

ПРОТЕЇНКИНАЗИ РОДИНИ PKD ЯК ПЕРСПЕКТИВНИЙ ОБ'ЄКТ ТРАНСЛЯЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ В ОНКОЛОГІЇ

С. В. МІХАЛАП, М. Ю. ШАБЕЛЬНИК, С. П. СИДОРЕНКО

*Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології
ім. Р. Є. Кавецького НАН України, Київ;
e-mail: svetasad@onconet.kiev.ua*

Дослідження останніх років свідчать про вплив протеїнкіназ родини PKD на біологічні властивості як нормальних, так і злоякісно трансформованих клітин. Диференційна експресія генів протеїнкіназ родини PKD виявлена в пухлинах різного гістогенезу. Ці протеїнкінази активуються ростовими факторами, за антигенної стимуляції та оксидативного стресу клітин, що зазвичай спостерігається під час прогресії злоякісних новоутворень. Представники родини PKD регулюють міжклітинні контакти шляхом впливу на адгезивні властивості клітин. Протеїнкінази цієї родини залучені до регуляції процесів проліферації та програмованої смерті клітин. Вони беруть участь в епігенетичній регуляції активності генів. Тому вивчення диференційної експресії та активності окремих протеїнкіназ цієї родини в первинних пухлинах у контексті розповсюдження пухлинного процесу та прогнозу перебігу захворювання може бути перспективним об'єктом трансляційних досліджень в онкології. Це сприятиме розробці нових підходів до диференційної діагностики злоякісних новоутворень різного гістогенезу та спрямованій терапії пухлин, а також оцінки прогнозу перебігу захворювання.

Ключові слова: протеїнкінази родини PKD, онкологія, сигнальні каскади, адгезія клітин, трансляційні дослідження.

Онкогенез є тривалим та багатостадійним процесом, що складається із сукупності подій, які в експериментальних моделях поділяють на стадії ініціації, промоції та прогресії [1]. До злоякісної трансформації клітин призводить накопичення незалежних мутацій та епігенетичних порушень, які сприяють дисбалансу в регуляції сигнальних шляхів, що контролюють проліферацію, ріст клітин, диференціювання та апоптоз [1, 2]. Прогрес сучасної онкології обумовлений ідентифікацією низки молекулярних сигнальних шляхів і клітинних механізмів, що лежать в основі злоякісної трансформації клітин та патогенезу пухлин.

Ключова роль сигнальних каскадів клітин полягає у контролі транскрипційних програм, що здійснюється шляхом регуляції посттрансляційних модифікацій протеїнів. Мережа сигнальних каскадів має великі компенсаторні можливості, завдяки яким можуть нівелюватись негативні впливи навколишнього середовища. У той самий час порушення ключових компонентів сигнальних шляхів, які об'єднують їх у мережу, призводить до змін у диференціюванні та функціонуванні клітин, і лежить в основі етіології та патогенезу багатьох захворювань, зокрема злоякісних новоутворень. До таких порушень безпосередньо чи опосередковано залучені гіперекспресія та ак-

Список скорочень: Akt – protein kinase B; APC – adenomatous polyposis coli; ASK – apoptosis signal-regulating kinase; BCR – B cell receptor; Bcr–Abl – tyrosine kinase, fusion gene bcr-abl; Bit – Bcl2-inhibitor of transcription; c-IAP2 – inhibitor of apoptosis protein 2; DFK-1 – D kinase family isoform 1; EGFR (ErbB1) – epidermal cell grows factor receptor; ERK – extracellular signal regulated kinase; GSK-3 β – glycogen synthase kinase-3 β ; HDAC – histone deacetylase; IKK – I κ B-kinase; JNK – c-Jun N-terminal kinases; MAP – kinases mitogen-activated protein kinases; MEF – myocyte enhancer factor; MMP – metalloproteinase; MnSOD – manganese superoxide dismutase; NES – nuclear export signal; NF- κ B – nuclear factor- κ B; PDGFR – platelet derived growth factor receptor; PKC – protein kinase C; PKD – protein kinase D; PLC γ – phospholipase C γ ; PMA – phorbol 12-myristate 13-acetate; PSA – prostate spesific antigen; RAP-1 – ras-proximate-1; siRNA – short interfering RNA; SOD – superoxide dismutases; SPHK – sphingosine kinase; Src – tyrosine kinases, oncogene homolog of v-src; TCR – T cell receptor; TNF – tumor necrosis factor; TRAF – TNF-receptor associated factor; VEGFR – vascular endothelial cell grows factor receptor

тивація онкогенів і зниження рівня експресії та/або інактивація генів-супресорів пухлин. Експериментальні дослідження та клінічні випробування показали, що порушення множинних сигналів, які необхідні для виживання пухлинних клітин, є ефективнішим підходом до терапії злоякісних новоутворень, ніж пригнічення окремих сигнальних шляхів. Крім того, оптимальними мішенями для спрямованої терапії є молекули, що відіграють роль мастер-регуляторів сигнальних каскадів. До таких універсальних регуляторів сигнальних шляхів належать протеїнкінази [3].

Протеїнкінази – підклас кіназ, які модифікують протеїни шляхом фосфорилування амінокислотних залишків. Геном людини містить близько 520 генів протеїнкіназ, що складає біля 2% всіх генів [4, 5]. Фосфорилування, як правило, модифікує функції протеїну-субстрату. При цьому може змінюватись його конформація, локалізація у клітині, ензиматична активність, якщо мова йде про ензими, а також взаємодія з іншими протеїнами. Протеїнкінази можуть фосфорилувати до 30% всіх протеїнів у клітинах еукаріотів і, таким чином, опосередковувати один із механізмів регуляції метаболічних та сигнальних шляхів клітини. У свою чергу, активність протеїнкіназ також регулюється фосфорилуванням та/або зв'язуванням з протеїнами-активаторами та протеїнами-інгібіторами [6–8].

У клітинах еукаріотів виділяють протеїнкінази, специфічні до залишків Ser/Thr або Tug, а також протеїнкінази, які фосфорилують залишки усіх трьох амінокислот [9]. Протеїнкінази відіграють важливу роль у регулюванні таких клітинних функцій, як клітинний цикл і проліферація, ріст і диференціювання клітин, виживаність і апоптоз, пошкодження і репарація ДНК, рухливість і відповідь на клітинне мікрооточення [10]. Порушення в експресії та активності цих ензимів, призводить до розвитку різних патологій, в тому числі до виникнення пухлин [11].

Визначено, що в пухлинній клітині протеїнкінази опосередковують більшість сигнальних програм, які призводять до посиленої проліферації, ухилення від апоптозу, до інвазії та метастазування [12]. Протеїнкінази стали привабливими мішенями для розробки спрямованої терапії раку, яка прицільно впливає на сигнальні каскади, що регулюються протеїнкіназами. Від 20 до 30% біотехнологічних і фармацевтичних програм із розробки лікарських засобів для лікування онкологічних хворих спрямовані саме на пошук інгібіторів

протеїнкіназ [13]. З'ясовано, що до протеїнкіназ, які можуть слугувати мішенями для терапії злоякісних новоутворень можна віднести: Bcr-Abl (tyrosine kinase, fusion gene *bcr-abl*), MAP-кінази (mitogen-activated protein kinases) (ERK, JNK, p38 MAPK), Aurora/Ipl1p-споріднені кінази, Polo-подібні кінази, PDGFR- β , VEGFR-2 та 3 (vascular endothelial cell growth factor receptor), KIT, FLT-3, EGFR, EGFR (ErbB1) (epidermal cell growth factor receptor), HER2 (ErbB2), Src, c-kit, epha2, mTOR [14–17]. Для терапії хворих на злоякісні новоутворення успішно використовуються такі специфічні інгібітори протеїнкіназ, як Sorafenib (Nexavar[®]), Gefinitib (Iressa[®]), Imatinib Mesylate (Gleevec[®]), Lapatinib (Tykerb[®]), Dasatinib (Sprycel[®]), Nilotinib (Tasigna[®]), Temsirolimus (Torice[®]), Erlotinib (Tarceva[®]) [17].

Внаслідок експериментальних модельних досліджень та вивчення пухлинних клітин *in situ* отримано низку свідчень, щодо кіназ родини PKD, як перспективного об'єкта трансляційних досліджень в онкології. По-перше, виявлено диференційну експресію генів протеїнкіназ родини PKD в пухлинах різного гістогенезу. По-друге, протеїнкінази родини PKD активуються ростовими факторами, за антигенної стимуляції та оксидативного стресу клітин, що зазвичай спостерігається під час прогресії злоякісних новоутворень. По-третє, PKD регулюють міжклітинні контакти шляхом впливу на адгезивні властивості клітин. По-четверте, вони залучені до регуляції процесів проліферації та програмованої смерті клітин. І останнє, протеїнкінази D беруть участь в епігенетичній регуляції роботи генів.

Загальна характеристика структури та механізмів активації протеїнкіназ родини PKD

Родина PKD (protein kinase D) належить до групи кальцій/кальмодулінзалежних серинтреонін протеїнкіназ [18]. До родини PKD належать три кінази, які експресуються у клітинах еукаріотів: PKD1 (PKC μ), PKD2 та PKD3 (PKC ν). Нещодавно у клітинах *Caenorhabditis elegans* було ідентифіковано і детально охарактеризовано ще одну ізоформу з родини PKD – DKF-1 (D kinase family isoform 1) [19]. Протеїнкінази родини PKD мають подібну структуру і містять регуляторний та каталітичний/кіназний функціональні домени [20, 21]. NH₂-кінцеві ділянки регуляторних доменів у PKD1 та PKD2 починаються з неполярного району, збагаченого на аланін та пролін. У PKD3 такий район відсутній. Усі три ізоформи мають бага-

тий на цистеїн CRD-домен, що містить висококонсервативні цинкзв'язуючі мотиви CYS1 і CYS2 і відповідає за зв'язування форболових ефірів, внутрішньоклітинну локалізацію, а також регулює кіназну активність цих ензимів [18, 21, 22]. За CRD-доменом послідовно розміщені: район, збагачений на негативно заряджені амінокислоти (АС), функцію якого ще не з'ясовано, і домен PH (pleckstrin homology), який відіграє авторегуляторну роль у процесі активації PKD [20]. У С-кінцевій ділянці розміщений Ser/Thr-кіназний домен, первинна структура якого впливає на субстратну специфічність та каталітичну активність протеїнкінази родини PKD [23, 24]. Доведено, що окремі домени у складі представників родини PKD відіграють роль регуляторів внутрішньоклітинної локалізації, рівня каталітичної активності, ядерного імпорту і експорту, мембранної локалізації [25].

PKD кінazi можуть бути активованими за допомогою декількох механізмів. По-перше, у разі рецептор-індукованої стимуляції клітин у відповідь на зовнішній стимул відбувається PLC γ / β -PKC (phospholipase γ / β – protein kinase C) – залежна активація ензимів цієї родини [26–30]. По-друге, в умовах *in vitro* $\beta\gamma$ -субодиниці гетеротримерних G-протеїнів можуть безпосередньо зв'язуватись з PH-доменом PKD1, і, таким чином, активувати PKD1 [31]. По-третє, каспаза 3 може розрізати PKD1 між доменом, збагаченим на негативно заряджені амінокислоти, та PH-доменом, що призводить до вивільнення регуляторного домену і активування кінazi [32–34]. І останнє, в умовах оксидативного стресу PKD1 та PKD2 можуть бути фосфорильованими за тирозиновими залишками, розміщеними в PH-домені, що призводить до ініціації сигнального шляху активації ядерного фактора транскрипції NF- κ B (nuclear factor- κ B) [8, 35–38].

Активация PKD1, PKD2 та PKD3 супроводжується фосфорильованням залишків серину та тирозину, розміщених в різних структурних модулях. В активаційній петлі («activation loop») протеїнкінази D людини розміщені сайти трансфосфорильовання – Ser^{738/742}, Ser^{706/710}, Ser^{731/735} для PKD1, PKD2 та PKD3 відповідно. Фосфорильовання цих серинових залишків залежить від PKC і є ключовою подією у процесі активації ензимів цієї родини. У складі PKD1 виявлено додатковий сайт трансфосфорильовання Ser²⁴⁹, який також є мішенню для PKC, але функцію його ще не з'ясовано. PKD1 та PKD2 мають сайти автофосфорильовання, які знаходяться в С-кінцевій ділянці протеїнкі-

наз: Ser⁹¹⁰ і Ser⁸⁷⁶ відповідно, стан фосфорильовання яких корелює з рівнем активації PKD1 та PKD2. У регуляторному домені PKD1 ідентифіковано додатковий сайт автофосфорильовання – Ser¹⁹⁷ – через який PKD1, можливо, зв'язується із протеїном 14-3-3 [18, 20, 25].

Під час стрес-індукованої активації ядерного фактора транскрипції NF- κ B, відбувається фосфорильовання тирозинових залишків у складі PKD1 та PKD2. Картовано чотири сайти фосфорильовання за тирозином у складі PKD1 (Tyr⁹⁵, Tyr⁴³², Tyr⁴⁶³, Tyr⁵⁶²) і два сайти у складі PKD2 (Tyr⁸⁷, Tyr⁴³⁶). За оксидативного стресу відбувається Abl-опосередковане фосфорильовання PKD1 і PKD2 за Tyr⁴⁶³ і Tyr⁴³⁶ відповідно [7, 36]. Тоді PKD1 характеризується підвищеною кіназною активністю і опосередковує активацію NF- κ B [8]. Щодо PKD2, її фосфорильовання за Tyr⁴³⁶ також супроводжується активацією NF- κ B, але не корелює з рівнем її активності. Було висловлено припущення, що фосфорильована за тирозином PKD2 відіграє роль адапторного протеїну для молекул, що містять SH2-домени [36]. ROS (reactive oxygen species) індукують Abl-опосередковане фосфорильовання додаткових тирозинових сайтів у складі PKD1 і PKD2: Tyr⁹⁵ і Tyr⁸⁷. У такому конформаційному стані обидві протеїнкінази формують сайти зв'язування з PKC δ , яка може фосфорильовати і активувати обидві кінazi [35].

Диференційна експресія протеїнкінази родини PKD в пухлинах різного гістогенезу

Протягом першого десятиріччя після відкриття кіназ родини PKD роботи з вивчення експресії, структури та функцій цих протеїнкіназ здебільшого проводились на експериментальних модельних системах [23, 26, 36, 39, 40], і тільки в останні роки з'явилися нечисленні публікації з дослідження експресії та активації протеїнкінази D в первинних пухлинах людини. Так, було виявлено гетерогенність за рівнем експресії та автофосфорильовання/активації протеїнкінази родини PKD у різних клітинних лініях раку первинних пухлин шлунка [41, 42]. У 72,7% досліджених клітинних ліній раку шлунка експресія PKD1 на рівні мРНК була пригнічена, що корелювало з CpG-гіперметильованням у ділянці промотору PKD1. Крім того, в цих дослідженнях було показано, що 59% проаналізованих випадків первинного раку шлунка мали вдвічі нижчий рівень експресії PKD1 порівняно з умовно нормальними тканинами, що також корелювало з підвищеним рівнем метильовання ділянки про-

мотору PKD1. Експериментальні дослідження з використанням RNA-інтерференції виявили підвищення інвазивності пухлинних клітин із пригніченою експресією PKD1. На основі цих даних, було висловлено припущення, що PKD1, експресія якої часто пригнічена за рахунок епігенетичних механізмів, бере участь у регуляції міграції клітин та формуванні метастазів при раку шлунка [41].

Було виявлено відмінності щодо експресії PKD1 та PKD2 в пухлинних клітинах хворих на аденокарциному шлунка на різних стадіях пухлинного процесу, порівняно із хворими, у яких не було пухлинних захворювань шлунка (виразка і реактивно змінені тканини). Низькокодиференційовані аденокарциноми, на відміну від помірнокодиференційованих, виявляли знижений рівень експресії PKD1 та PKD2, порівняно з умовно нормальними тканинами шлунка. Крім того, виявлено гетерогенність аденокарцином за рівнем автофосфорилування/активації PKD1/2: для низькокодиференційованих аденокарцином шлунка характерним був низький рівень фосфорилування, а для помірнокодиференційованих – помірний та високий, причому реакція спостерігалась як у цитоплазмі, так і в ядрі клітин [42]. Це свідчить про те, що зі збільшенням рівня диференціювання клітин підвищується рівень експресії та фосфорилування PKD1/2 при раку шлунка.

PKD1, PKD2 та PKD3 експресуються на високому рівні в епітеліальних і залозистих клітинах нормальної тканини молочної залози [43]. Більше того, якщо порівнювати рівень експресії цих протеїнкіназ в нормальних клітинах молочної залози і в пухлинних клітинах при інвазивному раку молочної залози, то рівні експресії PKD2 та PKD3 не відрізняються. Водночас, у 95% усіх проаналізованих випадків інвазивної залозистої карциноми молочної залози пухлинні клітини і метастази в лімфатичні вузли мали більш ніж вдвічі знижений рівень експресії PKD1 [43]. Не виявлено експресії PKD1 у високоінвазивних лініях клітин раку молочної залози людини, тоді як в неінвазивних лініях клітин PKD1 присутня. В лінії клітин аденокарциноми молочної залози людини MDA-MB-231 експресія PKD1 блокувана за рахунок епігенетичного сайленсингу шляхом метилування промотора гена PKD1. Реекспресія конститутивно активної PKD1 у клітинах лінії MDA-MB-231 суттєво зменшує здатність клітин поширюватись у культурі у площині та просторі, а у клітин лінії MCF-7 ця здатність відновлюється за умови блокуван-

ня експресії кінази за допомогою shRNA. Таким чином, зниження експресії PKD1 сприяє зростанню злоякісного потенціалу пухлинних клітин і є маркером інвазивного раку молочної залози [43, 44].

У пухлинах молочної залози відмічено гетерогенність за рівнем фосфорилування протеїнкіназ родини PKD. Імуногістохімічні дослідження пухлинного матеріалу, отриманого від хворих на рак молочної залози показали, що рівень фосфорилування PKD1/2 в пухлинних клітинах хворих на рак молочної залози не залежить від стадії пухлинного процесу [45]. В той самий час варіабельність показників активованої PKD1/2 залежить від гістологічного варіанта раку молочної залози та ступеня диференціювання пухлини. Також показано, що PKD1/2 знаходиться в неактивному/нефосфорильованому стані в пухлинних клітинах хворих на інфільтративний протоковий та інфільтративний дольковий рак молочної залози з низьким ступенем диференціювання [45].

Також була виявлена гетерогенність неходжкінських злоякісних лімфом за рівнем експресії та автофосфорилування PKD2. Показано, що в нормальних та злоякісно трансформованих лімфоцитах людини та мишей експресується PKD2 та PKD3 [46–48]. Серед різних варіантів неходжкінських злоякісних лімфом найвищий рівень експресії PKD2 був характерний для дифузних крупноклітинних В-клітинних лімфом. Крім того, виявлено гетерогенність дифузних крупноклітинних В-клітинних лімфом за внутрішньоклітинною локалізацією, рівнем експресії та автофосфорилування PKD2. У дифузних крупноклітинних лімфомах із низьким рівнем диференціювання відмічено низький рівень експресії та автофосфорилування PKD2. У разі дифузних крупноклітинних В-клітинних лімфом із фенотипом активованих В-клітин спостерігали високий рівень експресії та автофосфорилування PKD2 [46]. Таким чином, рівень експресії та автофосфорилування PKD2 корелює з рівнем диференціювання злоякісно трансформованих клітин неходжкінських злоякісних лімфом.

Було встановлено диференційну експресію та локалізацію протеїнкіназ родини PKD в нормальних та злоякісно трансформованих клітинах передміхурової залози. Зазвичай пухлинні клітини раку передміхурової залози експресують PKD1 та PKD3 на вірогідно вищому рівні порівняно з нормальною тканиною залози [40, 49]. В той же час було виявлено, що у високо агресивних андроген-незалежних

клітинних лініях раку передміхурової залози PC3 і DU145 експресія PKD1 є пригніченою, а рівень експресії та ядерної локалізації PKD3 зростає. Більше того, показано, що активність та ядерну локалізацію PKD3 регулює PKC ϵ . Підвищений рівень експресії та ядерна локалізація PKD3 виявлені також у клітинах первинних пухлин передміхурової залози, що корелює із ступенем злоякісності пухлин. Надекспресія PKD3 дикого типу в андроген-залежній лінії клітин LNCaP (рак передміхурової залози) призводить до блокування PMA-індукованого (phorbol 12-myristate 13-acetate) апоптозу, але сприяє входженню клітин у S-фазу клітинного циклу, а пригнічення експресії ендогенної PKD3 спричиняє блокування проходження G₀-G₁ фаз клітинного циклу і зниження рівня проліферації клітин [40].

Таким чином, прослідковується залежність рівня експресії/автофосфорилування протеїнкіназ родини PKD від рівня диференціювання злоякісно трансформованих клітин.

Активация протеїнкіназ родини PKD при дії оксидативного стресу, ростових факторів та антигенної стимуляції

Процеси злоякісної трансформації клітин, інвазії пухлин та прогресії пухлинного росту великою мірою залежать від зовнішніх факторів та взаємодії пухлини і організму.

У першу чергу, це вплив оксидативного стресу. Часткове зменшення кількості кисню може спричинити появу ROS, а саме: пероксиду водню, вільних радикалів супероксиду та гідроксильних радикалів, які асоційовані з такими захворюваннями як рак, розвиток інфекцій, дегенеративними та віковими змінами [50].

За експресії Src-Abl в лейкозних лініях клітин або у відповідь на оксидативний стрес в різних пухлинних клітинних лініях ROS спричиняють активацію PKD1. В умовах оксидативного стресу спостерігається фосфорилування PKD1 за Tyr⁴⁶³, що опосередковане тирозин-протеїнкіназою Abl, та PKC δ опосередковане фосфорилування Ser⁷³⁸/Ser⁷⁴² в активаційній петлі PKD1. Внаслідок цих подій PKD1 стає повністю активованою і контролює активацію NF- κ B через залучення комплексу I κ B кінази (IKK). З іншого боку, PKD1-опосередкована активація NF- κ B регулює ген, що кодує супероксиддисмутазу 2 (SOD2). Продукт цього гена — MnSOD (manganese superoxide dismutase) — контролює рівень супероксиду, який генерується в мітохондріях. У пухлинних клітинах наслідком надекспресії MnSOD

є зниження проліферативного потенціалу, але в той же час — формування метастатичного та інвазивного фенотипу і підвищення інвазивного потенціалу пухлинних клітин [51]. За оксидативного стресу PKC-опосередкована активація PKD1 відбувається Src-залежним або Src-незалежним шляхом (Src — tyrosine kinase, oncogene homolog of v-src) [52]. Таким чином, активація PKD1-залежного сигнального шляху в умовах оксидативного стресу свідчить про можливу участь PKD1 в регуляції виживання пухлинних клітин та їхньої інвазивності.

У процесах взаємодії пухлини та організму важливу роль відіграють фактори мікросередовища. В першу чергу, це фактори росту, що можуть впливати на біологічні властивості пухлинних клітин або на ангиогенез пухлини. В ендотеліальних клітинах стимуляція VEGFR спричинює активацію сигнального каскаду із залученням PLC γ /PKC/PKD1, що зумовлює фосфорилування та ядерний експорт HDAC5 (histone deacetylase). Цей сигнальний каскад із залученням PKD1-HDAC5 та активацією MEF2 (myocyte enhancer factor-2) пов'язаний із процесами ангиогенезу [53, 54].

Активаторами цих протеїнкіназ також можуть бути ростовий фактор тромбоцитів (PDGF) [6, 27], фактор некрозу пухлин (TNF α) [55], форболові ефіри, діацилгліцерол і його аналоги [6], гормони [56, 57], нейропептиди [58], бріостатин 1 [39].

Так, у відповідь на гастрин в лінії клітин аденокарциноми шлунка AGS-B відбувається активація PKD2 із залученням α_q гетеротримерного G-протеїну, PLC γ / β і різних ізоформ протеїнкіназ C [21, 22, 59]. У клітинній лінії карциноми підшлункової залози PANC-1 нейротензин індукує активацію PKD1 [24].

Суттєвий вплив на патогенез злоякісних новоутворень виявляють інфекційні агенти та хронічні запальні процеси. Розвиток пухлин часто асоціюється з хронічним запальним процесом, який, зокрема, можуть спричинювати інфекційні агенти [60]. Наприклад, на модельній системі було показано, що на рівень експресії та активації протеїнкіназ родини PKD можуть впливати хронічні інфекції. На лінії клітин аденокарциноми шлунка людини AGS було встановлено, що інфікування *H. pylori* підвищує рівень експресії та автофосфорилування PKD2, що, у свою чергу, може призводити до підвищення рівня проліферації та інвазивності пухлинних клітин [61].

За антигенної стимуляції лімфоцитів протеїнкінази родини PKD активуються через T-клітинний рецептор (TCR) [47, 48] та

В-клітинний рецептор (BCR) [26]. У В-лімфоцитах, крім BCR, активація PKD ініціюється через CD19, CD40, причому залежить від зв'язування CD40 з TRAF2 (TNF-receptor associated factor) [26, 55]. У відповідь на стимуляцію TCR в Т-клітинній лінії Jurkat, PKD фосфорилує і активує HPK1 (hematopoietic progenitor kinase 1), та підвищує HPK1-залежну активацію SAPK/JNK (stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinases) та NF- κ B [62]. Крім того, антигенна стимуляція Т-лімфоцитів призводить до РКС-опосередкованої активації PKD1 як ефекторної кінази у взаємодії та активації β 1-інтегрину та RAP1 (repressor activator protein) [63].

Таким чином, диференційна активація протеїнкіназ родини PKD у клітинах пухлини може відбуватись за рахунок факторів мікрооточення, гормонів та нейромедіаторів, цитокінів та антигенної стимуляції.

Протеїнкінази родини PKD залучені до регуляції міжклітинних контактів

Інвазивний потенціал пухлинної клітини визначається її здатністю активно мігрувати та спричиняти часткову деградацію сполучної тканини. Міграція клітин відбувається за рахунок їхньої динамічної взаємодії з іншими клітинами і позаклітинним матриксом. Тому дерегуляція механізмів, які забезпечують клітинну адгезію асоціюється з прогресією пухлин та їхнім метастазуванням [64]. Експериментальні дослідження свідчать, що протеїнкінази родини PKD контролюють такі властивості клітин як форма, рухливість і здатність до адгезії [43, 44, 62, 64]. Серед протеїнів, що забезпечують міжклітинну адгезію є Е-кадгерин, β -катенін, інтегрини, паксилін, кортактин тощо [65–67].

Відомо, що Е-кадгерин є класичним супресором інвазії [68]. Експресія PKD1 та Е-кадгерину порушена при раку передміхурової залози, що пов'язують із прогресією цього захворювання [49]. Було встановлено, що PKD1 колокалізована з Е-кадгерином в пухлинних клітинах при раку передміхурової залози, а також у клітинах лінії LNCaP. Більше того, продемонстровано, що PKD1 фосфорилує Е-кадгерин в умовах *in vitro* [49, 65]. Пригнічення активності PKD1 за допомогою селективного інгібітора Gö6976 призводить до зменшення агрегації клітин лінії LNCaP *in vitro*, а її над-експресія і підвищення кіназної активності у клітинах лінії передміхурової залози C4-2 підвищує агрегацію, одночасно блокуючи їхню рухливість [65]. Отже, пригнічення експресії

PKD1 призводить до зниження фосфорилування Е-кадгерину, що спричиняє дестабілізацію кадгерин-катенінового комплексу. Наслідком цього процесу може бути зменшення агрегації і підвищення рухливості клітин, що призводить до метастазування при раку передміхурової залози [3, 65, 67]. Більш того, у разі руйнування кадгерин-катенінового комплексу надлишок β -катеніну здатен мігрувати до ядра і брати участь у Wnt-опосередкованому сигнальному каскаді, асоційованому із клітинною проліферацією [69].

β -Катенін сприяє адгезії клітин, зв'язуючи кадгерин з актиновим цитоскелетом через адапторний протеїн α -катенін. PKD1 регулює активність β -катеніну шляхом впливу на рівень його експресії і фосфорилування, а також на внутрішньоклітинну локалізацію [66, 70]. β -Катенін безпосередньо взаємодіє з кіназним та C1b доменами PKD1. Більш того, в умовах *in vitro* та *in vivo* PKD1 фосфорилує Thr¹¹² та Thr²⁰ у складі β -катеніну [66]. Точкові мутації із заміни цих залишків призводять до ядерної релокалізації β -катеніну і зростання його транскрипційної активності. Мутації в положеннях Thr¹¹² та Thr²⁰ негативно впливають на зв'язок β - і α -катенінів, що призводить до руйнування комплексу Е-кадгерин/ β -катенін/ α -катенін, що, у свою чергу, може впливати на міжклітинну адгезію [66, 70].

Обробка протипухлинним препаратом бріостатином 1 клітин лінії C4-2, які над-експресують PKD1 в апараті Гольджі, призводить до колокалізації цитоплазматичного пулу β -катеніна, PKD1 та p230, який асоційований із транспортними везикулами апарату Гольджі [66]. Це свідчить про те, що PKD1 може бути залученою до релокалізації комплексу Е-кадгерин/ β -катенін від апарату Гольджі до плазматичної мембрани. Пригнічення експресії PKD1 може призводити до зниження рівня експресії β -катеніну, а її активація бріостатином 1 корелює зі зниженням його транскрипційної активності [31, 66].

Існують непрямі експериментальні дані, які опосередковано підтверджують асоціацію PKD1 з адгезією пухлинних клітин при раку молочної залози. За стимуляції *cis*-PUFA (polyunsaturated fatty acids), що дозозалежно індукуює адгезію клітин лінії раку молочної залози MDA-MB-435 до колагену IV, PKD1 і РКС ϵ транслокується до мембрани, що в подальшому призводить до підвищення активності β 1-інтегринів [71].

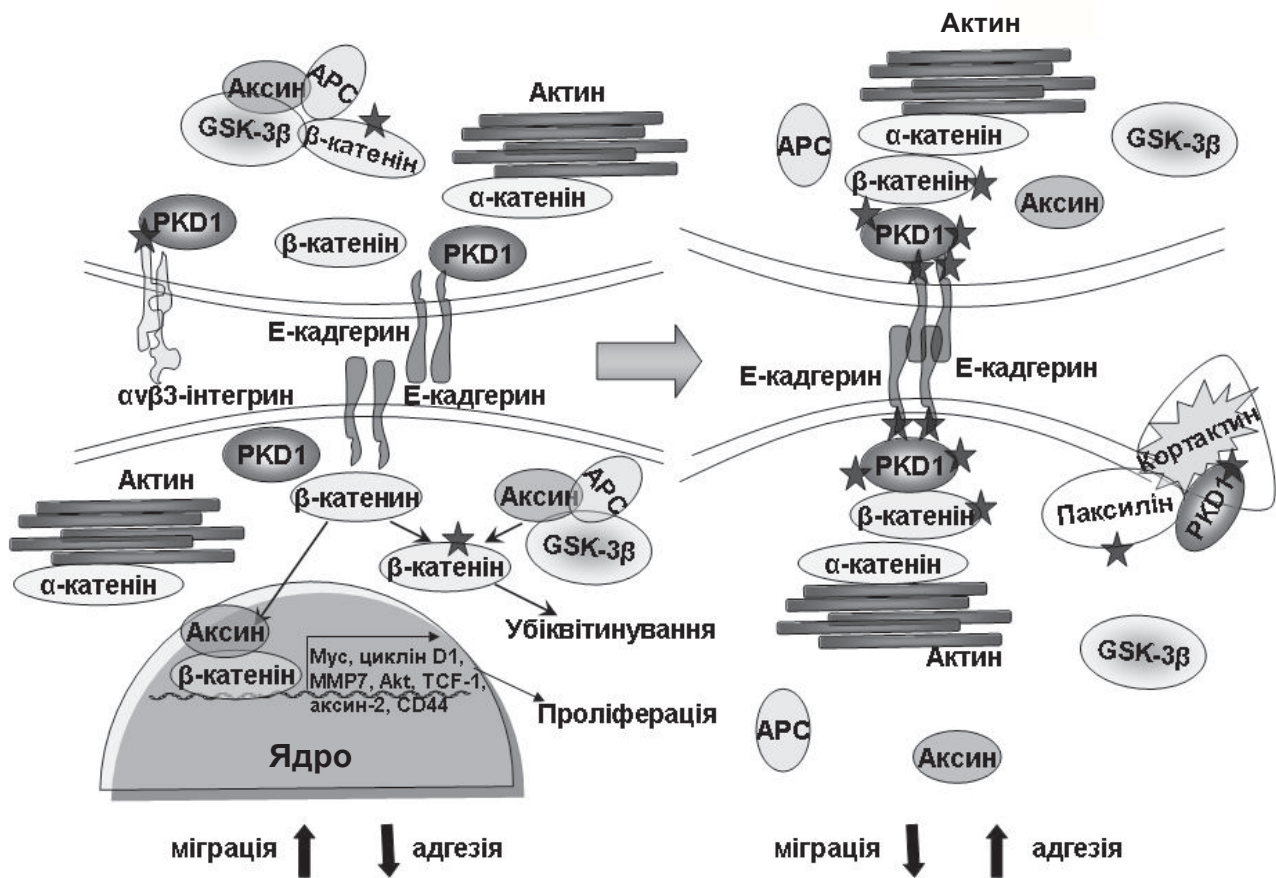
Кортактин — протеїн, який відіграє важливу роль у процесах метастазування, модулює

ючи інвазивну поведінку пухлинних клітин. З'ясовано, що кортактин є необхідним компонентом під час деградації позаклітинного матриксу, який опосередковується інвадоподіями [44]. Щодо паксиліну відомо, що він задіяний до інтегрин-опосередкованої адгезії, але його функціональна роль залишається невизначеною. При інвазивному раку молочної залози PKD1 утворює асоційовані з інвадоподіями комплекси з кортактином і паксиліном, які проникають до позаклітинного матриксу і сприяють його протеолітичній деградації (рис.) [44, 72]. Більш того, з'ясовано, що кортактин є субстратом для PKD1 [72]. Це свідчить, що взаємодія PKD1, кортактину і паксиліну, а також асоціація цього комплексу з мембранами сприяє формуванню інвазивного фенотипу пухлинних клітин [44, 72].

Важливим етапом у прогресії пухлин та метастазуванні є деградація позаклітинного матриксу, що дозволяє клітині мігрувати у тканини [73, 74]. Доведено, що матриксні ме-

талопротеїнази (MMP) є медіаторами деградації позаклітинного матриксу. Майже в усіх пухлинах людини підвищена експресія окремих MMP корелює з пухлинною експансією, підвищеною інвазивністю та несприятливим прогнозом [74]. PKD1 є інгібітором експресії MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-13, MMP-14 та MMP-15, які задіяні до прогресії пухлин молочної залози. У той же час, втрата PKD1 збільшує злоякісний потенціал ліній клітин молочної залози. Отже, PKD може впливати на дисемінацію пухлинних клітин і метастазування шляхом регулювання експресії факторів, задіяних до процесу деградації позаклітинного матриксу. Ці дані дозволяють вважати реекспресію PKD1 потенційно можливою стратегією терапії інвазивного раку молочної залози [43]. Механізм цієї зворотної кореляції між експресією PKD1 та металопротеїназами залишається нез'ясованим.

У міграції клітин важливу роль відіграють гетеродимерні матриксні рецептори – пред-



Роль PKD1 у регуляції адгезивних властивостей клітин. Стабілізація кадгерин-катенінового комплексу, фосфорилування комплексів α ν β 3-інтегрину та кортактину з паксиліном. Актин – актинові філаменти, E2-УЛ – E2-убіквітин-лігаза. Зірками позначено фосфорилування субстратів

ставники родини інтегринів, які не тільки фізично з'єднують клітини з позаклітинним матриксом, але й працюють як сигнальні молекули, переносячи інформацію через плазматичну мембрану і впливаючи на динаміку цитоскелета через активацію GTP-аз під родини Rho [75, 76]. PKD1 впливає на процес клітинної міграції шляхом регулювання везикулярного транспортування $\alpha\beta 3$ -інтегрину. PKD1, фосфорильована за Ser⁹¹⁶, взаємодіє з $\alpha\beta 3$ -інтегрином. Порушення взаємодії PKD1 та $\alpha\beta 3$ -інтегрину пригнічує PDGF-залежну релокалізацію інтегрину від ранніх ендосом до плазматичної мембрани, а значить блокує його залучення до процесу фокальної адгезії під час міграції клітин. Прямим доказом участі PKD1 у процесах клітинної адгезії є блокування процесу фокальної адгезії клітин лінії фібробластів NIH 3T3 внаслідок порушення безпосередньої взаємодії PKD1 з $\alpha\beta 3$ -інтегрином [77, 78].

Одержано дані про підвищення інвазивності клітин лінії BON, що походить від пухлини підшлункової залози, за надекспресії PKD2 та протилежний ефект – у разі пригнічення експресії цієї протеїнкінази за допомогою siRNA [79].

Таким чином, протеїнкінази родини PKD беруть участь у регуляції процесів клітинної адгезії. З одного боку, за фосфорилування E-кадгерину PKD1, підвищується агрегація клітин, при цьому блокується їхня рухливість. PKD1 є інгібітором експресії MMP, які є медіаторами деградації позаклітинного матриксу. З іншого боку, взаємодія PKD1 з кортактином і паксиліном, а також асоціація цього комплексу з мембранами сприяє формуванню інвазивного фенотипу пухлинних клітин раку молочної залози. Слід зазначити, що надекспресія PKD2 призводить до підвищення інвазивності пухлин підшлункової залози, що свідчить про диференційні функції окремих протеїнкіназ родини PKD в регуляції адгезивних властивостей пухлинних клітин.

Протеїнкінази родини PKD регулюють виживаність пухлинних клітин

Вживаність клітин визначається балансом між процесами проліферації та запрограмованої смерті клітин. Під час зляканої трансформації клітин цей баланс зміщується в бік проліферації клітин. Показано, що протеїнкінази родини PKD залучені до регуляції проліферації клітин різного походження [79–82]. Так, PKD1 регулює проліферацію кератиноцитів [83, 84], ендотеліальних клітин [80], Т-лімфоцитів [48], а також клітин під-

шлункової залози [79], шлунка [21, 23], тонкого кишечника [85], нирки [81], ембріональних фібробластів [84]. Надекспресія PKD1 стимулює проліферацію нормальних та злякано трансформованих кератиноцитів мишей *in vitro* та *in vivo* [86]. У клітинах Swiss3T3 PKD1, активована нейромедіаторами бомбезином та вазопресиноом або PDBu (phorbol 12,13-dibutyrate), сприяє синтезу ДНК та проліферативній активності клітин [87]. А в клітинах аденокарциноми підшлункової залози надекспресія PKD1 призводить до зростання теломеразної активності і впливає на активацію антиапоптотичних протеїнів c-FLIP та сурвівіну [67, 88, 89]. У разі надекспресії PKD2 також відмічено підвищення проліферативної активності клітин BON [79].

Протеїнкінази родини PKD стимулюють проліферацію клітин, впливаючи на декілька сигнальних шляхів, у першу чергу, шляхом активації Raf-MEK1-ERK1/2 сигнального каскаду. Так, в інтестинальних епітеліальних клітинах шурів аргінін-вазопресин сприяє активації PKD1 шляхом PKC-залежного механізму, індуюючи синтез ДНК та проліферацію шляхом ERK-, PKC-, EGFR- та Src-опосередкованих каскадів [90]. У клітинах лінії HEK293T активний мутант PKD1 селективно активує ERK1/2 MAPK каскад на рівні Raf-1 кінази [91]. У клітинах лінії Swiss 3T3 надекспресія PKD1 або PKD2 призводить до підвищеної активації ERK1/2 у відповідь на стимуляцію через рецептори, сполучені з G-протеїном [92, 93]. В ендотеліальних клітинах лінії ВАЕС PKD1 активується у відповідь на стимуляцію васкулярним ендотеліальним фактором росту (VEGF), що запускає VEGFR2/PLC γ /PKC α сигнальний каскад. Більш того, PKD1 відіграє критичну роль у VEGF опосередкованій активації ERK1/2 [28]. Стимуляція альдостероном призводить до підвищення проліферативної активності клітин лінії M1-CCD (cortical collecting duct cell line), причому цей ефект є залежним від PKD1, PKC δ та ERK1/2. За відсутності PKD1 пригнічуються індуквана альдостероном активація ERK1/2 і її релокалізація до ядра [81]. У клітинах ліній, що походять від раку передміхурової залози, надекспресія PKD3 призводить до підвищення базального рівня фосфорилування Akt/PKB (protein kinase B) та ERK1/2. Більш того, у клітинах ліній з надекспресією цієї протеїнкінази спостерігали збільшення періоду і амплітуди активації ERK1/2 у відповідь на стимуляцію PMA [40]. Аналіз клітинного циклу продемонстрував, що присутність PKD3 стимулює

входження клітин в S-фазу клітинного циклу. Мішенню для PKD3 в цьому процесі може бути також ефектор Ras – RIN1, який посилює Ras і діє в сигнальних каскадах пізніше за ERK1/2 [94]. Протеїнкінази родини PKD можуть бути також залучені до регуляції процесів проліферації клітин через сфінгозинкіназу SPHK2 (sphingosine kinase). SPHK1 та SPHK2 відповідають за утворення вторинного месенджера – сфінгозин-1-фосфата, який стимулює проліферацію та пригнічує апоптоз, що сприяє виживаності клітин [95, 96]. Однак SPHK2 в умовах стресу може також індукувати апоптоз або пригнічувати проліферацію, виступаючи в ролі інгібітора синтезу ДНК [97]. Слід зазначити, що така суперечлива функція SPHK2 залежить від її внутрішньоклітинної локалізації: в цитоплазмі, де SPHK2 фосфорилує сфінгозин, або в ядрі, де вона регулює синтез ДНК [98]. В умовах *in vivo* та *in vitro* РМА-активовані PKD1, PKD2 та PKD3 можуть фосфорилувати залишки серину у складі NES ділянки SPHK2, що регулює експорт SPHK2 з ядра до цитозолу [99]. Пригнічення експресії PKDs за допомогою РНК-інтерференції призводить до акумуляції SPHK2 в ядрі. Отже, PKD1, PKD2 та PKD3 є ензимами, які фізіологічно необхідні для експорту SPHK2.

PKD1 може не тільки стимулювати, але й пригнічувати процеси проліферації. Показано, що PKD1 негативно регулює активність андрогенного рецептора в клітинах раку передміхурової залози [100]. В лінії клітин раку передміхурової залози РСa PKD1 асоційована із транскрипційним комплексом, до якого входить андрогенний рецептор у ділянці промотору гена PSA (prostate specific antigen). Надекспресія PKD1 або її неактивного мутанта призводить до послаблення лігандзалежної транскрипційної активності рецептора андрогену (AR), що свідчить про незалежність цього ефекту від кінзної активності PKD1. Крім того, коекспресія AR із неактивною PKD1 істотно пригнічує андроген-опосередковану проліферацію ліній клітин раку передміхурової залози [100, 101].

PKD1 сприяє виживаності пухлинних клітин не тільки шляхом підвищення їхньої проліферативної активності, але також регулюючи активацію NF-κB і антиапоптичні сигнальні каскади [82, 88, 102].

Надекспресія PKD1 у фібробластах мишей L-929 та у клітинах лінії HeLa (рак шийки матки) зменшує чутливість клітин до апоптозу, індукованого TNFα. Цей ефект корелює з активацією NF-κB-залежних генів, у тому

числі c-IAP2 (inhibitor of apoptosis protein 2) та TRAF1, які залучені до протидії апоптичним сигналам [102].

Як уже було детально розглянуто вище, ROS активують PKD1 шляхом Src-Abl-опосередкованого механізму, що підвищує виживаність клітин через активацію NF-κB. Пригнічення функції PKD1 блокує активацію NF-κB і підвищує чутливість клітин до апоптозу, індукованого H₂O₂ [103, 104]. На моделі клітинних ліній RIE-1 і IEC-6 було продемонстровано, що PKD1 активується в епітеліальних клітинах кишечника у відповідь на H₂O₂-індукований оксидативний стрес, і активована PKD1 захищає клітини від індукованого H₂O₂ апоптозу [105]. Доведено, що цей процес відбувається шляхом активації NF-κB і пригнічення р38 MAPK [85, 105].

Можливо, PKD1 діє як центральний інтегратор мітохондріальної відповіді на оксидативний стрес, модулюючи NF-κB-опосередковану індукцію MnSOD і підвищуючи клітинну виживаність [51].

PKD1-опосередкований сигнал в гепатоцитах пригнічує каскад JNK/c-Jun/AP-1 і забезпечує резистентність до апоптозу, індукованого H₂O₂ [106, 107]. Водночас оксидативний стрес, спричинений H₂O₂, активує PKD1-ASK1-JNK-кінзний каскад, що обумовлює зростання кількості апоптичних клітин [108]. ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1) належить до MAPK-кінз і є активатором JNK і р38 MAPK сигнальних каскадів [108].

Ще одним субстратом PKD1 є Bit1 (Bcl2-inhibitor of transcription 1) – мітохондріальний протеїн, що належить до інтегрин-опосередкованого сигнального каскаду [109]. Пригнічення експресії Bit1 в нормальних і пухлинних клітинах захищає їх від апоптозу, індукованого відокремленням клітин від субстрату [109, 110]. У цьому разі Bit1 транслокується з мітохондрій до цитозолу і сприяє апоптозу. PKD1 фосфорилує Bit1 і підвищує його апоптотичну активність [111].

Після інкубації клітин лінії U937 (гістіоцитарна лімфома) з TNF, генотоксичними хімотерапевтичними агентами або після γ-опромінення PKD1 може розщеплюватися під дією каспази 3 і не потребує фосфорилування для активації [32–34]. Під час такого розрізання відщеплюється регуляторний домен, а фрагмент, що вміщує каталітичний домен, характеризується підвищеною кінзною активністю. Надекспресія останнього не ініціює апоптоз у клітинах, але підвищує їхню чутливість до апоптозу, індукованого дією

генотоксичних агентів. У той самий час, над-експресія мутанта PKD1, який не піддається розрізанню каспазою 3, частково пригнічує генотоксичну індукцію апоптозу. Таким чином PKD1 може діяти як протеїн, який пригнічує апоптоз, але за певних умов (наприклад при генотоксичному стресі) за розрізання каспазою 3 PKD1 може трансформуватися у протеїн, який підвищує чутливість клітин до апоптозу [32, 34].

Роль протеїнкіназ родини PKD в епігенетичній регуляції роботи генів

Регуляція організації та конформації хроматину – ключовий механізм контролю експресії генів транскрипційними факторами – є комплексним і динамічним процесом, який модулюється на різних рівнях шляхом таких механізмів, як метилювання ДНК, реконструкція нуклеосом, посттрансляційні модифікації гістонів, інкорпорація гістонових варіантів, РНК-асоційоване пригнічення транскрипції і трансляції [112].

В еукаріотів ацетилювання та деацетилювання гістонів є важливими процесами, які модифікують структуру хроматину і регулюють експресію генів. Гістонові деацетилази (HDAC) каталізують деацетилювання лізінних залишків у N-кінцевій частині гістонів, що призводить до пригнічення транскрипції специфічних генів. Регуляція активності HDAC шляхом фосфорилування – важливий механізм контролю експресії генів у відповідь на позаклітинні сигнали [113]. Фосфорилування HDAC сприяє зв'язуванню їх з протеїном 14-3-3, ядерному експорту і супресії їхньої репресуючої активності. Це призводить до ацетилювання гістонів за допомогою гістонових ацетилтрансфераз і активації роботи певних генів, що може впливати на біологічні властивості клітин [114]. Низка протеїнкіназ відповідає за фосфорилування HDAC II-го класу, у тому числі кальцій/кальмодулінзалежна протеїнкіназа (CaMK), кіназа рецепторів, сполучених з G-протеїнами (GRK).

Рекомбінантні PKD1, 2 і 3 *in vitro* безпосередньо можуть фосфорилувати Ser⁴⁹⁸ у складі HDAC5, що є критичною подією для ядерного експорту цього репресора транскрипції [115]. В кардіоміоцитах, де PKD1 є основною кіназою, яка фосфорилує HDAC4 і HDAC5, що призводить до дерепресії факторів транскрипції MEF2 та CAMTA2 (calmodulin-binding transcription activator 2), які регулюють роботу генів, залучених до розвитку кардіальної гіпертрофії [116].

PKDs також беруть участь в епігенетичній регуляції експресії генів у клітинах гемопоетичної системи. На моделі T-лімфоцитів продемонстровано, що PKD1 залучена до процесу негативної селекції T-лімфоцитів. За стимуляції, зумовленої TCR, PKD1 безпосередньо фосфорилує HDAC7, що призводить до її ядерного експорту та інактивації. Внаслідок цього підвищується експресія транскрипційного фактора Nur77, який залучений до антиген-індукованого апоптозу тимоцитів [117, 118].

Внаслідок зв'язування BCR на лінії клітин лімфоми курчат DT40 відбувається швидке фосфорилування ядерних HDAC5 та HDAC7. Втрата PKD1 чи PKD3 не має впливу на фосфорилування HDAC, але втрата обох кіназ призводить до пригнічення фосфорилування та ядерного експорту HDAC5/7 [53].

В ендотеліальних клітинах, РМА-опосередкована активація РКС-PKD1 сигнального каскаду стимулює транслокацію HDAC7 з ядра до цитоплазми. Це призводить до гіперекспресії PDGF-В, що пригнічує міграцію клітин [119].

На моделі трансгенних мишей продемонстровано, що експресія постійно активної PKD1 супроводжується фосфорилуванням HDAC4 і HDAC5, активацією транскрипційного фактора MEF2, збільшенням у клітинах м'язів рівня експресії генів, що пов'язані з окислювальним метаболізмом (у тому числі міоглобіну), що пов'язують із резистентністю до втоми [41, 54]. З використанням іншої моделі трансгенних мишей, в яких експресується неактивна PKD1, доведено, що PKD1 передає нервово-м'язовий сигнал до гена транскрипційного коактиватора Pgc-1 α (proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α) шляхом фосфорилування HDAC5, але не HDAC4, що призводить до вивільнення MEF2 [120]. Беручи до уваги, що HDAC регулюють експресію MMP [121, 122], а PKD1 є негативним регулятором HDAC можна припустити, що шляхом впливу на HDAC PKD1 регулює експресію MMP і, таким чином, контролює процеси деградації позаклітинного матриксу.

Як було зазначено вище, кінази родини PKD здатні впливати на транскрипційну активність NF- κ B та β -катеніну, які контролюють експресію генів, що мають надзвичайно важливе значення для регуляції адгезивних властивостей та метастатичного потенціалу пухлинних клітин [66, 67, 82].

Важливі і додаткові функції протеїнкіназ родини PKD в епігенетичному контролі експресії генів. Наприклад, субстратами PKDs, є

ядерний шаперон SET, транскрипційні фактори c-Jun та c-Fos. PKD1 є негативним регулятором сигналу, опосередкованого епідермальним фактором росту (EGF) і призводить до активації c-Jun. PKD1 фосфорилує цитоплазматичну частину рецептора епідермального фактора росту, що призводить до зв'язування з JNK і блокування фосфорилування c-Jun [123, 124]. Крім того експерименти *in vitro* показали, що PKD1 може безпосередньо фосфорилувати Ser⁷⁷ та Ser⁵⁸ в c-Jun [123].

Узагальнення

Комплексний підхід до вивчення структури, експресії та функцій кіназ родини PKD в експериментальних системах дозволяє зробити висновки щодо ролі диференційної експресії та активації PKD в біології пухлинного росту. Протеїнкінази родини PKD не є онкогенами чи супресорами пухлин, а також не можуть слугувати гістогенетичними маркерами пухлинних клітин. В той самий час для деяких злякисних новоутворень рівень експресії та автофосфорилування/активності цих протеїнкіназ можуть бути застосовані як маркери рівня диференціювання пухлинних клітин. Для більшості пухлин і тканин різного гістогенезу диференційна експресія та активація PKD в процесі диференціювання клітин ще не була досліджена. З іншого боку, диференційна експресія та активація PKD, їхні функціональні особливості можуть обумовлювати біологічні властивості пухлинних клітин і слугувати для оцінки перебігу пухлинного процесу.

В експериментальних модельних системах одержано свідчення щодо участі PKD у процесах проліферації і адгезії клітин. На основі узагальнення даних літератури можна запропонувати модель участі PKD1 у процесі адгезії клітин, що опосередкована E-кадгерином. На клітинному рівні E-кадгерин концентрується в міжклітинних з'єднаннях, і взаємодія відбувається на рівні гомологічних молекул декількох прилеглих клітин. Цитоплазматичний домен E-кадгерину утворює комплекси з β - чи γ -катеніном, що, у свою чергу, зв'язуються з α -катеніном, формуючи таким чином кадгерин-катеніновий комплекс. PKD1 може фосфорилувати E-кадгерин та β -катенін, що стабілізує кадгерин-катеніновий комплекс (рис.). На рисунку також показана участь PKD1 у фосфорилуванні комплексів $\alpha\beta 3$ -інтегрину та кортактину з паксиліном, що забезпечують адгезію клітин.

За зниженого рівня експресії чи пригнічення активності PKD1 кадгерин-катеніно-

вий комплекс не утворюється. Поза комплексом з E-кадгерином β -катенін не є стабільним. Основну роль у регулюванні часу його життя та транскрипційної активності відіграють продукти генів-супресорів пухлин: APC (protein of adenomatous polyposis coli) та аксин (негативний регулятор сигнального шляху Wnt – Wingless type). APC зв'язує одночасно β -катенін і аксин, внаслідок чого утворюється комплекс, до якого приєднується GSK-3 β кіназа (glycogen synthase kinase-3 β). Фосфорилуючи певні залишки серину в β -катеніні, GSK-3 β індукуює його зв'язування з E2-убіквітин-лігазою, що і забезпечує його деградацію у протеосомі.

Під час мутацій гена E-кадгерина виникає надлишок вільного β -катеніну і не забезпечується його ефективна деградація. Частина β -катеніну релокалізується до ядра, де він і виявляє свою транскрипційну активність. У клітинах новоутворень реалізується й інший шлях підвищення транскрипційної активності β -катеніну, що пов'язаний з порушенням роботи систем його деградації. Наприклад, у клітинах пухлин товстого кишечника, печінки та передміхурової залози виявлені мутації гена β -катеніну в ділянках, що є мішенями фосфорилування GSK-3 β і взаємодії з убіквітин-лігазою. Також ідентифіковані мутації генів-супресорів пухлин APC та аксину, що впливають на взаємодію APC з β -катеніном, чи мутації аксину і, як наслідок, нездатність його зв'язуватися з APC чи GSK-3 β . Крім того, негативним регулятором GSK-3 β виступає Акт, а сигнальний каскад PI3K-Акт є ключовим регулятором виживаності пухлинних клітин. Внаслідок цього β -катенін активує транскрипцію гена цикліну D1 та протоонкогена Мус, які забезпечують стимуляцію проліферації клітин [125, 126].

На рівень експресії та активності протеїнкіназ родини PKD можуть впливати фактори мікрооточення та наявність запальних процесів, бактеріальних та вірусних інфекцій. Сигнальні каскади, що опосередковуються протеїнкіназами родини PKD, є інтегральною частиною сигнальної мережі клітини, і біологічна властивість пухлинних клітин залежать від координованих взаємозв'язків між шляхами регуляції процесів проліферації, апоптозу, диференціювання, адгезії клітин та ін. Очевидно, що, не дивлячись на гомологічну структуру, протеїнкінази родини PKD можуть виконувати різні функції і опосередковувати протилежні ефекти на біологію пухлинних клітин. Тому вивчення диференційної експресії та активності окремих кіназ цієї родини

в первинних пухлинах у контексті з розповсюдженням пухлинного процесу, прогнозом та перебігом захворювання може бути перспективним об'єктом трансляційних досліджень в онкології. Це сприятиме розробці нових підходів до диференційної діагностики злоякісних новоутворень різного гістогенезу, оцінки перебігу захворювання, удосконалення та індивідуалізації терапії хворих.

**ПРОТЕИНКИНАЗЫ СЕМЕЙСТВА
PKD КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ
ОБЪЕКТ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ
ИССЛЕДОВАНИЙ В ОНКОЛОГИИ**

*С. В. Михалап, М. Ю. Шабельник,
С. П. Сидоренко*

Институт экспериментальной
патологии, онкологии и радиобиологии
им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины, Киев;
e-mail: svetasad@onconet.kiev.ua

Исследования последних лет свидетельствуют о влиянии протеинкиназ семейства PKD на биологические особенности как нормальных, так и злокачественно трансформированных клеток. Дифференциальная экспрессия генов протеинкиназ семейства PKD обнаружена в опухолях различного гистогенеза. Эти протеинкиназы активируются ростовыми факторами, при антигенной стимуляции и оксидативном стрессе клеток, что обычно наблюдается при прогрессии злокачественных образований. PKD регулируют межклеточные контакты путем воздействия на адгезивные особенности клеток. Протеинкиназы этого семейства вовлечены в регуляцию процессов пролиферации и программированной смерти клеток. PKD принимают участие в эпигенетической регуляции активности генов. Поэтому изучение дифференциальной экспрессии и активности отдельных протеинкиназ этого семейства в первичных опухолях в контексте с распространением опухолевого процесса, прогнозом течения заболевания может быть перспективным объектом трансляционных исследований в онкологии. Это будет способствовать разработке новых подходов к дифференциальной диагностике злокачественных новообразований различного гистогенеза и направленной терапии опухолей, а также оценке прогноза течения заболевания.

Ключевые слова: протеинкиназы семейства PKD, онкология, сигнальные каскады, адгезия клеток, трансляционные исследования.

**PKD FAMILY PROTEIN KINASES
AS A POTENTIAL OBJECT
OF TRANSLATIONAL RESEARCH
IN ONCOLOGY**

*S. V. Mikhalap, M. Yu. Shabelnik,
S. P. Sidorenko*

Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: svetasad@onconet.kiev.ua

S u m m a r y

Recent scientific research demonstrates that protein kinases of PKD family affect biological features of normal and malignant cells. Differential expression of PKD genes was found in tumors of different histogenesis. These protein kinases could be activated by growth factors, antigen stimulation, and oxidative stress, the processes that usually can be observed during tumor progression. PKD regulate cell-cell contacts by affecting cell adhesion. PKD are involved in the regulation of cell proliferation and apoptosis, and also participate in epigenetic regulation of gene expression. That is why studies of differential expression and activity of PKD1, PKD2 and PKD3 in the context of tumor spreading and prognosis could be the perspective subject of translational research in oncology. This will contribute to the development of new approaches to differential diagnostics of tumor and target therapy, and also reveal prognostic factors for the prediction of clinical outcome.

Key words: PKD family protein kinases, oncology, signalling cascades, cell adhesion, translational research.

1. Pitot H. C., Beer D., Hendrich S. // Multistage carcinogenesis: the phenomenon underlying the theories / In: Publ. WH, editor. Theor. of Carc., 1987. — P. 159–191.
2. Harvey P., Warn A., Dobbin S. et al. // Br. J. Cancer. — 1998. — 77, N 7. — P. 1052–1059.
3. Jaggi M., Du C., Zhang W., Balaji K. C. // Front. Biosci. — 2007. — 12. — P. 3757–3767.
4. Manning G., Whyte D. B., Martinez R. et al. // Science. — 2002. — 298, N 5600. — P. 1912–1934.
5. Stout T. J., Foster P. G., Matthews D. J. // Curr. Pharm. Res. — 2004. — 10, N 10. — P. 1069–1082.
6. Abedi H., Rozengurt E., Zachary I. // FEBS Lett. — 1998. — 427, N 2. — P. 209–212.
7. Storz P., Doppler H., Johannes F. J., Toker A. // J. Biol. Chem. — 2003. — 278, N 20. — P. 17969–17976.

8. *Storz P., Doppler H., Toker A.* // *Mol. Pharmacol.* – 2004. – **66**, N 4. – P. 870–879.
9. *Edelman A. M., Blumenthal D. K., Krebs E. G.* // *Annu. Rev. Biochem.* – 1987. – **56**. – P. 567–613.
10. *Chiarugi P.* // *Free Radic. Res.* – 2005. – **39**, N 4. – P. 353–364.
11. *Capra M., Nuciforo P. G., Confalonieri S. et al.* // *Cancer Res.* – 2006. – **66**, N 16. – P. 8147–8154.
12. *Rowinsky E. K.* // *Oncologist.* – 2003. – **8**, N 3. – P. 5–17.
13. *Scapin G.* // *Curr. Drug Targets.* – 2006. – **7**, N 11. – P. 1443–1454.
14. *Eckerdt F., Yuan J., Strebhardt K.* // *Oncogene.* – 2005. – **24**, N 2. – P. 267–276.
15. *Freeman S. M., Whartenby K. A.* // *Drug News Perspect.* – 2004. – **17**, N 4. – P. 237–242.
16. *Warner S. L., Bearss D. J., Han H., Von Hoff D. D.* // *Mol. Cancer Ther.* – 2003. – **2**, N 6. – P. 589–595.
17. *Analytical Tool - Protein Kinase Inhibitors in Oncology BioSeeker Group AB, 2010-PubID: BIOS2577819.* <http://www.marketresearch.com/product/display.asp?productid=2577819&xs=r&SID=87223736-469750428-516767524>.
18. *Van Lint J., Rykx A., Maeda Y. et al.* // *Trends Cell Biol.* – 2002. – **12**, N 4. – P. 193–200.
19. *Feng H., Ren M., Wu S. L. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 2006. – **281**, N 26. – P. 17801–17814.
20. *Rykx A., De Kimpe L., Mikhalap S. et al.* // *Mol. Biol. Cell.* – 2005. – **16**, N 9. – P. 4375–4385.
21. *Iglesias T., Matthews S., Rozengurt E.* // *FEBS Lett.* – 1998. – **437**, N 1–2. – P. 19–23.
22. *Rey O., Rozengurt E.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2001. – **287**, N 1. – P. 21–26.
23. *Sturany S., Van Lint J., Muller F. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**, N 5. – P. 3310–3318.
24. *Rey O., Yuan J., Rozengurt E.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – **302**, N 4. – P. 817–824.
25. *Міхалап С. В., Ковалевська Л. М., Сидоренко С. П.* // *Укр. біохім. журн.* – 2008. – **80**, № 4. – С. 13–20.
26. *Sidorenko S. P., Law C. L., Klaus S. J. et al.* // *Immunity.* – 1996. – **5**, N 4. – P. 353–363.
27. *Van Lint J., Ni Y., Valius M. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 1998. – **273**, N 12. – P. 7038–7043.
28. *Wong C., Jin Z. G.* // *Ibid.* – 2005. – **280**, N 39. – P. 33262–33269.
29. *Wood C. D., Marklund U., Cantrell D. A.* // *Ibid.* – N 7. – P. 6245–6251.
30. *Vigorito E., Kovsdi D., Turner M.* // *Cell Signal.* – 2006. – **18**, N 9. – P. 1455–1460.
31. *Jamora C., Yamanouye N., Van Lint J. et al.* // *Cell.* – 1999. – **98**, N 1. – P. 59–68.
32. *Endo K., Oki E., Biedermann V. et al.* // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, N 24. – P. 18476–18481.
33. *Haussermann S., Kittstein W., Rincke G. et al.* // *FEBS Lett.* – 1999. – **462**, N 3. – P. 442–446.
34. *Vantus T., Vertommen D., Saelens X. et al.* // *Cell Signal.* – 2004. – **16**, N 6. – P. 703–709.
35. *Doppler H., Storz P.* // *J. Biol. Chem.* – 2007. – **282**, N 44. – P. 31873–31881.
36. *Mihailovic T., Marx M., Auer A. et al.* // *Cancer Res.* – 2004. – **64**, N 24. – P. 8939–8944.
37. *Waldron R. T., Rey O., Zhukova E., Rozengurt E.* // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 26. – P. 27482–27493.
38. *Zhang J., Berenstein E., Siraganian R. P.* // *Mol. Cell Biol.* – 2002. – **22**, N 23. – P. 8144–8154.
39. *Matthews S. A., Pettit G. R., Rozengurt E.* // *J. Biol. Chem.* – 1997. – **272**, N 32. – P. 20245–20250.
40. *Chen J., Deng F., Singh S. V., Wang Q. J.* // *Cancer Res.* – 2008. – **68**, N 10. – P. 3844–3853.
41. *Kim M., Jang H. R., Kim J. H. et al.* // *Carcinog.* – 2008. – **29**, N 3. – P. 629–637.
42. *Шабельник М. Ю., Тарасова Т. А., Меренцев С. В., Сидоренко С. П.* // *Онкол.* – 2008. – **10**, № 4. – С. 393–399.
43. *Eiseler T., Doppler H., Yan I. K. et al.* // *Breast Cancer Res.* – 2009. – **11**, N 1. – P. R13.
44. *Bowden E. T., Barth M., Thomas D. et al.* // *Oncogene.* – 1999. – **18**, N 31. – P. 4440–4449.
45. *Шлапацька Л. М., Захарова І. А., Міхалап С. В.* // *Онкол.* – 2008. – **10**, № 3. – P. 316–320.
46. *Kovalevska L. M., Yurchenko O. V., Shlapatska L. M. et al.* // *Exp. Oncol.* – 2006. – **28**, N 3. – P. 225–230.
47. *Irie A., Harada K., Tsukamoto H. et al.* // *Int. Immunol.* – 2006. – **18**, N 12. – P. 1737–1747.
48. *Irie A., Chen Y. Z., Tsukamoto H. et al.* // *Eur. J. Immunol.* – 2003. – **33**, N 6. – P. 1497–1507.
49. *Jaggi M., Rao P. S., Smith D. J. et al.* // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – **307**, N 2. – P. 254–260.
50. *Pan J. S., Hong M. Z., Ren J. L.* // *World. J. Gastroenterol.* – 2009. – **15**, N 14. – P. 1702–1707.
51. *Storz P., Doppler H., Toker A.* // *Mol. Cell Biol.* – 2005. – **25**, N 19. – P. 8520–8530.

52. Waldron R. T., Rozengurt E. // *J. Biol. Chem.* – 2000. – **275**, N 22. – P. 17114–17121.
53. Matthews S. A., Liu P., Spitaler M. et al. // *Mol. Cell Biol.* – 2006. – **26**, N 4. – P. 1569–1577.
54. Kim M. S., Fielitz J., McAnally J. et al. // *Mol. Cell Biol.* – 2008. – **28**, N 11. – P. 3600–3609.
55. Haxhinasto S. A., Bishop G. A. // *J. Immunol.* – 2003. – **171**, N 9. – P. 4655–4662.
56. Thomas W., McEneaney V., Harvey B. J. // *Biochem. Soc. Trans.* – 2007. – **35**, N Pt 5. – P. 1049–1051.
57. Chiu T., Rozengurt E. // *FEBS Lett.* – 2001. – **489**, N 1. – P. 101–106.
58. Rozengurt E. // *J. Cell. Physiol.* – 1998. – **177**, N 4. – P. 507–517.
59. Rozengurt E., Guha S., Sinnott-Smith J. // *Eur. J. Surg. Suppl.* – 2002. – **587**. – P. 23–38.
60. Martin D., Gutkind J. S. // *Oncogene.* – 2008. – **27**, N 2. – P. S31–S42.
61. Shabelnik M. Y., Kostyuk O. V., Merentsev S. V. et al. // *Exp. Oncol.* – 2009. – **31**, N 3. – P. 134–139.
62. Arnold R., Patzak I. M., Neuhaus B. et al. // *Mol. Cell Biol.* – 2005. – **25**, N 6. – P. 2364–2383.
63. Medeiros R. B., Dickey D. M., Chung H. et al. // *Immunity.* – 2005. – **23**, N 2. – P. 213–226.
64. Hawkins R. // *Oncol. Nurs. Forum.* – 2001. – **28**, N 6. – P. 959–965.
65. Jaggi M., Rao P. S., Smith D. J. et al. // *Cancer Res.* – 2005. – **65**, N 2. – P. 483–492.
66. Du C., Jaggi M., Zhang C., Balaji K. C. // *Ibid.* – 2009. – **69**, N 3. – P. 1117–1124.
67. Syed V., Mak P., Du C., Balaji K. C. // *J. Cell Biochem.* – 2008. – **104**, N 1. – P. 82–95.
68. Okegawa T., Li Y., Pong R. C., Hsieh J. T. // *J. Urol.* – 2002. – **167**, N 4. – P. 1836–1843.
69. Yamamoto H., Oue N., Sato A. et al. // *Oncogene.* – 2010. – **29**, N 14. – P. 2036–2046.
70. Jaggi M., Chauhan S. C., Du C., Balaji K. C. // *Mol. Cancer Ther.* – 2008. – **7**, N 9. – P. 2703–2712.
71. Palmantier R., George M. D., Akiyama S. K. et al. // *Cancer Res.* – 2001. – **61**, N 6. – P. 2445–2452.
72. De Kimpe L., Janssens K., Derua R. et al. // *Cell Signal.* – 2009. – **21**, N 2. – P. 253–263.
73. Sternlicht M. D., Lochter A., Sympon C. J. et al. // *Cell.* – 1999. – **98**, N 2. – P. 137–146.
74. Egeblad M., Werb Z. // *Nat. Rev. Cancer.* – 2002. – **2**, N 3. – P. 161–174.
75. Hynes R. O., Lively J. C., McCarty J. H. et al. // *Cold. Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 2002. – **67**. – P. 143–153.
76. Cox E. A., Sastry S. K., Huttenlocher A. // *Mol. Biol. Cell.* – 2001. – **12**, N 2. – P. 265–277.
77. White D. P., Caswell P. T., Norman J. C. // *J. Cell Biol.* – 2007. – **177**, N 3. – P. 515–525.
78. Woods A. J., White D. P., Caswell P. T., Norman J. C. // *Embo. J.* – 2004. – **23**, N 13. – P. 2531–2543.
79. Jackson L. N., Li J., Chen L. A. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – **348**, N 3. – P. 945–949.
80. Wang S., Li X., Parra M. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – **105**, N 22. – P. 7738–7743.
81. McEneaney V., Dooley R., Harvey B. J., Thomas W. // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2009. – **118**, N 1–2. – P. 18–28.
82. Liu P., Scharenberg A. M., Cantrell D. A., Matthews S. A. // *FEBS Lett.* – 2007. – **581**, N 7. – P. 1377–1382.
83. Ernest D. M., Ristich V. L., Ray S. et al. // *J. Invest. Dermatol.* – 2005. – **125**, N 2. – P. 294–306.
84. Rennecke J., Rehberger P. A., Furstenberger G. et al. // *Int. J. Cancer.* – 1999. – **80**, N 1. – P. 98–103.
85. Larson S. D., Li J., Chung D. H., Evers B. M. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2007. – **293**, N 6. – P. G1262–G1271.
86. Jadali A., Ghazizadeh S. // *J. Biol. Chem.* – 2010. – 2010:12. First Published on May 12, 2010, doi: 10.1074/jbc.M110.105619.
87. Zhukova E., Sinnott-Smith J., Rozengurt E. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – **276**, N 43. – P. 40298–40305.
88. Trauzold A., Schmiedel S., Sipos B. et al. // *Oncogene.* – 2003. – **22**, N 55. – P. 8939–8947.
89. Harikumar K. B., Kunnumakkara A. B., Ochi N. et al. // *Mol. Cancer Ther.* – 2010. – **9**, N 5. – P. 1136–1146.
90. Chiu T., Wu S. S., Santiskulvong C. et al. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2002. – **282**, N 3. – P. C434–C450.
91. Hausser A., Storz P., Hubner S. et al. // *FEBS Lett.* – 2001. – **492**, N 1–2. – P. 39–44.
92. Sinnott-Smith J., Zhukova E., Rey O., Rozengurt E. // *J. Cell Physiol.* – 2007. – **211**, N 3. – P. 781–790.
93. Sinnott-Smith J., Zhukova E., Hsieh N. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 16. – P. 16883–16893.
94. Wang Y., Waldron R. T., Dhaka A. et al. // *Mol. Cell Biol.* – 2002. – **22**, N 3. – P. 916–926.
95. Pyne S., Pyne N. // *Pharmacol. Ther.* – 2000. – **88**, N 2. – P. 115–131.

96. Maceyka M., Payne S. G., Milstien S., Spiegel S. // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2002. – **1585**, N 2–3. – P. 193–201.
97. Okada T., Ding G., Sonoda H. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – **280**, N 43. – P. 36318–36325.
98. Igarashi N., Okada T., Hayashi S. et al. // *Ibid.* – 2003. – **278**, N 7. – P. 46832–46839.
99. Ding G., Sonoda H., Yu H. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2007. – **282**, N 37. – P. 27493–27502.
100. Mak P., Jaggi M., Syed V. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – **373**, N 4. – P. 618–623.
101. Hassan S., Biswas M. H., Zhang C. et al. // *Oncogene.* – 2009. – **28**, N 49. – P. 4386–4396.
102. Johannes F. J., Horn J., Link G. et al. // *Eur. J. Biochem.* – 1998. – **257**, N 1. – P. 47–54.
103. Storz P., Toker A. // *Embo. J.* – 2003. – **22**, N 1. – P. 109–120.
104. Storz P., Toker A. // *Cell Cycle.* – 2003. – **2**, N 1. – P. 9–10.
105. Song J., Li J., Qiao J. et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2009. – **378**, N 3. – P. 610–614.
106. Wang Y., Schattenberg J. M., Rigoli R. M. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**, N 30. – P. 31089–31097.
107. Singh R., Czaja M. J. // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2007. – **22**, Suppl. 1. – P. S45–S48.
108. Zhang W., Zheng S., Storz P., Min W. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – **280**, N 19. – P. 19036–19044.
109. Jan Y., Matter M., Pai J. T. et al. // *Cell.* – 2004. – **116**, N 5. – P. 751–762.
110. Kairouz-Wahbe R., Biliran H., Luo X. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – **105**, N 5. – P. 1528–1532.
111. Biliran H., Jan Y., Chen R. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2008. – **283**, N 42. – P. 28029–28037.
112. Fay J. R., Crowell J. A., Kopelovich L. // *Expert Opin. Ther. Targets.* – 2005. – **9**, N 2. – P. 315–328.
113. Delcuve G. P., Rastegar M., Davie J. R. // *J. Cell. Physiol.* – 2009. – **219**, N 2. – P. 243–250.
114. Verdin E., Dequiedt F., Kasler H. G. // *Trends. Genet.* – 2003. – **19**, N 5. – P. 286–293.
115. Huynh Q. K., McKinsey T. A. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2006. – **450**, N 2. – P. 141–148.
116. Song K., Backs J., McAnally J. et al. // *Cell.* – 2006. – **125**, N 3. – P. 453–466.
117. Parra M., Kasler H., McKinsey T. A. et al. // *J. Biol. Chem.* – 2005. – **280**, N 14. – P. 13762–13770.
118. Dequiedt F., Van Lint J., Lecomte E. et al. // *J. Exp. Med.* – 2005. – **201**, N 5. – P. 793–804.
119. Mottet D., Bellahcene A., Pirote S. et al. // *Circ. Res.* – 2007. – **101**, N 12. – P. 1237–1246.
120. Akimoto T., Li P., Yan Z. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2008. – **295**, N 1. – P. C288–C292.
121. Liu L. T., Chang H. C., Chiang L. C., Hung W. C. // *Cancer Res.* – 2003. – **63**, N 12. – P. 3069–3072.
122. Klampfer L., Huang J., Shirasawa S. et al. // *Ibid.* – 2007. – **67**, N 18. – P. 8477–8485.
123. Waldron R. T., Whitelegge J. P., Faull K. F., Rozengurt E. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2007. – **356**, N 2. – P. 361–367.
124. Hurd C., Waldron R. T., Rozengurt E. // *Oncogene.* – 2002. – **21**, N 4. – P. 2154–2160.
125. Schmalhofer O., Brabletz S., Brabletz T. // *Cancer Metastasis Rev.* – 2009. – **28**, N 1–2. – P. 151–166.
126. Hatsell S., Rowlands T., Hiremath M., Cowin P. // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* – 2003. – **8**, N 2. – P. 145–158.

Отримано 17.06.2010