

# ЕКСПРЕСІЯ ІЗОФОРМ КІНАЗИ РИБОСОМНОГО БІЛКА S6 (S6K1) В РІЗНИХ ТИПАХ ПАПІЛЯРНОЇ КАРЦИНОМИ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

О.М. ГАРИФУЛІН<sup>1</sup>, В.В. ФІЛОНЕНКО<sup>1</sup>, А.В. БДЖОЛА<sup>1</sup>, В.В. ПУШКАРЬОВ<sup>2</sup>,  
П.П. ЗІНИЧ<sup>2</sup>, В.М. ПУШКАРЬОВ<sup>2</sup>, Б.Б. ГУДА<sup>2</sup>, О.І. КОВЗУН<sup>2</sup>, М.Д. ТРОНЬКО<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України  
вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна

<sup>2</sup> ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин імені В.П. Комісаренка НАМН України»  
вул. Вишгородська, 69, Київ, 04114, Україна

E-mail: oleg.garifulin@gmail.com; filonenko@imbg.org.ua; axolotle@gmail.com; zinychpiter@gmail.com;  
pushkarev.vm@gmail.com; bguda@ukr.net; kovzun.oi@gmail.com; endocrinology.kiev@gmail.com

Кіназа рибосомного білка S6 (S6K1) є одним із ключових компонентів PI3K/mTOR/S6K1-залежного сигнального каскаду, який відіграє важливу роль в регуляції трансляції, клітинного росту, виживання, проліферації та міграції клітини. Порушення в функціонуванні PI3K/mTOR/S6K1 сигнального каскаду зокрема зміни в експресії та активності S6K1 супроводжують розвиток цілої низки патологій людини серед яких онкологічні, нейродегенеративні та серцево-судинні захворювання, метаболічні розлади, а також патології, що пов'язані зі старінням. Нещодавно, в доповнення до вже відомих p70 та p85 підтверджено існування нової ізоформи кінази S6K1 – p60. Крім того, встановлено, що зміна балансу в експресії різних ізоформ S6K1 в бік збільшення p60-S6K1 призводить до багаторазового підвищення рухливості модельних злаякісних клітин, що супроводжується суттєвими змінами в експресії молекул залучених до клітинної адгезії та міжклітинної взаємодії і може свідчити про набуття клітинами пухлин ознак важливих для інвазії та метастазування. Для з'ясування питання чи експресія p60 ізоформи S6K1 корелює з інвазією та метастазуванням на рівні пухлини було проаналізовано рівень експресії ізоформ S6K1 в трьох групах пухлин папілярної карциноми щитоподібної залози людини, а саме: без ознак інвазії, з ознаками інвазії та з метастазами в лімфатичні вузли. Одночасно проаналізовано і прилеглі до пухлин умовно-нормальні тканини. Аналіз проводили методом ПЛР в реальному часі. Встановлено тенденцію до підвищення рівня експресії як усіх ізоформ S6K1, так і окремо p60-ізоформи S6K1 в пухлинах з проявами інвазії та метастазування. Однак статистично достовірними виявилися зміни співвідношення сумарного рівня експресії всіх ізоформ S6K1 до p60-S6K1 в бік збільшення частки останньої в пухлинах з проявами метастазування. Отримані результати вказують на важливу роль ізоформи p60S6K1 в підтримці чи ініціації інвазії та метастазування пухлин щитоподібної залози.

© ІНСТИТУТ КЛІТИННОЇ БІОЛОГІЇ ТА ГЕНЕТИЧНОЇ ІНЖЕНЕРІЇ НАН УКРАЇНИ, 2023

**Ключові слова:** S6K1, p60-S6K1, щитоподібна залоза, папілярна карцинома, метастази.

**Вступ.** Кіназа рибосомного білка S6 (S6K1) функціонує як один з ключових компонентів PI3K/mTOR/S6K1-залежного сигнального шляху, що є залученим до регуляції трансляції, клітинного росту, виживання, проліферації та міграції (Foster, 2010; Fenton, 2011; Tavares, 2015). S6K1 є серин/треоніною кіназою, яка активується білковим комплексом mTORC1 у відповідь на дію ростових факторів, мітогенів та поживних речовин. Порушення в функціонуванні PI3K/mTOR/S6K1 сигнального каскаду супроводжують важкі патологічні стани людини, зокрема онкологічні, нейродегенеративні та серцево-судинні захворювання, метаболічні розлади, а також патології, що пов'язані зі старінням (Zoncu, 2011; Dann, 2007; Hoeffler, 2010; Murugan, 2019).

Активацію та підвищення експресії S6K1 виявлено в злаякісних пухлинах молочної залози, легень, ендометрію, щитоподібної залози, (Bepler, 1995; Monni, 2001; Lytvyn, 2003; Lyzogubov, 2003; Lyzogubov, 2004; Lyzogubov, 2005; Kremer, 2006; Menon, 2008; Pypulo, 2012; Yoshida, 2013), що пов'язано в тому числі і з ампліфікацією гена S6K1 (Monni, 2001; Yoshida, 2013). До того ж підвищена експресія та активність S6K1 корелює з поганим прогнозом для пацієнтів з раком грудної залози, нирок та гепатоцелюлярною карциномою (Pypulo, 2012), що вказує на S6K1 як важливу терапевтичну мішень в лікуванні раку (Zhang, 2019; Sridhar, 2022).

Найбільш дослідженими на сьогодні є дві ізоформи S6K1 – p85-S6K1 та p70-S6K1, що синтезуються в результаті трансляції спільної мРНК матриці однак з використанням альтер-

нативних стартів трансляції (перший та другий АТГ) завдяки чому N-кінцева регуляторна ділянка р85 ізоформи S6K1 на 23 амінокислоти довша за таку в р70-S6K1. Існує і третя – р31 ізоформа, яка утворюється завдяки альтернативному сплайсингу мРНК (Karni, 2007). Вона вкорочена з C-кінця і позбавлена більшої частини кіназного домену. Не зважаючи на відсутність каталітичної активності р31-S6K1 вважається онкогенною, адже її експресія здатна ініціювати злоякісну трансформацію епітеліальних клітин молочної залози людини (Ven-Hug, 2013). Механізм, який лежить в основі онкогенних властивостей р31-S6K1, наразі залишається невідомим.

Нещодавно нами підтверджено існування р60 ізоформи S6K1, (Zaiets, 2018; Zaiets, 2019), що практично повністю позбавлена N-кінцевої регуляторної ділянки порівняно з р70- та р85-S6K1. Існування цієї форми було передбачено раніше, але не доведено експериментально (Kim, 2009). Згідно наших даних р60-S6K1 може походити як внаслідок альтернативної трансляції спільної з р70 та р85-S6K1 мРНК з використанням третього старту трансляції, так і трансляції специфічної лише для р60 ізоформи сплайсової мРНК (Zaiets, 2019a), що містить додатковий екзон (1a) який походить з 1-го інтрону. Завдяки наявності стоп сигналу в межах цього екзону відбувається передчасна термінація трансляції р70 та р85 ізоформ, але не р60, старт трансляції якої розташований в межах 2-го екзону. Подальшими дослідженнями з'ясовано, що регуляція активності р60 ізоформи суттєво відрізняється від р70 та р85 і залежить від типу клітин (Zaiets, 2019b), вказуючи на відмінності в функціональній активності ізоформ S6K1 в клітині.

З використанням модельних клітин MCF7 з CRISPR/Cas9 редагованою експресією різних ізоформ S6K1 встановлено, що зміна балансу в експресії ізоформ S6K1 у бік р60-S6K1 за рахунок пригнічення призводить до багаторазового підвищення рухливості клітин, що супроводжується суттєвими змінами в експресії молекул залучених до клітинної адгезії та міжклітинної взаємодії (Hotsuliak, 2020; Kosach, 2020). Набуття таких ознак клітинами пухлин є свідченням ініціації інвазії та мета-

стазування. Для з'ясування питання чи такі зміни балансу в експресії ізоформ S6K1 пов'язані з проявами інвазивності та метастазування на рівні пухлини нами було проаналізовано рівень експресії мРНК спільної для всіх ізоформ S6K1 і сплайсової мРНК специфічної лише для р60-S6K1 ізоформи, а також їхнє співвідношення в пухлинах щитоподібної залози. Досліджували три групи пухлин папілярної карциноми щитоподібної залози людини, що відрізнялися за такими показниками як інвазивність та метастазування.

**Матеріали і методи.** Дозвіл на проведення досліджень з біоматеріалом пацієнтів було отримано від Комісії з питань біоетики ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка» НАМН України (ІЕОР). Усі хворі підписали інформовану згоду на проведення наукових досліджень з постопераційними біоматеріалами. Зразки пухлин щитоподібної залози та умовно-нормальної (морфологічно незміненої) тканини одержували в хірургічному відділенні ІЕОР. Остаточний діагноз отримували з лаб. морфології ендокринної системи ІЕОР та лаб. CSD. В таблиці N – ідентифікаційний № зразка пухлини.

**Виділення РНК.** РНК екстрагували із заморожених зразків пухлин ЩЗ з використанням набору RNEasy Mini після гомогенізації в TissueLyser (обидва «Qiagen», «Hilden», Німеччина). Додаткова обробка ДНКазою була включена у протокол екстракції, щоб запобігти спільному елююванню ДНК з РНК. Очищену РНК кількісно визначали за допомогою спектрофотометрії з використанням NanoDrop (Thermo Scientific, Вілмінгтон, США), потім її цілісність (RIN) оцінювали за допомогою наночіпів у біоаналізаторі («Agilent Technologies», Санта-Клара, США) (Mathieson, 2016). RIN одержаних препаратів РНК був не нижче 7, а середнє співвідношення ОГ 260/280 становило  $1,925 \pm 0,165$ .

**Зворотна транскрипція.** Перед синтезом кДНК тотальну РНК обробляли ДНКазою I («Thermo Fisher Scientific», США). Склад реакційної суміші (загальний об'єм складав 10 мкл): тотальна РНК (1 мкг), реакційний буфер, ДНКаз I (1 U). Суміш інкубували впродовж 30 хв при 37 °С, додавали 1 мкл

50 мМ ЕДТА та інкубували впродовж 10 хв при 65 °С для інактивації ДНКази I. Приготовлені зразки РНК використовувалися для зворотньої транскрипції. Реакційна суміш для синтезу кДНК (загальний об'єм 20 мкл) містила 11 мкл тотальної РНК, попередньо обробленої ДНКазою I, 1 мкл Oligo(dT)18 праймерів (0,5 мкг), 4 мкл 5X реакційного буферу, 0,5 мкл інгібітора РНКази «RiboLock», 2 мкл 10 мМ дНТФ та 1 мкл зворотньої транскриптази «RevertAid» («Thermo Fisher Scientific», США). Перед додаванням зворотньої транскриптази проводили денатурацію РНК впродовж 5 хв при 65 °С. Далі, для синтезу кДНК повну реакційну суміш інкубували впродовж однієї години при 42 °С із подальшою термінацією реакції шляхом інкубування суміші при 70 °С впродовж 10 хв.

**Кількісна ПЛР.** Для ПЛР в реальному часі використовували комерційний набір Maxima SYBR Green fluorescein qPCR mix («Thermo Fisher Scientific», США) і ДНК ампліфікатор «Thermal Cycler CFX96 Real-Time System» («Bio-Rad», Сінгапур).

Реакційна суміш для кількісної ПЛР об'ємом 20 мкл містила кДНК (1 мкл), 2 × Master Mix (10 мкл), прямий 50 мкм праймер (0,12 мкл), зворотний 50 мкм праймер (0,12 мкл), Н<sub>2</sub>О вільна від нуклеаз (8,76 мкл). Ампліфікацію проводили в такому температурному режимі: початкова денатурація – 95 °С, 10 min; ампліфікація (40 циклів); денатурація – 95 °С, 15 с; гібридизація – 60 °С, 20 с; подовження – 72 °С, 25 с.

**Послідовності праймерів для кількісного ПЛР в реальному часі**

r60S6K1 for Ex1a	TTCTGTCGGGAGTAGCACTG
r60S6K1 rev Ex3	CACAATGTTCCATGCCAAGTT
S6K1 for:Ex2	GACCATATGAACTTGGCATGG
S6K1 rev:Ex4	TCCCAGTATTTGCTCCTGTTAC
TBP for	TGCACAGGAGCCAAGAGTGAA
TBP rev	CACATCACAGCTCCCCACCA

Для визначення рівня експресії r60 специфічної сплайсової мРНК, як прямий використовували праймер до екзону 1a, відсутній у мРНК r70- та r85-S6K1 (Zaiets, 2019a). Для визначення загального рівня експресії мРНК всіх S6K1 ізоформ використовували праймери до екзо-

нів 2 та 4, що є спільними для обох мРНК матриць S6K1. Праймери було підібрано за допомогою програми Oligo 7 таким чином, щоб температура плавлення становила 60 °С.

Для кожної реакції було зроблено три технічні повтори. Аналіз кривих плавлення показав, що присутні поодинокі амплікони для кожної з використаних пар праймерів, що означає відсутність неспецифічних продуктів реакції. Для вимірювання відносної експресії генів застосовували  $\Delta C^t$  метод розрахунку. В якості референційного гена використовували *TBP*, відносно якого і проводився розрахунок експресії цільових мРНК. Для кожної реакції було зроблено три технічні повтори. Статистичний аналіз проводили за Апова використовуючи Tukey HSD for  $p < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** З огляду на те, що за мету було з'ясувати можливий зв'язок між змінами балансу в експресії ізоформ S6K1 і проявами інвазивності та метастазування пухлин, експресію S6K1 ізоформ аналізували в трьох групах пухлин папілярної карциноми щитоподібної залози людини: без ознак інвазії (I), з ознаками інвазії (II) та з наявністю метастазів (III) (таблиця). Одночасно експресію S6K1 аналізували і у прилеглий до пухлини умовно-нормальній тканині, що не мала ознак злоякісної трансформації за даними патоморфологів. В таблиці наведено список зразків пухлин та клінічний діагноз.

Згідно даних ПЛР в реальному часі (рис. 1) достовірних відмінностей в сумарній експресії всіх ізоформ S6K1 в пухлинах трьох груп не було виявлено, хоча і спостерігалася тенденція до збільшення рівня експресії зі збільшенням рівня агресивності пухлин.

Для r60 ізоформи також виявлено лише тенденцію до збільшення її експресії як в пухлинах так і оточуючій тканині зі збільшенням агресивності пухлин (рис. 2). Статистично ж достовірну відмінність виявлено лише між експресією r60-S6K1 в пухлинах першої групи, що не мають ознак інвазії та метастазування, та з оточуючою умовно-нормальною тканиною пухлин з наявними зазначеними ознаками характерними для найбільш агресивних пухлин. То ж ці дані вказують на те, що в процесі прогресії пухлини оточуюча тканина

**Зразки пухлин щитоподібної залози людини з зазначенням діагнозу та групування за інвазивністю та метастазуванням**

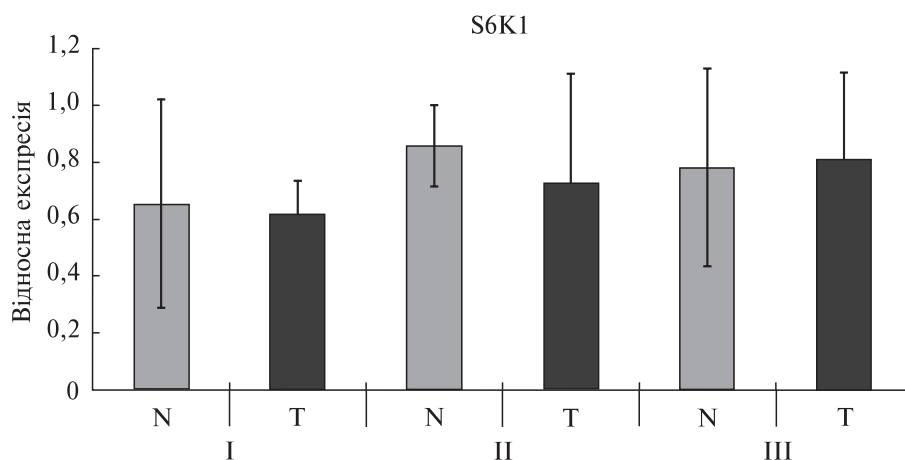
N	Діагноз/група
<i>Група I</i>	
10	Папілярна мікрокарцинома
17	Папілярна карцинома
29	Фолікулярний варіант папілярної карциноми
35	Папілярна карцинома, висококлітинний варіант без ознак метастазування
48	Інкапсульована папілярна карцинома
53	Папілярна карцинома без ознак інвазії
58	Папілярна карцинома
41a	Папілярна карцинома з мультифокальним ураженням обох часток ЩЗ
<i>Група II</i>	
9	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант
30	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант
39	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант. Багатовузловий зоб
43	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант з мультифокальним ураженням ЩЗ
46	Багатовогнищева папілярна карцинома з інвазією
<i>Група III</i>	
8	Папілярна карцинома з мультифокальним ураженням правої частки та метастазами в лімфатичні вузли
11	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант з метастазами в лімфатичні вузли
12	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли
18	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли
23	Папілярна карцинома, інвазивний фолікулярний варіант. Метастази карциноми в лімфатичні вузли
28	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли
37	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли
38	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли
42	Папілярна карцинома з метастазами в лімфатичні вузли

також зазнає суттєвих змін, які супроводжуються в тому числі і збільшенням експресії p60 ізоформи. Цілком можливо, що оточуючі тканини, в першу чергу стромальна та лімфоїдна, підпорядковуються потребам пухлини сприяючи її інвазії та метастазуванню. Крім того, функції ізоформ S6K1 в пухлині та оточуючих тканинах можуть різнитися.

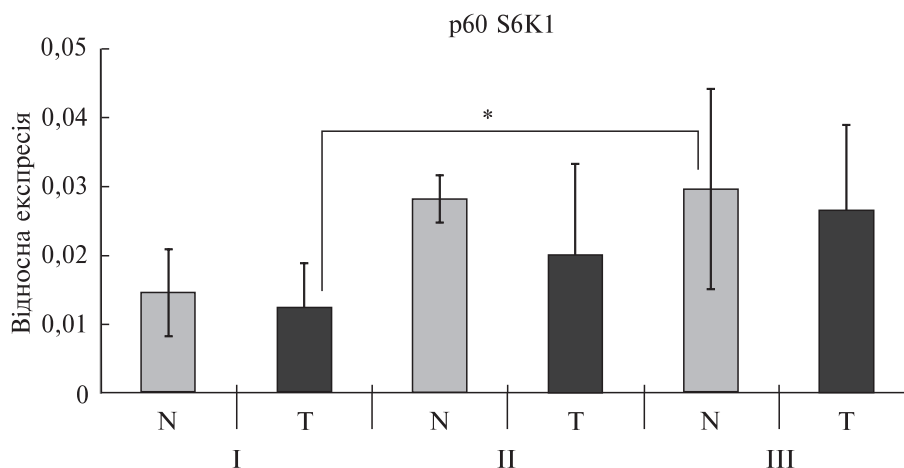
Подальший розрахунок співвідношення рівня експресії мРНК між усіма ізоформами S6K1 та p60-S6K1 виявив існування статистично достовірних відмінностей між першою і третьою групою пухлин (рис. 3). Також виявлено статистично достовірне збільшення такого співвідношення і в оточуючій тканині пухлин третьої групи порівняно з пухлинами першої групи. Таким чином, ці дані свідчать як про загальне підвищення експресії p60 ізоформи в пухлинах з ознаками інвазії та метастазування та їхній оточуючій тканині, так і збільшення її вмісту в загальному пулі всіх ізоформ S6K1.

Слід наголосити, що в загальний пул мРНК S6K1 ізоформ, що аналізували, входить і мРНК p60 ізоформи, адже її неможливо з нього виокремити, оскільки послідовність мРНК p70 та p85-S6K1 ізоформ повністю з нею перекривається. Крім того, не можна виключати, що p60 ізоформа S6K1 завдяки використанню альтернативної трансляції також може синтезуватися зі спільної з p70 та p85 ізоформами S6K1 мРНК матриці (Zaiets, 2018; Zaiets, 2019a). З огляду на зазначене реальні відмінності в експресії p60 ізоформи в бік збільшення на рівні білка мають бути суттєво більшими.

Таким чином, отримані результати вказують на важливу роль балансу в експресії ізоформ S6K1 і зокрема збільшення експресії ізоформи p60-S6K1 в підтримці чи ініціації інвазії та метастазування пухлин щитоподібної залози. Важливо, що такі зміни відбуваються як в самій пухлині, так і в оточуючій, умовно-нормальній тканині, що підтверджується численними даними, які свідчать про тісну взаємодію пухлини з позаклітинним матриксом, клітинами імунної системи та нормальними тканинами (Ungefroren, 2011; Pernot, 2022). На сьогодні, з використанням як клітинних моделей, так і моделей тварин отримано численні свідчення того, що S6K1 залучена до позитивної регуляції рухливості злоякісних



**Рис. 1.** ПЛР аналіз в реальному часі рівня експресії мРНК S6K1 в зразках пухлин щитоподібної залози різних груп та оточуючій пухлину тканині. Статистично значимих відмінностей не виявлено



**Рис. 2.** ПЛР аналіз в реальному часі рівня експресії мРНК специфічної для р60 ізоформи S6K1 в зразках пухлин щитоподібної залози різних груп та оточуючій пухлину тканині. \* $p < 0,05$

клітин та їхньої інвазивності а інгібітори кінази, відповідно, мають негативний ефект на ці процеси (Liu, 2006; Kinkade, 2008; Khot-skaya, 2014; Camila, 2016; Qiu, 2016) тож вважаються перспективними для застосування в протипухлинній терапії. Однак механізми, за якими mTOR/S6K сигнальний каскад регулює клітинну міграцію та процес метастазування залишаються до кінця не визначеними. Тим не менше низка робіт демонструє, що сигналінг через S6K1 контролює клітинну міграцію шляхом: реорганізації F-актину (Berven, 2004); формування фокальної адгезії (Liu, 2008; Jafari, 2016); ремоделювання тканини через протео-

літичне розщеплення позаклітинного матриксу, через надрегуляцію MMP-9 (Zhou, 2006); позитивного впливу на експресію та активність Rho ГТФази (Liu, 2010).

Слід наголосити, що всі зазначені вище активності не досліджувалися в контексті відмінностей між р70 та р85 ізоформами S6K1, а тим більше р60 ізоформою, що взагалі не досліджувалася донедавна. То ж наші дані вказують на те, що саме р60 ізоформа може бути ефективною мішенню для впливу на рухливість пухлинних клітин і тим самим їхню інвазивність і метастазування. З огляду на відмінності в регуляції та активності р60 від р70

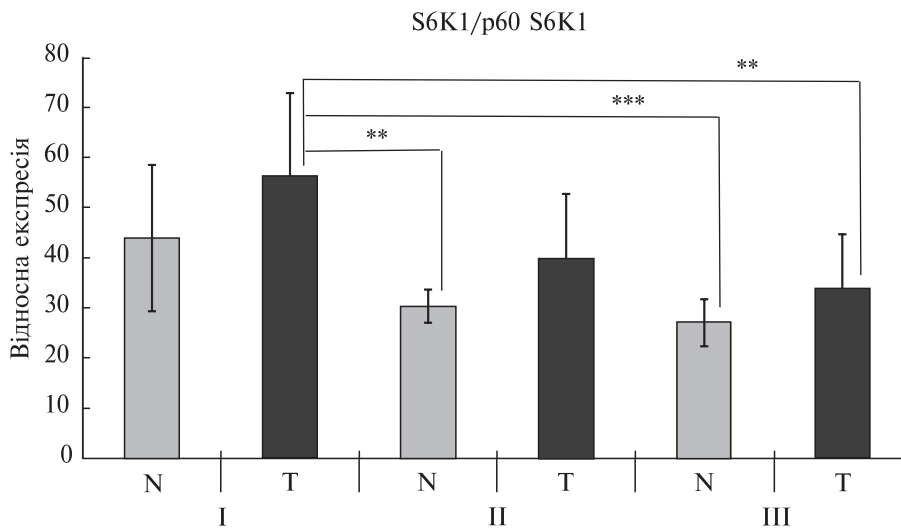


Рис. 3. ПЛР аналіз в реальному часі співвідношення рівня експресії сумарної мРНК S6K1 та специфічної для p60 ізоформи мРНК в зразках пухлин щито-подібної залози різних груп. \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$

та p85 виглядає можливим створення селективних інгібіторів p60-S6K1 для їхнього використання в протипухлинній терапії.

**Дотримання етичних стандартів.** Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей і тварин в якості об'єктів дослідження.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Роботу виконано в рамках фінансування НАН України за програмою 6541230 (проект № 0120U100648) та в рамках бюджетного фінансування НАМН України за планом науково-дослідних робіт.

#### EXPRESSION OF RIBOSOMAL PROTEIN KINASE S6 (S6K1) ISOFORMS IN DIFFERENT TYPES OF PAPILLARY THYROID CARCINOMA

O.M. Garifulin, V.V. Filonenko, A.V. Bdzholo, V.V. Pushkarev, P.P. Zinich, V.M. Pushkarev, B.B. Huda, O.I. Kovzun, M.D. Tronko

Institute of Molecular Biology and Genetics of the National Academy of Sciences of Ukraine Zabolotnogo Str., 150, Kyiv, 03680, Ukraine SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Vyshgorodskaya Str., 69, Kyiv, 04114, Ukraine

E-mail: oleg.garifulin@gmail.com; filonenko@imbg.org.ua; axolotle@gmail.com; zinychpiter@gmail.com; pushkarev.vm@gmail.com; bguda@ukr.net;

kovzun.oi@gmail.com; endocrinology.kiev@gmail.com

Ribosomal protein kinase S6 (S6K1) is one of the key components of the PI3K/mTOR/S6K1-dependent signaling cascade, which plays an important role in the regulation of translation, cell growth, survival, proliferation, and cell migration. Disturbances in the functioning of the PI3K/mTOR/S6K1 signaling cascade, in particular changes in the expression and activity of S6K1, accompany the development of a number of human pathologies, including oncological, neurodegenerative and cardiovascular diseases, metabolic disorders, as well as pathologies associated with aging. Recently, in addition to the already known p70 and p85, the existence of a new isoform of the S6K1 kinase – p60 – was confirmed. In addition, it was established that a change in the balance in the expression of various S6K1 isoforms towards an increase in p60-S6K1 leads to a multiple increase in the mobility of model malignant cells, which is accompanied by significant changes in the expression of molecules involved in cell adhesion and intercellular interaction and may indicate that the cells acquire tumor characteristics important for invasion and metastasis. To find out whether the expression of the p60 isoform of S6K1 correlates with invasion and metastasis at the tumor level, the expression level of S6K1 isoforms was analyzed in three groups of human papillary thyroid carcinoma tumors, namely: without signs of invasion, with signs of invasion, and with lymph node metastases. Conditionally normal tissues adjacent to the tumors were also analyzed at the same time. The analysis was carried out by real-time PCR. A trend towards an increase in the expression level of all S6K1 isoforms, as well as

the p60 isoform of S6K1 in tumors with manifestations of invasion and metastasis, was established. However, changes in the ratio of the total expression level of all S6K1 isoforms to p60-S6K1 in the direction of an increase in the share of the latter in tumors with manifestations of metastasis turned out to be statistically reliable. The obtained results indicate an important role of the p60S6K1 isoform in the maintenance or initiation of invasion and metastasis of thyroid tumors.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Amaral CL, Freitas LB, Tamura RE, Tavares MR, Pavan ICB, Bajgelman MC, Simabuco FM (2016) S6Ks isoforms contribute to viability, migration, docetaxel resistance and tumor formation of prostate cancer cells. *BMC Cancer* 16:602. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2629-y>.
- Ben-Hur V, Denichenko P, Siegfried Z, Maimon A, Krainer A, Davidson B et al (2013) S6K1 alternative splicing modulates its oncogenic activity and regulates mTORC1. *Cell Rep* 3(1):103–15. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.11.020>.
- Bepler G, Koehler A (1995) Multiple chromosomal aberrations and 11p allelotyping in lung cancer cell lines. *Cancer Genet Cytogen* 84:39–45. [https://doi.org/10.1016/0165-4608\(95\)00063-1](https://doi.org/10.1016/0165-4608(95)00063-1).
- Berven LA, Willard FS, Crouch MF (2004) Role of the p70(S6K) pathway in regulating the actin cytoskeleton and cell migration. *Exp Cell Res* 296:183–195. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2003.12.032>.
- Dann SG, Selvaraj A, Thomas G (2007) mTOR complex1-S6K1 signaling: at the crossroads of obesity, diabetes and cancer. *Trends Mol Med* 13(6):252–259. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2007.04.002>.
- Fenton TR, Gout IT (2011) Functions and regulation of the 70kDa ribosomal S6 kinases. *Int J Biochem Cell Biol* 43(1):47–59. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2010.09.018>.
- Foster KG, Fingar DC (2010) Mammalian target of rapamycin (mTOR): conducting the cellular signaling symphony. *J Biol Chem* 285(19):14071–14077. <https://doi.org/10.1074/jbc.R109.094003>.
- Hoeffler CA, Klann E (2010) mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci* 33(2):67–75. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.11.003>.
- Hotsuliak NYa, Kravchenko AO, Kosach VV, Tykhonkova IO, Khoruzhenko AI (2020) Sensitivity of MCF-7 cells with differential expression of S6K1 isoforms to the regulatory impact of fibroblasts. *Biopolym Cell* 36(3):210–228. <https://doi.org/10.7124/bc.000A2E>.
- Jafari N, Zheng O, Li L, Li W, Q L, Xiao J, Gao T, Huang C (2016) p70S6K1 (S6K1)-mediated Phosphorylation Regulates Phosphatidylinositol 4-Phosphate 5-Kinase Type I  $\gamma$  Degradation and Cell Invasion. *J Biol Chem* 291(49):25729–25741. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.742742>.
- Karni R, de Stanchina E, Lowe SW, Sinha R, Mu D, Krainer AR (2007) The gene encoding the splicing factor SF2/ASF is a proto-oncogene. *Nat Struct Mol Biol* 14(3):185–93. <https://doi.org/10.1038/nsmb1209>.
- Khotskaya YB, Goverdhan A, Shen J, Ponz-Sarvisé M, Chang S-S, Hsu MC et al (2014) S6K1 promotes invasiveness of breast cancer cells in a model of metastasis of triple-negative breast cancer. *Am J Transl Res* 6(4):361–376. <https://doi.org/10.1158/1557-3125.MODORG-A49>.
- Kim D, Akcakanat A, Singh G, Sharma C, Meric-Bernstam F (2009) Regulation and localization of ribosomal protein S6 kinase 1 isoforms. *Growth Factors* 27(1):12–21. <https://doi.org/10.1080/08977190802556986>.
- Kinkade CW, Castillo-Martin M, Puzio-Kuter A, Yan J, Foster TH, Gao H, et al (2008) Targeting AKT/mTOR and ERK MAPK signaling inhibits hormone-refractory prostate cancer in a preclinical mouse model. *J Clin Invest* 118(9):3051–3064. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2008.12.004>.
- Kosach VR, Hotsuliak NYa, Zaiets IV, Skorokhod OM, Savinska LO, Khoruzhenko AI, Filonenko VV (2020) Alterations in expression of S6K1 isoforms in MCF7 cells have a strong impact on the locomotor activity as well as on S6K1 and Akt signaling. *Biopolym Cell* 36(2):110–121. <https://doi.org/10.7124/bc.000A25>.
- Kremer CL, Klein RR, Mendelson J, Browne W, Samadzedeh LK, Vanpatten K et al (2006) Expression of mTOR signaling pathway markers in prostate cancer progression. *Prostate* 66(11):1203–1212. <https://doi.org/10.1002/PROS.20410>.
- Liu L, Li F, Cardelli JA, Martin KA, Blenis J, Huang S (2006) Rapamycin inhibits cell motility by suppression of mTOR-mediated S6K1 and 4E-BP1 pathways. *Oncogene* 25:7029–7040. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209691>.
- Li, Chen L, Chung J, Huang S (2008) Rapamycin inhibits F-actin reorganization and phosphorylation of focal adhesion proteins. *Oncogene* 27:4998–5010. <https://doi.org/10.1038/onc.2008.137>.
- Liu L, Luo Y, Chen L, Shen T, Xu B, Chen W, Zhou H, Han X, Huang S (2010) Rapamycin inhibits cytoskeleton reorganization and cell motility by suppressing RhoA expression and activity. *J Biol Chem* 285:38362–38373. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.141168>.
- Lytvyn DI, Dudchenko TM, Lyzogubov VV, Usenko VS, Nespryadko SV, Vinnitskaya AB, Vorobyova LI,

- Pal'chevskiy SS, Filonenko VV, Pogrebnoy PV (2003) Expression of  $\alpha$ - and  $\beta$ -isoforms of p70S6 kinase in human endometrial tumors. *Exp Oncol* 25(4):274–278.
- Lyzogubov V, Khozhaenko Y, Usenko V, Antonjuk S, Ovcharenko G, Tikhonkova I, Filonenko V (2005) Immunohistochemical analysis of Ki-67, PCNA and S6K1/2 expression in human breast cancer. *Exp Oncol* 27(2):141–144.
- Lyzogubov VV, Lytvyn DI, Dudchenko TM, Lubchenko NV, Pogrybnyi PV, Nespryadko SV, Vinnitska AB, Usenko VS, Gout IT, Filonenko VV (2004) Immunohistochemical analysis of S6K1 and S6K2 expression in endometrial adenocarcinomas. *Exp Oncol* 26(4):287–293.
- Lyzogubov VV, Usenko VS, Khojaenko YuS, Lytvyn DI, Soldatkina MA, Rodnin NV, Filonenko VV, Pogribnyi PV (2003) Immunohistochemical analysis of p70S6 kinase  $\alpha$  in human thyroid tissue upon pathology. *Exp Oncol* 25(4):304–306.
- Mathieson W, Betsou F, Myshunina T, Pushkarev V, Pushkarev V, Shinkarkina A et al (2016) The effect of long-term  $-80^{\circ}\text{C}$  storage of thyroid biospecimens on RNA quality and ensuring fitness for purpose. *J Clin Pathol* 69(12):1105–1108. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2016-203697>.
- Menon S, Manning BD (2008) Common corruption of the mTOR signaling network in human tumors. *Oncogene* 27:S43–S51. <https://doi.org/10.1038/onc.2009.352>.
- Monni O, Barlund M, Mousses S, Kononen J, Sauter G, Heiskanen M et al (2001) Comprehensive copy number and gene expression profiling of the 17q23 amplicon in human breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(10):5711–5716. <https://doi.org/10.1073/pnas.091582298>.
- Murugan AK (2019) mTOR: Role in cancer, metastasis and drug resistance. *Semin Cancer Biol* 59:92–111. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.07.003>.
- Pernot S, Evrard S, Khatib AM (2022) The Give-and-Take Interaction Between the Tumor Microenvironment and Immune Cells Regulating Tumor Progression and Repression. *Front Immunol*, 13:850856. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.850856>.
- Pypulo H, Lopes JM, Soares P (2012) The mTOR signalling pathway in human cancer. *Int J Mol Sci* 13(2):1886–1918. <https://doi.org/10.3390/ijms13021886>.
- Qiu ZX, Sun RF, Mo XM, Li WM (2016) The p70S6K Specific Inhibitor PF-4708671 Impedes Non-Small Cell Lung Cancer Growth. *PLoS One* 11(1):e0147185. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147185>.
- Sridhar J, Komati R, Kumar S (2022) Targeting RPS6K1 for Refractory Breast Cancer Therapy. In: Mayrovitz HN, editor. *Breast Cancer* [Internet]. Brisbane (AU): Exon Publications Chapter 11:163–178. <https://doi.org/10.36255/exon-publications-breast-cancer-rps6k1>.
- Tavares MR, Pavan IC, Amaral CL, Meneguello L, Luchessi AD, Simabuco FM (2015) The S6K protein family in health and disease. *Life Sci* 131:1–10. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.03.001>.
- Ungefroren H, Sebens S, Seidl D, Lehnert H, Hass R (2011) Interaction of tumor cells with the microenvironment. *Cell Commun Signal* 9:18. <https://doi.org/10.1186/1478-811X-9-18>.
- Yoshida S, Matsumoto K, Arao T, Taniguchi H, Goto I, Hanafusa T et al (2013) Gene Amplification of Ribosomal Protein S6 Kinase-1 and-2 in Gastric Cancer. *Anticancer Res* 33(2):469–475. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.718>.
- Zaiets IV, Holiar VV, Filonenko VV (2019) Identification of a novel S6K1 splice variant coding for the p60-S6K1 isoform. *Biopolym Cell* 35(2):99–106. <https://doi.org/10.7124/bc.00099B>.
- Zaiets IV, Sivchenko AS, Khoruzhenko AI, Savinska LO, Filonenko VV (2018) The p60-S6K1 isoform of ribosomal protein S6 kinase 1 is a product of alternative mRNA translation. *Ukr Biochem J* 90(4):25–35 <https://doi.org/10.15407/ubj90.04.025>.
- Zaiets IV, Holiar VV, Sivchenko AS, Smialkovska VV, Filonenko VV (2019) p60-S6K1 represents a novel kinase active isoform with the mode of regulation distinct from p70/p85-S6K1 isoforms. *Ukr Biochem J* 91(4):17–25. <https://doi.org/10.15407/ubj91.04.017>.
- Zhang S, Hu B, Lv X, Chen S, Liu W, Shao Z (2019) The Prognostic Role of Ribosomal Protein S6 Kinase 1 Pathway in Patients With Solid Tumors: A Meta-Analysis. *Front Oncol* 9:390. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00390>.
- Zhou HY, Wong AS (2006) Activation of p70S6K induces expression of matrix metalloproteinase 9 associated with hepatocyte growth factor-mediated invasion in human ovarian cancer cells. *Endocrinology* 147:2557–2566. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1404>.
- Zoncu R, Efeyan A, Sabatini DM (2011) mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12(1):21–35. <https://doi.org/10.1038/nrm3025>.

Надійшла в редакцію 17.03.23  
Після доопрацювання 28.03.23  
Прийнята до друку 18.07.23