селекции неизвестен [7]. После их активации они становятся способными фосфорилировать рецептор-регулируемые Smad-белки (R-Smads1/5/8), являющиеся внутриклеточными сигнальными медиаторами. Будучи фосфорилированными, R-Smads диссоциируют из рецепторного комплекса и образуют гетеромерный комплекс с коактиватором Smad-белков – Smad4; при этом процессе комплексообразования способен препятствовать белок Smad6. Комплекс R-Smads/Smad4 далее транслируется в ядро, где участвует в регуляции экспрессии генов [21]. В ядре белки Smad могут либо связываться с ДНК по Smad-узнающим сайтам, что приводит к активации транскрипции, либо образовывать комплексы с другими транскрипционными кофакторами и специфическим образом влиять на экспрессию генов-мишеней [15, 20].



**Рисунок 1.** Сигнальные каскады, запускаемые взаимодействием MISRII и AMГ. На поверхности клетки гормон связывается с MISRII, который обладает серин/треонин протеинкиназной активностью. Затем MISRII: а – индуцирует накопление в цитоплазме свободного  $\beta$ -катенина, который, проникая в ядро клеток, совместно с фактором LEF-1 запускает транскрипцию эффекторных генов [14]; б – образует гетеромерный рецепторный комплекс с рецептором I типа (MISRI) и фосфорилирует его по GS-сайту. Рецептор I типа фосфорилирует рецепторные Smad-белки. После этого их фосфорилированная форма – Smad1/5/8P – образует комплекс с белком Smad4, который транслируется в ядро, где взаимодействует с другими кофакторами и регулирует транскрипцию генов-мишеней, таких как *XVent2* и *Tlx2* [15, 16]; в – вызывает диссоциацию гетеромерных комплексов транскрипционных факторов семейства NF- $\kappa$ B (p50, p65, p52 и c-rel) и ингибирующих белков I $\kappa$ B $\alpha$ , в результате чего происходит перемещение свободных транскрипционных факторов в ядро и запуск транскрипции эффекторного гена *IER3* [17].

В первую очередь регуляции подвергается транскрипция репортерных гомеобоксных генов транскрипционных факторов, экспрессия которых необходима для нормального формирования дорзальной мезодермы – *Xvent2* [22, 23] и *Tlx2* [22, 24]. Следует подчеркнуть, что для запуска описанного сигнального каскада важен эндоцитоз лиганд-рецепторного комплекса. На примере сигнального пути TGF- $\beta$  было показано, что образование гетерорецепторного комплекса происходит после взаимодействия лиганда с рецептором, в то время как дальнейшее фосфорилирование белков Smad и формирование Smad-комплекса возможны только после эндоцитоза лиганда и образования эндоплазматической везикулы [25].

Несмотря на многочисленные попытки, белки, представляющие собой MISRI, до сих пор не идентифицированы однозначно. В качестве кандидатов на роль MISRI рассматриваются три рецептора I типа морфогенетического белка костной ткани (bone morphogenetic protein, BMP): ALK6 [26], ALK2 [27] и ALK3 [28]. Введение в геном доминантно-негативных [22] и антисмысловых [27] последовательностей гена *Alk2* способно изменять функцию АМГ в эмбриональных клетках тератокарциномы мыши линии p19 и урогенитальном гребне крыс в органной культуре, соответственно. ALK6, вероятно, участвует в проведении сигнала от комплекса MISRII-АМГ в клетках яичника китайского хомячка линии CHO [26]; однако, у мышей, нокаутных по гену *Alk6*, мюллеровы протоки регрессируют нормально [22]. Инактивация транскрипции гена *Alk3* у самцов мышей препятствует регрессии мюллеровых протоков [28], что фенотипически соответствует состоянию, наблюдаемому при инактивации АМГ или MISRII и свидетельствует о том, что ALK3 выполняет функцию MISRI у мышей [29].

Перечисленные молекулы ALK в эмбриогенезе млекопитающих обнаруживаются на поверхности эпителиоцитов мюллеровых протоков и одновременно с MISRII – на клетках прилежащих к ним тканей. В частности, ALK2 экспрессируется одновременно с MISRII в клетках мезенхимы, окружающей протоки, а ALK6 – в клетках эпителия мюллеровых протоков. Экспрессия ALK2 показана как в клетках семенника, так и яичника, а ALK6 – только в яичнике [30]. С помощью метода гибридизации *in situ* было показано, что в мезенхимных клетках, окружающих мюллеровы протоки, высок уровень экспрессии генов *Smad1*, *Smad5* и особенно – *Smad8* [13]. В клеточных линиях, созданных на основе клеток Сертоли (SMAT-1) и клеток Лейдига (MA-10), обнаружено АМГ-индуцированное фосфорилирование Smad1, формирование комплекса Smad1/Smad4 и его последующая транслокация в ядро [21, 27]. Таким образом, действие АМГ на клетку начинается с его взаимодействия с MISRII, а в дальнейшем проведение сигнала может быть опосредовано участием различных молекул MISRI и Smad-белков, что зависит от стадии онтогенеза и типа клетки [31].

Основное отличие Smad-опосредованных сигнальных путей, запускаемых BMP и АМГ, по-видимому, заключается в характере лиганд/рецепторного взаимодействия. Рецепторам I типа цитокинов из группы BMP, кроме фактора роста и дифференцировки 9 (growth and differentiation factor 9, GDF9), свойственна высокая аффинность связывания, в то время как рецепторы II типа являются лишь вспомогательными [32]. В случае сигнального пути АМГ это не так: MISRII необходим для проведения сигнала [26].

В литературе также имеются немногочисленные данные о том, что АМГ-зависимая активация MISRII инициирует два других сигнальных каскада. Инициация одного из них – сигнального пути с участием  $\beta$ -катенина – обнаружена в мезенхимных клетках, окружающих мюллеровы протоки [14]. Под действием АМГ в цитоплазме этих клеток накапливается свободный  $\beta$ -катенин, который способен проникать в ядро и взаимодействовать с фактором лимфоидного энхансера 1 (lymphoid enhancer factor 1, LEF1), модулируя транскрипцию генов-мишеней (рис. 1а). Такая же последовательность событий происходит при активации сигнального каскада Wnt/ $\beta$ -катенин [33], однако в последнем случае увеличение количества цитоплазматического  $\beta$ -катенина достигается за счёт инактивации его убиквитинилирования и последующей протеасомной деградации [34]. Один из типов секреторных сигнальных молекул семейства Wnt – Wnt7a – экспрессируется в клетках эпителия мюллеровых протоков и обеспечивает диморфизм развития репродуктивной системы, делая её MISRII-позитивные клетки способными реагировать на присутствие АМГ [35]. Однако полагают, что АМГ-зависимое накопление свободного  $\beta$ -катенина в цитоплазме мезенхимных клеток, окружающих мюллеровы протоки, является Wnt-независимым, поскольку происходит даже в отсутствие Wnt7a [14].

Другим альтернативным сигнальным каскадом, активируемым связыванием АМГ с MISRII, по-видимому, является сигнальный путь с участием ядерного фактора NF- $\kappa$ B [17]. Показано, что активация именно этого каскада обуславливает АМГ-зависимую гибель клеток карциномы лёгкого *in vitro* [36]. Семейство транскрипционных факторов NF- $\kappa$ B включает белки p50, p65, p52, relB и c-rel. В отсутствие сигнала димеры, сформированные этими факторами, находятся в цитоплазме в комплексе с ингибирующими белками I $\kappa$ B- $\alpha$ , I $\kappa$ B- $\beta$ , I $\kappa$ B- $\gamma$  и I $\kappa$ B- $\epsilon$  (рис. 1в). Фосфорилирование последних приводит к высвобождению факторов семейства NF- $\kappa$ B и их транслокации в ядро, где они модулируют экспрессию эффекторных генов [37], в том числе гена *IER3*, кодирующего фактор IEX-1S (белок раннего ответа на радиационное облучение или воздействие  $\gamma$ -интерферона или фактора некроза опухоли- $\alpha$ ) [17]. Показано, что связывание АМГ с MISRII NF- $\kappa$ B-зависимо индуцирует усиление экспрессии *IER3* в клетках, происходящих из опухоли лёгкого; это приводит к усилению

синтеза IEX-1S, выполняющего роль негативного регулятора роста и ингибирующего экспансию клеток в культуре [36].

АМГ-зависимая активация сигнального пути с участием белков семейства NF-κB также обнаружена в нормальных и малигнизированных клетках простаты [17] и молочной железы [7], что также приводит к запуску транскрипции эффекторных генов-мишеней. При этом высвобождение белков семейства NF-κB и индукция экспрессии IEX-1S, по всей видимости, происходит без участия белков Smad основного сигнального каскада АМГ/MISRII. Однако до сих пор неясно, какие киназы осуществляют АМГ-индуцируемое фосфорилирование белков, ингибирующих высвобождение факторов NF-κB. Кроме того, показано, что в отличие от АМГ, андрогены не индуцируют этих процессов в клетках, происходящих из аденомы простаты, что указывает на андроген-независимый характер данного сигнального каскада [17].

## 2. СТРУКТУРА ГЕНА *MisrII* И РЕЦЕПТОРА АМГ II ТИПА

У человека ген *MisrII* расположен на длинном плече 12 хромосомы [30] и состоит из 8,7 тысяч пар нуклеотидов [16]. Он содержит 11 экзонов; первые три из них кодируют сигнальную последовательность и внеклеточную часть рецептора, 4-й – большую часть трансмембранного домена, а остальные – внутриклеточный серин/треонин протеинкиназный домен [11]. На сегодняшний день известны нуклеотидные последовательности генов *MisrII* человека [30], мыши [38], крысы [39], кролика [40] и рыбы *Oryzias latipes* [41]. На примере MISRII кролика было показано, что экзон 2 содержит участок, кодирующий сайт связывания рецептора с АМГ [40]. Полипептид MISRII состоит из 573 а.о. (“каноническая” последовательность) и содержит, помимо основной, также сигнальную последовательность (17 а.о.). Аминокислотная последовательность MISRII человека менее чем на 30% гомологична последовательностям других рецепторов II типа цитокинов суперсемейства TGFβ и не гомологична каким-либо другим белкам протеома [42].

Экспериментально обнаружены три изоформы MISRII человека (номер в базе данных UniProt Q16671) – продукты альтернативного сплайсинга транскрипта, различающиеся по длине и составу аминокислотной последовательности. Первая из них является наиболее длинной и принята в качестве “канонической” [43]; вторая имеет сходную длину, однако отличается от первой по аминокислотному составу в области остатков 430-573. Третья идентифицированная изоформа MISRII является самой короткой: в ней отсутствуют а.о. с 381 по 475 [43].

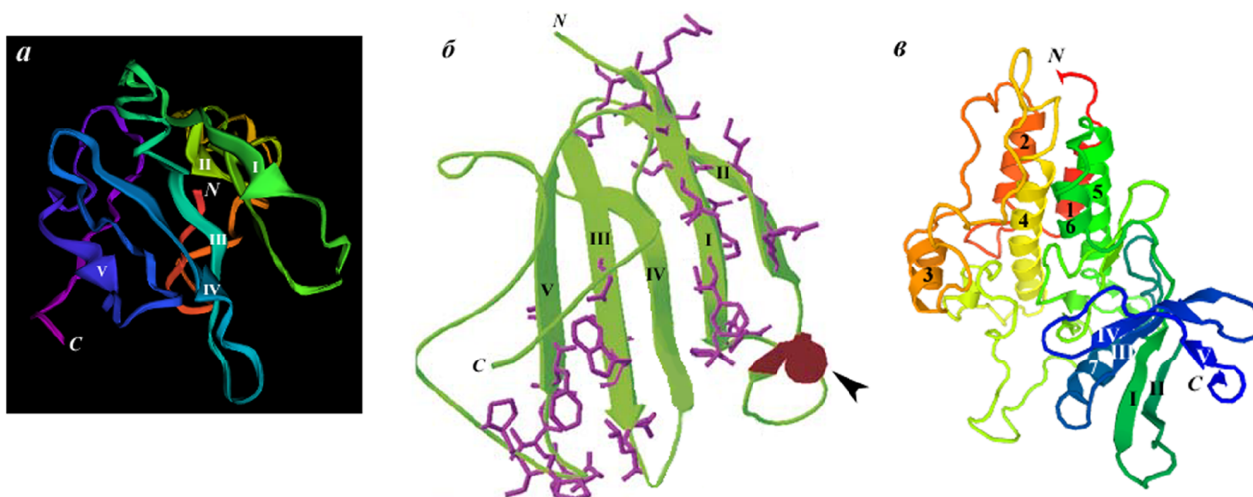
Показано, что полипептид MISRII подвергается специфическому посттрансляционному процессингу [44]. Значительная часть его молекул претерпевает расщепление, приводящее к образованию формы рецептора, которая остаётся в эндоплазматическом

ретикулуме (ЭПР) и в которой отсутствует основная часть его внеклеточного домена. Также в ЭПР остаются связанные дисульфидными мостиками олигомеры MISRII, образующиеся при усилении экспрессии гена *MisrII* и не способные к взаимодействию с лигандом [44].

Структурно молекула MISRII представляет собой гликозилированный трансмембранный белок с молекулярной массой около 66 кДа [30]. В составе MISRII выделяют внеклеточную часть (127 а.о.), а также единственный трансмембранный (26 а.о.) и внутриклеточный протеинкиназный (403 а.о.) домены [28]. Внеклеточная часть MISRII (так же как и MISRI) включает в себя гидрофильный, обогащенный остатками цистеина лиганд-связывающий домен, по-видимому, имеющий одинаковую структуру у всех рецепторов факторов семейства TGF-β [45, 46]. Он содержит цистеиновый кластер из 9 а.о. с консенсусной последовательностью CCX{4-5}CN. В лиганд-связывающем домене рецепторов I типа перед цистеиновым кластером имеются ещё 7 дополнительных аминокислотных остатков [47-49].

Внеклеточная часть рецепторов II типа факторов суперсемейства TGFβ содержит особую структуру – складку трёхпалых токсинов, которая обеспечивает распознавание и связывание лиганда [50]. Этот домен стабилизируют внутримолекулярные дисульфидные связи, определяющие способность рецептора распознавать определенные лиганды суперсемейства [51]. Трёхмерная структура внеклеточной части MISRII, полученная методом гомологического моделирования на основе известного строения внеклеточной части рецептора активина II типа (activin receptor type 2, ACVR2) [52], представлена на рисунке 2б. Видно, что внеклеточный домен MISRII, по-видимому, содержит 5 β-складчатых областей, каждая из которых вовлечена во взаимодействие с АМГ. Вместе они образуют три β-шпильки (“пальца”), первая из которых у MISRII длиннее, чем у ACVR2. Внеклеточный домен MISRII, по-видимому, так же как и в случае ACVR2, стабилизирован пятью внутримолекулярными дисульфидными связями, однако остатки цистеина в них спарены иначе [52]. Сходным образом выглядит модель внеклеточного домена MISRII, полученная методом *ab initio* предсказания с помощью алгоритма QUARK [53] (рис. 2а).

Структура внутриклеточного протеинкиназного домена MISRII также не определена экспериментально, однако, предположительно, она схожа с таковой у других рецепторов II типа цитокинов суперсемейства TGF-β. Его модель, построенная по гомологии (при 42%-ом сходстве аминокислотных последовательностей) с рентгеновской моделью внутриклеточного домена рецептора II типа фактора морфогенеза костной ткани 2 (bone morphogenetic protein 2 receptor type II, BMP2RII), представлена на рисунке 2в (номер Q16671 в базе данных SWISS-MODEL). Предположительно, в её состав входят по меньшей мере 5 β-складчатых областей и 7 α-спиральных участков [54].



**Рисунок 2.** Модели трёхмерной структуры: а – внеклеточного домена MISRII, результат *ab initio* предсказания с помощью алгоритма QUARK [53] (римскими цифрами пронумерованы β-складчатые области); б – внеклеточного домена MISRII, результат гомологического моделирования по рентгеновской структуре внеклеточного домена ACVR2 (римскими цифрами пронумерованы β-складчатые области, показаны аминокислотные остатки, вовлечённые во взаимодействие с АМГ, а также обозначен стрелкой α-спиральный участок первой β-шпильки), адаптировано из [52]; в – внутриклеточного протеинкиназного домена MISRII, результат гомологического моделирования по рентгеновской структуре внутриклеточного домена BMP2RII [54] (римскими цифрами пронумерованы β-складчатые области, арабскими – α-спиральные участки), доступно в базе данных SWISS-MODEL, ID Q16671.

Мутации в гене *MisrII*, а также в гене антимюллерова гормона (*Amh*) приводят к развитию одной из форм мужского псевдогермафродитизма – синдрома персистенции мюллеровых протоков (СПМП), при котором их производные (фаллопиевы трубы, матка и верхняя часть влагалища) сохраняются у генетических самцов [16]. Факт развития СПМП при наличии мутаций в генах *MisrII* и *Amh* хорошо согласуется с предположением о том, что сигнальный путь MISRII/АМГ играет решающую роль в дифференциации пола у мужчин [2]. Известно, что мутации, приводящие к развитию СПМП, могут быть разных типов и возникать по всей длине гена [55]. Наиболее часто у таких пациентов обнаруживается делеция 27 п.н. в экзоне 10 (6331-6357), присутствующая в гомозиготном состоянии или ассоциированная с другой мутацией примерно в половине случаев [55]. Детекция этой мутации не требует секвенирования гена *MisrII* и достигается проведением простой полимеразной цепной реакции (ПЦР). При исследовании направленного мутагенеза гена *MisrII* в клетках линии COS оказалось, что мутации участка гена, кодирующего трансмембранный домен рецептора, являются нестабильными и не приводят к образованию аномальных форм MISRII [56]. При этом большинство мутаций, возникающих в области, кодирующей внеклеточный домен, приводит к нарушению секреции полипептида и препятствует его вставке в клеточную мембрану, делая взаимодействие с АМГ невозможным. Наконец, мутации участка *MisrII*, кодирующего внутриклеточный домен рецептора (в том числе нарушающие структуру субстрат-связывающего сайта протеинкиназного домена [56]), приводят к образованию аномальной формы MISRII, которая экспонируется на поверхности клетки,

но не способна к проведению сигнала при связывании рецептора с АМГ. Обнаружена также стоп-мутация, в результате которой синтез полипептида MISRII прекращается сразу после трансмембранного домена [56]. Такой “укороченный” рецептор способен нормально связывать АМГ, однако, будучи сверхэкспрессирован *in vitro*, проявляет доминантно-негативную активность, что типично для случаев конкурирования мутантного белка с рецептором дикого типа за связывание со специфическим лигандом [56].

### 3.ЭКСПРЕССИЯ MISRII В НОРМЕ И ПРИ ОНКОПАТОЛОГИЯХ

Экспрессия MISRII наблюдается в тех нормальных тканях, которые участвуют в развитии и функционировании половых желез. Так, в основном, MISRII представлен на поверхности клеток гранулёзы яичников и клеток Сертоли и Лейдига семенников [10]. Однако экспрессия MISRII также детектирована в клетках эндометрия матки у грызунов и человека, в клетках молочной и предстательной желез и, что необычно, в моторных нейронах головного мозга [10, 57, 58]. Экспрессия MISRII сохраняется при малигнизации ткани: этот рецептор в большинстве случаев обнаруживается при развитии гранулёзоклеточных опухолей – редкой формы рака яичников [59] – а также на поверхности клеток эпителиальных опухолей яичников [5, 60, 61] и асцитных клеток, но только в течение ограниченного периода времени [62].

В эмбриогенезе млекопитающих MISRII экспрессируется в клетках мезенхимы, окружающей мюллеровы протоки, регрессию которых индуцирует АМГ, действуя паракринно [63, 64].

В эмбрионах крыс, развивающихся по мужскому типу, черепно-хвостовой паттерн экспрессии MISRII клетками мезенхимы коррелирует с черепно-хвостовым паттерном регрессии эпителия [14]. При этом отсутствие в мужском организме АМГ или MISRII приводит к гиперплазии клеток Лейдига, развитию очаговых опухолей и задержке созревания и дифференцировки этих клеток, сопровождаемой удельным снижением способности биосинтеза андрогенов (из расчёта на одну клетку) [65, 66]. У будущих самок экспрессия MISRII сохраняется по всей длине мюллеровых протоков, а во взрослом организме обнаруживается в матке как в норме, так и при беременности [64]. Коэкспрессия MISRII и АМГ в яичнике обнаруживается в гранулезных клетках преантральных и малых антральных фолликулов, где АМГ модулирует их рост и созревание, в частности, ингибируя чувствительность фолликулов к фолликулостимулирующему гормону (ФСГ) [67]. В преовуляторных фолликулах экспрессия генов *Amh* и *MisrII* гораздо выше в клетках кумулюса, чем в пристеночных клетках гранулёзы [68].

Влияние внешних факторов на экспрессию MISRII в различных тканях изучено слабо. Есть данные о том, что другие цитокины суперсемейства TGF $\beta$  – BMP15 и BMP4 – усиливают экспрессию MISRII и АМГ в клетках гранулёзы яичников человека и овцы, тогда как GDF9 не оказывает такого эффекта [69].

В то время как на поверхности клеток некоторых тканей выявляется ограниченное присутствие MISRII, для опухолей, развивающихся из них, характерна гиперэкспрессия этого рецептора [7, 10]. Среди MISRII-позитивных опухолей, происходящих из тканей-производных мюллеровых протоков, наиболее актуальной патологией является рак яичников (около 5% случаев всех злокачественных опухолей у женщин) [70]. Это онкогинекологическое заболевание является пятым по счёту в общем списке онкологических патологий. В США ежегодно регистрируется около 22280 новых случаев рака яичников, соотношение смертности к заболеваемости при котором достигает 63,9% [71]. На момент постановки диагноза у большинства женщин уже выявляется обширное поражение брюшной полости, и при применении стандартной терапии продолжительность жизни только 40% из них составляет ещё около 5 лет [71, 72]. Современным стандартом терапии рака яичников является хирургическое лечение в сочетании с химиотерапией препаратами платины [11]. Хотя этот подход пока наиболее эффективен, многие опухоли яичников обладают первичной устойчивостью к платине, а вторичная устойчивость в большинстве случаев развивается у пациентов в ходе лечения [11]. Таким образом, в условиях ограниченного количества апробированных подходов, необходима разработка новых эффективных методов лечения рака яичников особенно на поздних стадиях и у пациентов с резистентностью к химиотерапевтическим агентам [11]. Наиболее эффективной альтернативой традиционному лечению представляется использование препаратов таргетного действия.

Существующие лекарственные агенты, созданные на основе антител против поверхностных маркеров опухолевых клеток (например, фолатного рецептора [73] и ангиопоэтинов [74]), показывают низкую эффективность при тестировании на клетках опухолей яичников вследствие их гетерогенности [75]. Рецептор MISRII может быть использован в качестве альтернативного маркера клеток рака яичников, поскольку известно, что он обнаруживается в 100% случаев опухолей клеток гранулёзы [76] и в 69-93% случаев эпителиальных опухолей яичников [5, 60, 62, 77], в 77% случаев дисгермином яичников и в 75% случаев эндометриальных опухолей [77], а также на поверхности асцитных клеток пациенток с раком яичников [62]. Показано, что MISRII экспрессируется не только в асцитных клетках, но и в клетках солидных опухолей в случае карциномы яичников [59]. При этом известно, что экспрессия MISRII характерна для опухолевых клеток, позитивных по маркерам Е-кадгерину и CD44 – поверхностным молекулам стволовых опухолевых клеток [78]. По данным Masiakos с соавт. [59], MISRII экспрессируется и в клетках линий, происходящих из эпителиальных опухолей яичников, обуславливая их чувствительность к АМГ. Этими же авторами показано, что АМГ способен связываться с клетками 56% культур, полученных из асцитных клеток, и ингибировать рост 82% из них.

Именно с использованием MISRII-позитивных клеточных линий, полученных из опухолей яичников человека (OVCAR3, 5 и 8, IGROV-1, HOC-1), клетки которых обрабатывали АМГ быка, были проведены первые эксперименты по действию АМГ на клетки рака яичников [79]. Затем основным предметом исследования стали клетки рака яичника человека, полученные из асцитной жидкости пациентов; экспрессия функционально активного MISRII в них была показана с помощью методов ПЦР в реальном времени, проточной цитометрии и иммуногистохимии [80].

В последние годы список потенциальных мишеней для применения АМГ был расширен: новыми кандидатами стали MISRII-позитивные опухолевые клетки не только тканей “мюллерова” происхождения [7]. Этот рецептор был обнаружен на клетках нормального эпителия молочной железы крыс, причем была замечена обратная корреляция между пролиферативной активностью клеток и количеством MISRII на них. Кроме того, установлено, что MISRII не экспрессируется в клетках лактирующей молочной железы крысы [7]. Таким образом, клетки опухоли молочной железы также могут потенциально рассматриваться как мишени для терапии с использованием АМГ [7, 10]. Ещё одной опухолью ткани “немюллерова” происхождения, клетки которой экспрессируют MISRII и восприимчивы к действию АМГ, является аденома предстательной железы [81]. Показано, что MISRII и два вида MISRI присутствуют на поверхности клеток как опухолей простаты, так и линий, происходящих из них [81]. Экспрессия MISRII была обнаружена и в эпителиоцитах лёгких; она прекращается при эпителиально-мезенхимальном



переходе опухолевых клеток [44]. Векс с соавт. обнаружили активность сигнального пути MISRII/AMГ в клетках немелкоклеточного рака лёгкого. Этот каскад оказывает влияние на базальную и BMP-зависимую Smad-сигнализацию и, таким образом, ограничивает эпителиально-мезенхимный переход и участвует в регуляции устойчивости клеток к цитостатикам [82].

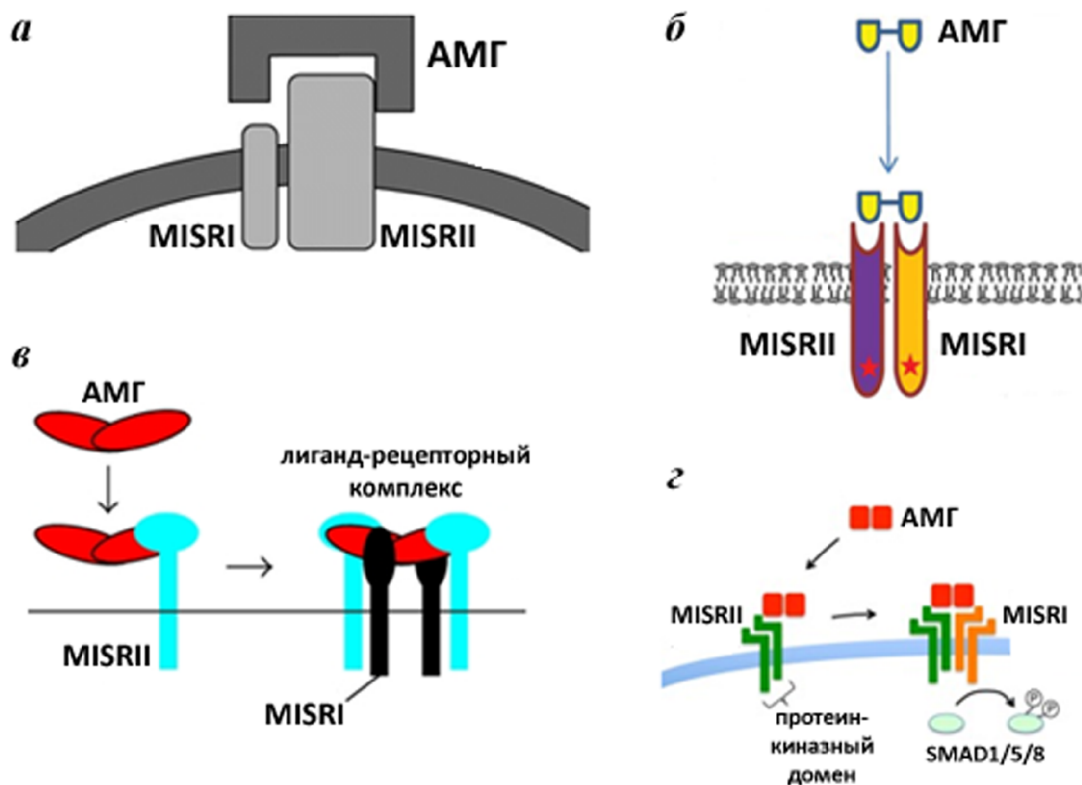
#### 4. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНИЗМАХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ MISRII И AMГ

Считается, что молекула AMГ обретает способность к взаимодействию с MISRII после расщепления по специфическому сайту, в результате которого она разделяется на N- и C-концевой гомодимеры, образующие нековалентно ассоциированный комплекс. Этот факт подтверждается экспериментами с мутантной формой AMГ, в котором отсутствует сайт специфического протеолиза [83]. Мутантный гормон не обладает биологической активностью в тесте ингибирования роста органной культуры мюллеровых протоков крыс [83]. Экспериментально показано, что взаимодействие MISRII с полноразмерным AMГ и его C-концевым фрагментом, приводит к индукции регрессии мюллерова протока в органной культуре уrogenитального гребня крыс [83]. Для N-концевого димера AMГ такой биологической активности показано не было [83], однако существует предположение, что этот фрагмент AMГ участвует во взаимодействии

гормона с MISRII и/или MISRI и обеспечивает его доставку к клеткам-мишеням [20, 83]. Обнаружено также, что и полноразмерный AMГ [84], и его высокоочищенный C-концевой гомодимер [85] способны к взаимодействию как с рекомбинантным MISRII, так и с рецептором, присутствующим на поверхности опухолевых клеток. В последнем случае величина константы ассоциации лиганд-рецепторного комплекса составила  $(4 \pm 0,32) \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$  [86].

Неясно, каким образом биологически активные производные AMГ взаимодействуют с MISRII; кроме того, для MISRII не определена структура центра связывания лиганда. Имеются данные о том, что во взаимодействии с AMГ участвуют все пять  $\beta$ -складчатых областей, предположительно, присутствующих во внеклеточном домене MISRII [52]. Описанные в литературе модели взаимодействия MISRII с лигандом представлены на рисунке 3.

По мнению одних авторов, молекула AMГ взаимодействует одновременно с MISRII и MISRI, расположенными рядом в плазматической мембране (рис. 3а,б) [87, 88]. Другие исследователи считают, что сначала один из мономеров AMГ связывается с MISRII, что инициирует формирование гетеротетрамёрного лиганд-рецепторного комплекса с MISRI (рис. 3в,г) [89, 90]. При этом, по версии одних авторов, его образование начинается с присоединения к комплексу MISRII/AMГ ещё одной молекулы MISRII, а затем – одной за другой – двух молекул MISRI (рис. 3в) [89]. Другие авторы полагают, что AMГ взаимодействует с димером



**Рисунок 3.** Существующие модели взаимодействия AMГ с MISRII, присутствующим на поверхности клеток-мишеней. а, б – показано одновременное взаимодействие гормона с MISRII и MISRI [87, 88]; в – продемонстрировано поэтапное связывание AMГ сначала с MISRII, а затем с MISRI [89]; г – проиллюстрировано взаимодействие лиганда сначала с димером MISRII, а затем с димером MISRI [90]. Адаптировано из [87-90].

MISRII, который затем образует лиганд-рецепторный комплекс с димером MISRI (рис. 3г) [90]. В пользу последней модели и поэтапного связывания АМГ сначала с уже сформированным димером MISRII, а затем с димером MISRI свидетельствует хорошо изученный процесс взаимодействия родственных гормону белков – факторов суперсемейства TGF $\beta$  – с димерами соответствующих рецепторов I и II типов [91].

Гипотеза о том, что присутствующие в плазматической мембране клеток молекулы MISRII распределены не хаотично и образуют гомомерные комплексы ещё до взаимодействия с лигандом, имеет экспериментальное подтверждение [44]. Таким образом, ограничивается их латеральная подвижность и создается кластеризованный паттерн распределения. Эти особенности отличают MISRII от других рецепторов-лигандов цитокинов суперсемейства TGF $\beta$  и, возможно, позволяя уникальным образом регулировать его взаимодействия с лигандом, MISRI и вторичными посредниками инициируемого АМГ сигнального пути [44].

#### 5. ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ MISRII КАК МИШЕНИ ДЛЯ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

Прежде всего, MISRII может служить мишенью для действия рекомбинантного АМГ [92, 93]. При обработке АМГ в MISRII-позитивных клетках линии OVCAR8 наблюдается остановка клеточного цикла в фазе G1, усиление экспрессии генов некоторых ингибиторов циклин-зависимых киназ, например p16 и p21, и последующий запуск апоптоза [6, 94]. Такой же эффект АМГ оказывает и на клетки линии HOSE, полученной из опухоли почечного эпителия яичника человека, также позитивные по маркеру MISRII [94]. Кроме того, в клетках линий OVCAR8 и HOSE при обработке АМГ наблюдалось усиление экспрессии факторов E2F-1 и E2F-2, вовлеченных в реализацию апоптотического сигнала [6].

Действие АМГ на рост MISRII-позитивных злокачественных новообразований *in vivo* было продемонстрировано на модели ксенотрансплантации клеток линий, полученных из опухоли яичника человека, в организм иммуносупрессированных мышей. Так, в работе Donahoe и соавт. [6] клетки опухоли, экспрессирующие MISRII, адгезировали на фибрин-тромбиновые частицы размером около 1 мм<sup>3</sup> и затем имплантировали животным под почечную капсулу. Внутривентральное введение АМГ приводило к ингибированию роста опухолей IGROV-1 в мышцах линии SCID и опухолей их клеток OVCAR8 у животных линии nude [6].

Вероятно, АМГ может быть использован для терапии и других опухолей тканей “мюллерова” происхождения – например, рака шейки матки. Установлено, что клетки трёх клеточных линий, происходящих из карциномы шейки матки человека – CaSki, SiHa и C33A, имеют на поверхности функционально активный MISRII, и их рост

*in vitro* ингибируется АМГ [95]. Также показано, что в клетках опухоли молочной железы, позитивных по маркеру MISRII, АМГ усиливает I $\kappa$ B-зависимое связывание ДНК с комплексом NF- $\kappa$ B, что приводит к запуску транскрипции гена белка IEX-1S вне зависимости от наличия на клетках рецепторов к эстрогену [7]. Наконец, терапия опухолей предстательной железы с применением АМГ может быть эффективной не только вследствие индукции апоптоза клеток опухоли, но и поскольку гормон способен подавлять синтез тестостерона [40, 96]. Показано, что АМГ подавляет рост культур клеток линий, полученных из аденомы простаты, и активирует в них синтез регуляторного фактора интерферона 1 (interferon regulatory factor 1, IRF1), который при совместном действии с гамма-интерфероном усиливает ингибирующий эффект, оказываемый АМГ *in vivo* и *in vitro* [7].

Следует отметить, что в действительности опухоли могут возникать в результате множественных генетических аномалий и быть чрезвычайно устойчивыми к воздействию химиотерапевтическими препаратами [11]. Поэтому более эффективным представляется ингибирующее воздействие сразу на несколько сигнальных путей, обеспечивающих пролиферацию опухолевых клеток. С этой точки зрения для проведения MISRII-специфичной противоопухолевой терапии потенциально могут быть использованы конъюгаты АМГ с цитотоксическими агентами, механизм действия которых хорошо изучен. Эксперименты с использованием MISRII-позитивной клеточной линии MOVCAR, происходящей из опухоли яичника мыши, показали, что её клетки, формирующие опухоль (обладающие фенотипом стволовых), устойчивы к обработке доксорубицином, однако восприимчивы к АМГ [7]. В то же время, для клеток этой линии был обнаружен синергизм совместного действия АМГ и доксорубицина, а также рапамицина, и аддитивность – АМГ и паклитаксела/цисплатина. Схожий аддитивный эффект наблюдался и при совместной обработке АМГ и паклитаксела экспрессирующих MISRII клеток линии IGROV-1, полученной из опухоли яичника человека [7].

Получение высокоочищенного, биологически активного рекомбинантного АМГ в препаративных количествах – чрезвычайно трудная задача [97]. Поэтому были предприняты попытки подобрать вещество, которое либо усилило терапевтический эффект АМГ, либо само по себе имитировало действие АМГ, селективно активируя сигнальный каскад, опосредованный MISRII. В результате скрининга более чем 15000 соединений оказалось, что такими свойствами обладает обратимый, конкурирующий с АТФ ингибитор N-терминальной киназы c-Jun (c-Jun N-terminal kinase, JNK), являющийся членом семейства протеинкиназ MAPK – SP600125 [98]. Это вещество само по себе может стать основой для разработки лекарства для терапии MISRII-позитивных опухолей или, будучи использовано в сочетании с АМГ, позволит существенно снизить дозу вводимого гормона [97].



Рецептор MISRII может быть также использован в качестве поверхностного маркера для диагностики ряда злокачественных новообразований методом иммуногистохимического или цитофлуориметрического анализа [12]. Визуализировать MISRII-позитивные опухолевые клетки можно с помощью специфичных к внеклеточной части MISRII антител, конъюгированных с ферментной, радиоизотопной или флуоресцентной меткой. Так, мышинные моноклональные антитела 16F12 против внеклеточной части MISRII, полученные Deshayes с соавт. [99], были конъюгированы с радиоизотопной меткой и обладали способностью распознавать MISRII на поверхности клеток эндометриальной карциномы в составе внутрибрюшинных ксенографтов, вживлённых мышам линии nude-Foxn1<sup>tm</sup>. Эффективность радиоиммунотерапии с применением подобных конъюгатов для лечения перитонеальных опухолей ранее была подтверждена многочисленными доклиническими и клиническими исследованиями [100]. По данным этих авторов, такие антитела позволяют не только визуализировать опухолевые клетки методом позитронно-эмиссионной томографии, но и уничтожать их, будучи применёнными при лучевой терапии. В другой работе, выполненной Jasquet с соавт. [101], получены и охарактеризованы мышинные моноклональные антитела 12G4, на основе которых Estupina с соавт. впоследствии были созданы гуманизированные анти-MISRII антитела 3C23K [75]. Они обладают способностью к взаимодействию с MISRII в области связывания АМГ, и поэтому способны не только к распознаванию внеклеточной части MISRII, но и к запуску проапоптотического сигнального каскада в малигнизированных клетках. По этой причине представляется эффективным использование данных антител как для выявления MISRII-позитивных опухолей, так и для их таргетной терапии. Авторы отмечают, что, несмотря на одинаковую эпитопную специфичность антител 12G4 и 3C23K, аффинность связывания с MISRII последнего значительно выше [75]. Противоопухолевая активность гуманизированных антител 3C23K в отношении клеток опухолей яичников мыши опосредована в основном задействованием иммунных клеток-эффекторов. При этом активация натуральных киллеров антителами 3C23K, принадлежащими изотипу IgG1, является минимальной, в то время как основное количество активирующихся иммунных клеток составляют макрофаги, обеспечивая цитотоксичность по типу антитело-зависимого клеточного эндоцитоза [75]. По данным Bougherara с соавт. [78], при карциноме яичников антитела 3C23K мобилизуют макрофаги по Fc-рецептор-зависимому механизму, что приводит к уничтожению опухолевых клеток [78]. Более того, показано, что 3C23K взаимодействуют с эффекторными клетками мыши в основном через рецептор mFcγRIV [78]. Обнаружено, что действие 3C23K на эти рецепторы приводит к уменьшению количества клеток с фенотипом иммуносупрессоров. В этих условиях предварительно активированные Т-клетки восстанавливают свою

способность к пролиферации, которая блокируется в отсутствие 3C23K. Макрофаги, активированные 3C23K через Fc-рецепторы, продуцируют некоторые провоспалительные цитокины, в частности, интерлейкины 1β и 6. Механизм, с помощью которого антитела 3C23K способны изменять фенотип макрофагов, ослабляя супрессию Т-клеток, в настоящее время неизвестен [78].

Терапевтические свойства 3C23K были исследованы на ксенографтах как клеток опухоли гранулёзы яичника, так и клеток линии NIH-OVCAR-3, полученной из эпителиального рака яичника. Показано, что в обоих случаях антитела эффективно ингибируют рост вживлённых опухолей [5]. Таким образом, препараты, созданные на основе антител 3C23K, могут быть использованы в терапии как эпителиальных, так и гранулёзноклеточных опухолей яичников, запуская процесс иммунно-опосредованной цитотоксичности [11].

Эффективность антител 3C23K была протестирована как отдельно, так и в сочетании со стандартной комбинацией химиотерапевтических препаратов – карбоплатина и паклитаксела – на ксенографтах пяти разновидностей опухолей яичника. Установлено, что отдельное введение 3C23K индуцирует слабое ингибирование роста опухолей, однако оно значительно усиливается при использовании 3C23K в сочетании с химиотерапевтическими агентами (до 92% по сравнению с 82% после применения только химиотерапии) [78]. Тот факт, что антитела 3C23K оказывают выраженный противоопухолевый эффект в комбинации с цитотоксическими препаратами, порождает интересную гипотезу о том, что макрофаги активнее проявляют антитело-зависимую цитотоксичность и антитело-зависимый эндоцитоз в отношении повреждённых клеток [78]. Дело в том, что ряд химиотерапевтических агентов (в том числе вышеупомянутые паклитаксел и цисплатин) вызывают иммуногенную гибель клеток, что может индуцировать смену фенотипа макрофагов [78].

Применение антител, по свойствам подобных 3C23K, в терапии MISRII-позитивных злокачественных новообразований может быть реальной альтернативой использованию рекомбинантного АМГ [52]. При этом за счёт высокоспецифичного действия антител, индуцирующих апоптоз, доза вводимого препарата может быть существенно снижена и может быть нивелирован риск проявления побочных эффектов, связанных с использованием АМГ. Кроме того, время присутствия антител в циркуляции существенно выше, чем у полноразмерного гормона, молекула которого является нестабильной и может расщепляться ферментами крови, например, плазмином [20, 92]. К сожалению, в настоящее время антитела 3C23K являются единственными в своём роде, что связано с трудоёмкостью получения антител, обладающих подобными свойствами. Тем не менее, сегодня это направление является одним из главных в сфере разработки таргетных противоопухолевых препаратов [102].

# ЛИТЕРАТУРА

1. Lee M.M., Donahoe P.K. (1993) *Endocr. Rev.*, **14**, 152-164.
2. Гукасова Н.В., Северин С.Е. (2005) *Вопр. биол., мед. фарм. химии*, **4**, 3-9. [Gukasova N.V., Severin S.E. (2005) *Vopr. biol., med. i farm. khimii*, **4**, 3-9.]
3. Durlinger A.L., Visser J.A., Themmen A.P. (2002) *Reprod.*, **124**, 601-609.
4. Sriraman V., Niu E., Matias J.R., Donahoe P.K., MacLaughlin D.T., Hardy M.P., Lee M.M. (2001) *J. Androl.*, **22**, 750-758.
5. Kersual N., Garambois V., Chardès T., Pouget J.P., Salhi I., Bascoul-Mollevi C., Bibeau F., Busson M., Vié H., Clémenceau B., Behrens C.K. (2014) *MAbs*, **6**(5), 1314-1326.
6. Donahoe P.K., Clarke T., Teixeira J., Maheswaran S., MacLaughlin D.T. (2003) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **211**(1), 37-42.
7. MacLaughlin D.T., Donahoe P.K. (2010) *Future Oncol.*, **6**(3), 391-405.
8. Orvis G.D., Jamin S.P., Kwan K.M., Mishina Y., Kaartinen V.M., Huang S., Roberts A.B., Umans L., Huylebroeck D., Zwijsen A., Wang D., Martin J.F., Behringer R.R. (2008) *Biol. Reprod.*, **78**, 994-1001.
9. Sedes L., Leclerc A., Moindjie H., Cate R.L., Picard J.Y., di Clemente N., Jamin S.P. (2013) *PLoS ONE*, **8**(11), 1-13.
10. Kim J.H., MacLaughlin D.T., Donahoe P.K. (2014) *Obstet. Gynecol. Sci.*, **57**(5), 343-357.
11. Gill S.E., Zhang Q., Keeney G.L., Cliby W.A., Weroha S.J. (2017) *Oncotarget*, **8**(49), 85214-85223.
12. Рак А.Я., Трофимов А.В., Пугарева Н.В., Симбирцев А.С., Ищенко А.М. (2017) *Цитокины и воспаление*, **16**(3), 58-61. [Rak A.Ya., Trofimov A.V., Pigareva N.V., Simbirtsev A.S., Ishchenko A.M. (2017) *Cytokines and inflammation*, **16**(3), 58-61.]
13. Teixeira J., Maheswaran S., Donahoe P.K. (2001) *Endocr. Rev.*, **22**(5), 657-674.
14. Allard S., Adin P., Gouedard L., di Clemente N., Josso N., Orgebin-Crist M.C., Picard J.Y., Xavier F. (2000) *Development*, **127**, 3349-3360.
15. Рак А.Я., Трофимов А.В., Петров А.В., Симбирцев А.С., Ищенко А.М. (2016) *Цитокины и воспаление*, **15**(3), 256-264. [Rak A.Ya., Trofimov A.V., Petrov A.V., Simbirtsev A.S., Ishchenko A.M. (2016) *Cytokines and inflammation*, **15**(3), 256-264.]
16. Josso N., Belville C., di Clemente N., Picard J.Y. (2005) *Hum. Reprod. Update*, **11**(4), 351-356.
17. Segev D.L., Hoshiya Y., Hoshiya M., Tran T.T., Carey J.L., Stephen A.E., MacLaughlin D.T., Donahoe P.K., Maheswaran S. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 239-244.
18. Massagué J. (1998) *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 753-791.
19. Massagué J., Weis-Garcia F. (1996) *Cancer Surv.*, **27**, 41-64.
20. Pankhurst M.W., Leathart B.L., Batchelor N.J., McLennan I.S. (2016) *Endocrinology*, **157**(4), 1622-1629.
21. Dijke P.T. (2006) *Curr. Med. Res. Opin.*, **22**(1), S7-S11.
22. Clarke T.R., Hoshiya Y., Yi S.E., Liu X., Lyons K.M., Donahoe P.K. (2001) *Mol. Endocrinol.*, **15**, 946-959.
23. Onichtchouk D., Gawantka V., Dosch R., Delius H., Hirschfeld K., Blumenstock C., Niehrs C. (1996) *Development*, **122**(10), 3045-3053.
24. Tang S.J., Hoodless P.A., Lu Z., Breitman M.L., McInnes R.R., Wrana J.L., Buchwald M. (1998) *Development*, **125**(10), 1877-1887.
25. Massagué J., Wotton D. (2000) *EMBO J.*, **19**(8), 1745-1754.
26. Gouedard L., Chen Y.G., Thevenet L., Racine C., Borie S., Lamarre I., Josso N., Massagué J., di Clemente N. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 27973-27978.
27. Visser J.A., Olaso R., Verhoef-Post M., Kramer P., Themmen A.P., Ingraham H.A. (2001) *Mol. Endocrinol.*, **15**, 936-945.
28. Jamin S.P., Arango N.A., Mishina Y., Hanks M.C., Behringer R.R. (2002) *Nat. Genet.*, **32**, 408-410.
29. Yong Z., Fujino A., MacLaughlin D.T., Manganaro T.F., Szotek P.P., Arango N.A., Teixeira J., Donahoe P.K. (2006) *Development*, **133**(12), 2359-2369.
30. Imbeaud S., Faure E., Lamarre I., Mattéi M.G., di Clemente N., Tizard R., Carré-Eusèbe I.D., Belville C., Tragethon L., Tonkin C., Nelson J., McAuliffe M., Bidart J.-M., Lababidi A., Josso N., Cate R.L., Picard J.-Y. (1995) *Nat. Genet.*, **11**(4), 382-388.
31. Visser J.A. (2003) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **211**(1), 65-73.
32. Nohe A., Keating E., Knaus P., Petersen N.O. (2004) *Cell. Signal.*, **16**, 291-299.
33. Papkoff J., Rubinfeld B., Schryver B., Polakis P. (1996) *Mol. Cell. Biol.*, **16**(5), 2128-2134.
34. Aberle H., Bauer A., Stappert J., Kispiert A., Kemler R. (1997) *EMBO J.*, **16**(13), 3797-3804.
35. Parr B.A., McMahon A.P. (1998) *Nature*, **395**(6703), 707.
36. Segev D.L., Ha T.U., Tran T.T., Kenneally M., Harkin P., Jung M., MacLaughlin D.T., Donahoe P.K., Maheswaran S. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**(37), 28371-28379.
37. Barkett M., Gilmore T.D. (1999) *Oncogene*, **18**, 6910-6924.
38. Mishina Y., Rey R., Finegold M.J., Matzuk M.M., Josso N., Cate R.L., Behringer R.R. (1996) *Genes Dev.*, **10**, 2577-2587.
39. Baarends W.M., van Helmond M.J., Post M., van der Schoot P.J., Hoogerbrugge J.W., de Winter J.P., Uilenbroek J.T., Karels B., Wilming L.G., Meijers J.H., Themmen P.N., Grootegoed J.A. (1994) *Development*, **120**, 189-197.
40. di Clemente N., Wilson C., Faure E., Boussin L., Carmillo P., Tizard R., Picard J.Y., Vigier B., Josso N., Cate R. (1994) *Mol. Endocrinol.*, **8**, 1006-1020.
41. Shiraishi E., Yoshinaga N., Miura T., Yokoi H., Wakamatsu Y., Abe S., Kitano T. (2007) *Endocrinology*, **149**(4), 1813-1819.
42. Josso N., Racine C., di Clemente N., Rey R., Xavier F. (1998) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **145**, 3-7.
43. Pundir S., Martin M.J., O'Donovan C. (2017) *Methods Mol. Biol.*, **1558**, 41-55.
44. Hirschhorn T., di Clemente N., Amsalem A.R., Pepinsky R.B., Picard J.Y., Smorodinsky N.I., Cate R.L., Ehrlich M. (2015) *J. Cell. Sci.*, **128**(7), 1352-1364.
45. Attisano L., Wrana J.L. (1996) *Cytokine Growth F. R.*, **7**(4), 327-339.
46. Wrana J.L., Attisano L., Wieser R., Ventura F., Massagué J. (1994) *Nature*, **370**(6488), 341-347.
47. Baker J.C., Harland R.M. (1997) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **7**(4), 467-473.
48. Kingsley D.M. (1994) *Genes Dev.*, **8**(2), 133-146.
49. Ichijo H., Franzén P., Schulz P., Saras J., Toyoshima H., Heldin C.H., Miyazono K. (1993) *Oncogene*, **8**(10), 2879-2887.
50. Hinck A.P. (2012) *FEBS Lett.*, **586**, 1860-1870.
51. Allendorph G.P., Vale W.W., Choe S. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 7643-7648.
52. Salhi I., Cambon-Roques S., Lamarre I., Laune D., Molina F., Pugniere M., Pourquier D., Gutowski M., Picard J.Y., Xavier F., Pèlegri A. (2004) *Biochem. J.*, **379**(3), 785-793.
53. Xu D., Zhang Y. (2012) *Proteins*, **80**, 1715-1735.

54. Waterhouse A., Bertoni M., Bienert S., Studer G., Tauriello G., Gumienny R., Heer F.T., de Beer T.A.P., Rempfer C., Bordoli L., Lepore R., Schwede T. (2018) *Nucleic Acids Res.*, **46**(W1), W296-W303.
55. Josso N., Belville C., Picard J.Y. (2003) *Endocrinologist*, **13**(3), 247-251.
56. Messika-Zeitoun L., Gouédard L., Belville C., Dutertre M., Lins L., Imbeaud S., Hughes I.A., Picard J.Y., Josso N., di Clemente N. (2001) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **86**, 4390-4397.
57. Wang P.Y., Koishi K., McGeachie A.B., Kimber M., MacLaughlin D.T., Donahoe P.K., McLennan I.S. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 16421-16425.
58. Cimino I., Casoni F., Liu X., Messina A., Parkash J., Jamin S.P., Catteau-Jonard S., Collier F., Baroncini M., Dewailly D., Pigny P., Prescott M., Campbell R., Herbison A.E., Prevot V., Giacobini P. (2016) *Nat. Commun.*, **7**(10055), 1-12.
59. Masiakos P.T., MacLaughlin D.T., Maheswaran S., Teixeira J., Fuller A.F., Shah P.C., Kehas D.J., Kenneally M.K., Dombkowski D.M., Ha T.U., Preffer F.I., Donahoe P.K. (1999) *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.*, **5**, 3488-3499.
60. Song J.Y., Chen K.Y., Kim S.Y., Kim M.R., Ryu K.S., Cha J.H., Kang C.S., MacLaughlin D.T., Kim J.H. (2009) *Int. J. Oncol.*, **34**, 1583-1591.
61. Anttonen M., Färkkilä A., Tauriala H., Kauppinen M., MacLaughlin D.T., Unkila-Kallio L., Bützow R., Heikinheimo M. (2011) *Lab. Investig. J. Tech. Methods. Pathol.*, **91**, 1605-1614.
62. Pepin D., Sosulski A., Zhang L., Wang D., Vathipadiekal V., Hendren K., Coletti C.M., Yu A., Castro C.M., Birrer M.J., Gao G., Donahoe P.K. (2015) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, E4418-E4427.
63. Tsuji M., Shima H., Yonemura C.Y., Brody J., Donahoe P.K., Cunha G.R. (1992) *Endocrinology*, **131**, 1481-1488.
64. Teixeira J., Donahoe P.K. (1996) *J. Androl.*, **17**, 336-341.
65. di Clemente N., Belville C. (2006) *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, **20**, 599-610.
66. Wu X., Arumugam R., Baker S.P., Lee M.M. (2005) *Endocrinology*, **146**, 589-595.
67. Visser J.A., de Jong F.H., Laven J.S., Themmen A.P. (2006) *Reproduction*, **131**(1), 1-9.
68. Grøndahl M.L., Nielsen M.E., Dal Canto M.B., Fadini R., Rasmussen I.A., Westergaard L.G., Kristensen S.G., Yding Andersen C. (2011) *Reprod. Biomed. Online*, **22**(4), 389-398.
69. Pierre A., Estienne A., Racine C., Picard J.Y., Fanchin R., Lahoz B., Alabart J.L., Folch J., Jarrier P., Fabre S., Monniaux D. (2016) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **101**(6), 2602-2611.
70. Урманчиева А.Ф., Мешкова И.Е. (2000) *Практическая онкология*, **4**, 7-13. [Urmancheeva A.F., Meshkova I.E. (2000) *Prakticheskaya onkologiya*, **4**, 7-13.]
71. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. (2016) *CA Cancer J. Clin.*, **66**, 7-30.
72. Barnholtz-Sloan J.S., Schwartz A.G., Qureshi F., Jacques S., Malone J., Munkarah A.R. (2003) *Am. J. Obstet. Gynecol.*, **189**, 1120-1127.
73. Sato S., Itamochi H. (2016) *Oncotargets Ther.*, **9**, 1181-1188.
74. Al Wadi K., Ghatage P. (2016) *Expert Opin. Pharmacother.*, **17**, 853-860.
75. Estupina P., Fontayne A., Barret J.M., Kersual N., Dubreuil O., Le Blay M., Pichard A., Jarlier M., Pugnière M., Chauvin M. et al. (2017) *Oncotarget*, **8**, 37061-37079.
76. Rey R., Sabourin J.C., Venara M., Long W.Q., Jaubert F., Zeller W.P., Duvillard P., Chemes H., Bidart J.M. (2000) *Hum. Pathol.*, **31**, 1202-1208.
77. Bakkum-Gamez J.N., Aletti G., Lewis K.A., Keeney G.L., Thomas B.M., Navarro-Teulon I., Cliby W.A. (2008) *Gynecol. Oncol.*, **108**, 141-148.
78. Bougherara H., Nèmati F., Nicolas A., Massonnet G., Pugnière M., Ngô C., Le Frère-Belda M.A., Leary A., Alexandre J., Meseure D., Barret J.M. (2017) *Oncotarget*, **8**(59), 99950-99965.
79. Kim A., Ueda Y., Naka T., Enomoto T. (2012) *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, **31**(1), 14-21.
80. Scully R.E. (1977) *Am. J. Pathol.*, **87**(3), 686-720.
81. Shen W.H., Moore C.C., Ikeda Y., Parker K.L., Ingraham H.A. (1994) *Cell*, **77**(5), 651-661.
82. Beck T.N., Korobeynikov V.A., Kudinov A.E., Georgopoulos R., Solanki N.R., Andrews-Hoke M., Kistner T.M., Pépin D., Donahoe P.K., Nicolas E., Einarson M.B. (2016) *Cell. Rep.*, **16**(3), 657-671.
83. Cate R.L., Donahoe P.K., MacLaughlin D.T. (1990) in: *Peptide Growth Factors and Their Receptors II* (Sporn M.B., Roberts A.B., eds.) Springer, New York, pp. 179-210.
84. di Clemente N., Jamin S.P., Lugovskoy A., Carmillo P., Ehrenfels C., Picard J.Y., Whitty A., Josso N., Pepinsky R.B., Cate R.L. (2010) *Mol. Endocrinol.*, **24**(11), 2193-2206.
85. Rak A.Ya., Trofimov A.V., Pigareva N.V., Simbirtsev A.S., Ischenko A.M. (2018) *Cell Tissue Biol.*, **12**(6), 460-467.
86. Рак А.Я., Трофимов А.В., Протасов Е.А., Родин С.В., Жахов А.В., Забродская Я.А., Ищенко А.М. (2019) *Прикл. биохим. микробиол.*, **55**(1), 1-9. [Rak A.Ya., Trofimov A.V., Protasov E.A., Rodin S.V., Zhakhov A.V., Zabrodskaya Ya.A., Ishchenko A.M. (2019) *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, **55**(1), 1-9.]
87. Marca A.L., Volpe A. (2007) *Hum. Reprod. Update*, **13**(3), 265-273.
88. Santibañez J.F., Quintanilla M., Bernabeu C. (2011) *Clin. Sci. (Lond.)*, **121**(6), 233-251.
89. Josso N., Rey R., Picard J.Y. (2013) *Int. J. Endocrinol.*, **2013**, 1-12.
90. Kikuchi K., Hamaguchi S. (2013) *Dev. Dyn.*, **242**(4), 339-353.
91. Wrana J.L., Attisano L., Cárcamo J., Zentella A., Doody J., Laiho M., Wang X.F., Massagué J. (1992) *Cell*, **71**(6), 1003-1014.
92. Lorenzo H.K., Teixeira J., Pahlavan N., Laurich V.M., Donahoe P.K., MacLaughlin D.T. (2002) *J. Chromatogr. B*, **766**(1), 89-98.
93. Papakostas T.D., Pieretti-Vanmarcke R., Nicolaou F., Thanos A., Trichonas G., Koufomichali X., Anago K., Donahoe P.K., Teixeira J., MacLaughlin D.T., Vawas D. (2010) *Protein Express. Purif.*, **70**(1), 32-38.
94. Jung Y.S., Kim H.J., Seo S.K., Choi Y.S., Nam E.J., Kim S.W., Han H.D., Kim J.W., Kim Y.T. (2016) *Yonsei Med. J.*, **57**(1), 33-40.
95. Barbie T.U., Barbie D.A., MacLaughlin D.T., Maheswaran S., Donahoe P.K. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**(26), 15601-15606.
96. di Clemente N., Josso N., Gouédard L., Belville C. (2003) *Mol. Cell. Endocrinol.*, **211**(1), 9-14.
97. Bennett B.L., Sasaki D.T., Murray B.W., O'Leary E.C., Sakata S.T., Xu W., Leisten J.C., Motiwala A., Pierce S., Satoh Y., Bhagwat S.S., Manning A.M., Anderson D.W. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 13681-13686.
98. Renlund N., Pieretti-Vanmarcke R., O'Neill F.H., Zhang L., Donahoe P.K., Teixeira J. (2007) *Endocrinology*, **149**(1), 108-115.

99. Deshayes E., Ladjohounlou R., Le Fur P., Pichard A., Lozza C., Boudousq V., Sevestre S., Jarlier M., Kashani R., Koch J., Sosabowski J. (2018) J. Nucl. Med., **59**(8), 1234-1242.
100. Verheijen R.H., Massuger L.F., Benigno B.B., Epenetos A.A., Lopes A., Soper J.T., Markowska J., Vyzula R., Jobling T., Stamp G., Spiegel G. (2006) J Clin Oncol., **24**, 571-578.
101. Jacquet A., Kersual N., Garambois V., Fontayne A., Pujols F., Fournier N., Pugnière M., Chavanieu A., de Romeuf C., Prost J.F., Urbain R., Pèlerin A., Gaucher C., Teulon-Navarro I. (2012) Cancer Res., **72**, 2528.
102. Gharpure K.M., Wu S.Y., Li C., Lopez-Berestein G., Sood A.K. (2015) Clin. Cancer Res., **21**(14), 3121-3130.

Поступила в редакцию: 08. 01. 2019.  
После доработки: 01. 03. 2019.  
Принята к печати: 04. 03. 2019.

## MULLERIAN INHIBITING SUBSTANCE TYPE II RECEPTOR AS A POTENTIAL TARGET FOR ANTINEOPLASTIC THERAPY

*A.Ya. Rak<sup>1,2\*</sup>, A.V. Trofimov<sup>1</sup>, A.M. Ischenko<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>State Research Institute of Highly Pure Biopreparations,  
7 Pudozhskaya str., Saint-Petersburg, 197110 Russia; \*e-mail: a.ya.rak@hpb.spb.ru

<sup>2</sup>Saint-Petersburg State University, 7/9 Universitetskaya emb., Saint-Petersburg, 199034 Russia

The review considers properties of the type II anti-Mullerian hormone receptor (mullerian inhibiting substance receptor type II, MISRII), a transmembrane sensor with its own serine/threonine protein kinase activity, triggering apoptosis of the Mullerian ducts in mammalian embryogenesis and providing formation of the male type reproductive system. According to recent data, MISRII overexpression in the postnatal period is found in cells of a number of ovarian, mammary gland, and prostate tumors, and anti-Mullerian hormone (AMH) has a pro-apoptotic effect on MISRII-positive tumor cells. This fact makes MISRII a potential target for targeted anti-cancer therapy. Treatment based on targeting MISRII seems to be a much more effective alternative to the traditional one and will significantly reduce the drug dose. However, the mechanism of MISRII-AMH interaction is still poorly understood, so the development of new anticancer drugs is complicated. The review analyzes MISRII molecular structure and expression levels in various tissues and cell lines, as well as current understanding of the AMH binding mechanisms and data on the possibility of using MISRII as a target for the action of AMH-based antineoplastic drugs.

**Key words:** AMHR2; anti-Mullerian hormone; antineoplastic therapy; MISRII; receptor; signaling pathway

Received: 08.01.2019, revised: 01.03.2019, accepted: 04.03.2019.