

ТИТОВ К. С., РОТИН Д. Л., КАЗАКОВ А. М., ЩЕРБАКОВА Е. А.  
TITOV K. S., ROTIN D. L., KAZAKOV A. M., SHERBAKOVA E. A.

## Роль интегринов в инвазии и метастазировании злокачественных опухолей кожи

### The role integrins in invasii and metastatic skin of malignant tumors

**Цитирование:** TITOV K. S., ROTIN D. L., KAZAKOV A. M., SHERBAKOVA E. A. The role integrins in invasii and metastatic skin of malignant tumors. Malignant Tumours 2016; 1: XX–XX.

**DOI:** 10.18027/2224–5057–2016–1–XX–XX

#### Резюме

Злокачественные опухоли кожи занимают лидирующее место в онкологической заболеваемости во всем мире. На сегодняшний день, благодаря развитию молекулярной биологии и генетики, становится понятным, что данные опухоли гетерогенны, имеют разные биологические характеристики, что влияет на прогноз заболевания и выбор тактики лечения. К таким изменениям относятся рецепторы интегринов, различная экспрессия которых может влиять на процессы инвазии и метастазирования. Предлагаем обзор современного понимания влияния интегринов на прогрессию опухолей кожи и разработки новых подходов к противоопухолевой терапии.

#### Abstract

Malignant tumors of skin take the leading place in neoplastic incidence worldwide. Currently, concerning the development of molecular biology and genetics, it becomes clear that these tumors are heterogenic and have different biological characteristics that of prognostic and predictive significance. Various degree of integrin receptors expression, which can influence processes of an invasion and metastasis, belongs to such changes. We review the problem of modern understanding of the integrin's influence on skin tumor progression and development of new approaches for antineoplastic therapy application.

#### КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

опухоли кожи, интегрины, инвазия, метастазирование

#### KEY WORDS

tumors of skin, integrins, invasion, metastasizing

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Титов Константин Сергеевич** – д.м.н., заведующий онкохирургическим отделением опухолей кожи и мягких тканей Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: ks-titov@mail.ru

**Ротин Даниил Леонидович** – д.м.н., заведующий патологоанатомическим отделением Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: d.rotin@mknc.ru

#### CONTACT INFORMATION

**Titov Konstantin Sergeevich** – MD, RhD, DSc, head of the Oncosurgery Department tumors of skin and soft fabrics in Moscow Clinical Research Centr, assistant professor of the Department of Oncology and Radiation Therapy Russian National Medical University, e-mail: ks-titov@mail.ru

**Rotin Daniil Leonidovich** – MD, RhD, DSc, head of the Patomorphologic Department in Moscow Clinical Research Centr, e-mail: d.rotin@mknc.ru

**Казakov Алексей Михайлович** – студент 4 курса лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н. И. Пирогова Минздрава РФ, e-mail: hordavii@yandex.ru

**Щербакoва Елена Александровна** – врач-терапевт гериатрического отделения Московского клинического научного центра Департамента здравоохранения г. Москвы, e-mail: vitalik.70@inbox.ru

**Kazakov Aleksey Michaylovich** – student of the Russian National Medical University, e-mail: hordavii@yandex.ru

**Sherbakova Elena Aleksandrovna** – doctor of the Geriatric Department in Moscow Clinical Research Centr, e-mail: vitalik.70@inbox.ru

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время заболеваемость злокачественными новообразованиями кожи в мире и в России продолжает увеличиваться. В год в мире регистрируется около 14,1 млн новых случаев заболевания раком, а умирает – около 8,2 млн человек [1]. По данным ВОЗ в мире к 2025 году заболеваемость меланомой кожи может увеличиться на 25%. Столь негативный прогноз связан со старением населения, большим количеством в России лиц со светлым фототипом кожи, увеличением числа поездок в страны с повышенной инсоляционной нагрузкой и неблагоприятной экологической обстановкой. Распространенность злокачественных опухолей кожи делает актуальной проблему поиска современных методов их диагностики и лечения, что невозможно без глубокого и точного понимания их патогенеза.

Мы приводим современные литературные данные по некоторым закономерностям прогрессии злокачественных опухолей кожи (базальноклеточный рак, плоскоклеточный рак и меланома).

Существует множество механизмов, так или иначе влияющих на инвазию и метастазирование, а также – клеточных рецепторов, опосредующих работу данных механизмов. Одними из таких рецепторов являются интегрины.

## ИНТЕГРИНЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ

Интегрины представляют собой поверхностные гетеродимерные белки, которые обеспечивают адгезию клеток к компонентам внеклеточного матрикса и иногда к другим клеткам. Многие интегрины проявляют сродство к гликопротеидам и базальной мембране, и внеклеточного матрикса. Избыток интегринов при меланоме и раке кожи сопряжены с высокой степенью злокачественности опухоли. Связывание интегринов с лигандами и сближение клеток необходимы для перестройки их базальной

мембраны. Взаимодействие интегринов с белками внеклеточного матрикса в некоторых случаях препятствует апоптозу. Нейтрализация этого интегрин антителами, напротив, способствует апоптозу. Информация, которую интегрины передают от внеклеточного матрикса внутрь клетки, в одних случаях стимулирует адгезию и миграцию опухолевых клеток, в других – приводит к их гибели. Иными словами, интегрины играют роль своеобразного «переключателя», определяющего дальнейшую судьбу опухолевой клетки [2, 3, 4].

Изменение адгезивных свойств – основополагающий фактор, влияющий на клеточную миграцию и процесс метастазирования. В норме клетки прикреплены к базальной мембране при помощи мультибелковых структур – полудесмосом. При миграции и инвазии опухолевых клеток происходит разборка данных структур, в результате чего значительно увеличивается их подвижность и инвазивность. «Разборка» полудесмосом инициирует фосфорилирование интегрин β4. Киназы, фосфорилирующие β4, изучены намного лучше, чем фосфатазы, ответственные за обратный процесс [2].

Недавние исследования показали, что существует фермент серин-треониновая протеин-фосфатаза (кальциейрин), регулирующий дефосфорилирование β4 интегрин. Его роль в дефосфорилировании β4 была подтверждена опытным путем [3].

Серия работ из США (Germain E., 2008; и соавт. 2012) выявила увеличение фосфорилирования интегрин β4 при ингибировании кальциейрина. Этот процесс индуцирует «разборку» полудесмосом, усиливая миграцию опухолевых клеток, доказывая участие интегрин β4 в процессе метастазирования клеток рака кожи. Участие интегрин β4 в этом процессе имеет клиническое подтверждение полученных ранее лабораторных данных [3, 4].

Другим агентом, индуцирующим фосфорилирование интегрин β4, по данным BIDMC/Harvard Medical School, является эпидермальный фактор роста (EGF). Установлено, что воздействие EGF на нормальные клетки приводит к активации фосфорилирования интегрин β4 и индуци-

рует «разборку» их полудесмосом [4]. Подобные процессы происходят и в клетках базально-клеточного рака, но без воздействия на них EGF [5]. Воздействие ингибиторов EGF на опухолевые клетки ведет к уменьшению фосфорилирования интегрина  $\beta 4$  и темпов миграции и инвазии клеток. В процессе опухолевой трансформации активируются сигнальные пути, направленные на усиление экспрессии EGF клетками рака кожи, что приводит к фосфорилированию интегрина  $\beta 4$ , активирующего механизмы, необходимые для метастазирования опухоли [4, 5]. Ингибирование апоптоза опухолевыми клетками – ещё один фактор, существенно влияющий на процесс метастазирования. Эпителиальные клетки, потерявшие способность связываться с базальной мембраной в норме, подвергаются апоптозу. Инициатором сигналов о контакте с базальной мембраной служат интегрины, являясь структурным компонентом фокальных контактов между плазматической мембраной клетки и базальной мембраной. Компоненты фокальных контактов регулируют активность специфических фокальных адгезионных киназ (FAK). FAK – опосредованная передача сигналов – необходима для контроля за адгезией клеток. Нарушение функции FAK выключает механизм апоптоза с участием каспазы-8 [11]. Опухолевые клетки могут изменять спектр синтезируемых интегринов, нарушая механизм работы FAK и тем самым предотвращая апоптоз даже при потере контакта с базальной мембраной. Ещё одной запрограммированной формой гибели клетки является апоиксис (от греч. блуждать), гибель клетки при потере контакта с окружающим внеклеточным матриксом. Изменение и блокирование данного механизма ассоциируется с развитием метастазирования [12].

## ВЛИЯНИЕ ИНТЕГРИНОВ НА ПРОГРЕССИЮ ОПУХОЛЕЙ КОЖИ

Разный потенциал метастазирования злокачественных опухолей кожи возможно также объяснить и различием количества и качества интегринов данных заболеваний. Множество проведенных исследований по изучению закономерностей роста и прогрессии опухолей кожи показали, что чем выше содержание интегринов в опухоли, тем выше скорость ее инвазии и более выраженный ангиогенез [1–20]. Суть этих исследований заключалась в сравнении количества интегринов на разных клонах одной и той же опухоли, с определением скорости роста, инвазии и метастазирования каждого из клонов с последующим сравнением их между собой. Результаты всех исследований были схожими: клоны, имевшие самый быстрый и злокачественный рост, показывали наибольшую экспрессию интегринов по сравнению с менее агрессивными вариантами тех же опухолей [1–20].

Сравнивая метастазирование меланомы, ПКР и БКР, можно сделать предположение, что увеличение процента метастазирования этих опухолей коррелирует с соответствующим увеличением экспрессии данными опухолями как одних и тех же интегринов, так и интегринов в силу различного клеточного состава, свойственных каждой из этих опухолей.

Данная гипотеза требует дальнейших исследований и разработки.

На данный момент интегрины изучаются не только с целью определения потенциала инвазивного роста и метастазирования опухоли, но и с целью дальнейшей разработки направленной на них таргетной терапии.

В настоящее время разрабатывается метод генной терапии меланомы, заключающийся в использовании плазмиды АМЕР (antiangiogenic metargidin peptide), направленной на ингибирование экспрессии опухолевыми клетками интегринов  $\alpha 5\beta 1$  и  $\alpha v\beta 3$ . В эксперименте противоопухолевый эффект данной плазмиды был представлен уменьшением пролиферации, миграции, инвазии и метастатического потенциала клеток меланомы, что показывает перспективность данного направления и ещё раз доказывает влияние интегринов на прогрессию злокачественных опухолей [20].

## БАЗАЛИОМА КОЖИ

Интегрины также играют важную роль и в развитии базально-клеточного рака (БКР). Показано, что уровень экспрессии интегрина  $\alpha 5\beta 6$  отличается в различных морфологических типах БКР. При узловой форме роста с медленным неинвазивным ростом уровень экспрессии данного интегрина значительно ниже по сравнению с инфильтративной формой БКР, где экспрессия интегрина  $\alpha 5\beta 6$  стабильно выше. Предполагаемый механизм влияния интегрина  $\alpha 5\beta 6$  на рост опухоли заключается в  $\alpha 5\beta 6$ -зависимой активации фактора роста beta1, отвечающего за трансформацию фибробластов в миофибробласты, секретирующие фактор роста, стимулирующий инвазию и метастазирование опухолевых клеток [8].

Опухолевый ангиогенез – развитие сети кровеносных сосудов в опухоли. Данный процесс является одним из ключевых факторов, влияющих на рост и инвазию опухоли, а следовательно, и на процесс метастазирования. Механизм ангиогенеза, отвечающий за проникновение эндотелиальных клеток через базальную мембрану стенки сосуда с последующим формированием сосудистой сети, на данный момент до конца не изучен. Имеются данные о том, что важную роль в данном процессе играет фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). VEGF стимулирует образование эндотелиальными клетками структур, назы-

ваемых «podosome rosette», путем повышения экспрессии и изменения регуляции интегрина  $\alpha\beta 1$ . «Podosome rosette» дезорганизуют базальную мембрану, стимулируя ангиогенез [9].

## ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК КОЖИ

При определении экспрессии интегрин  $\beta 1$  клетками плоскоклеточного рака кожи выяснилось, что уровень жизнеспособности клеток и дальнейшего прогрессирования данной опухоли, как и меланомы, зависит от увеличения количества экспрессированного интегрин  $\beta 1$  [17].

Другой группой ученых проведено схожее исследование, в результате которого установлена корреляция между увеличением экспрессии интегрин  $\beta 1$  и повышением плотности (MVD) в тканях плоскоклеточного рака гортани. Экспрессия интегрин  $\beta 1$  в клетках ПКР была на 78% выше, чем на клетках здорового эпителия гортани, выше оно было и в метастазах в регионарных лимфатических узлах. Причем по мере прогрессии ПКР наблюдалось увеличение  $\beta 1$  и MVD от ранних стадий опухолевого процесса к поздним [18, 19].

## МЕЛАНОМА КОЖИ

В ходе исследований установлена способность клеток меланомы формировать функциональные каналы, проникать в межклеточный матрикс и прикрепляться к стенке сосуда, что коррелирует с увеличением экспрессии NRP-1 [6]. Культуры клеток меланомы с высоким уровнем экспрессии NRP-1 имеют более чем двукратный уровень экспрессии интегрин  $\alpha\beta 5$ . При использовании ингибиторов интегрин  $\alpha\beta 5$  уменьшается инвазия опухоли, образование функциональных сосудистоподобных каналов и секреция VEGF-A, что значительно уменьшает злокачественный потенциал клеток меланомы и демонстрирует участие интегрин  $\alpha\beta 5$  в формировании

высокоагрессивного фенотипа опухоли с экспрессией NRP-1 [3, 7]. Показано участие интегрин  $\alpha\beta 3$  в ангиогенезе при меланоме кожи, а также доказано его участие в супрессии инсулиноподобного фактора роста – связывающего белка (IGFBP-4), важного регулятора инсулиноподобного фактора роста – 1 (IGF1). Ингибирование интегрин  $\alpha\beta 3$  приводит к уменьшению концентрации IGF-1 в тканях опухоли и, далее, к замедлению ангиогенеза в меланоме [10].

Проведенные экспериментальные исследования показывают зависимость между увеличением экспрессии интегрин  $\beta 1$  и сопротивляемостью апоптозу клетками меланомы человека. Чем выше содержание интегрин  $\beta 1$ , тем более жизнеспособна культура клеток меланомы, тем выше её метастатический потенциал [13, 14]. Метастазы могут развиваться в различных органах – таких как печень, легкие, головной мозг, реже – надпочечники и кости. Особенностью отдаленных метастазов меланомы является их множественность, что существенно ухудшает прогноз заболевания [15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, интегрины играют важную роль в процессе инвазии и метастазирования БКР, ПКР и меланомы кожи, тем самым увеличивая злокачественный потенциал и показывая важность и перспективность исследования данной проблемы. Ведущиеся исследования по определению роли интегринов в процессе метастазирования злокачественных опухолей кожи имеют большие перспективы в создании новых методов прогнозирования течения болезни, определения степени злокачественности и вероятности метастазирования. Дальнейшее изучение интегринов позволит использовать их не только как маркёров злокачественного потенциала опухоли, но и как мишеней таргетной терапии.

## ЛИТЕРАТУРА • REFERENCES

1. Torre L. A., Bray F., Siegel R. L., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* –2015.– Mar; 65(2)ю- p. 87–108.
2. Frijns E., Kuikman I., Litjens S., Raspe M., Jalink K., Ports M., Wilhelmsen K., Sonnenberg A. Phosphorylation of threonine 1736 in the C-terminal tail of integrin  $\beta 4$  contributes to hemidesmosomedisassembly. *Mol Biol Cell.* – 2012. – Apr; 23(8). P. 1475–1485.
3. Kashyap T., Rabinovitz I. The calcium/calciueirin pathway promotes hemidesmosome stability through inhibition of  $\beta 4$  integrin phosphorylation. *J Biol Chem.*2012 Sep 21; 287(39): 32440–9. Epub. 2012. Aug.
4. Germain E. C., Santos T. M., Rabinovitz I. Phosphorylation of a novel site on the {beta} 4 integrin at the trailing edge of migrating cells promotes hemidesmosome disassembly. *Mol Biol Cell.* 2009 Jan;

- 20 (1):56–67. doi: 10.1091/mbc.E08–06–0646. Epub 2008 Nov 12.
5. Kashyap T., Germain E., Roche M., Lyle S. Rabinovitz I. Role of  $\beta 4$  integrin phosphorylation in human invasive squamous cell carcinoma: regulation of hemidesmosome stability modulates cell migration. *Lab Invest.* 2011 Oct;91(10):1414–26.
6. Ruffini F., D'Atri S., Lecal P. M. Neuropilin-1 expression promotes invasiveness of melanoma cells through vascular endothelial growth factor receptor-2-dependent and -independent mechanisms.. *Int J Oncol.* 2013 Jul; 43(1):297–306.
7. Ruffini F., Graziani G., Levati L., Tentori L., D'Atri S., Lecal P. M. Cilengitide downmodulates invasiveness and vasculogenic mimicry of neuropilin 1 expressing melanoma cells through the inhibition of  $\alpha v \beta 5$  integrin. *Int J Cancer.* 2015 Mar 15; 136(6): E545–58. 2014 Nov 28.
8. Marshd F., Dickinson S., Neill G. W., Marshall J. F., Hart I. R., Thomas G. J. Alpha v beta 6 Integrin promotes the invasion of morphoeic basal cell carcinoma through stromal modulation. *Cancer Rez* 2008 May 1;68(9):3295–303.
9. Warren C. M., Iruela-Arispe M. L. Podosome rosettes precede vascular sprouts in tumour angiogenesis. *Nat Gell Biol.* 2014 Oct; 16(10): 928–30.
10. Contois L. W., Akalu A., Caron J. M., Tweedie E., Cretu A., Henderson T., Liaw L., Friesel R. Inhibition of tumor-associated  $\alpha v \beta 3$  integrin regulates the angiogenic switch by enhancing expression of IGFBP-4 leading to reduced melanoma growth and angiogenesis in vivo. *Angiogenesis.* 2015 Jan; 18(1):31–46.
11. Bouchard V.1., Demers MJ, Thibodeau S, Laquerre V, Fujita N, Tsuruo T, Beaulieu JF, Gauthier R, Vézina A, Villeneuve L, Vachon PH. Fak/Src signaling in human intestinal epithelial cell survival and anoikis: differentiation state-specific uncoupling with the PI3-K/Akt-1 and MEK/Erk pathways. *J Cell Physiol.* 2007 Sep;212(3):717–28.
12. Demers M. J., Thibodeau S., Noël D., Fujita N., Tsuruo T., Gauthier R., Arguin M., Vachon P. H. Intestinal epithelial cancer cell anoikis resistance: EGFR-mediated sustained activation of Src overrides Fak-dependent signaling to MEK/Erk and/or PI3-K/Akt-1. *Cell Biochem.* 2009 Jul 1;107(4):639–54.
13. Toricelli M., Melo H. F., Peres G. B., Silva D. C., Jasiulionis M. G. Timp1 interacts with beta-1 integrin and CD63 along melanoma genesis and confers anoikis resistance by activating PI3-K signaling pathway independently of Akt phosphorylation. *Mol Cancer* 2013 Mar 25; 12:22. doi: 10.1186/1476–4598–12–22.
14. Beauséjour M., Noël D., Thibodeau S., Bouchard V., Harnois C., Beaulieu J. F., Demers M. J., Vachon P. H. Integrin/ Fak/Src-mediated regulation of cell survival and anoikis in human intestinal epithelial crypt cells: selective engagement and roles of PI3-K isoform complexes. *Apoptosis.* 2012 Jun; 17(6):566–78.
15. Overett TK, Shiu MH. Surgical treatment of distant metastatic melanoma. *Cancer* 565:1222, 1985. Mar.15 (3): 746–22.
16. Silberstein E., Sofrin E., Bogdanov-Berezovsky A., Nash M., Segal N. Lymph Node Metastasis in Cutaneous Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Dermatol Surg.* 2015 Oct; 41(10): 1126–9.
17. Vay C., Hosch S. B., Stoecklein N. H., Klein C. A., Vallböhmer D. Link B. C., Yekebas E. F., Knoefel W. T., Cheunemann P. Integrin expression in esophageal squamous cell carcinoma: loss of the physiological integrin expression pattern correlates with disease progression. *PLoS One.* 2014 Nov 14;9 (11).
18. Hong Y. M., Gan W. G., Xu Z. H. Significance of the expression of integrin  $\beta 1$ , VEGF and MVD in hypopharyngeal squamous cell carcinoma. *Genet Mol Rez* 2014 Aug 25; 13(3):6455–65.
19. Zhan P., Liu L., Liu B., Mao X. G. Expression of integrin  $\beta 1$  and its significance in squamous cell carcinoma of the cervix. *Mol Med Rep.* 2014 Jun; 9(6):2473–8.
20. Bosnjak M. Dolinsek T., Cemazar M., Kranjc S., Blagus T., Markelc B., Stimac M. Završnik J. Gene electrotransfer of plasmid AMEP, an integrin-targeted therapy, has antitumor and antiangiogenic action in murine B16 melanoma. *Gene Ther.* 2015 Jul; 22(7): 578–90.