

УДК 576.32/.36:616-006.6-018

# Инвазия опухолевых эпителиальных клеток: механизмы и проявления

Н. В. Крахмаль<sup>1</sup>, М. В. Завьялова<sup>1,2,3</sup>, Е. В. Денисов<sup>2,3\*</sup>, С. В. Вторушин<sup>1,2</sup>, В. М. Перельмутер<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050, Томск, Московский тракт, 2<sup>2</sup>Томский научно-исследовательский институт онкологии, 634050, Томск, Кооперативный пер., 5<sup>3</sup>Национальный исследовательский Томский государственный университет, 634050, Томск, просп. Ленина, 36

\*E-mail: d\_evgeniy@oncology.tomsk.ru

Поступила в редакцию 20.09.2014

После доработки 27.02.2015

**РЕФЕРАТ** Изучение инвазивных свойств опухолевой ткани, способности злокачественно измененных клеток к направленному движению и формированию вторичных метастатических очагов в отдаленных органах и тканях остается актуальным на протяжении многих лет. Многочисленные исследования подтверждают существование в рамках инвазивного роста двух основных моделей клеточной миграции, посредством которых опухолевые клетки преодолевают структурные барьеры и распространяются в окружающие ткани. Среди них выделяют коллективную (групповую) и индивидуальную миграции. Каждому варианту клеточного движения свойственны определенные морфологические характеристики, а также биохимические и молекулярно-генетические особенности тех механизмов, которые лежат в их основе. В пределах каждого варианта клеточного движения обнаружены опухолевые клетки, осуществляющие миграцию двумя различными способами – мезенхимальным (фибробластоподобным) и амебоидным. В представленном обзоре рассмотрены ключевые параметры, определяющие различия между разновидностями инвазивного роста, описана роль эпителиально-мезенхимального, коллективно-амебоидного, мезенхимально-амебоидного и амебоидно-мезенхимального переходов в процессе инвазии, а также значение различных опухолевых факторов и молекул микроокружения. Рассмотрена взаимосвязь опухолевой инвазии, опухолевой прогрессии и эффективности терапии злокачественных новообразований. Представлены убедительные доказательства того, что проявления инвазии характеризуются большим разнообразием тканевых структур. Приведены полученные нами результаты изучения особенностей течения рака молочной железы в зависимости от внутриопухолевой морфологической гетерогенности новообразования, представляющей, вероятно, частное проявление разнообразия инвазивного роста опухоли и обусловленной специфической активностью молекул межклеточной адгезии в опухолевых клетках различных морфологических структур.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** инвазия, индивидуальная миграция, клеточная миграция, коллективная миграция, опухоль.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** МЭП – мезенхимально-эпителиальный переход; ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход.

## ИНВАЗИВНЫЙ РОСТ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ В ПРОЯВЛЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ КАРЦИНОМ

Результаты многочисленных экспериментально-клинических исследований злокачественных новообразований позволяют считать инвазивный рост и метастазирование главными проявлениями опухолевой прогрессии, представляющими два тесно связанных процесса.

Злокачественную опухоль характеризует возможность реализации такого биологического феномена, как метастатический каскад – уникальной много-

ступенчатой «программы», в которой клеточная инвазия является пусковым ключом и основополагающим фактором для дальнейшего прогрессирования рака и образования метастазов в отдаленных органах и тканях. Массивное метастатическое поражение приводит к развитию тяжелой органной недостаточности и соответственно к смерти пациента [1–3]. Между «крайними» точками сложного инвазивно-метастатического процесса – инвазией первичной опухоли в окружающие ткани и формированием метастатических фокусов – существует несколько

этапов, прохождение которых строго обязательно для успешного развития и последующей прогрессии опухолевого роста: интравасация, выживание и циркуляция в системном кровотоке, экстравазация с последующей колонизацией органов опухолевыми клетками и формирование определяемого клинически метастаза [1, 4–6]. Рост злокачественной опухоли сопровождается увеличением давления на структуры внеклеточного матрикса, при этом тканевое микроокружение стремится сохранить свою функционально-анатомическую целостность, повышая давление на опухолевые клетки. Среди факторов, ограничивающих рост злокачественного новообразования, выделяют базальную мембрану и различные компоненты окружающей стромы, повышенное интерстициальное давление, ограничение поступления к опухолевым клеткам кислорода и образование его активных форм, возникновение условий гипоксии, постоянное воздействие клеток иммунной системы. Учитывая гетерогенность строения опухоли, в условиях выживания часть опухолевых клеток может подвергаться регрессии и гибели, в то время как другие клетки, сопротивляясь мощным противодействующим факторам микроокружения, приобретают агрессивный фенотип и способность к метастатической прогрессии [7]. Инвазивный рост опухоли становится возможным в результате того, что злокачественно измененные клетки отделяются от опухолевого массива по причине снижения или полной потери молекул межклеточной адгезии и, как следствие, приобретают способность к аномально высокой подвижности, позволяющей преодолевать жесткие структурные элементы окружающей стромы [8]. При этом в процесс инвазии активно включаются различные молекулярные и клеточные механизмы, которые, согласно опубликованным данным, зависят непосредственно от другого биологического феномена – эпителиально-мезенхимальной трансформации, описанной впервые в 1995 году E.D. Nau. Впоследствии для уточнения обратимости данного процесса стали использовать термин «эпителиально-мезенхимальный переход» (ЭМП) [9]. В настоящее время известно, что ЭМП лежит в основе процессов эмбриогенеза, воспаления и регенерации тканей и, несомненно, играет ключевую роль в механизмах канцерогенеза [10, 11].

### **ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОТОТИПЫ ИНВАЗИВНОГО РОСТА**

Известно, что опухолевые клетки, распространяясь в окружающие ткани и отдаленные органы, воспроизводят механизмы и типы миграции, свойственные нормальным, неопухолевым клеткам при протекании физиологических процессов. Клетки опухоли,

как и нормальные клетки, способны активировать эти механизмы для изменения своей формы, создания условий для перемещения, а также ремоделирования окружающих тканей с целью формирования путей, по которым происходит миграция. Главная проблема заключается в том, что опухолевые клетки, в отличие от нормальных, не имеют физиологических «стоп-сигналов» для остановки этих процессов. Вероятнее всего, это и приводит к закреплению механизмов миграции и способствует прогрессированию и распространению опухоли [12–14].

Установлено, что злокачественно измененные клетки для реализации процессов, определяющих инвазивный рост и возможность метастазирования, используют генетически заложенные в организме программы. Так, передвижение одиночных клеток наблюдается в ходе эмбрионального развития, при воспалении, например, при миграции лейкоцитов. Такой же механизм распространения характерен для раковых клеток при прогрессии опухоли и развитии метастазов [13].

Наряду с одиночной миграцией возможна коллективная клеточная миграция, когда мигрируют группы прочно соединенных между собой опухолевых клеток [15, 16]. Такой вариант движения указывает на тканевую перестройку, он лежит в основе процессов, происходящих во время эмбрионального морфогенеза, а также представляет собой неотъемлемый компонент при заживлении раневых поверхностей [17, 18].

Таким образом, ключевым является то, что в процессах инвазивного роста и метастазирования злокачественно измененные опухолевые клетки активно используют механизмы как коллективной, так и одиночной клеточной миграции в качестве физиологических прототипов.

### **ВАРИАНТЫ ИНВАЗИВНОГО РОСТА**

В настоящее время на основании комплекса определенных морфологических и молекулярно-генетических параметров выделяют два принципиально различных вида инвазивного роста: коллективную (групповую) клеточную миграцию и миграцию одиночными клетками (индивидуальная миграция; *рис. 1*) [1, 2, 15, 19, 20]. При этом способ миграции во многом определяется особенностями тканевого микроокружения и зависит от молекулярных изменений в самих опухолевых клетках [21].

Определение механизма инвазии, используемого одиночно мигрирующими клетками в процессе продвижения, представляет собой сложную задачу. К сожалению, исследования, посвященные изучению этого вопроса на молекулярном и морфологическом уровнях, малочисленны и в своем большинстве про-

водятся *in vitro* с использованием специфичных клеточных линий [22].

Однако в настоящее время заметно увеличивается число работ, в которых прослеживается возрастающий интерес к изучению молекулярно-генетических особенностей опухолевых клеток, определяющих основные различия между мезенхимальным и амёбодным вариантами инвазивного роста при индивидуальной миграции, а также при коллективной миграции.

### Коллективная миграция

Коллективная миграция, представляя собой один из вариантов инвазивного роста, характеризуется миграцией целых групп клеток, соединенных между собой посредством молекул адгезии и коммуникационных контактов (рис. 1). Сразу стоит отметить, что этот признак является основной особенностью данного варианта инвазии, поскольку на клеточном уровне механизмы, лежащие в его основе, опираются на те же ключевые процессы, которые во многом определяют такой вариант миграции одиночными клетками, как мезенхимальный [15, 20, 23, 24].

Коллективную клеточную миграцию наблюдали при развитии и прогрессировании рака молочной железы и эндометрия, рака предстательной железы, колоректального рака, крупноклеточного рака легкого, рабдомиосаркомы, меланомы, а также большинства плоскоклеточных карцином [1, 17, 20, 25, 26].

При коллективной миграции клетки злокачественного новообразования, сохраняя связь с опухолевым массивом либо отделяясь от него в виде многоклеточных групп, проникают в окружающие ткани, формируя тонкие короткие тяжи, кластеры, полосы и широкие поля, а также структуры с просветами в центре, указывая тем самым на большое разнообразие структурных элементов, вовлеченных в процесс опухолевой инвазии [1, 2, 15, 20, 27].

Как уже было отмечено, коллективная миграция характеризуется миграцией целых клеточных групп, соединенных между собой с помощью кадгеринов и межклеточных щелевых связей. У движущейся клеточной группы имеется «ведущий край», или «лидирующий фронт», который использует интегрины и протеазы (рис. 1). Исследователи указывают на отчетливые различия в экспрессии генов и морфологии клеток, формирующих ведущий край, и клеток, располагающихся позади них, на «заднем фронте». Первые по своей морфологии зачастую напоминают мезенхимальные клетки и характеризуются менее выраженной упорядоченностью и структурной организацией, в то время как располагающиеся позади лидирующего фронта клетки стремятся к формированию более плотно упакованных розеткоподобных,

тубулярных структур, сохраняя при этом плотные межклеточные контакты [17, 28].

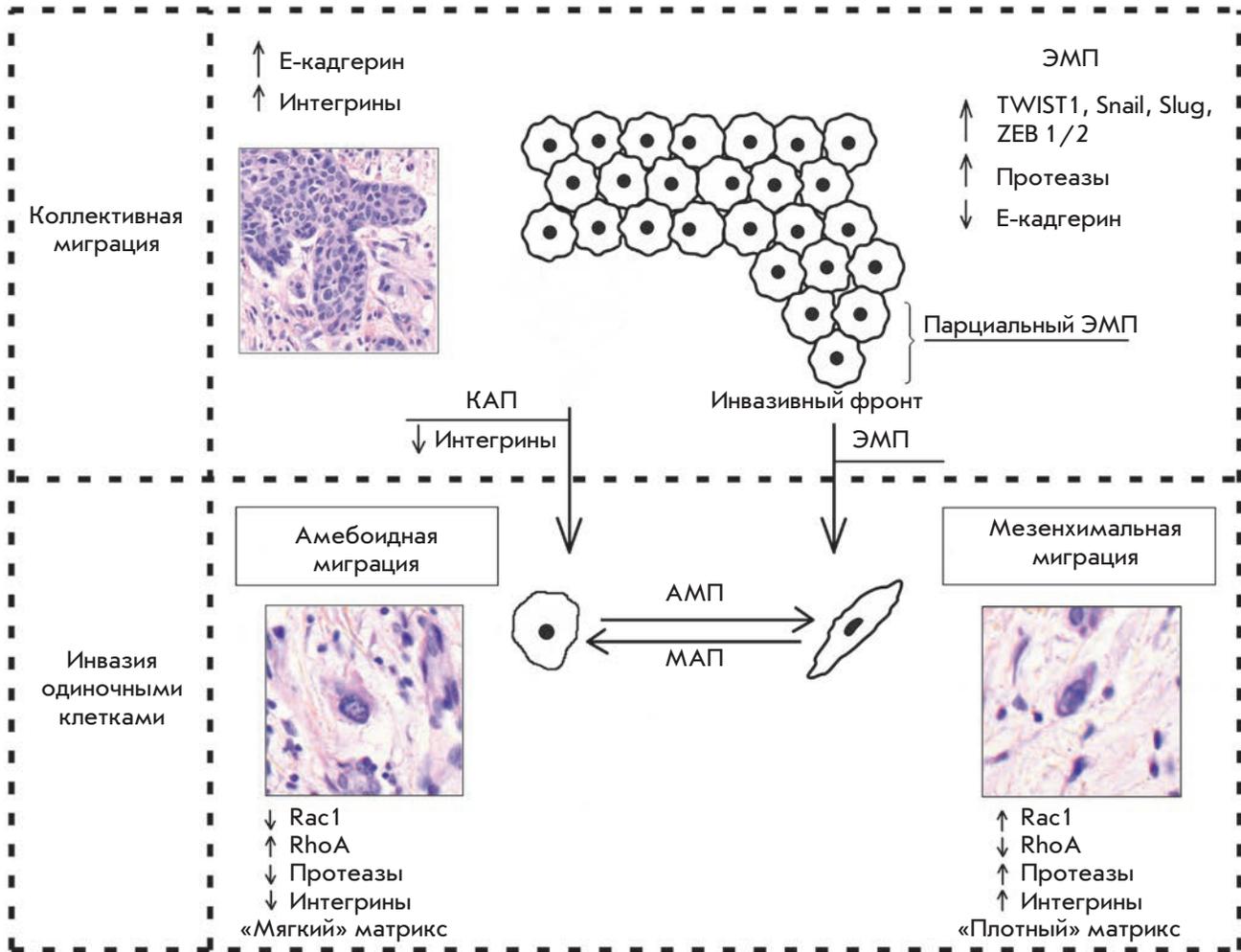
При коллективной миграции опухолевые клетки в области ведущего края формируют выступы – псевдоподии, используют интегрины для образования фокальных контактов с актиновым цитоскелетом, осуществляют протеолитическое разрушение внеклеточного матрикса, создавая в нем пространство для инвазии опухолевой ткани, активно вовлекая в работу актин-миозиновый сократительный аппарат с целью успешной миграции [15, 20].

Различия в полярности у коллективно движущихся групп клеток объясняются особенностями экспрессии поверхностных рецепторов, таких, как рецепторы хемокинов CXCR4 и CXCR7, на клетках ведущего края [29]. Факторы роста и хемокины, вырабатываемые стромальными клетками, посредством градиента диффузии обеспечивают внеклеточную индукцию клеточной поляризации. Обсуждается участие в этих процессах таких хемокинов, как SDF1 (CXCL12), фактор роста фибробластов (FGF) и трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) [17, 30].

Многое известно об участии TGF- $\beta$  в канцерогенезе, причем его роль двояка. Taylor и соавт. [31] обращают внимание на то, что TGF- $\beta$ , действуя в эпителиальных клетках молочной железы как мощный опухолевый супрессор на ранних стадиях развития рака, способен влиять на процесс развития опухоли посредством взаимодействия с онкогенными цитокинами. Повышение экспрессии TGF- $\beta$  связывают с прогрессированием опухолевого процесса, что зачастую отмечают, например, уже на более поздних стадиях при развитии рака молочной железы [32, 33]. Роль TGF- $\beta$  в миграции «эпителий-stroma» во время опухолевой прогрессии изучена недостаточно. Предполагают, что во взаимодействии опухоли и стромы TGF- $\beta$  служит ключевым регулятором, который способствует коллективной клеточной миграции при раке молочной железы [34].

Установлено, что в клетках-лидерах, формирующих ведущий край коллективной миграции, экспрессируется подопланин [2] – трансмембранный гликопротеин, в обычных условиях экспрессирующийся в подоцитах почки, альвеолярных клетках легких типа I, клетках скелетных мышц, плаценте и т.д. Экспрессия подопланина в клетках рака молочной железы индуцирует клеточную миграцию и инвазию с формированием филоподий и одновременным сохранением экспрессии E-кадгерина [2, 35].

Опубликованы данные, указывающие на то, что коллективно мигрирующие раковые клетки могут использовать способность соседних мезенхимальных клеток изменять структуру матрикса и перестраивать его, а затем следовать по их «следам».



**Рис. 1.** Варианты инвазивного роста опухоли. На схеме представлены два варианта инвазии: коллективная (групповая) и индивидуальная миграция. Коллективная миграция характеризуется высокой экспрессией E-кадгерина и интегринов. Показано, что опухолевые клетки могут переходить от коллективной миграции к миграции одиночными клетками посредством двух механизмов: эпителиально-мезенхимального (ЭМП) и коллективно-амебоидного (КАП) переходов. ЭМП происходит в результате активации транскрипционных факторов TWIST1, Snail, Slug, ZEB1/2 и характеризуется высоким уровнем экспрессии протеаз и снижением экспрессии E-кадгерина. В процессе полного ЭМП опухолевые клетки отделяются от опухолевого массива и движутся по мезенхимальному типу миграции. Установлено существование в области инвазивного фронта парциального (или частичного) ЭМП, при котором клетки, сохраняя межклеточные связи, уже приобретают свойства, необходимые для успешной миграции. Такой фенотип назван гибридным «эпителиально-мезенхимальным» фенотипом. Другой вариант перехода от коллективной миграции к миграции одиночными клетками (КАП) возможен при условии снижения функциональной активности интегринов семейства  $\beta 1$ . Опухолевые клетки при этом переходят с группового варианта миграции на движение одиночных клеток по амебоидному принципу. Амебоидная миграция характеризуется снижением экспрессии протеаз и интегринов, а также изменением активности белков семейства малых GTP-аз – повышением уровня RhoA и снижением Rac1. Данный вариант миграции свойствен клеткам при наличии «мягкого» окружающего матрикса. В свою очередь, мезенхимальная миграция имеет противоположные характеристики. Считается, что этот тип миграции доминирует в средах с «плотным» матриксом. Схематично показано, что при изменении активности определенных клеточных молекул существует возможность перехода с одного вида миграции на другой в рамках миграции одиночными клетками, а именно амебоидно-мезенхимальный переход (АМП) и мезенхимально-амебоидный (МАП) [1, 13, 22, 47, 68, 73, 74]

В опытах *in vitro* внесение фибробластов в культуру индуцировало коллективную миграцию клеток опухоли в подлежащий матрикс в виде цепочек. Таким образом, фибробласты служили «проводником» для инвазирующих опухолевых клеток, ремоделируя окружающий внеклеточный матрикс в треки с толстыми коллагеновыми пучками по сторонам и отсутствием матрикса в центре [36, 37].

Определенную роль в развитии коллективной миграции опухолевых клеток играет представитель одного из семейств белковых молекул – LIM-киназа. Известно, что этот белок принимает участие в регуляции образования инвадоподий – структур, характерных для злокачественных опухолевых клеток и ответственных за разрушение окружающего межклеточного матрикса. При раке молочной железы обнаруживается чрезмерная активация LIM-киназы. Клетки опухоли молочной железы, в которых подавлена экспрессия гена LIM-киназы, теряют способность к инвазии в результате потери способности разрушать внеклеточный матрикс [38, 39].

#### **Инвазия одиночными клетками, или индивидуальная клеточная миграция**

Такой вариант инвазивного роста, как инвазия одиночными клетками, выделяют на основании обнаружения при морфологическом исследовании отдельных опухолевых клеток, проникающих в окружающие их ткани независимо друг от друга [2]. При подобном типе опухолевой инвазии миграция одиночных клеток может происходить посредством двух различных вариантов: мезенхимального и амeboидного [1, 2, 15, 22]. Стоит отметить, что ряд исследователей указывают на возможность «переключения» в рамках инвазии одиночными клетками с одного типа миграции на другой (с мезенхимального на амeboидный и наоборот, *рис. 1*). Такие переходы обычно возникают при изменении активности определенных клеточных молекул в условиях, когда опухолевым клеткам приходится адаптироваться к особенностям тканевого микроокружения [22, 40].

#### **Мезенхимальная (фибробластоподобная) клеточная миграция**

Мезенхимальные механизмы инвазивного клеточного роста, в противоположность амeboидному варианту движения, характеризуются протеканием более сложных процессов и потребностью в большом количестве клеточных молекул, принимающих участие в его реализации (*рис. 1*).

Этот вариант миграции свойствен кератиноцитам в условиях репаративной регенерации и эндотелиоцитам, клеткам гладкомышечной ткани и фибробластам. В связи с тем, что злокачественные клетки, исполь-

зующие мезенхимальный вариант движения, теряют эпителиальную полярность и приобретают вытянутую веретеновидную форму, напоминая по внешнему строению фибробласты, этот тип инвазии называют также «фибробластоподобным» [1, 2, 22, 23, 41]. Мезенхимальная инвазия обнаружена при развитии меланомы, фибросаркомы, глиобластомы и других злокачественных новообразований [1, 42–44].

Известно, что большая часть раковых клеток, отделившихся от опухолевого массива и распространяющихся в окружающие ткани, претерпевает определенные изменения, приобретая морфологический фенотип и свойства, характерные для мезенхимальных клеток [2, 15]. Подобная трансформация злокачественно измененной эпителиальной клетки с появлением у нее новых молекулярных и морфологических признаков получила название «эпителиально-мезенхимальный переход». Как уже упоминалось, этот биологический феномен впервые был описан E.D. Nau в 1995 году [9]. В настоящее время на существование данного феномена указывают результаты большого количества работ, в которых изучали механизмы инвазии и метастазирования злокачественных опухолей [1, 2, 15, 45]. Полагают, что мезенхимальный механизм инвазии является следствием ЭМП, при котором активно происходит дедифференцировка злокачественной эпителиальной опухоли, и многоклеточные группы начинают разъединяться до одиночных опухолевых клеток, приобретающих мезенхимальный фенотип [13].

Ряд исследователей подчеркивают, что опухолевые клетки при мезенхимальном варианте движения проходят через ряд определенных последовательных шагов, представляющих собой пятиступенчатую модель миграции. Этот цикл включает следующие изменения: 1) формирование на одном из полюсов клетки протрузионного выступа – ламеллиподии или филоподии за счет сокращений актинового цитоскелета под контролем малых GTP-аз Rac1 и Cdc42 с быстрым привлечением интегринов семейства  $\beta 1$ ; 2) возникновение в области контакта клетки и внеклеточного матрикса фокальной адгезии с участием интегринов  $\beta 1$  и  $\beta 3$ ; 3) сборку фокальных контактов, основанную на интегрин-опосредованных взаимодействиях и активацию протеолитических ферментов (матриксных металлопротеиназ, сериновых и триониновых протеаз, катепсинов) на границе «клетка–матрикс», приводящую к разрушению и ремоделированию окружающего внеклеточного матрикса; 4) изменение поляризации актинового цитоскелета под опосредованным миозином II контролем, возникновение сокращений тела клетки и 5) «подтягивание» заднего края клетки в направлении движения по вновь образовавшимся дефектам в структуре ма-

трикса [1, 13, 22]. Поскольку клетки, использующие фибробластоподобный механизм инвазии, выполняют рассмотренные шаги миграции, скорость их движения невелика и составляет около 0.1–2 мкм/мин [1, 22, 40].

Возможность протеолиза и ремоделирования тканевых структур объясняет тот факт, что мезенхимальное перемещение опухолевой клетки сопровождается незначительным в сравнении с амебоидным вариантом миграции изменением клеточной формы и минимально выраженной деформацией ядра [46]. Определенный интерес вызывают результаты работ, указывающие на то, что поведение опухолевых клеток во время индивидуальной миграции зависит от жесткости окружающего их матрикса. Так, мезенхимальная, или же протеолитическая модель миграции доминирует в условиях «жесткого» («плотного») окружающего матрикса. Высокая эффективность перемещения одиночных клеток, использующих мезенхимальный механизм, в плотных тканях объясняется протеолизом, обусловленным секрецией различных протеаз, и способностью к образованию фокальных контактов с элементами стромы [47, 48].

Таким образом, стоит отметить, что основными ключевыми моментами фибробластоподобного механизма инвазивного роста являются высокие силы сцепления на обоих полюсах клетки, а также между клетками и компонентами внеклеточного матрикса, выраженная экспрессия интегринов (семейства  $\beta 1$  и  $\beta 3$ ), протеолиз с разрушением и последующим ремоделированием тканей с образованием дефектов в структуре матрикса и движение по ним одиночных клеток или цепочек клеток. Деформация клеточного ядра выражена минимально, наблюдается медленная скорость миграции клеток.

С использованием подавления экспрессии соответствующих генов с помощью малых интерферирующих РНК показано, что характерной особенностью мезенхимального варианта инвазии является специфическая активность GTP-азы Rac1 и Cdc42. Подавление GTP-азы Rac1 посредством сигнальной активации GTP-азы RhoA и ее эффектора киназы ROCK ведет к блокированию мезенхимальной миграции опухолевых клеток [49–52].

### **Амебоидная клеточная миграция**

Амебоидный механизм инвазивного роста – наиболее примитивный и одновременно наиболее эффективный способ миграции одиночных опухолевых клеток, по совокупности своих черт сходен с поведением и передвижением такого одноклеточного организма, как амеба *Dictyostelium discoideum* [40, 53].

Использование в клинических испытаниях антигенов, блокирующих интегрины, или ингибиторов

протеаз приводит к появлению опухолевых клеток с амебоидным вариантом миграции [1]. Аналогичные результаты получены при изучении злокачественных опухолей в условиях *in vivo*. Выявлена взаимосвязь между применением в терапии злокачественных опухолей лекарственных средств на основе ингибиторов матриксных металлопротеиназ и прогрессированием опухолевого процесса. Объяснить эту взаимосвязь стало возможным, только обнаружив опухолевые клетки, способные к амебоидной миграции [54]. Эти данные, вероятнее всего, могут свидетельствовать о том, что в условиях снижения или полной потери способности к распространению в окружающие ткани с использованием основных молекул, осуществляющих адгезию и разрушение внеклеточного матрикса, опухолевые клетки переходят на амебоидный механизм инвазии, который становится единственным и самым эффективным способом миграции.

Этот вариант движения описан у циркулирующих стволовых клеток, лейкоцитов и некоторых типов опухолевых клеток [2, 14]. По данным Zijl и соавт. амебоидный тип инвазивного роста наблюдается при раке молочной железы, лимфомах, мелкоклеточном раке легкого и раке предстательной железы, а также при меланоме [1, 42, 55].

Показано, что злокачественные опухолевые клетки при амебоидном варианте миграции имеют округлую или же эллипсоидную форму (рис. 1) [1, 22, 23, 40]. При амебоидном механизме инвазии для клеток характерны быстрая деформируемость, адаптация формы к уже сформированным структурам окружающего внеклеточного матрикса и проникновение по ним через узкие пространства в сжатом состоянии. Движение и перемещение осуществляются посредством сменяющих друг друга с высокой скоростью циклов расширений и сокращений тела клетки с возникновением «пузыреподобных» выпячиваний (выступов) клеточной мембраны [22, 56–58]. Эти выступы позволяют исследовать микроокружение для поиска наиболее приемлемого маршрута движения в обход различного рода препятствий, вследствие чего опухолевые клетки способны распространяться сквозь очень узкие щелевидные пустоты во внеклеточном матриксе [1, 2, 15, 22]. Возникающие при этом изменения клеточной формы генерируются кортикальным актиновым цитоскелетом, контроль над которым, в свою очередь, осуществляет малая GTP-аза RhoA и ее эффектор – киназа ROCK [1, 2, 15, 59]. Эта GTP-аза входит в суперсемейство малых GTP-гидролаз, члены которого занимают ключевые позиции при амебоидном варианте инвазии, поскольку участвуют в передаче сигналов и тем самым в регуляции самых

разнообразных процессов, происходящих в клетке, в том числе в реорганизации актинового цитоскелета в ходе миграции [51, 60, 61].

Стоит отметить, что при амебоидном механизме инвазии в процессе миграции изменяется форма не только клетки, но и клеточного ядра, его ориентации и внутреннего расположения относительно других органелл. Ядро, самый крупный и более жесткий, чем окружающий цитоскелет органоид, механически прочно стабилизировано за счет развитой сети структурных белков и, вероятнее всего, по этой причине его форма зачастую не претерпевает значительных изменений. Однако именно амебоидный вариант миграции характеризуется наиболее выраженной ядерной деформацией, поскольку отсутствует протеолитическая деградация окружающего матрикса. В связи с тем, что опухолевыми клеткам приходится перемещаться через минимально узкие, щелевидные пространства и поры, ядро также будет при этом находиться в максимально сжатом состоянии [46, 62, 63]. Предполагают, что подобно лейкоцитам, перемещающимся амебоидно, ядра внутри одиночно мигрирующих злокачественных опухолевых клеток движутся вперед по направлению к лидирующему краю [46].

В противоположность мезенхимальному механизму движения одиночных опухолевых клеток амебоидная миграция, или же непротеолитическая модель перемещения, превалирует, когда окружающий матрикс характеризуется относительно низкой жесткостью – «мягкий» матрикс. Например, амебоидную миграцию опухолевых клеток в лимфатической и кровеносной системах рассматривают как распространение в матриксе с низкой плотностью [47, 48].

На примере двух различных опухолевых линий – МТС и МТLн3 – Condeelis и Segall [64] в условиях *in vitro* выявили некоторые особенности клеточной миграции. Клетки МТLн3, обладающие высоким метастатическим потенциалом и осуществляющие миграцию, по-видимому, при помощи амебоидного механизма инвазивного роста, отличаются более высоким уровнем экспрессии рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR), чем клетки линии МТС, имеющие низкий метастатический потенциал. Их миграция ассоциирована с наличием в окружающем матриксе кровеносных сосудов и коллагенсодержащих волокон. Полагают, что хемотаксис опухолевых клеток в направлении кровеносных сосудов опосредуется сигнальными путями EGFR [64].

Амебоидный механизм инвазии имеет ряд отличительных особенностей, он характеризуется слабым взаимодействием между клетками и окружающим матриксом, а также полным отсутствием либо наличием слабых фокальных контактов. Отмечается

возможность сохранения быстрой и нефокальной сборки рецепторов в местах контактов клетки с внеклеточным субстратом. В данном варианте инвазивного роста интегрины не играют существенной роли. Важным является отсутствие протеолиза в участках взаимодействия клеток с матриксом, не регистрируется и экспрессия протеолитических ферментов, разрушающих внеклеточный матрикс [1, 2, 15, 62, 65]. Исследования *in vitro* показали, что при амебоидном варианте инвазивного роста, вероятнее всего, именно за счет этих свойств опухолевые клетки способны передвигаться в культурах с наибольшей скоростью (20 мкм/мин) [1, 20, 21].

### **Амебоидно-мезенхимальный и мезенхимально-амебоидный переходы**

Нами уже было отмечено существование в процессе инвазивного роста определенной пластичности и возможности «переключения» в рамках индивидуальной клеточной инвазии с одного типа миграции на другой (с мезенхимального на амебоидный и наоборот). Данные события, по всей видимости, обусловлены возникновением изменений в активности определенных клеточных молекул и необходимостью адаптироваться к условиям тканевого микроокружения (рис. 1).

Эти изменения описывают как амебоидно-мезенхимальный и мезенхимально-амебоидный переходы [2, 22]. Опухолевые клетки, использующие мезенхимальный вариант миграции, могут определенным образом изменяться и переходить на амебоидный тип движения в условиях, когда ослабевают сигнальные и механические пути, принимающие непосредственное участие в стабилизации взаимодействий между структурами внеклеточного матрикса и злокачественно измененными клетками [22, 40, 47, 66]. Однако имеющиеся данные получены преимущественно экспериментальным путем. Описываются следующие механизмы, которые ведут к переходу клеток с мезенхимального на амебоидный вариант инвазивного роста (мезенхимально-амебоидный переход): 1) снижение или полная отмена околоклеточного протеолиза в результате применения ингибиторов протеаз; 2) снижение активности интегриновых рецепторов и их взаимодействий с элементами окружающей стромы при помощи их антагонистов; 3) повышение и стабилизация активности малой GTP-азы RhoA и ее эффектора ROCK [16, 40]. В работе группы исследователей во главе с S. Berton представлен интересный факт, указывающий на то, что белок p27, несмотря на большое разнообразие функций, играет важную роль в процессах контроля клеточной подвижности. В частности, в условиях *in vitro* отсутствие данного белка индуцирует разви-

тие мезенхимально-амебоидного перехода в клетках 3D-матрикса [66].

Некоторые авторы, изучающие механизмы инвазивного роста в рамках индивидуальной клеточной миграции, указывают на возможность амебоидно-мезенхимального перехода – процесса, обратного мезенхимально-амебоидному переходу. Обсуждается гипотеза, согласно которой механизм амебоидно-мезенхимального перехода имеет, вероятнее всего, те же молекулярные основы, и достоверно единственным процессом, определяющим возможность описываемой трансформации, является нарушение равновесия в активности представителей семейства малых GTP-аз и преобладание активности Rac над RhoA. Стоит отметить, что механизмы, в результате которых могли бы происходить описываемые изменения, остаются не ясными [47].

### КОЛЛЕКТИВНО-ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ПЕРЕХОДЫ

В пределах одной опухоли опухолевые клетки могут одновременно двигаться как коллективно, так и индивидуально. При этом переход от коллективной миграции к индивидуальной представляет собой важнейший этап на пути повышения инвазивного и метастатического потенциала злокачественных новообразований. Например, в опухолях молочной железы клетки, отделившиеся от основного массива, приобретают способность к инвазии в лимфатические сосуды [26]. В настоящее время выделяют два механизма – эпителиально-мезенхимальный и коллективно-амебоидный переходы, посредством которых могут появляться индивидуально мигрирующие опухолевые клетки (*рис. 1*) [13, 67]. В свою очередь последние, в частности клетки, прошедшие ЭМП, способны в определенных условиях приобретать эпителиальный фенотип и образовывать многоклеточные опухолевые комплексы. Такая инверсия фенотипа получила название «мезенхимально-эпителиальный переход» [15, 17].

### Эпителиально-мезенхимальный переход

В последнее время широко обсуждается вопрос об эпителиально-мезенхимальном переходе как о механизме, в процессе которого опухолевая клетка отделяется от эпителиального пласта и приобретает подвижность (*рис. 1*), так называемый «локомоторный фенотип», что способствует инвазивному росту и метастазированию [68–71]. Развитие данного процесса как ключевого фактора прогрессии рака показано *in vitro* с использованием специфических опухолевых линий, а также экспериментальных моделей, однако установление факта развития ЭМП и идентификация опухолевых клеток и их основных характеристик в условиях *in vivo* представляет сложную задачу [72].

ЭМП представляет собой основу многих процессов морфогенеза [71]. Считается, что в норме (в процессе эмбриогенеза) индуцировать ЭМП может HGF (фактор роста гепатоцитов), секретируемый фибробластами. HGF связывается со специфическими рецепторами с-Met, расположенными на мембране эпителиальных клеток. Связывание с рецепторами активирует сигнальный путь, в котором участвуют некоторые белки системы малых GTP-аз (Cdc42, Rac, RhoA, RhoC), регулирующих интенсивность полимеризации актиновых микрофиламентов и сократимость актин-миозиновых пучков, что определяет интенсивность образования ламеллиподий и натяжение прикрепленной к матриксу клетки. При этом происходит значительная перестройка всего актин-миозинового цитоскелета и исчезновение E-кадгериновых межклеточных контактов. В процессе канцерогенеза эпителиальные клетки подвергаются морфологической трансформации, фенотипически сходной с ЭМП, но возникающей в отсутствие соответствующего лиганда HGF. Подобную трансформацию в злокачественных опухолях можно вызвать трансфекцией разнообразных онкогенов. В процессе трансформации опухолевые клетки могут выходить из эпителиального пласта и двигаться наподобие фибробластов, приобретая, таким образом, способность к инвазии и метастазированию [73].

В процессе ЭМП происходят следующие основные события: злокачественно измененные эпителиальные клетки теряют апикально-базальную полярность вследствие разрушения плотных межклеточных соединений, щелевых контактов и утраты молекул клеточной адгезии (таких, как E-кадгерин, интегрины); изменяется актиновый цитоскелет клетки, который ремоделируется с образованием стрессовых волокон, которые собираются в определенных клеточных областях вблизи цитолеммы, где впоследствии начинают формироваться специфические клеточные выступы; наблюдается деградация подлежащей базальной мембраны эпителия, в результате чего лишенные межклеточных контактов опухолевые клетки становятся способными к инвазивному росту, проникновению в окружающий стромальный матрикс и начинают активный процесс миграции [69, 71].

Установлено, что ЭМП редко бывает одинаково выраженным в ткани всей опухоли. Скорее, этот процесс характеризуется различной степенью выраженности перехода клеток от эпителиального к мезенхимальному фенотипу. В связи с этим ряд исследователей описывают так называемый парциальный, или частичный ЭМП, которому подвергается большинство клеток в области инвазивного фронта (*рис. 1*). Парциальный ЭМП представляет собой состояние, при котором клетки уже приобре-

тают свойства, необходимые для успешной миграции, но при этом продолжают сохранять межклеточные связи. Такой фенотип получил название гибридного «эпителиально-мезенхимального» фенотипа, и был отнесен к признакам, характерным для коллективно перемещающихся опухолевых клеток [69, 74, 75].

Taddei и соавт. указывают на то, что ЭМП развивается вследствие индукции программ, связанных с активацией таких ключевых факторов транскрипции, как TWIST1, Snail, Slug и ZEB1/2 [76, 77]. В итоге происходит разрыв прочных межклеточных соединений по типу кадгеринов, активация полярного клеточного движения и протеолиза компонентов внеклеточного матрикса различными секретруемыми протеазами, при этом сохраняются функции рецепторов интегринов [10, 17, 77, 78]. В условиях эксперимента установлена роль фактора транскрипции Prrx1, который определяет способность клеток рака молочной железы к инвазивному росту [79].

Идентифицированы ZEB1 и ZEB2 – белки с доменом «цинковые пальцы», способные напрямую связываться с промоторами, индуцируя экспрессию генов мезенхимальных маркеров и подавляя экспрессию E-кадгерина и некоторых других маркеров эпителиальной ткани [80, 81].

Аналогичным образом Snail и Slug способны подавлять экспрессию гена E-кадгерина, прямо связываясь с его промотором, а также продукцию таких эпителиальных белков, как десмоплакин и клаудин, активировать экспрессию виментина и матриксных металлопротеиназ, повышая тем самым клеточную миграцию [82]. Группа исследователей во главе с Sanchez-Tillo выяснили, что фактор транскрипции Snail не встречается в нормальных эпителиальных клетках, а его обнаружение в клетках инвазивного фронта опухоли может считаться прогностическим маркером плохой выживаемости онкологических больных [83]. Существует мнение, что ZEB1/2, Snail и Slug индуцируются TGF- $\beta$ , воспалительными цитокинами и гипоксией [84].

### Коллективно-амебоидный переход

Ряд исследователей, опираясь на экспериментальные данные, указывает на возможность существования так называемого коллективно-амебоидного перехода (рис. 1), при котором опухолевые массы, инвазирующие окружающие ткани в виде коллективных многоклеточных групп, диссоциируют на одиночно мигрирующие клетки, использующие для перемещения амебоидный механизм инвазивного роста [40]. Показано, что это событие становится возможным в результате использования ингибиторов интегриновых рецепторов семейства  $\beta 1$ , поскольку именно эти молекулы играют ключевую роль как при образова-

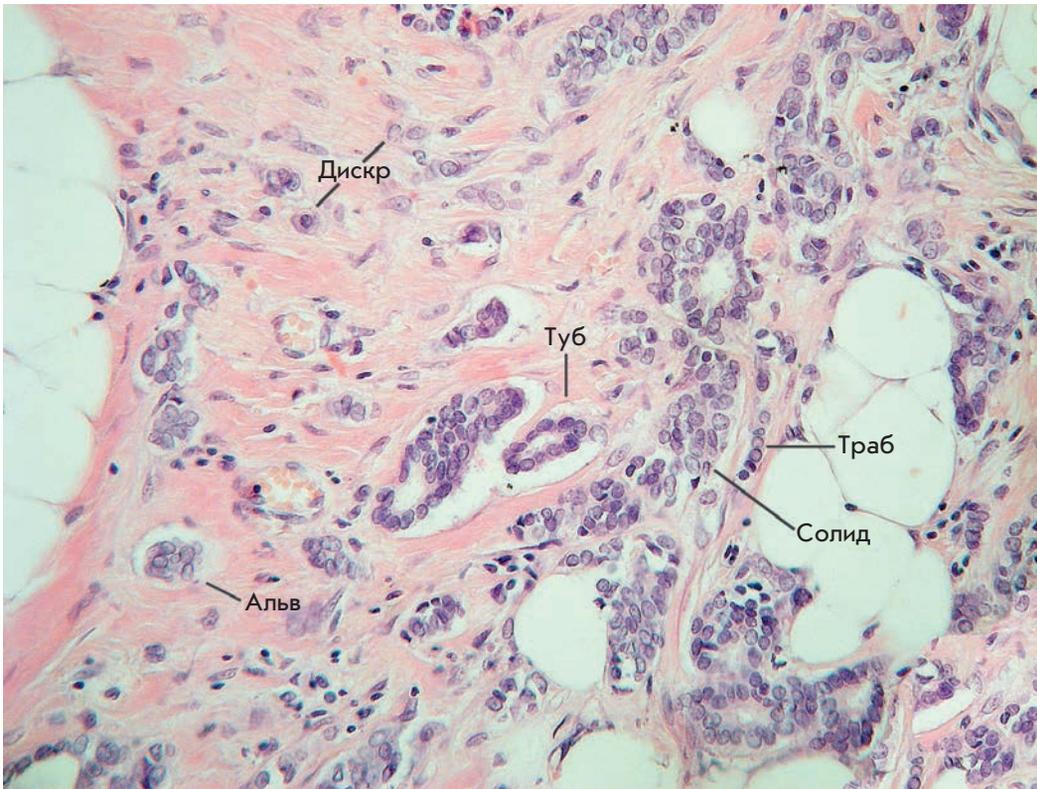
нии межклеточных контактов, так и при взаимодействиях между опухолевыми клетками и компонентами окружающих тканей [16, 40, 85].

### Мезенхимально-эпителиальный переход

Работы, посвященные изучению механизмов, лежащих в основе мезенхимально-эпителиального перехода, практически отсутствуют. Однако подчеркивается возможность существования такого феномена. При этом говорят о том, что зачастую, например, при раке молочной и предстательной железы строение опухолевой ткани в отдаленных метастатических очагах аналогично строению опухоли первичного узла [15, 86]. По мнению Friedl и Gilmour [17], из этих данных можно сделать несколько предположений. Во-первых, инвазия и метастазирование могут происходить без ЭМП. Во-вторых, обнаружение одиночных диссеминированных клеток в ходе рутинного патоморфологического исследования образцов опухолевой ткани представляется довольно сложной задачей и идентифицировать такие клетки в процессе ЭМП практически невозможно. И, в-третьих, опухолевые клетки временно используют механизмы ЭМП для интравазации и распространения в отдаленные органы и ткани, где, прочно укоренившись, возвращаются к эпителиальным программам роста. Такую трансформацию описывают как мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП) [15, 17]. МЭП экспериментально индуцировали, при этом индивидуально движущиеся клетки формировали многоклеточные комплексы, однако молекулярные механизмы реализации МЭП в физиологических условиях остаются не известными [17]. Nguyen и соавт. [5] показали, что селективный ингибитор PD173074 рецептора фактора роста фибробластов 1 (FGFR1) ингибирует сигнальный путь MAPK, который регулирует активность белка AP-1, что, в свою очередь, индуцирует развитие МЭП. Изучение возможности применения ингибитора PD173074 в качестве лекарственного средства, проведенное на специфических опухолевых клеточных линиях, выявило отчетливое подавление опухолевого роста, миграционной способности и инвазии. При этом наблюдалось снижение экспрессии гена *Snail*, матриксных металлопротеиназ 3, 10, 12 и 13 и усиление экспрессии гена E-кадгерина [5].

### КЛАССИФИКАЦИЯ ВАРИАНТОВ ИНВАЗИВНОГО РОСТА НА ПРИМЕРЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Нашим коллективом на протяжении многих лет изучаются особенности течения рака молочной железы в зависимости от внутриопухолевой гетерогенности новообразования. Особое внимание уделяется фенотипическому разнообразию строения первичного опухолевого узла при инвазивной карци-



**Рис. 2.** Внутритропухолевая морфологическая гетерогенность инвазивного рака молочной железы. Представлено многообразие инвазивного роста опухоли молочной железы, приводящее к формированию пяти основных типов морфологических структур: альвеолярные (Альв), трабекулярные (Траб), тубулярные (Туб), солидные (Солид) структуры и дискретные (Дискр) группы опухолевых клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение  $\times 200$

номе неспецифического типа, составляющей основной массив (до 80%) всех гистологических форм злокачественных новообразований молочной железы.

Несмотря на значительное разнообразие структуры инфильтративного компонента рака молочной железы, все же удастся выделить пять основных типов: альвеолярные, трабекулярные, тубулярные, солидные структуры и дискретные группы опухолевых клеток (рис. 2). Альвеолярные структуры представляют собой скопления опухолевых клеток округлой либо немного неправильной формы. Морфология клеток, образующих данный вид структур, варьирует от мелких клеток с умеренно выраженной цитоплазмой и округлыми ядрами до крупных с гиперхромными ядрами неправильной формы и умеренной цитоплазмой. Трабекулярные структуры – это либо короткие линейные объединения, образованные одним рядом мелких достаточно мономорфных клеток, либо широкие клеточные кластеры, состоящие из двух рядов клеток среднего размера с умеренно выраженной цитоплазмой, с округлыми нормохромными или гиперхромными ядрами. Тубулярные структуры образованы одним-двумя рядами достаточно мономорфных клеток с нормохромными округлыми ядрами. Солидные структуры представляют собой поля различного размера и формы, состоящие либо из мелких клеток с умеренно выраженной цито-

плазмой и мономорфными ядрами, либо из крупных клеток с обильной цитоплазмой и полиморфными ядрами. Дискретно расположенные группы клеток встречаются в виде скоплений из одной-четырёх клеток, вариабельных по своей морфологии [87, 88].

В соответствии со сведениями, накопившимися на сегодняшний день, можно предположить, что разные морфологические структуры опухолей молочной железы соответствуют определенным вариантам инвазии. Таким образом, к морфологическим проявлениям коллективной миграции можно отнести альвеолярные, трабекулярные и солидные структуры, характеризующиеся наличием межклеточных контактов, а к проявлениям индивидуальной миграции – дискретные группы опухолевых клеток. Интересно, что первые данные, полученные при изучении экспрессии генов клеточной адгезии, полностью подтверждают высказанные предположения. Так, замечено уменьшение активности генов кадгеринов, ответственных за межклеточные связи, в ряду солидные–альвеолярные и трабекулярные структуры–дискретные группы опухолевых клеток. При этом количество экспрессирующихся генов интегринов, участвующих в адгезии опухолевых клеток к внеклеточному матриксу, снижалось в ряду солидные и альвеолярные–трабекулярные структуры–дискретные группы опухолевых клеток [89].

### ВАРИАНТЫ ИНВАЗИВНОГО РОСТА В ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ И В ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ

Инвазивный рост и формирование лекарственной резистентности – взаимосвязанные процессы, играющие важнейшую роль в опухолевой прогрессии, в частности в метастазировании. Весьма вероятно, что одни и те же сигнальные пути вовлечены в точную миграцию и возникновение устойчивости опухолей к терапии [67, 90].

Мигрирующие опухолевые клетки (независимо от типа движения) более устойчивы к химио- и лучевой терапии, чем не движущиеся клетки [90]. Во многом это обусловлено тем, что клетки в состоянии миграции на время теряют способность к делению. Доказано также, что в движущихся опухолевых клетках повышена активность антиапоптотических генов, что вызывает их устойчивость к химиопрепаратам, направленным на индукцию запрограммированной клеточной гибели [91]. Помимо этого, известно, что клетки в состоянии ЭМП также проявляют химиорезистентность [92]. Подобная лекарственная устойчивость обусловлена индукцией в процессе ЭМП синтеза белков семейства ABC, осуществляющих выброс химиопрепаратов из клетки. Среди основных факторов транскрипции, запускающих ЭМП и в то же время положительно регулирующих активность ABC-транспортеров, выделяют TWIST1, Snail и др. [92–94].

Последние данные говорят о строгой ассоциации коллективной миграции с резистентностью к лучевой и химиотерапии [67, 90]. Согласно собственным исследованиям опухоли молочной железы, содержащие как альвеолярные, так и трабекулярные структуры, а также демонстрирующие значительное морфологическое разнообразие, характеризуются повышенной лекарственной устойчивостью [95, 96]. Интересно, что вклад трабекулярных структур в химиорезистентность, вероятно, объясняется высокой активностью ABC-транспортеров в опухолевых клетках данных морфологических объединений. Напротив, устойчивость опухолей молочной железы, содержащих альвеолярные структуры, объясняется другими, пока не установленными причинами [96].

Инвазивный рост и его фенотипическое многообразие как напрямую, так и через формирование лекарственной резистентности связаны с метастазированием. Циркулирующие опухолевые клетки, ответственные за возникновение будущих метастазов, являются результатом инвазии и последующего проникновения опухолевых клеток в лимфатические или кровеносные сосуды. Способностью к интравазации могут обладать не только одиночно мигрирующие опухолевые клетки, но и группы клеток. Существует предположение, что коллективная

миграция намного чаще приводит к метастазированию, чем индивидуальная. Пионерные исследования на животных моделях показали, что метастазы чаще формировались при внутривенном введении опухолевых кластеров, а не одиночных опухолевых клеток [97–99]. Более того, циркулирующие кластеры опухолевых клеток найдены в крови больных различными онкологическими заболеваниями [100, 101]. Было предположено, что коллективная интравазация связана с VEGF-зависимым формированием развитой сосудистой сети и сосредоточением в пределах нее опухолевых кластеров [102]. Кроме того, группы опухолевых клеток могут попадать в циркуляцию через поврежденные сосуды [103] или посредством кооперации с клетками в состоянии ЭМП и с опухоль-ассоциированными фибробластами, разрушающими внеклеточный матрикс с помощью протеаз [14, 104]. Зависимость метастазирования от коллективной миграции находит подтверждение в результатах наших собственных исследований. Так, у постменопаузальных больных раком молочной железы наличие альвеолярных структур в опухолях связано с высокой частотой лимфогенного метастазирования, тогда как у женщин, находящихся в пременопаузе, риск прогрессии данного типа возрастал с увеличением количества различных типов морфологических структур [87, 105]. Последняя закономерность имела и количественное значение: лимфогенные метастазы чаще выявлялись при большем числе альвеолярных структур в опухолях молочной железы [87, 106]. Более того, больные, в опухолях которых представлены альвеолярные структуры, имели низкую безметастатическую выживаемость (собственные неопубликованные данные).

Обнаруженная нами сопряженность альвеолярных структур как одного из проявлений коллективной миграции с частотой лимфогенного и гематогенного метастазирования позволяет сделать следующие предположения. По-видимому, клеточные элементы альвеолярных структур могут отличаться от опухолевых клеток других структур совокупностью биологических свойств, определяющих метастатический фенотип. Более отчетливая выраженность связи альвеолярных структур с лимфогенным метастазированием в менопаузальном периоде предполагает определенную роль изменения синтеза эстрогенов, включая и их образование *in situ*, в приобретении опухолевыми клетками в составе альвеолярных структур фенотипа метастазирования лимфогенным путем [107].

Таким образом, имеющиеся на настоящий момент времени сведения об особенностях инвазивного роста при карциномах разной локализации и, в частности, при раке молочной железы, открывают новые воз-

возможности для изучения закономерностей опухолевой прогрессии и поиска дополнительных ключевых параметров прогноза, а возможно, и «управления» течением заболевания.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальность изучения морфологических проявлений и молекулярно-генетических механизмов инвазии и метастазирования злокачественных опухолей не вызывает сомнений. Результаты многочисленных работ отчетливо показывают, что в процессе инвазивного роста миграция опухолевых клеток может осуществляться как одиночными клетками, так и скоплениями групп клеток. Подобное разнообразие вариантов клеточной миграции, вероятно, приводит к развитию внутриопухолевой гетерогенности, представленной, например, при раке молочной железы разными морфологическими структурами: альвеолярными, трабекулярными, солидными структурами и дискретными группами опухолевых клеток. Известен и ряд биохимических, а также молекулярно-генетических механизмов, посредством которых злокачественно измененные клетки проникают

в окружающие ткани и приобретают способность распространяться далеко за пределы первичного опухолевого узла, давая начало развитию вторичных метастатических очагов в отдаленных органах и тканях. Однако, несмотря на достигнутый прогресс, неизученными остаются вопросы, касающиеся возможной взаимосвязи между различными вариантами инвазивного клеточного роста и параметрами лимфогенного и гематогенного метастазирования, особенностями течения заболевания, а также эффективностью назначаемой терапии. Решение этих проблем могло бы оказать существенную помощь в определении прогноза заболевания и, возможно, разработать новые подходы к тактике ведения онкологических больных. ●

*Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 14-15-00318 (обзор собственных данных) и в рамках программы повышения конкурентоспособности ТГУ. Часть работ была выполнена на оборудовании Томского регионального центра коллективного пользования (соглашение 14.594.21.0001).*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- van Zijl F., Krupitza G., Mikulits W. // *Mutat Res.* 2011. V. 728. № 1–2. P. 23–34.
- Spano D., Heck C., De Antonellis P., Christofori G., Zollo M. // *Semin. Cancer Biol.* 2012. V. 22. № 3. P. 234–249.
- Santibanez J.F. // *ISRN Dermatol.* 2013. V. 2013. P. 597927.
- Mehlen P., Puisieux A. // *Nat. Rev. Cancer.* 2006. V. 6. № 6. P. 449–458.
- Nguyen D.X., Bos P.D., Massague J. // *Nat. Rev. Cancer.* 2009. V. 9. № 4. P. 274–284.
- Monteiro J., Fodde R. // *Eur. J. Cancer.* 2010. V. 46. № 7. P. 1198–1203.
- Ковалев А.А. // *Онкология. Здоровье Украины.* 2011. Т. 4. № 17. С. 26–28.
- Ковалев А.А., Грудинская Т.П., Кузнецова Т.П., Ковалев К.А. // *Онкология.* 2012. Т. 14. № 2. С. 126–129.
- Hay E.D. // *Acta Anat. (Basel).* 1995. V. 154. № 1. P. 8–20.
- Kalluri R., Weinberg R.A. // *J. Clin. Invest.* 2009. V. 119. № 6. P. 1420–1428.
- Tam W.L., Weinberg R.A. // *Nat. Med.* 2013. V. 19. № 11. P. 1438–1449.
- Cox E.A., Sastry S.K., Huttenlocher A. // *Mol. Biol. Cell.* 2001. V. 12. № 2. P. 265–277.
- Friedl P., Hegerfeldt Y., Tusch M. // *Int. J. Dev. Biol.* 2004. V. 48. № 5–6. P. 441–449.
- Friedl P., Alexander S. // *Cell.* 2011. V. 147. № 5. P. 992–1009.
- Friedl P., Locker J., Sahai E., Segall J.E. // *Nat. Cell Biol.* 2012. V. 14. № 8. P. 777–783.
- Hernandez-Caballero M.E. // *Carcinogenesis / Ed. Tonissen K. Intech,* 2013. P. 165–194.17.
- Friedl P., Gilmour D. // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2009. V. 10. № 7. P. 445–457.
- Ulrich F., Heisenberg C.P. // *Traffic.* 2009. V. 10. № 7. P. 811–818.
- Khalil A.A., Friedl P. // *Integr. Biol. (Cambridge).* 2010. V. 2. № 11–12. P. 568–574.
- Yilmaz M., Christofori G. // *Mol. Cancer Res.* 2010. V. 8. № 5. P. 629–642.
- Friedl P., Wolf K. // *J. Cell Biol.* 2010. V. 188. № 1. P. 11–19.
- Pankova K., Rosel D., Novotny M., Brabek J. // *Cell Mol. Life Sci.* 2010. V. 67. № 1. P. 63–71.
- Scott R.W., Crighton D., Olson M.F. // *J. Vis. Exp.* 2011. V. 58. e3525.
- Cheung K.J., Gabrielson E., Werb Z., Ewald A.J. // *Cell.* 2013. V. 155. № 7. P. 1639–1651.
- Kitamura T., Kometani K., Hashida H., Matsunaga A., Miyoshi H., Hosogi H., Aoki M., Oshima M., Hattori M., Takabayashi A., et al. // *Nat. Genet.* 2007. V. 39. № 4. P. 467–475.
- Giampieri S., Manning C., Hooper S., Jones L., Hill C.S., Sahai E. // *Nat. Cell Biol.* 2009. V. 11. № 11. P. 1287–1296.
- Sanz-Moreno V., Marshall C.J. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2010. V. 22. № 5. P. 690–696.
- Lecaudey V., Cakan-Akdogan G., Norton W.H., Gilmour D. // *Development.* 2008. V. 135. № 16. P. 2695–2705.
- Aman A., Piotrowski T. // *Dev. Cell.* 2008. V. 15. № 5. P. 749–761.
- Vitorino P., Meyer T. // *Genes Dev.* 2008. V. 22. № 23. P. 3268–3281.
- Taylor M.A., Parvani J.G., Schiemann W.P. // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 2010. V. 15. № 2. P. 169–190.
- Barcellos-Hoff M.H., Akhurst R.J. // *Breast Cancer Res.* 2009. V. 11. № 1. P. 202.
- Lebrun J.J. // *ISRN Mol. Biol.* 2012. V. 2012. P. 381428.
- Matise L.A., Palmer T.D., Ashby W.J., Nashabi A., Chytil A., Aakre M., Pickup M.W., Gorska A.E., Zijlstra A., Moses H.L. // *Breast Cancer Res.* 2012. V. 14. № 4. P. R98.
- Wicki A., Christofori G. // *Br. J. Cancer.* 2007. V. 96. № 1. P. 1–5.

36. Gaggioli C., Hooper S., Hidalgo-Carcedo C., Grosse R., Marshall J.F., Harrington K., Sahai E. // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. № 12. P. 1392–1400.
37. Friedl P., Wolf K. // *Cancer Res.* 2008. V. 68. № 18. P. 7247–7249.
38. Scott R.W., Hooper S., Crighton D., Li A., Konig I., Munro J., Trivier E., Wickman G., Morin P., Croft D.R., et al. // *J. Cell Biol.* 2010. V. 191. № 1. P. 169–185.
39. Schoumacher M., Goldman R.D., Louvard D., Vignjevic D.M. // *J. Cell Biol.* 2010. V. 189. № 3. P. 541–556.
40. Friedl P. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2004. V. 16. № 1. P. 14–23.
41. Madsen C.D., Sahai E. // *Dev Cell.* 2010. V. 19. № 1. P. 13–26.
42. Sanz-Moreno V., Gadea G., Ahn J., Paterson H., Marra P., Pinner S., Sahai E., Marshall C.J. // *Cell.* 2008. V. 135. № 3. P. 510–523.
43. Carragher N.O., Walker S.M., Scott Carragher L.A., Harris F., Sawyer T.K., Brunton V.G., Ozanne B.W., Frame M.C. // *Oncogene.* 2006. V. 25. № 42. P. 5726–5740.
44. Yamazaki D., Kurisu S., Takenawa T. // *Oncogene.* 2009. V. 28. № 13. P. 1570–1583.
45. Siletz A., Schnabel M., Kniazeva E., Schumacher A.J., Shin S., Jeruss J.S., Shea L.D. // *PLoS One.* 2013. V. 8. № 4. e57180.
46. Friedl P., Wolf K., Lammerding J. // *Curr. Opin. Cell Biol.* 2011. V. 23. № 1. P. 55–64.
47. Чикина А.С., Александрова А.Ю. // *Молекуляр. биология.* 2014. Т. 48. № 2. С. 195–213.
48. Ehrbar M., Sala A., Lienemann P., Ranga A., Mosiewicz K., Bittermann A., Rizzi S.C., Weber F.E., Lutolf M.P. // *Biophys. J.* 2011. V. 100. № 2. P. 284–293.
49. Abreu-Blanco M.T., Verboon J.M., Parkhurst S.M. // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. № 2. P. 144–155.
50. Li H., Peyrollier K., Kilic G., Brakebusch C. // *Biofactors.* 2014. V. 40. № 2. P. 226–235.
51. Lash L.L., Wallar B.J., Turner J.D., Vroegop S.M., Kilkuskie R.E., Kitchen-Goosen S.M., Xu H.E., Alberts A.S. // *Cancer Res.* 2013. V. 73. № 22. P. 6793–6803.
52. Militello R., Colombo M.I. // *Commun. Integr. Biol.* 2013. V. 6. № 5. e25460.
53. Bloomfield G., Skelton J., Ivens A., Tanaka Y., Kay R.R. // *Science.* 2010. V. 330. № 6010. P. 1533–1536.
54. Sabeh F., Shimizu-Hirota R., Weiss S.J. // *J. Cell Biol.* 2009. V. 185. № 1. P. 11–19.
55. Gadea G., Sanz-Moreno V., Self A., Godi A., Marshall C.J. // *Curr. Biol.* 2008. V. 18. № 19. P. 1456–1465.
56. Chaussepied M., Janski N., Baumgartner M., Lizundia R., Jensen K., Weir W., Shiels B.R., Weitzman J.B., Glass E.J., Werling D., et al. // *PLoS Pathog.* 2010. V. 6. № 11. e1001197.
57. Tozluoglu M., Tournier A.L., Jenkins R.P., Hooper S., Bates P.A., Sahai E. // *Nat. Cell Biol.* 2013. V. 15. № 7. P. 751–762.
58. Miyazawa Y., Uekita T., Ito Y., Seiki M., Yamaguchi H., Sakai R. // *Mol. Cancer Res.* 2013. V. 11. № 6. P. 628–637.
59. Razidlo G.L., Schroeder B., Chen J., Billadeau D.D., McNiven M.A. // *Curr. Biol.* 2014. V. 24. № 1. P. 86–93.
60. Bakal C. // *J. Cell Biol.* 2013. V. 203. № 3. P. 378–379.
61. Synek L., Sekeres J., Zarsky V. // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 4. P. 543.
62. Pinner S.E., Sahai E. // *F1000 Biol. Rep.* 2009. V. 1. P. 67.
63. Gerlitz G., Bustin M. // *Trends Cell Biol.* 2011. V. 21. № 1. P. 6–11.
64. Condeelis J., Segall J.E. // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. V. 3. № 12. P. 921–930.
65. Ewald P.W., Swain Ewald H.A. // *Evol. Appl.* 2013. V. 6. № 1. P. 70–81.
66. Berton S., Belletti B., Wolf K., Canzonieri V., Lovat F., Vecchione A., Colombatti A., Friedl P., Baldassarre G. // *Mol. Cell Biol.* 2009. V. 29. № 18. P. 5031–5045.
67. Häger A., Alexander S., Friedl P. // *Eur. J. Cancer Suppl.* 2013. V. 11. № 2. P. 291–293.
68. Васильев Ю.М., Гельфанд И.М. // *Биохимия.* 2006. Т. 71. № 8. С. 1013–1020.
69. Micalizzi D.S., Farabaugh S.M., Ford H.L. // *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia.* 2010. V. 15. № 2. P. 117–134.
70. Said N.A., Williams E.D. // *Cells Tissues Organs.* 2011. V. 193. № 1–2. P. 85–97.
71. Kim S., Lee J.W. // *Genomics Inform.* 2014. V. 12. № 1. P. 12–20.
72. Tsai J.H., Yang J. // *Genes Dev.* 2013. V. 27. № 20. P. 2192–2206.
73. Gotte M., Kersting C., Radke I., Kiesel L., Wulfiging P. // *Breast Cancer Res.* 2007. V. 9. № 1. P. R8.
74. Savagner P. // *Ann. Oncol.* 2010. V. 21 Suppl 7. P. vii89–92.
75. Lu M., Jolly M.K., Levine H., Onuchic J.N., Ben-Jacob E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013. V. 110. № 45. P. 18144–18149.
76. Tsai J.H., Donaher J.L., Murphy D.A., Chau S., Yang J. // *Cancer Cell.* 2012. V. 22. № 6. P. 725–736.
77. Taddei M.L., Giannoni E., Morandi A., Ippolito L., Ramazzotti M., Callari M., Gandellini P., Chiarugi P. // *Cell Commun. Signal.* 2014. V. 12. P. 24.
78. Giannoni E., Parri M., Chiarugi P. // *Antioxid. Redox Signal.* 2012. V. 16. № 11. P. 1248–1263.
79. Ocana O.H., Corcoles R., Fabra A., Moreno-Bueno G., Aclouque H., Vega S., Barrallo-Gimeno A., Cano A., Nieto M.A. // *Cancer Cell.* 2012. V. 22. № 6. P. 709–724.
80. Bindels S., Mestdagt M., Vandewalle C., Jacobs N., Volders L., Noel A., van Roy F., Berx G., Foidart J.M., Gilles C. // *Oncogene.* 2006. V. 25. № 36. P. 4975–4985.
81. Vandewalle C., Van Roy F., Berx G. // *Cell Mol. Life Sci.* 2009. V. 66. № 5. P. 773–787.
82. Samatov T.R., Tonevitsky A.G., Schumacher U. // *Mol. Cancer.* 2013. V. 12. № 1. P. 107.
83. Sanchez-Tillo E., Liu Y., de Barrios O., Siles L., Fanlo L., Cuatrecasas M., Darling D.S., Dean D.C., Castells A., Postigo A. // *Cell Mol. Life Sci.* 2012. V. 69. № 20. P. 3429–3456.
84. De Craene B., Berx G. // *Nat. Rev. Cancer.* 2013. V. 13. № 2. P. 97–110.
85. Friedl P., Wolf K. // *Nat. Rev. Cancer.* 2003. V. 3. № 5. P. 362–374.
86. Tsuji T., Ibaragi S., Hu G.F. // *Cancer Res.* 2009. V. 69. № 18. P. 7135–7139.
87. Zavyalova M.V., Perelmuter V.M., Vtorushin S.V., Denisov E.V., Litvyakov N.V., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V. // *Diagn. Cytopathol.* 2013. V. 41. № 3. P. 279–282.
88. Геращенко Т.С., Денисов Е.В., Литвяков Н.В., Завьялова М.В., Вторушин С.В., Цыганов М.М., Перельмутер В.М., Чердынцева Н.В. // *Биохимия.* 2013. Т. 78. № 11. С. 1531–1549.
89. Denisov E.V., Geraschenko T.S., Zavyalova M.V., Litviakov N.V., Tsyganov M.M., Kaigorodova E.V., Slonimskaya E.M., Kzhyshkowska J., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. // *Neoplasma.* 2015. doi: 10.4149/neo\_2015\_041 [Epub ahead of print].
90. Alexander S., Friedl P. // *Trends Mol. Med.* 2012. V. 18. № 1. P. 13–26.
91. Goswami S., Wang W., Wyckoff J.B., Condeelis J.S. // *Cancer Res.* 2004. V. 64. № 21. P. 7664–7667.
92. Mallini P., Lennard T., Kirby J., Meeson A. // *Cancer Treat. Rev.* 2014. V. 40. № 3. P. 341–348.
93. Chen W.J., Wang H., Tang Y., Liu C.L., Li H.L., Li W.T. // *Chin. J. Cancer.* 2010. V. 29. № 2. P. 151–157.
94. Li Q.Q., Xu J.D., Wang W.J., Cao X.X., Chen Q., Tang F., Chen Z.Q., Liu X.P., Xu Z.D. // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. № 8. P. 2657–2665.

95. Завьялова М.В., Литвяков Н.В., Гарбуков Е.Ю., Вторушин С.В., Стахеева М.Н., Савенкова О.В., Крицкая Н.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. // Сиб. онкол. журн. 2008. № 6. С. 30–34.
96. Denisov E.V., Litviakov N.V., Zavyalova M.V., Perelmuter V.M., Vtorushin S.V., Tsyganov M.M., Gerashchenko T.S., Garbukov E.Y., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V. // Sci. Rep. 2014. V. 4. P. 4709.
97. Watanabe S. // Cancer. 1954. V. 7. № 2. P. 215–223.
98. Fidler I.J. // Eur. J. Cancer. 1973. V. 9. № 3. P. 223–227.
99. Liotta L.A., Sidel M.G., Kleinerman J. // Cancer Res. 1976. V. 36. № 3. P. 889–894.
100. Yu M., Stott S., Toner M., Maheswaran S., Haber D.A. // J. Cell Biol. 2011. V. 192. № 3. P. 373–382.
101. Greene B.T., Hughes A.D., King M.R. // Front. Oncol. 2012. V. 2. P. 69.
102. Kusters B., Kats G., Roodink I., Verrijp K., Wesseling P., Ruiter D.J., de Waal R.M., Leenders W.P. // Oncogene. 2007. V. 26. № 39. P. 5808–5815.
103. Hou J.M., Krebs M.G., Lancashire L., Sloane R., Backen A., Swain R.K., Priest L.J., Greystoke A., Zhou C., Morris K., et al. // J. Clin. Oncol. 2012. V. 30. № 5. P. 525–532.
104. Tsuji T., Ibaragi S., Shima K., Hu M.G., Katsurano M., Sasaki A., Hu G.F. // Cancer Res. 2008. V. 68. № 24. P. 10377–10386.
105. Завьялова М.В., Перельмутер В.М., Слонимская Е.М., Вторушин С.В., Гарбуков Е.Ю., Глущенко С.А. // Сиб. онкол. журн. 2006. № 1. С. 32–35.
106. Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A., Gerashchenko T.S., Litviakov N.V., Skryabin N.A., Vtorushin S.V., Telegina N.S., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V., et al. // BioRes. Open Access. 2013. V. 2. № 2. P. 148–154.
107. Perel'muter V.M., Zav'ialova M.V., Vtorushin S.V., Slonimskaya E.M., Kritskaya N.G., Garbukov E., Litviakov N.V., Stakheeva M.N., Babyshkina N.N., Malinovskaya E.A., et al. // Adv. Gerontol. (Russian). 2008. V. 21. № 4. P. 643–653.