

В. Чехун
Л. Налескіна
Т. Задворний
О. Мушій
Т. Борікун
Л. Кунська
Н. Лук'янова

Інститут експериментальної
 патології, онкології
 і радіобіології
 ім. Р.Є. Кавецького
 НАН України, Київ, Україна

МАРКЕРИ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ В КАНЦЕРОГЕНЕЗІ, ПУХЛИННІЙ ПРОГРЕСІЇ ТА МЕТАСТАЗУВАННІ: ОБҐРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТЕЙ ВИКОРИСТАННЯ В КЛІНІЧНІЙ ОНКОЛОГІЇ

Ключові слова: білки та гени
 ремоделювання кісткової
 тканини, рак молочної
 залози, рак передміхурової
 залози, пухлинна прогресія,
 метастазування, прогнозування
 перебігу захворювання.

Проведено аналіз даних фундаментальних розробок та клінічних спостережень щодо ролі основних матрицелюлярних маркерів ремоделювання кісткової тканини (OPN, ON, BMP-7), який дозволив скласти уявлення про молекулярні портрети кожного з них, спектр функцій, пов'язаних із процесом канцерогенезу, пухлинної прогресії та метастазування. Визначено загальні риси та відмінні особливості як за структурними, так і функціональними характеристиками цих біополімерів. Встановлено, що це багатофункціональні білки, які виконують певні функції і по-різному експресуються у нормальних тканинах та при їх злоякісній трансформації. Показано, що білки ремоделювання кісткової тканини секретуються як пухлинними, так і мезенхімальними клітинами, зокрема пухлино-асоційованими фібробластами, міофібробластами, макрофагами, лімфоцитами. Висвітлено механізми, за якими за участі того чи іншого маркера ремоделювання із залученням відповідних сигнальних шляхів здійснюються найважливіші біологічні процеси при виникненні і прогресії пухлин: проліферація, інвазія, міграція клітин, апоптоз, метастазування. Показано зв'язок між рівнем експресії кожного білка і ступенем злоякісності пухлинних клітин, зокрема на культурах тканин хворих на рак молочної залози та рак передміхурової залози. Усе зазначене стало підставою для проведення більш конкретного обґрунтування, клінічної перевірки та підтвердження можливостей застосування результатів фундаментальних досліджень щодо маркерів ремоделювання в онкологічній практиці для діагностики, прогнозування перебігу пухлинного процесу та визначення нових підходів у лікуванні хворих.

СТРУКТУРНІ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОСНОВНИХ БІЛКІВ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ, ПРИЧЕТНИХ ДО СИСТЕМИ RANKL/RANK/OPG

Прикро констатувати той факт, що дотепер характерним і водночас негативним етапом перебігу пухлинного процесу для багатьох неоплазій є метастазування, яке деякі дослідники розглядають як метастатичну хворобу. Відомо, що кісткова тканина (кістки) — найбільш розповсюджене місце метастазування раку. Хоча вважають, що всі злоякісні пухлини певною мірою реагують на вплив гормонів, найбільш гормонозалежними є злоякісні новоутворення молочної залози (МЗ) у жінок та передміхурової залози (ПЗ) у чоловіків. Саме ці пухлини найчастіше метастазують у кістки. Як і виникнення первинного пухлинного осередку, розвиток метастазів — багатоетапний про-

цес, який відбувається шляхом ремоделювання кісткової тканини.

Загальновідомо, що процеси ремоделювання кісткової тканини як в нормі, так і при патології, відбуваються протягом усього життя людини. Ключову роль у цих складних процесах відіграє система RANKL/RANK/OPG, яка складається з трьох основних сигнальних молекул: рецептор-активатор системи ядерного фактора κB (receptor activator of nuclear factor κB — RANK)/RANK-ліганд (receptor activator of nuclear factor (NF)- κB -ligand — RANKL) та розчинний рецептор остеопротегерин (receptor osteoprotegerin — OPG), який вважається важливим регулятором резорбції кістки. OPG є стійкою антирезорбтивною молекулою, яка діє як рецептор-приманка для ліганду RANKL, медіатора остеокластогенезу [1].

Клітини, що експресують RANK та RANKL, зазвичай знаходяться в мікрооточенні пухлини. Для МЗ та ПЗ, ендометрію, шийки матки, шлунка, стравоходу, сечового міхура та щитоподібної залози

притаманна підвищена експресія RANKL/RANK, яка корелює з поганим прогнозом. Передача сигналів RANK відіграє важливу роль у вродженій та адаптивній імунній відповіді, оскільки цей рецептор-активатор генерує T-регуляторні (Treg) клітини та збільшує продукцію цитокінів [2].

Молекулярна тріада, що включає RANK/RANKL/OPG, залучена до низки фізіологічних та патологічних процесів: метаболізму кістки, розвитку МЗ, регуляції імунної функції, онкогенезу, інвазії та метастазування ракових стовбурових клітин. Система бере активну участь у розвитку декількох пухлин, а саме: раку МЗ (РМЗ), раку ПЗ (РПЗ), новоутворення кісток і лейкозу, включно з появою рецидивів та метастазування [3]. Метастатичне прогресування залишається важким тягарем для хворих і пов'язане з можливою резистентністю пухлин до переважно застосовуваних методів лікування, зокрема до хіміотерапії, що призводить до смерті внаслідок метастатичної хвороби [4]. Незважаючи на численні клінічні дослідження, у яких йдеться про наслідки перебігу раку, низьку виживаність хворих у разі розвитку метастазів (зокрема РМЗ та РПЗ) у кістки, біологія процесу метастазування та молекулярні механізми його розвитку до кінця не з'ясовані. Виникнення метастазів у кістки є серйозним ускладненням пухлинного процесу у зв'язку з відсутністю ефективних варіантів лікування на пізній, часто вже симптоматичній стадії, що вказує на необхідність нових стратегій, спрямованих на раннє виявлення пацієнтів з високим ризиком такої форми метастазування [5].

Водночас відомо, що до ремоделювання кісткової тканини залучені матрицелюлярні білкові молекули, які становлять невід'ємний комплекс у складі системи RANKL/RANK/OPG і відіграють вирішальну роль в утворенні і резорбції кісткової тканини. Перш за все це остеопонтин (osteopontin — OPN) та остеонектин (osteonectin — ON). Кожний із цих протеїнів може суттєво впливати на прискорення чи, навпаки, інгібування інвазії пухлинних клітин з первинного осередку до метастатичного локусу.

За сучасними уявленнями, OPN — це цитокіноподібний кальцій-зв'язувальний, фосфорильований кислий глікопротеїн, що належить до родини малих інтегрин-зв'язувальних глікопротеїнів (small integrin-binding ligand N-linked glycoprotein — SIBLING) та експресується в клітинах різного гістогенезу, зокрема: остеокласти, остеобласти, гладко-м'язові клітини, нейрони, епітеліальні клітини, Т-, В-лімфоцити, природні кілери, міелоїдні та лімфоїдні клітини. З точки зору остеогенезу, OPN — кістковий сіалопротеїн, який бере участь у прикріпленні остеокластів до мінералізованого кісткового матриксу. Він є універсальним білком, що діє на рецептори, пов'язані з різними сигнальними шляхами, залученими до розвитку і прогресії раку. OPN опосередковує різні біологічні події за участю імунної та судинної систем. Білок відіграє певну роль у таких процесах, як імунна відповідь, адгезія та міграція клітин, пухлиноутворен-

ня [6]. Кодувальний ген OPN — *SPP1* розташований на довгому плечі хромосоми 4 ділянки 22 (4q1322.1) та має 7 екзонів, перші 2 з яких містять нетранслювальні ділянки (5' UTR) [7, 8]. Молекула OPN складається з ~300 амінокислотних залишків, що утворюють одноланцюговий поліпептид масою 32 кДа, який внаслідок посттрансляційних модифікацій може досягати ~75 кДа [9].

Сьогодні відомо 3 ізоформи OPN, що утворюються в результаті альтернативного сплайсингу: OPN-a — канонічна послідовність, не вистачає екзону 5 у місці 58–71; OPN-b — відсутня послідовність білка в місці 95–116; OPN-c — відсутня послідовність білка в місці 31–57, не вистачає екзону 4. Усі ізоформи беруть участь у процесах формування кісткової тканини, неоваскуляризації та запаленні. Експресія ізоформи -c асоціюється з діабетичними захворюваннями, ізоформи -a і -b залучені до процесів васкулярного ремоделювання та ектопічної кальцифікації [10].

Різні форми OPN можуть секретуватися у клітинах самої пухлини або строми і набувати про- або протипухлинних властивостей залежно від типу клітин та мікрооточення пухлини. Молекула OPN має негативний заряд через переважання кислих амінокислот та гепаринзв'язувальних доменів, може безпосередньо взаємодіяти з білками позаклітинного матриксу, включаючи фібронектин та колаген I типу [11]. Під час посттрансляційної модифікації в апараті Гольджі до первинної молекули прикріплюються 30 вуглеводневих залишків, у тому числі 10 залишків сіалової кислоти. Кожен з білків цієї родини містить 3 амінокислотні послідовності Arg-Gly-Asp (RGD) і сайти зв'язування, специфічні для двох основних рецепторів клітинної поверхні — $\alpha v \beta 3$ і CD44 [12]. Для реалізації біологічних ефектів OPN зв'язується з такими рецепторами, як інтегрини за допомогою 2 основних доменів Arg159-Gly-Asp161 (RGD) і Ser162-Val-Val-Tyr-Gly-Leu-Arg168 (SLAYGLR). RGD-домен зв'язується з $\alpha(v)$ -вмісними інтегринами: $\alpha v \beta 1$, $\alpha v \beta 3$, $\alpha v \beta 5$, $\alpha v \beta 6$, $\alpha 4 \beta 1$, $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha 8 \beta 1$ та $\alpha 9 \beta 1$, тоді як домен SLAYGLR (SVVYGLR у людини) зв'язується з $\alpha 9 \beta 1$, $\alpha 4 \beta 1$ та $\alpha 4 \beta 7$, а також із CD44, тим самим регулюючи клітинні процеси, такі як біомінералізація, реконструкція тканин та імунна відповідь. Структура RGD у ряді білків відповідає за взаємодію з рецепторами родини інтегринів, що знаходяться на поверхні клітин, а також за взаємодію клітин з доменом білка фібронектину. Зв'язування RGD з $\alpha v \beta 3$ сприяє активації рецепторів епідермального фактора росту (epidermal growth factor receptor — EGFR) та ERK-сигнального каскаду [13–15].

Експресія OPN знаходиться під комплексним, системним контролем таких регуляторів, як: NO, інтерлейкіни (interleukin (IL)-1, IL-1 β , IL-2, IL-3), інтерферон (interferon- γ — IFN- γ), основний фактор росту фібробластів (basic-fibroblast growth factor — b-FGF), фактор некрозу пухлин (tumor necrosis factor — TNF), ангіотензин II (angiotensin II —

Ang II), трансформувальний фактор росту β (transforming growth factor- β — TGF- β) та α (TNF- α), паратиреоїдний гормон. Також відомо, що на експресію OPN впливають фактори транскрипції Runx2 (він же Cbfa1) і osterix (Osx). Зв'язуючи промотори Col1 α 1, Bsp, Opn, ці фактори здатні регулювати транскрипцію гена *SPP1* [16].

Підвищення експресії OPN відбувається під дією різноманітних агентів: зростання рівня кальцитріолу призводить до підвищення його транскрипції, трансляції та секреції. Це пояснюється наявністю в промоторі гена *SPP1* високоспецифічного елемента — вітаміну D (vitamin D response element — VDRE), а позаклітинний неорганічний фосфат (ePi) відіграє роль модулятора експресії [17]. До сигнальних молекул, що активують експресію OPN, належать рецептор тирозинового шляху, Wnt та NF- κ B. Експресія матрицелюлярного білка OPN у макрофагах регулюється низкою кіназ: фосфоінозитид-3-кіназою (phosphoinositide 3-kinases — PI3K) [18], позаклітинною сигнально-регульованою кіназою (extracellular signal-regulated kinase — ERK) та c-Jun NH2-кінцевою кіназою (c-Jun N-terminal kinases — JNK) [19].

Зазвичай OPN людини експресується у різних тканинах організму і відіграє важливу роль у різноманітних біологічних процесах, а також причетний до багатьох захворювань (серцево-судинні, цукровий діабет, прозапальні захворювання, фіброз, нирково-кам'яна хвороба, загоєння ран та рак). В останні роки накопичуються дані, що аберантна експресія OPN тісно пов'язана з прогресуванням та метастазуванням при деяких типах пухлин, перш за все — РМЗ та РПЗ [20]. OPN може брати участь у регуляції мікрооточення пухлини, впливаючи як на злоякісно трансформовані, так і зосереджені навколо них клітини. Ген *OPN* вважають фактором, що впливає на рівень OPN, модулюючи ризику розвитку раку та його наслідки [21].

Складні взаємодії між пухлиною і клітинами-господарями регулюють системне поширення новоутворень — процес, який починається в місці первинної пухлини та продовжується, поки пухлинні клітини не відокремлюються від загальної маси пухлини і не починають мігрувати в кров або лімфатичні судини. Метастатичні клітини колонізують органи-мішені, здатні виживати і зростати у віддалених місцях, зокрема у кістках. У цьому контексті OPN, мабуть, є ключовим фактором, що визначає перехресні перешкоди між раковими клітинами та мікрооточенням, що, у свою чергу, модулює ухилення від імунного контролю. Експериментальними даними показано, що таке ухилення відбувається шляхом регуляції поляризації макрофагів, рекрутингу та інгібування Т-клітин у мікросередовищі пухлини. Оскільки OPN гіперекспресується в декількох карциномах людини та бере участь у запаленні, прогресуванні пухлини та метастазуванні, він є однією з найбільш привабливих мішеней для розробки засобів лікування хворих на рак [11, 22].

Крім того, встановлено, що OPN у взаємодії з металопротеїназами відіграє значну роль у розвитку РМЗ і вважається прогностичним маркером. При ожирінні, яке розцінюється як хронічне рецидивне багатофакторне захворювання, що має біомеханічні та психосоціальні наслідки і негативно впливає на здоров'я людини (у тому числі на перебіг онкологічних захворювань), функція OPN суттєво підсилюється завдяки розщепленню металопротеїнази, і це додатково є фактором ризику несприятливого перебігу онкопатології [23].

Іншим білком, що бере активну участь у ремодельованні кісткової тканини, є ON — матрицелюлярний, кальцій-зв'язувальний протеїн. У кістковому мікрооточенні ON є найпоширенішим білком матриксу, який має високий рівень експресії на ранніх етапах остеобластної диференціації і є критичним для підтримки кісткової маси. Кодуючий ген *SPARC* знаходиться на 5-й хромосомі та має локалізацію 5q31-q33: складається з 10 екзонів та 9 інтронів. Експресію *SPARC* виявлено у скелетних м'язах та плаценті, кістках, хрящах, нирках, легенях, очах, ендотелії, тромбоцитах, кровотворних органах та лімфовузлах, ПЗ та МЗ [24]. Цей протеїн містить 286 амінокислотних залишків масою 40 кДа. Поліпептид ON складається із 4 доменів: перший N-кінцевий домен збагачений залишками глутамінової кислоти та є місцем зв'язування іонів кальцію; другий збагачений цистеїновими залишками; третій є гідрофільною ділянкою; четвертий містить специфічну для кальцій-зв'язувальних білків структуру — C-кінцевий EF-hand мотив (спіраль-петля-спіраль), який повністю виходить у міжклітинне середовище і в якому виділяють колаген-зв'язувальні сайти [25]. До регуляції експресії *SPARC* залучено 18 мікроРНК, серед яких 4 з високим доказовим зв'язком — мікроРНК-29a-3р, мікроРНК-29b-3р, мікроРНК-29c-3р, мікроРНК-767-5р.

ON є кислим білком з великим вмістом цистеїну і характеризується багатофункціональністю. Він відіграє суттєву роль у процесах інвазії і метастазування, визначається значною експресією у високометастатичних пухлинах і незначною (або її відсутністю) — у менш метастатичних типах новоутворень з аберантним промоторним метилюванням. При високометастатичних пухлинах (гліобластома, меланома, РМЗ та РПЗ) ON спричиняє метастазування в кістки та епітеліально-мезенхімальний перехід. Проте цей білок може діяти як протипухлинний фактор щодо антиангіогенезу, апоптозу, інгібування проліферації клітин та зупинки клітинного циклу. Такий ефект спостерігається у менш метастатичних пухлинах, таких як нейробластома, рак яєчника, підшлункової залози, колоректальний рак та рак шлунка [26, 27].

Виникнення метастазів — це складний молекулярно-біологічний процес, у якому задіяні як зміни з боку самих пухлинних клітин, так і кісткової ніші, у яку вони мігрують з первинного осередку. Для того,

щоб прижитися у кістковій тканині, метастатичні клітини повинні набути специфічних для органу ознак. До цього часу не існує ефективних предикторів, які б могли допомогти в прогнозуванні перебігу злоякісного процесу. На сьогодні доведено, що злоякісно трансформовані клітини, які мігрували з первинного осередку у кістку, впливають на секрецію білків кісткового мікрооточення, зокрема матрично-клітинного білка ON з подальшою передачею типівих для метаболізму кістки сигналів, що контролюються Runx2. Мегакаріоцити кісткового мозку, вочевидь є одним з основних джерел, які беруть участь у формуванні остеобластної ніші, впливають на фенотип і колонізацію метастазування [28, 29].

На прикладі РПЗ показано вплив мікрооточення пухлини на агресивність росту пухлинних клітин. В експериментах *in vitro* та *in vivo* проведено виділення 2 ліній сингенних клітин (індолентних та агресивних) шляхом відбору *in vivo* з імплантацією стовбурових клітин типу PC3mm у великогомілку кістку. Виявилось, що індолентні клітини характеризуються «dormant phenotype», тоді як агресивні клітини відрізнялися швидкістю росту у кістки *in vivo*. Однак швидкості зростання у культурі обох типів клітин були схожими, що вказує на роль мікрооточення у регуляції активності росту [30].

ON є одним з відомих матрицелюлярних білків, який моделює взаємодію між клітинами та позаклітинним матриксом і пов'язаний з «балансом» білої жирової тканини, а також з ліпогенезом і ліполізмом під час адипогенезу. Це має суттєве значення, оскільки ожиріння пов'язане з розвитком широкого спектру злоякісних пухлин, зокрема РМЗ, ендометрію та ін. Однак ON може запобігати гіпертрофії адипоцитів жирової тканини та гіперплазії попередників адипоцитів. Крім інгібувальної ролі в адипогенезі, ON бере участь у клітинному циклі, проліферації клітин, інвазії, адгезії, міграції, ангиогенезі та апоптозі [31].

У нормі ON секретується у кістці остеобластами та завдяки здатності зв'язуватися з іонами кальцію й молекулами колагену сприяє процесам мінералізації тканин. Загалом у мінералізованих тканинах він є найпоширенішим неколагеновим білком матриксу. Крім колагену, ON може зв'язуватися й з іншими елементами мікрооточення. Показано здатність цього протеїну приєднуватися до інтегрину та до інтегрин-зв'язаної кінази. Це може свідчити про участь ON у процесах перебудови міжклітинного матриксу органу чи тканини та пояснює кореляцію між рівнем експресії протеїну і ступенем ремоделювання їх стромального компоненту [32, 33].

У більшості типів раку з початком прогресування росту пухлини спостерігається підвищення рівня експресії ON [34]. Єдиною групою злоякісних захворювань, за яких рівень цього білка знижується, є скупність усіх типів лейкемії [35]. Існують свідчення, що на ранньому етапі розвитку раку підшлункової залози відбувається підвищення секреції цього протеїну нормальними міофібробластними зірчастими

клітинами цього органу. Отже, зростання секреції ON може слугувати маркером онкогенезу на ранніх стадіях розвитку пухлини підшлункової залози [36].

У разі підвищення експресії ON знижується рівень фактору росту ендотелія судин (vascular endothelial growth factors — VEGF), гіперекспресія ON в тканині призводить до гіпоксії [37]. Це є основною причиною зміни метаболічних каскадів у трансформованих клітинах з подальшим ускладненням таких змін та зростанням стійкості клітини до зовнішніх впливів [38]. Важливою функцією є залучення до регуляції експресії MMP-2, яка, окрім здійснення ангиогенезу, задіяна у процесах інвазії та метастазування [39]. Експериментально показано, що у разі повного блокування експресії ON у клітинах ліній раку підшлункової залози відбувалося зниження їх інвазивної активності та припинення міграційних процесів [40].

Власні дані імуноцитохімічного дослідження експресії ON в клітинах ліній РМЗ та РПЗ людини вказують на наявність зв'язку між рівнем цього протеїну та ступенем злоякісності досліджених клітин. Так, у клітинах низького ступеня злоякісності РМЗ та РПЗ людини, а саме MCF-7 та LNCaP, значення експресії становило $165,3 \pm 7,3$ та $175,0 \pm 6,2$ балів H-Score відповідно та було достовірно нижчим порівняно з аналогічними показниками клітин високого ступеня злоякісності — MDA-MB-213 ($242,5 \pm 9,0$ балів H-Score), DU-145 ($231,6 \pm 4,6$ балів H-Score) [41, 42].

Важливим є встановлений факт зв'язку між ON та іншим протеїном системи RANKL/RANK/OPG — BMP-7. Він полягає в тому, що у метастатичних клітинах ON може впливати на експресію та секрецію BMP-7, тим самим пригнічуючи ріст пухлинних клітин у кістковій тканині, їх проліферацію та перебудову власне кісткової тканини. Також експериментально підтверджено, що ON лише пригнічує пухлинні клітини у кістках, вводючи їх у стан спокою. Зниження його концентрації у міжклітинному середовищі призводить до швидкого розростання метастазів [43].

BMP-7 — це морфогенетичний кістковий протеїн-7, який належить до суперродини трансформувальних факторів росту β -подібних цитокінів, які мають подвійну дію: у якості супресорів пухлини або промоторів, залежно від типу клітин і ступеня їх диференціювання. BMP-7 людини є глікозильованим дисульфід-зв'язаним гомодимерним білком, що складається з 431 амінокислоти загальною молекулярною масою 49 кДа. Він синтезується як великий білок-попередник та досягає функціональної активності шляхом протеолітичного видалення сигнального пептиду і пропептиду. BMP-7 є висококонсервативним серед різних видів тварин. Амінокислотні послідовності зрілого BMP-7 людини і мишей ідентичні на 98%. Ген *BMP7* розташований на довгому плечі 20-ї хромосоми в сегменті 13.31 [44].

Активність BMP-7 регулюється різними сигнальними шляхами через експресію позаклітин-

них антагоністів, інгібіторних клітинних сигнальних компонентів. Центральну роль у цьому процесі відіграє сигнальний шлях NF- κ B [45]. Встановлено, що до регуляції експресії BMP-7 може бути залучено 111 різних мікроРНК, серед них 4 з високими доказовими зв'язками (мікроРНК-22-3р, мікроРНК-34а-5р, мікроРНК-342-3р, мікроРНК-542-3р), 17 з низьким доказовим зв'язком, а решта 90 — імовірно передбачувані взаємодії.

Протеїн BMP-7 володіє великим спектром різноманітних функцій. Він відіграє ключову роль у розвитку тканини нирок, бурої жирової тканини, хрящової та кісткової тканин. Цей протеїн індукуює формування ектопічних кісток і може сприяти загоєнню переломів, що наразі використовується в терапевтичній практиці (замінник трансплантату кістки — імплантат OP-1TM, виготовлений з рекомбінантного людського BMP-7). BMP-7 здатний викликати експресію всіх маркерів диференціації остеобластів (лужної фосфатази, остеокальцину) у плюрипотентних мезенхімальних стовбурових клітинах [46]. BMP-7 індукуює фосфорилування SMAD1 і SMAD5, які в подальшому активують транскрипцію численних остеогенних генів. Загалом BMP-7 є біологічним регулятором росту, диференціювання, хемотаксису, апоптозу різних типів клітин, включаючи епітеліальні, мезенхімальні, гематопоетичні та нейрональні клітини, бере участь у пренатальному розвитку та постнатальному рості, ремодельованні різноманітних тканин і органів [47].

Зміни щодо функціональної активності BMP-7 пов'язані з виникненням численних патологічних станів. Порушення регуляції сигнальної системи BMP-7 призводить до розвитку пухлинного процесу. BMP-7 виступає в ролі антагоніста TGF- β , який, у свою чергу, є одним з основних модуляторів канцерогенезу. Показано, що TGF β -1 пригнічує ріст та поділ нормальних клітин людини, але посилює ріст та міграцію трансформованих пухлинних клітин [48]. BMP-7 інгібує активність теломерази. Застосування рекомбінантного BMP-7 людини викликає репресію гена зворотної транскриптази (human telomerase reverse transcriptase — hTERT), укорочення теломерів і затримки росту пухлини. Гіперекспресія Noggin інгібувала зростання позитивних остеолітичних уражень, індукованих BMP-7 [49].

Встановлено, що BMP-7 інгібує TGF β 1-активовані гени епітеліально-мезенхімального переходу у клітинах РМЗ шляхом зниження рівня експресії віментину і підвищення Е-кадгерину, що призводить до значного зниження росту клітин і метастазування. Показано, що BMP-7 має високий показник експресії при РМЗ [50, 51]. BMP-7 відіграє подвійну роль у прогресуванні раку. Його вплив залежить від концентрації та сигнального шляху, через який він діє. На початкових стадіях РМЗ цей протеїн вважається онкосупресором, проте на пізніх етапах розвитку він є одним з основних індукторів міграції та розвитку метастазів [52].

Експериментальні дані свідчать про те, що додавання екзогенного BMP-7 стимулювало ріст клітин у 2 лініях РМЗ (BT-474, MDA-MB-231) і призводило до зниження росту в 4 (HCC1954, MDA-MB-361, T-47D і ZR-75-30). Зміни росту були зумовлені різними механізмами. Інгібування росту відбулося шляхом зупинки клітинного циклу в G1-фазі у клітинах BT-474, тоді як у клітинах MDA-MB-231 BMP-7 захищав клітини від апоптозу [53]. Показано, що BMP-7 бере участь у морфогенезі ПЗ, а його експресія регулюється андрогенами. BMP-7 стимулює експресію VEGF в клітинах РПЗ, що приводить до підвищення проостеобластної активності у пухлині [54].

BMP-7 індукуює старіння в стовбурових клітинах РПЗ шляхом активації гена-супресора метастазів *NDRG1*. Цей ефект BMP-7 також опосередковувався іншим типом рецептора BMPRII. Експресія BMPRII обернено корелює з рецидивом та метастазами в кістці у хворих на РПЗ. Важливо, що спричинене BMP-7 старіння в пухлинних клітинах було зворотним після його вилучення. Отже, сигнальний шлях BMP-7 — BMPRII — p38 — *NDRG1* відіграє вирішальну роль у метастазуванні РПЗ у кістці та свідчить про потенційну терапевтичну користь BMP-7 при лікуванні пацієнтів з рецидивними метастатичними захворюваннями [55]. Результатами власних досліджень доведено, що клітини високого ступеня злоякісності РПЗ людини лінії DU-145 характеризуються достовірно вищими показниками BMP-7 порівняно з клітинами лінії LNCaP низького ступеня злоякісності. Генетичними дослідженнями доведено, що у 20% клітин РПЗ було визначено анеусомію 20-ї хромосоми, на якій знаходиться ген *BMP-7*. Поясненням встановленого факту при цьому захворюванні може бути надмірна експресія у клітинах мРНК BMP-7 [56].

Дані літератури свідчать про те, що експресія цього протеїну обернено корелює зі старінням організму в цілому, що пояснює прогресування розвитку РПЗ та його ускладнення з початком процесів метастазування. Експресія BMP-7 поступово знижується зі збільшенням клінічної стадії РПЗ. Однак у разі розростання метастазів у кістках рівень BMP-7 у цих вторинних пухлинах знову підвищується [48].

В експериментах *in vitro* показано, що BMP-7 має високий рівень експресії в первинних кастраційно-стійких клітинах РПЗ. Інгібіторні ефекти BMP-7 проявляє залежно від статусу диференціації пухлинних клітин і їх мікрооточення [57]. BMP-7-індукована активація PI3K та Erk сприяє морфологічній конверсії епітеліально-мезенхімального переходу клітин лінії РПЗ PC-3 [58]. У парі з TGF- β він є досить сильним супресором епітеліально-мезенхімального переходу і водночас активатором синтезу Е-кадгерину. BMP-7 здатний інгібувати апоптоз, що був індукований недостатністю сироватки в поживному середовищі в лінії клітин C4-2B (варіант клітинної лінії РПЗ LNCaP) [59].

ВМР-7 пригнічує проліферацію клітин лінії LNCaP, яка є чутливою до андрогенів, стимулює експресію рецепторів андрогенів і генів, пов'язаних з диференціацією. Антиапоптотична активність ВМР-7 у лініях клітин LNCaP і C4-2В була пов'язана зі значною зміною рівнів проапоптотичного білка Вах або антиапоптотичних білків Bcl-2, Bcl-xl і X-пов'язаного інгібітора апоптозу [60].

Встановлено, що у разі додавання до поживного середовища екзогенного ВМР-7 і культивування клітин ліній PC-3 і DU-145 не виявлено інгібування їх росту. Проте клітини PC-3 відповіли на це підвищеним інвазивним потенціалом та експресією міофібробластного маркера SMA і зниженням рівня маркера клітинної адгезії E-кадгерину, що вказує на фенотип епітеліально-мезенхімального переходу, а на морфологічному рівні зміною форми на веретеноподібну [54]. Крім того, показано, що ВМР-7 інгібує проліферацію клітин лінії LNCaP, діючи через андрогенний рецептор, підвищує експресію генів, асоційованих з диференціюванням, і знижує рівні деяких регульованих транскриптів [61].

У власному експериментальному дослідженні в системі *in vitro* під час порівняння експресії маркерів ремоделювання кістки (OPN, ON, ВМР-7) на клітинних лініях РМЗ та РПЗ, які відрізняються за фенотипом злоякісності, встановлено, що високозлоякісні клітини РМЗ лінії MDA-MB-231 характеризуються значно вищою експресією OPN та ON на тлі зниження експресії мРНК SPARC та ВМР7. Поряд із цим показано, що у високозлоякісних клітинах РПЗ лінії DU-145 експресія мРНК SPP1 та SPARC була значно вищою порівняно з низькозлоякісними клітинами LNCaP. Лінія MDA-MB-231 характеризувалася значно вищою експресією мікроРНК-10b, -27a, -29b, -145 та -146a. У клітинах DU-145 зафіксовано достовірно нижчі рівні експресії мікроРНК-27a та -145 на фоні підвищення рівня мікроРНК-29b та -146a. Отже, фенотип високої злоякісності клітин РМЗ і РПЗ відрізняється високим рівнем експресії білків, які ремоделюють кістку, що може бути викликано порушенням регуляції їх експресії на епігенетичному рівні [62].

Зрештою проведений аналіз даних фундаментальних досліджень щодо ролі основних матрицелюлярних білків, які пов'язані з процесом ремоделювання кісткової тканини, а саме OPN, ON, ВМР-7, дозволив скласти уявлення про молекулярні портрети кожного з них, спектр функцій, які вони відіграють у канцерогенезі, пухлинній прогресії та метастазуванні. Визначено загальні риси та відмінні особливості як за структурними, так і функціональними характеристиками цих біополімерів. Встановлено, що це багатофункціональні білки, які виконують певні функції і по-різному експресуються в нормальних тканинах, а також у разі їх злоякісної трансформації. Виявилось, що ті функції, які білки ремоделювання кістки виконують в організмі, можуть бути притаманні лише кожному з них або спільними для всіх,

зокрема вплив (стимуляція чи пригнічення) на процеси проліферації, інвазії, міграції клітин, апоптозу, і, насамкінець, метастазування. Слід зазначити, що білки ремоделювання кісткової тканини секретуються як пухлинними клітинами, так і мезенхімальними, зокрема пухлино-асоційованими фібробластами, міофібробластами, а також макрофагами та лімфоцитами. У багатьох експериментальних дослідженнях висвітлено механізми, за якими за участі того чи іншого білка ремоделювання із залученням відповідних сигнальних шляхів здійснюються ці найважливіші біологічні процеси при виникненні пухлин і їх прогресії, включно з розвитком метастазів. Експериментальними дослідженнями показано зв'язок між рівнем експресії кожного білка і ступенем злоякісності пухлинних клітин, зокрема на культурах тканин хворих на РМЗ та РПЗ. Також доведено участь білків ремоделювання в епітеліально-мезенхімальному переході. Усе вищезазначене дало підстави для проведення дослідниками більш конкретного обґрунтування та клінічної перевірки і підтвердження можливостей застосування результатів фундаментальних розробок щодо білків ремоделювання в онкологічній практиці для діагностики, прогнозування перебігу пухлинного процесу та визначення нових підходів до лікування хворих.

ОБґРУНТУВАННЯ МОЖЛИВОСТЕЙ ЗАСТОСУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ФУНДАМЕНТАЛЬНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ БІЛКІВ РЕМОДЕЛЮВАННЯ КІСТКОВОЇ ТАКАНИ В КЛІНІЧНІЙ ОНКОЛОГІЇ

Під час вивчення біологічних властивостей біополімерів, що задіяні в канцерогенезі, дослідники спрямовують свої зусилля не тільки на дослідження їх структури та функціональних особливостей, але й приділяють значну увагу питанню можливостей застосування отриманих відомостей у практичній онкології, зокрема для діагностики, прогнозування та у лікуванні хворих на рак, особливо у якості біологічних мішеней. На цьому етапі досліджень вже накопичено достатню кількість повідомлень, що базуються на гістологічному матеріалі пацієнтів з онкопатологією різного генезу, про кореляційні зв'язки між експресією певних білків ремоделювання кісткової тканини (OPN, ON, ВМР-7), яка визначається за допомогою імуногістохімічного методу і вважається найбільш доступною методикою для застосування у практичній онкології, з показниками клінічного перебігу пухлинного процесу.

Так, встановлено, що рівні експресії OPN у пухлинній тканині корелюють з прогресуванням і метастазуванням злоякісних новоутворень різного генезу. Про це свідчать результати як експериментальних, так і клінічних досліджень. Підвищення експресії OPN було виявлено при різних видах раку людини, включаючи РМЗ, РПЗ, рак легені, шлунка, підшлункової залози та колоректальний рак, у гліомах та меланомі [63].

Рядом дослідників на гістологічному матеріалі 434 жінок із застосуванням імуногістохімічного методу було доведено, що різні сплайс-варіанти OPN (маркери) по-різному експресують OPN у тканині МЗ: при гіперплазіях, карциномі *in situ* та інвазивному раку. Показано, що визначені маркери корелюють з ризиком прогресії пухлинного процесу і є прогностичними для наступної інвазивної хвороби та виживаності. Встановлено, що велике значення щодо тривалості життя хворих на РМЗ має інтенсивність забарвлення різних сплайс-варіантів OPN та їх комбінації у гістологічних препаратах на момент встановлення діагнозу. Так, серед пацієнок, які померли, у 80% було констатовано високий сумарний бал. Дослідники вважають, що імуногістохімічні варіанти сплайсингу OPN можуть створювати основу для дуже надійного прогнозу та допомогти у прийнятті рішень стосовно лікування раних уражень МЗ [64].

У іншому дослідженні щодо оцінки прогностичної цінності OPN, особливо його сплайс-варіантів, на матеріалі хворих на РМЗ (1567 пацієнок) також було показано високий рівень експресії OPN і пов'язану з ним низьку виживаність, особливо при OPN-с варіанті (коефіцієнт ризику = 2,14; 95% довірчий інтервал 1,51–3,04 та $p < 0,0001$; модель з фіксованими ефектами) з невиявленою гетерогенністю ($I(2) = 0\%$). Вважається, що значний рівень експресії сплайс-варіанту OPN-с є найбільш надійним прогностичним маркером, це асоціюється з низькою виживаністю хворих на РМЗ [65]. Оскільки OPN надекспресується у деяких гістогенетично різних за походженням формах карцином і впливає на прогресування пухлини та метастазування, вважається, що при націлюванні на OPN у терапевтичних цілях необхідно враховувати гетерогенні функції безлічі його форм щодо утворення, прогресії та метастазування злоякісних пухлин [11].

Окрім вихідного рівня експресії OPN у пухлинах, дослідники надають великого значення базовому рівню OPN у плазмі крові. Так, пацієнти з базовим рівнем OPN $>63,6$ нг/мл мали значно більшу вірогідність смерті від РМЗ, ніж особи з таким же діагнозом і базовим рівнем $<63,6$ нг/мл (коефіцієнт ризику = 3,4; 95% довірчий інтервал 1,4–11,3; $p = 0,011$). У цілому вихідний рівень OPN був достовірно пов'язаний з виживаністю хворих. Отже, базовий рівень OPN у плазмі крові пацієнтів з РМЗ вважають прогностичним біомаркером [66].

У дослідженні, спрямованому на оцінку рівня OPN у сироватці крові і ендогенних ангіогенних факторів пухлини, таких як фактор росту ендотелію судин, VEGF R2, ендостатин, ангіостатин та тромбоспондин 1, у хворих на РПЗ було показано високий рівень ангіогенних факторів у цих пацієнтів і визнано, що рівень OPN може бути показником клінічної стадії захворювання. Це пов'язано з тим, що вміст OPN позитивно корелював з клінічною стадією захворювання за TNM ($r = 0,36$; $p = 0,02$). Водночас, відзначено від'ємну кореляцію між рів-

нем OPN та концентрацією гемоглобіну ($r = -0,33$; $p = 0,04$) [67].

Дані про те, що білок OPN тісно пов'язаний з процесами проліферації та метастазування, підтверджено результатами досліджень, які свідчать про експресію OPN у хворих на РПЗ вже на ранніх стадіях розвитку новоутворення, а високий рівень цього білка спостерігається у розвинених аденокарциномах та метастатичних ураженнях. Крім того, є клінічні підтвердження того, що за рівнем OPN можна здійснювати клінічну діагностику та прогнозувати пухлинний процес у хворих на РМЗ. Зокрема показано, що рівень OPN у сироватці крові пацієнтів з РМЗ підвищувався у 10 разів у пацієнтів з дисемінованою формою раку, а найбільш високі концентрації були пов'язані з вищим рівнем злоякісності пухлин [6].

Багатьма дослідженнями підтверджено, що високі показники експресії OPN у пухлинній тканині та рівень у плазмі крові корелюють з важким клінічним перебігом захворювання, несприятливим прогнозом та низькими показниками виживаності у хворих на РМЗ, РПЗ та плоскоклітинну карциному стравоходу [68, 69].

Дослідження сироваткового OPN у пацієнтів з РМЗ з різними молекулярними підтипами показало, що високий рівень OPN спостерігався у найбільш злоякісних підтипах цього захворювання: Her2/neu та тричі негативний рак ($64,4 \pm 42,3$ та $55,9 \pm 34,7$ нг/дл) і знижувався при Luminal A та B підтипах ($36,3 \pm 32,2$ та $38,4 \pm 33,1$ нг/дл відповідно) ($p = 0,017$). Крім того, встановлено, що високий рівень OPN у сироватці крові значно корелював з дисемінованими вісцеральними та кістковими метастазами. Зазначене свідчить про те, що OPN є надійним прогностичним біомаркером для метастатичного РМЗ [70]. Водночас надходили повідомлення про те, що при порівнянні тканинного мРНК *SPPI* — гена, що кодує OPN, з експресією самого OPN у хворих на РМЗ встановлено, що мРНК *SPPI* слід вважати більш значущим прогностичним маркером порівняно з білком OPN пухлинної тканини щодо виникнення рецидиву захворювання [71].

OPN експресується в нормальній тканині МЗ клітинами секреторного епітелію під час лактації, іноді епітеліальними клітинами МЗ, що не лактують, і локалізується в апікальній ділянці клітин [72]. Водночас зазначено, що у хворих на РМЗ OPN-а та OPN-b виявляються винятково в цитоплазмі пухлинних клітин, а OPN-с знаходиться переважно в ядрах [73].

Повідомляється, що OPN також експресується макрофагами, що інфільтрують пухлину [74]. Згідно з даними [75], переважна більшість новоутворень (80,0%) хворих на РМЗ характеризувалася експресією мРНК-ізоформи OPN-с, тоді як мРНК повнорозмірного сплайс-варіанту OPN-а детектувалася у нетрансформованій тканині МЗ. Зауважують, що наявність низького рівня мРНК OPN-b

було встановлено у 90,0% новоутворень пацієнтів з РМЗ та у 27,0% випадків нормальної тканини МЗ.

Виявлено, що високі рівні експресії OPN спостерігаються у пухлинній тканині хворих на поширений рак шлунка і асоціюються з низькими показниками виживаності [76]. Крім того, у цього контингенту пацієнтів спостерігалось підвищення рівня мРНК OPN в пухлинній тканині, яке корелювало зі стадією захворювання, наявністю метастазів у лімфатичних вузлах, а також з нижчим рівнем загальної виживаності [77]. Рівень експресії OPN корелював зі стадією захворювання, ступенем диференціювання і розміром новоутворень у пацієнтів з меланою [20, 78].

Продемонстровано відмінності в біологічних ефектах ізоформ OPN на прикладі раку шлунка [79]. Показано, що OPN-b впливає на виживання пухлинних клітин, тоді як OPN-c стимулює метастатичну активність за рахунок підвищення рівня секреції MMP-2, IL-8 та uPA. Крім того, секреторний та внутрішньоклітинний OPN по-різному впливають на епітеліально-мезенхімальний перехід. Так, на клітинних лініях РМЗ встановлено, що секретований OPN запускає епітеліально-мезенхімальний перехід у первинній пухлині, а внутрішньоклітинний OPN індукує його у віддалених метастазах [80, 81].

Згідно з даними літератури, значна кількість злоякісних пухлин характеризується високими показниками експресії іншого білка ремодлювання кісткової тканини ON [82]. Зокрема, показано, що високі значення експресії ON асоціюються з прогресуванням деяких типів пухлин, включаючи РМЗ, колоректальний рак, рак стравоходу, меланому, пухлини мозку та гепатоцелюлярну карциному. Також встановлено, що високі рівні експресії ON пов'язані з поширеними первинними і метастатичними меланомами, тоді як його рівні в клітинах неусів або нормальних меланоцитів були низькими [83].

На противагу цьому для недрібноклітинного раку легені характерною є відсутність експресії ON у пухлинних клітинах [84]. Зокрема, наявність цього протеїну виявляли лише у 5,0% проаналізованих випадків. Варто зазначити, що експресію ON стромальними фібробластами у хворих на рак легені визначали у 37,0% випадків. Проте експресія ON в стромі асоціювалася з некрозом новоутворення, наявністю метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах [84].

Існує думка про те, що ON може бути використано у якості мішені для лікування хворих на рак легені, підшлункової залози, РМЗ. Відомо про спорідненість та афінність між ON та альбуміном. Вважають, що цю властивість можна використовувати для таргетної терапії, застосовуючи наночастинки в комбінації з хіміопрепаратами [85, 86].

Під час з'ясування прогностичної цінності експресії ON у пухлинних і стромальних клітинах тричі негативного РМЗ виявилось, що позитивна експресія спостерігалася у злоякісно трансформованих клітинах і становила 42,4%. Крім того, позитивна і найвища експресія ON визначена у 88,1% пухлино-асоці-

йованих фібробластах, у макрофагах інфільтрату вона становила 77,1%, в ендотеліальних клітинах — 75,2%, у лімфоцитарних інфільтратах — 9,8%. Відповідно, виживаність без рецидиву захворювання була суттєво нижчою у пацієнтів з високим рівнем ON у пухлино-асоційованих фібробластах. При багатофакторному аналізі експресію ON у цих клітинах було визнано як незалежний прогностичний фактор. Слід зазначити, що експресія ON спостерігалася у різних субпопуляціях пухлино-асоційованих фібробластів, включаючи міофібробласти та запальні фібробласти, які залучені до багатьох процесів, пов'язаних з пухлиною, включно з метастазами. Крім того, автори встановили, що ON, який секретується фібробластами, відіграє пропухлинну роль, пригнічуючи адгезію клітин тричі-негативного РМЗ і стимулюючи їх рухливість та інвазію. У цілому ці дані свідчать про необхідність розглядати ON, що секретується пухлино-асоційованими фібробластами, як нову терапевтичну мішень при тричі негативному РМЗ в аспекті лікування для модуляції стромі пухлини [87].

Питання щодо з'ясування ролі ON у прогресуванні пухлинного процесу піднімається у багатьох випробуваннях. Так, в імуногістохімічному дослідженні, спрямованому на визначення експресії цього білка у 26 зразках тканини нормальної МЗ, 76 — протокової карциноми *in situ* та 198 — розвиненого РМЗ, встановлено, що експресія цього білка в епітелії МЗ збільшувалася від тканини нормальної МЗ через карциному *in situ* і досягала максимуму у сформованих пухлинах. Висока експресія ON у злоякісно трансформованих клітинах асоціювалася з гіршою безрецидивною та загальною виживаністю ($p = 0,002$ і $p = 0,048$). Таким чином, доведено, що експресія ON може бути корисним біомаркером прогнозу захворювання у пацієнтів з РМЗ. Враховуючи визначену кореляцію між експресією ON та MMP-2 ($p > 0,05$), вважають, що ON може контролювати деградацію позаклітинного матриксу за допомогою активації MMP-2 [88].

Імуногістохімічне дослідження експресії ON у первинних пухлинах МЗ та кісткових метастатичних вогнищах РМЗ показало, що зниження експресії ON у стромальному компоненті РМЗ пов'язане з метастазуванням у кістки. Експериментально викликані посилення та втрата функції цього білка свідчать, що ON пригнічує міграцію та інвазію клітин РМЗ, а також активацію остеокластів у мікрооточенні РМЗ. Враховуючи зазначене, ON відіграє важливу роль у метастазуванні раку у кістки і може бути перспективною терапевтичною мішенню для лікування пацієнтів з метастазами цієї онкопатології у кістки [89].

Експресія білка ON в основному спостерігається в цитоплазмі пухлинних клітин та стромальному компоненті пухлинної тканини і має темно-коричневе забарвлення. В одному з досліджень показано, що експресія ON у злоякісно трансформованих клітинах РМЗ становила 69,3% і позитивна експресія цього білка у тканинах МЗ достовірно не корелювала з віком, менструальним статусом, стадією пухлинно-

го процесу, розміром пухлини, рівнем прогестерону та статусом HER-2 ($p > 0,05$). Продемонстровано кореляцію ON-позитивної експресії з диференціюванням пухлини, експресією рецептора естрогена і метастазуванням у лімфатичні вузли ($p < 0,05$). Трирічна безрецидивна виживаність не відрізнялася ($p > 0,05$) у групах з позитивною і негативною імуністохімічною реакцією на ON і становила 60,8 та 71,2% відповідно. Проте показано тенденцію щодо безрецидивної виживаності хворих з позитивними і негативними за експресією ON пухлинами [90].

З метою можливості застосування ON для передбачення розповсюдження пухлинних клітин з утворенням кісткових метастазів було проведено дослідження, в якому визначалася експресія ON у клітинах МЗ та рівень цього протеїну в плазмі крові за допомогою ELISA. У пацієнтів з карциномою МЗ, що метастазує у кістки, експресія ON (а також сигнал Endothelin 1/ETAR) була значно вищою і зростала, починаючи від дисплазії до метастазу в кістці, проте рівень ON був таким же низьким, як у жінок групи контролю, на відміну від пацієнтів, у яких ніколи не виникали кісткові метастази. Це вказує на те, що циркулюючий ON мав протиадгезивні властивості. У цілому рання ідентифікація ON/Endothelin 1/ETAR була важливою не тільки для раннього визначення кісткових метастазів, але і для розробки методів лікування, що запобігають приживленню метастазів, оскільки часто клітини раку можуть розповсюджуватися до того, як у пацієнтів виявляють первинну пухлину [28].

Продемонстровано, що рівні mPNC SPARC є значно вищими в пухлинній тканині порівняно з неушкодженою тканиною МЗ. Встановлено, що високий рівень SPARC був характерним для новоутворень хворих на РМЗ низького ступеня диференціювання та з наявністю метастазів у регіонарних лімфатичних вузлах. Достовірної залежності між показниками загальної виживаності і рівнем експресії SPARC не було виявлено [91]. Водночас є повідомлення, що, навпаки, низький рівень експресії SPARC у пухлинній тканині хворих на РМЗ асоціювався з розвитком метастазів та низькими показниками безрецидивної виживаності [92]. Особливості експресії ON було описано в стромальному компоненті новоутворень РМЗ. Виявлена сильна цитоплазматична експресія ON у стромальних клітинах, які оточують злоякісно трансформовані тканини, корелювала з рівнем TGF-R1, тоді як у стромальних клітинах неушкоджених раком тканин МЗ експресія ON була відсутня [93].

Дані щодо прогностичного значення показників експресії ON є досить суперечливими і для хворих на РПЗ. Зокрема, існують дані про те, що показники експресії цього протеїну в пухлинній тканині пацієнтів з РПЗ були достовірно вищими порівняно з аналогічними показниками в немалігнізованій тканині ПЗ [94]. Проте деякі дослідники повідомляють про протилежні результати. Так, було встанов-

лено, що рівень експресії ON у нормальній тканині ПЗ чи тканині хворих із доброякісною гіперплазією ПЗ є значно вищим за показники експресії у тканині, ураженій РПЗ [95].

У результаті інших досліджень, проведених на біологічному матеріалі пацієнтів з РПЗ, визначено, що матрицелюлярний білок ON діє як хемотрактантний фактор, який сприяє міграції клітин РПЗ до кісткового мозку. Висока експресія ON спостерігалася у тканинах РПЗ з вищими показниками Глісона. Експериментальними дослідженнями доведено, що ендогенний ON індукуює епітеліально-мезенхімальний перехід, знижуючи експресію Е-кадгерину та цитокератину і підвищуючи виділення N-кадгерину та віментину. Крім того, ON індукуює експресію ряду регуляторних факторів транскрипції. В експериментах *in vitro* показано, що пригнічення ON зменшує міграцію і інвазію клітин, не змінюючи їх проліферацію. Це може вказувати на здатність ON спричиняти прогресування пухлини, змінюючи фенотип злоякісно трансформованих клітин [96].

Високі рівні ON було виявлено в стромальному компоненті пухлинної тканини хворих на колоректальний рак. Крім того, встановлено існування позитивного кореляційного зв'язку між рівнем експресії ON та 5-річною виживаністю пацієнтів, що може вказувати на онкосупресорну функцію протеїну при цій патології [97].

З'ясовується також можливість використання у клінічній практиці фундаментальних даних стосовно білка VMP-7. Імуністохімічне дослідження експресії білка VMP-7 у пухлинній тканині хворих на інвазивний протоковий РМЗ показало, що він локалізується переважно в солідних ділянках новоутворень. У пухлинних клітинах за межами цих ділянок експресія VMP-7 була слабкою або не виявлялася [98]. Такий рівень VMP-7 у первинному РМЗ пов'язаний зі швидким утворенням метастазів у кістках у пацієнтів з VMP-7-позитивними пухлинами. Саме тому його вважають незалежним прогностичним фактором для виявлення ранніх кісткових метастазів. Крім того, транскрипційний шлях VMP-SMAD активується в метастазах кісток при РМЗ [99, 100]. У пацієнтів з VMP-7-позитивними пухлинами високий рівень білка у первинному РМЗ асоціюється зі швидким утворенням метастазів у кістках. Саме тому VMP-7 вважають незалежним прогностичним фактором, який може бути використаний для виявлення ранніх кісткових метастазів. Крім того, встановлено, що у хворих на РМЗ в метастазах кісток активується транскрипційний шлях VMP-SMAD [99].

Існують повідомлення про особливості експресії VMP-7 у пацієнтів з РПЗ з метастазами у життєво важливі органи. Рівні VMP-7 підвищувалися в РПЗ, стійкому до кастрації, у порівнянні з андрогензалежним, тоді як у первинних вогнищах РПЗ експресія білка знижувалася. Інгібіторні ефекти VMP-7 зале-

жали від ступеня диференціювання клітин та мікросередовища пухлини [54].

Зазначається, що низький рівень експресії BMP-7 є фактором, що спричиняє розвиток раку товстої кишки, а високий рівень може стати причиною запалення стравоходу, провокує виникнення «стравоходу Баррета». Експресію BMP-7 було зафіксовано в клітинних мембранах та цитоплазмі пухлинних клітин хворих на рак шлунка [101].

Згідно з результатами [102] високі рівні експресії мРНК BMP-7 корелювали з низькою загальною виживаністю хворих на колоректальний рак. Рівні експресії BMP-7, що були встановлені під час імуногістохімічних досліджень, корелювали з показниками виживаності при меланомі, РМЗ, раку стравоходу та раку шлунка [99, 101, 103, 104].

Експресія BMP-7 у пухлинній тканині хворих на недрібноклітинний рак легені може бути незалежним прогностичним маркером. Показано, що загальна виживаність була достовірно нижчою у пацієнтів з експресією BMP-7 порівняно з групою осіб, у яких цей білок не дав позитивного результату. Рівень експресії BMP-7 корелював з такими клінічними показниками, як розмір новоутворення, наявність метастазів у регіонарні лімфатичні вузли та ступінь диференціювання. Експресія BMP-7 може бути корисним предиктором агресивної активності пухлини та післяопераційного результату у хворих на недрібноклітинний рак легені [105].

Таким чином, згідно з результатами незалежної клінічної перевірки даних фундаментальних досліджень, проведених різними фахівцями, щодо білків ремоделювання кісткової тканини (OPN, ON, BMP-7), достеменно встановлено, що у пухлинній тканині багатьох злякисних новоутворень, перш за все найбільш розповсюджених, зокрема РМЗ та РПЗ, при імуногістохімічному визначенні виявляється підвищена експресія OPN. Клінічно підтверджено існування зв'язку між рівнем експресії різних сплайс-варіантів цього білка та прогресуванням і метастазуванням злякисних новоутворень різного генезу. Також встановлено відмінності в біологічних ефектах різних ізоформ OPN. Найбільш надійним прогностичним маркером, який асоціюється з низькою виживаністю хворих на РМЗ, вважається OPN-с варіант. У більшості пацієнтів з РМЗ спостерігається експресія мРНК ізоформи OPN-с. Деякі дослідники пропонують вважати рівень експресії OPN у пухлинній тканині показником клінічної стадії РПЗ.

Високі значення експресії іншого білка ремоделювання кістки — ON — у пухлинних клітинах хворих на РМЗ, колоректальний рак, рак стравоходу, меланому, гепатоцелюлярну карциному розглядаються як прогностично значущі та асоціюються з прогресуванням пухлинного процесу. Водночас відзначено відсутність експресії ON у пухлинних клітинах недрібноклітинного раку легені. Цікавими є дані про те, що ON, який секретується пухлино-асоційованими фібробластами у тричі-негатив-

ному РМЗ, відіграє протипухлинну роль, і це розцінюється дослідниками як нова терапевтична мішень в аспекті лікування для модуляції стромального компонента пухлини. Зіставлення експресії ON у первинному осередку РМЗ та кісткових метастазах показало зниження експресії цього білка у стромальному компоненті пухлини, що пов'язують з метастазуванням у кістки.

Дослідження експресії білка BMP-7 у хворих на інвазивний протоковий РМЗ виявило локалізацію цього протеїну у солідних ділянках новоутворень. Встановлено, що високий рівень BMP-7 у первинному осередку РМЗ асоціюється зі швидким утворенням метастазів у кістки. Тому цей показник визнано як незалежний прогностичний.

Отже, результати фундаментальних досліджень щодо білків ремоделювання кісткової тканини визнані як варті використання в онкологічній практиці, особливо для прогнозування перебігу пухлинного процесу і у якості терапевтичних мішеней при лікуванні хворих на рак.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Elfar GA, Ebrahim MA, Elsherbiny NM, Eissa LA. Validity of osteoprotegerin and receptor activator of nf- κ b ligand for the detection of bone metastasis in breast cancer. *Oncol Res* 2017; **25** (4): 641–50. doi: 10.3727/096504016X14768398678750.
2. van Dam PA, Verhoeven Y, Trinh XB, Wouters A, *et al.* RANK/RANKL signaling inhibition may improve the effectiveness of checkpoint blockade in cancer treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 2019; **133**: 85–91. doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.10.011.
3. Sisay M, Mengistu G, Edessa D. The RANK/RANKL/OPG system in tumorigenesis and metastasis of cancer stem cell: potential targets for anticancer therapy. *Oncotargets Ther* 2017; **10**: 3801–10. doi: 10.2147/OTT.S135867.
4. Insua-Rodríguez J, Pein M, Hongu T, *et al.* Stress signaling in breast cancer cells induces matrix components that promote chemoresistant metastasis. *EMBO Mol Med* 2018; **10** (10): pii: e9003. doi: 10.15252/emmm.201809003.
5. D'Oronzo S, Brown J, Coleman R. The role of biomarkers in the management of bone-homing malignancies. *J Bone Oncol* 2017; **9**: 1–9. doi: 10.1016/j.jbo.2017.09.001.
6. Zhao H, Chen Q, Alam A, *et al.* The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death Disease* 2018; **9** (3): 356. doi: 10.1038/s41419-018-0391-6.
7. Kiefer MC, Bauer DM, Barr PJ. The cDNA and derived amino acid sequence for human osteopontin. *Nucleic Acids Res* 1989; **17** (1): 3306.
8. Crosby AH, Edwards SJ, Murray JC, Dixon MJ. Genomic organization of the human osteopontin gene: exclusion of the locus from a causative role in the pathogenesis of dentinogenesis imperfecta type II. *Genomics* 1995; **27** (1): 155–60.
9. Christensen B, Petersen TE, Sørensen ES. Post-translational modification and proteolytic processing of urinary osteopontin. *Biochim J* 2008; **411**: 53–61.
10. Rittling SR, Chambers AF. Role of osteopontin in tumour progression. *Br J Cancer* 2004; **90**: 1877–81.
11. Castello LM, Raineri D, Salmi L, *et al.* Osteopontin at the crossroads of inflammation and tumor progression. *Mediators Inflamm* 2017; **2017**: 4049098. doi: 10.1155/2017/4049098.
12. Weber GF. The metastatic gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2001; **1552**: 61–85.
13. Lee GS, Salazar HF, Joseph G, *et al.* Osteopontin isoforms differentially promote arteriogenesis in response to ischemia via

macrophage accumulation and survival. *Lab Invest* 2019; **99** (3): 331–45. doi: 10.1038/s41374-018-0094-8.

14. Denhardt DT, Giachelli CM, Rittling SR. Role of osteopontin in cellular signaling and toxicant injury. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; **41**: 723–49.

15. Denhardt DT, Noda M, O'Regan AW, *et al.* Osteopontin as a means to cope with environmental insults: regulation of inflammation, tissue remodeling, and cell survival. *J Clin Invest* 2001; **107** (9): 1055–61. doi: 10.1172/JCI12980.

16. Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, *et al.* The novel zic finger — containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* 2002; **108** (1): 17–29. DOI: 10.1016/s0092-8674(01)00622-5

17. Chang PL, Ridall AL, Prince CW. Calcitriol regulation of osteopontin expression in mouse epidermal cells. *Endocrinology* 1994; **135**: 863–9.

18. Rangaswami H, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin: role in cell signaling and cancer progression. *Trends Cell Biol* 2006; **16** (2): 79–87.

19. Junaid A, Moon MC, Harding GE, Zahradka P. Osteopontin localizes to the nucleus of 293 cells and associates with polo-like kinase-1. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; **292** (1): 919–26.

20. Hao C, Cui Y, Owen S, *et al.* Human osteopontin: Potential clinical applications in cancer (Review). *Int J Mol Med* 2017; **39** (6): 1327–37. doi: 10.3892/ijmm.2017.2964.

21. Briones-Orta MA, Avendaño-Vázquez SE, Aparicio-Bautista DI, *et al.* Osteopontin splice variants and polymorphisms in cancer progression and prognosis. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2017; **1868** (1): 93–108. doi: 10.1016/j.bbcan.2017.02.005.

22. Moorman HR, Poschel D, Klement JD, *et al.* Osteopontin: a key regulator of tumor progression and immunomodulation. *Cancers* 2020; **12** (11): 3379. <https://doi.org/10.3390/cancers12113379>

23. Xu YXZ, Mishra S. Obesity-linked cancers: current knowledge, challenges and limitations in mechanistic studies and rodent models. *Cancers (Basel)* 2018; **10** (12): pii: E523. doi: 10.3390/cancers10120523.

24. Swaroop A, Hogan BLM, Francke U. Molecular analysis of the cDNA for Human SPARC/Osteonectin/BM-40: sequence, expression, and localization of the gene to chromosome 5q31-q33. *GENOMICS* 1988; **2**: 37–47.

25. Wang BO, Chen KAI, Xu W, *et al.* Integrative genomic analyses of secreted protein acidic and rich in cysteine and its role in cancer prediction. *Mol Med Rep* 2014; **10**: 1461–8. doi: 10.3892/mmr.2014.2339

26. Feng J, Tang L. SPARC in Tumor Pathophysiology and as a potential therapeutic target. *Curr Pharm Des* 2014; **20** (39): 6182–90. doi: 10.2174/1381612820666140619123255

27. Güttlein LN, Benedetti LG, Fresno C, *et al.* Predictive outcomes for HER2-enriched cancer using growth and metastasis signatures driven by SPARC. *Mol Cancer Res* 2017; **15** (3): 304–16. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-16-0243-T.

28. Maroni P, Bendinelli P, Morelli D, *et al.* High SPARC expression starting from dysplasia, associated with breast carcinoma, is predictive for bone metastasis without enhancement of plasma levels. *Int J Mol Sci* 2015; **16** (12): 28108–22. doi: 10.3390/ijms161225997.

29. Bendinelli P, Maroni P, Matteucci E, Desiderio MA. Cell and signal components of the microenvironment of bone metastasis are affected by hypoxia. *Int J Mol Sci* 2016; **17** (5): pii: E706. doi: 10.3390/ijms17050706.

30. Sharma S, Xing F, Liu Y, *et al.* Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) mediates metastatic dormancy of prostate cancer in bone. *J Biol Chem* 2016; **291** (37): 19351–63. doi: 10.1074/jbc.M116.737379.

31. Nagaraju GP, Sharma D. Anti-cancer role of SPARC, an inhibitor of adipogenesis. *Cancer Treat Rev* 2011; **37** (7): 559–66. doi: 10.1016/j.ctrv.2010.12.001.

32. Melouane A, Yoshioka M, Kanzaki M, *et al.* Sparc, an EPS-induced gene, modulates the extracellular matrix and mitochondrial

function via ILK/AMPK pathways in C2C12 cells. *Life Sci* 2019; **229**: 277–87. doi: 10.1016/j.lfs.2019.05.070.

33. Young MF, Kerr JM, Ibaraki K, *et al.* Structure, expression, and regulation of the major noncollagenous matrix proteins of bone. *Clin Orthopaed Related Res* 1992; **281**: 275–94.

34. Chen Y, Zhang Y, Tan Y, *et al.* Clinical significance of SPASC in esophageal squamous cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Communications* 2017; **57**: 1–25. doi: 10.1016/j.bbrc.2017.08.043.

35. Alachkar H, Santhanam R, Maharry K. SPARC promotes leukemic cell growth and predicts acute myeloid leukemia outcome. *J Clin Invest* 2014; **124** (4): 1512–24. doi: 10.1172/JCI170921

36. Gundewar C, Sasor A, Hilmersson KS, *et al.* The role of SPARC expression in pancreatic cancer progression and patient survival. *Scandinavian J Gastroenterol* 2015; **50** (9): 1170–4. doi: 10.3109/00365521.2015.1024281.

37. Wong SK, Mohamad NV, Giaze TR, *et al.* Prostate cancer and bone metastases: the underlying mechanisms. *Int J Mol Sci* 2019; **20** (10): 2587. doi: 10.3390/ijms20102587

38. Komar G, Kauhanen S, Liukko K, *et al.* Decreased blood flow with increased metabolic activity: a novel sign of pancreatic tumor aggressiveness. *Clin Cancer Res* 2009; **15** (17): 5511–8. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0414.

39. Guweidhi A, Kleeff J, Adwan H, *et al.* Osteonectin influences growth and invasion of pancreatic cancer cells. *Annals of surgery* 2005; **242** (2): 224. doi: 10.1097/01.sla.0000171866.45848.68.

40. Ting DT, Wittner BS, Haber DA, *et al.* Single-cell RNA sequencing identifies extracellular matrix gene expression by pancreatic circulating tumor cells. *Cell Rep* 2014; **8** (6): 1905–18. doi: 10.1016/j.celrep.2014.08.029.

41. Mushii O, Zadvornyi T, Chekhun V, *et al.* Peculiarities of osteonectin expression in human prostate cancer cells. XVI international conference of students and young scientists «Shevchenkivska vesna: bioscience advances». Kyiv 2020: 210–3.

42. Mushii OM, Zadvornyi TV. Osteonectin expression under the influence of exogenous VEGF in human prostate cancer cells. XVII and young international conference of students scientists «Shevchenkivska vesna: bioscience advances». Kyiv 2021: 237–9.

43. McCabe NP, Kerr BA, Madajka M, *et al.* Augmented osteolysis in SPARC-deficient mice with bone-residing prostate cancer. *Neoplasia* 2015; **13** (1): 31–9. doi: 10.1593/neo.10998.

44. Chen DI, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth factors* 2004; **22** (4): 233–41. doi: 10.1080/08977190412331279890.

45. Myers DC, Sepich DS, Solnica-Krezel L. BMP activity gradient regulates convergent extension during zebrafish gastrulation. *Dev Biol* 2002; **243** (1): 81–98.

46. Oxburgh L. Control of the bone morphogenetic protein 7 gene in developmental and adult life. *Current Genom* 2009; **10** (4): 223–30. doi: 10.2174/138920209788488490.

47. Wyatt AW, Osborne RJ, Stewart H, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) mutations are associated with variable ocular, brain, ear, palate, and skeletal anomalies. *Human Mutation* 2010; **31** (7): 781–87. doi: 10.1002/humu.21280.

48. Bach DH, Park HJ, Lee SK. The dual role of bone morphogenetic proteins in cancer. *Mol Ther Oncol* 2018; **8**: 1–13. doi: 10.1016/j.omto.2017.10.002.

49. Shen W, Pang H, Xin B, *et al.* Biological effects of BMP7 on small-cell lung cancer cells and its bone metastasis. *Int J Oncol* 2018; **53** (3): 1354–62. doi: 10.3892/ijo.2018.4469.

50. Naber HP, Wiercinska E, Pardali E, *et al.* BMP-7 inhibits TGF- β -induced invasion of breast cancer cells through inhibition of integrin β 3 expression. *Cell Oncol* 2012; **35** (1): 19–28. doi: 10.1007/s13402-011-0058-0.

51. Ying X, Sun Y, He P. Bone morphogenetic protein-7 inhibits EMT-associated genes in breast cancer. *Cellular Physiol Biochem* 2015; **37** (4): 1271–8. doi: 10.1159/000430249.

52. Buijs JT, Henriquez NV, Van Overveld, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 in the development and treatment of bone

metastases from breast cancer. *Cancer Res* 2007; **67** (18): 8742–51. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2490.

53. Alarmo EL, Parssinen J, Ketolainen JM, *et al.* BMP7 influences proliferation, migration, and invasion of breast cancer cells. *Cancer Letters* 2009; **275**: 35–43. doi: 10.1016/j.canlet.2008.09.028.

54. Morrissey C, Brown LG, Pitts TE, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 is expressed in prostate cancer metastases and its effects on prostate tumor cells depend on cell phenotype and the tumor microenvironment. *Neoplasia* 2010; **12** (2): 192–205. doi: 10.1593/neo.91836.

55. Kobayashi A, Okuda H, Xing F, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 in dormancy and metastasis of prostate cancer stem-like cells in bone. *J Exp Med* 2011; **208** (13): 2641–55. doi: 10.1084/jem.20110840.

56. Doak SH, Jenkins SA, Hurle RA, *et al.* Bone morphogenetic factor gene dosage abnormalities in prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2007; **176** (2): 161–5. doi: 10.1016/j.cancergencyto.2007.03.011.

57. Pham LK, Liang M, Adisetyo HA, *et al.* Contextual effect of repression of bone morphogenetic protein activity in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* 2013; **20** (6): 861–74. doi: 10.1530/ERC-13-0100.

58. Lim M, Chuong CM, Roy-Burman P. PI3K, Erk signaling in BMP7-induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) of PC-3 prostate cancer cells in 2- and 3-dimensional cultures. *Horm Cancer* 2011; **2** (5): 298–309. doi: 10.1007/s12672-011-0084-4.

59. Yang S, Lim M, Pham LK, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 protects prostate cancer cells from stress-induced apoptosis via both Smad and c-Jun NH2-terminal kinase pathways. *Cancer Res* 2006; **66** (8): 4285–90. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4456.

60. Yang S, Zhong C, Frenkel B, *et al.* Diverse biological effect and Smad signaling of bone morphogenetic protein 7 in prostate tumor cells. *Cancer Res* 2005; **65** (13): 5769–77. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0289.

61. Singh A, Morris RJ. The Yin and Yang of bone morphogenetic proteins in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; **21** (4): 299–313. doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.06.003.

62. Lukianova N, Zadovnyi T, Kashuba E, *et al.* Expression of markers of bone tissue remodeling in breast cancer and prostate cancer cells *in vitro*. *Exp Oncol* 2022; **44** (1): 39–46. doi: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-44-no-1.17354.

63. Zhao M, Liang F, Zhang B, *et al.* The impact of osteopontin on prognosis and clinicopathology of colorectal cancer patients: a systematic meta-analysis. *Sci Rep* 2015; **5**: 12713. doi: 10.1038/srep12713.

64. Walaszek K, Lower EE, Ziolkowski P, Weber GF. Breast cancer risk in premalignant lesions: osteopontin splice variants indicate prognosis. *Br J Cancer* 2018; **119** (10): 1259–66. doi: 10.1038/s41416-018-0228-1.

65. Hao C, Wang Z, Gu Y, *et al.* Prognostic value of osteopontin splice variant-c expression in breast cancers: a meta-analysis. *Biomed Res Int* 2016; **2016**: 7310694. doi: 10.1155/2016/7310694.

66. Anborgh PH, Caria LB, Chambers AF, *et al.* Role of plasma osteopontin as a biomarker in locally advanced breast cancer. *Am J Transl Res* 2015; **7** (4): 723–32.

67. Wisniewski T, Zyromska A, Makarewicz R, Zekanowska E. Osteopontin and angiogenic factors as new biomarkers of prostate cancer. *Urol J* 2019; **16** (2): 134–40. doi: 10.22037/uj.v0i0.4282.

68. Pang X, Gong K, Zhang X, *et al.* Osteopontin as a multifaceted driver of bone metastasis and drug resistance. *Pharmacol Res* 2019; **144**: 235–44. doi: 10.1016/j.phrs.2019.04.030.

69. Wang Y, Lu Y, Xu W, *et al.* Prognostic value of osteopontin expression in esophageal squamous cell carcinoma: A meta-analysis. *Pathol Res Pract* 2019; **215** (10): 152571. doi: 10.1016/j.prp.2019.152571.

70. Elbaiomy MA, Akl T, Elhelaly R, *et al.* Osteopontin level and promoter polymorphism in patients with metastatic breast cancer. *Curr Oncol* 2020; **27** (5): e444-e450. doi: 10.3747/co.27.6449.

71. Göthlin Eremo A, Lagergren K, Othman L, *et al.* Evaluation of SPPI/osteopontin expression as predictor of recurrence in tamoxifen treated breast cancer. *Sci Rep* 2020; **10**: 1451. https://doi.org/10.1038/s41598-020-58323-w

72. Brown LF, Berse B, Van De Water L, *et al.* Expression and distribution of osteopontin in human tissues: widespread association with luminal epithelial surfaces. *Mol Biol Cell* 1992; **3**(10): 1169–80. doi: 10.1091/mbc.3.10.1169.

73. Zduniak K, Ziolkowski P, Ahlin C, *et al.* Nuclear osteopontin-c is a prognostic breast cancer marker. *Br J Cancer* 2015; **112** (4): 729–38. doi: 10.1038/bjc.2014.664.

74. Hirota S, Ito A, Nagoshi J, *et al.* Expression of bone matrix protein messenger ribonucleic acids in human breast cancers. Possible involvement of osteopontin in development of calcifying foci. *Lab Invest* 1995; **72**(1): 64–9. PMID: 7837792.

75. Mirza M, Shaughnessy E, Hurley JK, *et al.* Osteopontin-c is a selective marker of breast cancer. *Int J Cancer* 2008; **122** (4): 889–97. doi: 10.1002/ijc.23204.

76. Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, Shimada Y. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; **14** (12): 3419–27. doi: 10.1245/s10434-007-9564-8.

77. Ng L, Wan T, Chow A, *et al.* Osteopontin overexpression induced tumor progression and chemoresistance to oxaliplatin through induction of stem-like properties in human colorectal cancer. *Stem Cells Int* 2015; **2015**: 247892. doi: 10.1155/2015/247892.

78. Kiss T, Ecsedi S, Vizkeleti L, *et al.* The role of osteopontin expression in melanoma progression. *Tumour Biol* 2015; **36** (10): 7841–7. doi: 10.1007/s13277-015-3495-y.

79. Tang X, Li J, Yu B, *et al.* Osteopontin splice variants differentially exert clinicopathological features and biological functions in gastric cancer. *Int J Biol Sci* 2013; **9** (1): 55–66. doi: 10.7150/ijbs.5280.

80. Zubareva EYu, Senchukova MA. Prognostic and predictive significance of osteopontin in malignant neoplasms. *Adv Mol Oncol* 2021; **8** (2): 23–8. (In Russian). doi: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-23-28

81. Jia R, Liang Y, Chen R, *et al.* Osteopontin facilitates tumor metastasis by regulating epithelial-mesenchymal plasticity. *Cell Death Dis* 2016; **7** (12): e2564. doi: 10.1038/cddis.2016.422.

82. Porter PL, Sage EH, Lane TF, *et al.* Distribution of SPARC in normal and neoplastic human tissue. *J Histochem Cytochem* 1995; **43** (8): 791–800. doi: 10.1177/43.8.7622842.

83. Ledda F, Bravo AI, Adris S, *et al.* The expression of the secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with the neoplastic progression of human melanoma. *J Invest Dermatol* 1997; **108** (2): 210–4. doi: 10.1111/1523-1747.ep12334263.

84. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Brekken RA, *et al.* Enhanced expression of SPARC/osteonectin in the tumor-associated stroma of non-small cell lung cancer is correlated with markers of hypoxia/acidity and with poor prognosis of patients. *Cancer Res* 2003; **63** (17): 5376–80. PMID: 14500371.

85. Neoptolemos J, Real FX, Laethem J, *et al.* Pancreatology addressing the challenges of pancreatic cancer: future directions for improving outcomes. *Pancreatol* 2014; **30**: 1e11.

86. Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Raymond E, *et al.* Stromal expression of SPARC in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Metastasis Rev* 2013; **32** (3-4): 585–602. doi: 10.1007/s10555-013-9439-3.

87. Alcaraz LB, Mallavialle A, Mollevi C, *et al.* SPARC in cancer-associated fibroblasts is an independent poor prognostic factor in non-metastatic triple-negative breast cancer and exhibits pro-tumor activity. *Int J Cancer* 2022. doi: 10.1002/ijc.34345.

88. Kim NI, Kim G-E, Park MH, *et al.* Up-regulation of SPARC is associated with tumor progression and epithelial SPARC expression is correlated with poor survival and MMP-2 expression in patients with breast carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2017; **10** (3): 2675–88.

89. Ma J, Gao S, Xie X, *et al.* SPARC inhibits breast cancer bone metastasis and may be a clinical therapeutic target. *Oncol Lett* 2017; **14** (5): 5876–82. doi: 10.3892/ol.2017.6925
90. Guo W, Zhang M, Chen Y, Guo S. The clinical significance of secreted protein acidic and rich in cysteine expression in breast cancer tissue and its association with prognosis. *J Cancer Res Ther* 2017; **13** (5): 833–6. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_424_17.
91. Watkins G, Douglas-Jones A, Bryce R, *et al.* Increased levels of SPARC (osteonectin) in human breast cancer tissues and its association with clinical outcomes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005; **72** (4): 267–72. doi: 10.1016/j.plefa.2004.12.003.
92. Wong SY, Crowley D, Bronson RT, Hynes RO. Analyses of the role of endogenous SPARC in mouse models of prostate and breast cancer. *Clin Exp Metast* 2008; **25**: 109–18. doi: 10.1007/s10585-007-9126-2.
93. Barth PJ, Moll R, Ramaswamy A. Stromal remodeling and SPARC (secreted protein acid rich in cysteine) expression in invasive ductal carcinomas of the breast. *Virchows Arch* 2005; **446** (5): 532–6. doi: 10.1007/s00428-005-1256-9.
94. Thomas R, True LD, Bassuk JA, *et al.* Differential expression of osteonectin/SPARC during human prostate cancer progression. *Clin Cancer Res* 2000; **6** (3): 1140–9. PMID: 10741745.
95. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, *et al.* Delineation of prognostic biomarkers in prostate cancer. *Nature* 2001; **412** (6849): 822–6. doi: 10.1038/35090585.
96. López-Moncada F, Torres MJ, Castellón EA, Contreras HR. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) induces epithelial-mesenchymal transition, enhancing migration and invasion, and is associated with high Gleason score in prostate cancer. *Asian J Androl* 2019; **21** (6): 557–64. doi: 10.4103/aja.aja_23_19
97. Yang E, Kang HJ, Koh KH, *et al.* Frequent inactivation of SPARC by promoter hypermethylation in colon cancers. *Int J Cancer* 2007; **121** (3): 567–75. doi: 10.1002/ijc.22706.
98. Schwalbe M, Sängler J, Eggers R, *et al.* Differential expression and regulation of bone morphogenetic protein 7 in breast cancer. *Int J Oncol* 2003; **23** (1): 89–95. PMID: 12792780.
99. Alarmo EL, Korhonen T, Kuukasjärvi T, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 expression associates with bone metastasis in breast carcinomas. *Ann Oncol* 2008; **19** (2): 308–14. doi: 10.1093/annonc/mdm453.
100. Zabkiewicz C, Resaul J, Hargest R, *et al.* Bone morphogenetic proteins, breast cancer, and bone metastases: striking the right balance. *Endocr Relat Cancer* 2017; **24** (10): R349–R366. doi: 10.1530/ERC-17-0139.
101. Aoki M, Ishigami S, Uenosono Y, *et al.* Expression of BMP-7 in human gastric cancer and its clinical significance. *Br J Cancer* 2011; **104** (4): 714–8. doi: 10.1038/sj.bjc.6606075.
102. Motoyama K, Tanaka F, Kosaka Y, *et al.* Clinical significance of BMP7 in human colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2008; **15** (5): 1530–7. doi: 10.1245/s10434-007-9746-4.
103. Megumi K, Ishigami S, Uchikado Y, *et al.* Clinicopathological significance of BMP7 expression in esophageal squamous cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2012; **19** (6): 2066–71. doi: 10.1245/s10434-011-2024-5.
104. Rothhammer T, Wild PJ, Meyer S, *et al.* Bone morphogenetic protein 7 (BMP7) expression is a potential novel prognostic marker for recurrence in patients with primary melanoma. *Cancer Biomark* 2007; **3** (2): 111–7. doi: 10.3233/cbm-2007-3205.
105. Aoki M, Umehara T, Kamimura G, *et al.* Expression of bone morphogenetic protein-7 significantly correlates with non-small cell lung cancer progression and prognosis: a retrospective cohort study. *Clin Med Insights Oncol* 2019; **13**: 1179554919852087. doi: 10.1177/1179554919852087.

MARKERS OF BONE TISSUE REMODELING IN CARCINOGENESIS, TUMOR PROGRESSION AND METASTASIS: DISCOURSE OF THE POSSIBILITIES OF USE IN CLINICAL ONCOLOGY

V. Chekhun, L. Naleskina, T. Zadovnyi, O. Mushii, T. Borikun, L. Kunska, N. Lukianova

RE Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Summary. We carried out the analysis of the data of fundamental developments and clinical observations regarding the role of the main extracellular markers of bone tissue remodeling (OPN, ON, BMP-7). Based on available data we were able to discuss an idea of the molecular portraits of each of them, the spectrum of functions related to the process of carcinogenesis, tumor progression and metastasis. Common features and distinctive characteristics of both structural and functional characteristics of these biopolymers were determined. It is established that OPN, ON, BMP-7 are multifunctional proteins that perform certain functions and are differently expressed in normal tissues and during their malignant transformation. We demonstrated that both tumor and mesenchymal cells, in particular tumor-associated fibroblasts, myofibroblasts, macrophages, and lymphocytes secrete bone tissue remodeling proteins. In the review we highlighted the mechanisms by which the most important biological processes in the occurrence and progression of tumors are carried out with the participation of one or another remodeling marker with the involvement of relevant signaling pathways: proliferation, invasion, cell migration, apoptosis, metastasis, etc. The relationship between the level of expression of each protein and the degree of tumor malignancy is shown, in particular, on tissue cultures of patients with breast cancer and prostate cancer. All of the above became the basis for conducting a more specific justification, clinical verification and confirmation of the possibilities of applying the results of fundamental research on remodeling markers in oncological practice for diagnosis, cancer course prognosis and determining new approaches in the treatment of patients.

Key Words: proteins and genes of bone tissue remodeling, breast cancer, prostate cancer, tumor progression, metastasis, cancer course prognosis.

Адреса для листування:

Лук'янова Н.Ю.
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. П.Є. Кавецького
НАН України
E-mail: nataluk10@gmail.com

Одержано: 21.11.2022