

Оглядіві статті

УДК 577.112:6128.616.831-006

Молекулы нейрональной клеточной адгезии и нейроонкогенез

Лисяный Н.И., Лисяный А.Н.

Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова АМН Украины, г. Киев

В обзоре литературы приведены данные об экспрессии молекул нейрональной клеточной адгезии (NCAM) на клетках опухолей мозга. Многими работами была доказана их роль в адгезии клеток между собой и к внеклеточному матриксу, а также в миграции и метастазировании. Чем больше экспрессия NCAM, тем меньше подвижность и миграция опухолевых клеток, и наоборот.

Ключевые слова: нейрональная клеточная адгезия, нейроонкогенез.

В настоящее время ученые уделяют большое внимание изучению молекул клеточной адгезии (МКА), которые играют ключевую роль в процессах эмбриогенеза, поддержания гомеостаза, прогрессирования патологических процессов, воспаления, а также инфильтрированного роста опухолей, их метастазирования и т.д. [1, 3, 6, 7, 12, 24, 28, 30].

МКА обеспечивают не только взаимодействие между клетками и внеклеточным окружением, но в значительной степени определяют скорость пролиферации клеток, активацию определенных генов, строение и структуру клеток [8]. Процессы с участием МКА осуществляются путем комплементарного лиганд-рецепторного взаимодействия, в котором МКА одной клетки соединяются с МКА другой или с макромолекулярным комплексом межклеточного матрикса, состоящего с коллагена, фибронектина и ламинина, или других макромолекул. В настоящее время хорошо изучена структура МКА [2, 7, 8], разработаны их современные классификации, молекулярное строение, генетика, изменения функции в зависимости от длины молекулы, ее связи с мембраной клетки, наличия карбогидратных и кальцийсвязывающих группировок. Важную роль в регуляции функции МКА играют сиаловые кислоты, которые создают отрицательный заряд и уменьшают адгезивную способность этих молекул, что обуславливает большую подвижность клеток и уменьшает степень их адгезивной связи между собой. Среди МКА особую группу представляют молекулы нейрональной клеточной адгезии (NCAM), которые относятся к суперсемейству иммуноглобулинов и представлены на клетках различных органов, в том числе, центральной нервной системы.

В головном мозге ключевыми процессами при формировании слоев коры и образовании

нервных связей являются миграция недифференцированных нейрональных гранулярных клеток, рост нейритов и образование стабильных клеточных контактов. В этих процессах участвуют МКА. Среди группы молекул нейрональной клеточной адгезии выделяют NCAM, LI, MAG (миелин-ассоциированный гликопротеин), N-кадгерин и АМОГ (адгезивная молекула глии).

На основе данных секвенса нуклеиновых кислот, МКА разделяют на три генных семейства: суперсемейство иммуноглобулинов, к которому относятся осуществляющие Ca^{2+} -зависимую клеточную адгезию NCAM, LI и MAG; семейство кадгеринов — N-, E- и P-кадгерин, опосредующие Ca^{2+} -зависимую клеточную адгезию, и семейство интегринов [7].

NCAM впервые описаны E. Vock [9] и, независимо от него, J.M. Edelman [11] и другие исследователи, в частности, опубликованы сообщения В.А. Березина и соавторов [1, 2]. В головном мозге взрослого человека NCAM представляют комплекс из трех иммунохимически идентичных сиалогликопротеинов с ММ 180, 140 и 120 кД [10]. Их называют NCAM A, NCAM B и NCAM C. Различия ММ определяются длиной трансмембранной и цитоплазматической частей, А- и В-формы NCAM экспрессируются на нейронах, причем, форма А — по всему телу нейрона, на внешней поверхности мембраны и на постсинаптической мембране; В- и С- формы экспрессируются на астроцитах, С — на олигодендрокитах [7].

Экспрессия NCAM выявлена на миоцитах в зоне нервно-мышечного контакта, на лимфоцитах, органах эндотелиальной, репродуктивной и мочевой систем, NCAM 140 обнаружен на эндотелиальных клетках микрососудов человека, т.е. не существует строгой органной специфичности NCAM.

На эмбриональной форме NCAM расположены до 30% (по массе) остатков сиаловых кислот, на взрослых формах — до 10%. Более подробно история открытия МКА D2, K4, NCAM и BSP-2, а также их физико-химические свойства и структура описаны в работах В.А. Березина [1, 2].

Процесс сиалирования NCAM строго регулирован: на ранних стадиях эмбриогенеза полисиаловых остатков нет, на более поздних стадиях — процесс сиалирования достигает максимума. После рождения эмбриональные формы NCAM переходят во взрослые, и уровень сиалирования снижается. Однако и в мозге взрослого в некоторых его отделах (обонятельные луковицы, зубчатая извилина, гипоталамус, дорсальный выступ спинного мозга) выявляют полисиалированные формы NCAM. Они экспрессируются также на нервах и мышцах в зоне их повреждения. Эти формы менее адгезивны, чем олигосиалированные.

NCAM-120 сиалирован на всех стадиях развития мозга. Максимальную экспрессию наблюдают на 4-й неделе постнатального развития, что совпадает с созревaniem олигодендроцитов и началом процесса миелинизации, затем экспрессия NCAM-120 снижается [7].

Максимально сиалированная эмбриональная форма NCAM экспрессируется на 10–12-е сутки постнатального развития, что совпадает с образованием нервных волокон. Доказано увеличение количества полисиаловых остатков на растущем аксоне, особенно в точке его роста, что предполагает уменьшение гомофильного адгезивного действия NCAM при росте аксона. Процесс полисиалирования NCAM регулируется гормонально [3].

Видимо, NCAM являются морфорегуляторным продуктом гена, контролирующего развитие и реагирующего на сигналы, ассоциированные со специфическим процессом дифференциации клеток. Целое семейство регулируемых сиалотрансфераз, специфически активирующих NCAM, активируют миграцию клеток и стабилизацию их контактов.

J.M. Edelman [12] сформулировал морфорегуляторную гипотезу развития и формирования организма. В настоящее время установлено, что экспрессия NCAM гена регулируется продуктами работы целого ряда генов, в том числе гисторегуляторных. Кроме того, уровень экспрессии молекул субстратной и клеточной адгезии изменяется при действии на клетку нейротрансмиттеров, некоторых гормонов, трофических факторов, например, фактора роста нервов, изменении внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} и Na^+ , под влиянием экстрацеллюлярного матрикса [7].

В соответствии с морфорегуляторной гипотезой, основную роль в развитии и формировании организма играют наиболее древние морфорегуляторные гены, отвечающие за экспрессию молекул субстратной и клеточной адгезии, благодаря которым происходит миграция клеток или их слипание с образованием некоего коллектива клеток (ткань или орган). Поскольку NCAM выполняют и роль рецепторов на поверхности клетки, их гомофильное связывание является сигналом для изменения метаболизма слипшихся клеток. В них происходит экспрессия целого ряда генов, в том числе гисторегуляторных. В свою очередь, вновь образовавшиеся метаболиты формирующегося коллектива клеток (гормоны, трофические факторы и т.п.) регулируют работу NCAM генов, и весь цикл повторяется.

Помимо мембраноассоциированных, в норме существуют и растворимые формы NCAM. MM 190 кД имеют NCAMs1, 135 кД — NCAMs2, 115 кД — NCAMs3. NCAMs3 является внеклеточной частью молекул NCAM A, NCAM B, NCAM C. NCAMs1 образуется из NCAM A, NCAMs2 — из NCAM B. Моноклональные антитела к трансмембранным и цитоплазматическим эпитопам NCAM A и NCAM B реагируют с NCAMs1 и NCAMs2, подтверждая, что NCAMs1 и NCAMs2 являются интактными освобожденными NCAM A и NCAM B.

Растворимые формы NCAM найдены в спинномозговой жидкости, сыворотке крови, экстракте мозга крыс, экстрацеллюлярном матриксе мышц и периферических нервов в концентрации около 1 мкг/мл. Растворимые формы NCAM ингибируют рост клеток на субстрате с иммобилизованными NCAM. Это свидетельствует, что растворимые формы NCAM являются модуляторами NCAM-опосредованного поведения клеток.

В мозге человека содержится 1–2% растворимой формы NCAM, что составляет 25–100 мкг/мл в зависимости от стадии развития мозга.

Вторая нейрональная NCAM — это гликопротеин L-1, иммунохимически идентичный молекулам NgCAM, NILE. Молекула синтезируется как гликопротеин с MM 200 кД одним геном, альтернативный сплайсинг не наблюдают.

L1 является интегральным мембранным гликопротеином с MM 200 кД, N-конец которого локализован с внешней стороны мембраны, C-конец — с внутренней.

L1 экспрессируется на нейронах и нейролеммocyтах периферической нервной системы, не экспрессируется на незрелых нейронах, появляется лишь когда гранулярные нейроны готовы к миграции. В зрелых нейронах экспрессируется

преимущественно на нейритах при образовании нервных волокон. В развивающемся мозге его находят в области клеточных контактов, на миелинизированных нейронах отсутствует [7].

При нормальном развитии и морфогенезе межклеточные взаимодействия и дифференциация регулируются несколькими факторами, включая МКА. Так, в ткани мозга миграция клеток и их контакт в процессе формирования органа регулируются вначале NCAM и N-кадгерином, на более поздних стадиях развития — L1. Таким образом, при нарушении экспрессии МКА нарушаются процессы развития организма. Вероятно, нерегулируемый рост и миграция злокачественных клеток отчасти могут быть обусловлены изменением их адгезивных свойств, т.е. МКА могут быть вовлечены в некоторые механизмы процесса малигнизации.

NCAM обнаруживают практически во всех опухолях нейроэктодермального происхождения: астроцитоме, олигодендроастроцитоме, нейробластоме, глиобластоме, медуллобластоме, феохромоцитоме [4, 5]. В некоторых опухолях мозга значительно возрастает доля растворимых форм NCAM за счет мембранных структур. Например, в сыворотке крови пациентов при онкологических заболеваниях, наряду с растворимой формой NCAM с ММ 110–130 кД, которую выявляют как у больных, так и у здоровых доноров, обнаружена растворимая форма NCAM с ММ 150–180 кД, которая является специфическим маркером, в частности, мелкоклеточного рака легких. Эта форма отличается от NCAM с ММ 110–130 кД лишь наличием длинных цепей α -(2,8)-N-ацетилнейраминаовой кислоты.

В клетках мелкоклеточного рака легких и карциноидной опухоли легких экспрессируются NCAM с ММ 145 и 185 кД в полисиализированной (эмбриональной) форме. Отмечено нарушение экспрессии NCAM в некоторых линиях клеток рабдомиосаркомы.

В некоторых линиях опухолевых клеток выявляют формы NCAM и L1, отличные от молекул, экспрессирующихся в соответствующих интактных клетках. В NIE115 нейробластоме мышей выявляют NCAM с ММ 150 кД. Отсутствие NCAM180 может свидетельствовать о дифференциации клеток опухоли, а разница ММ NCAM опухолевых клеток и нормального NCAM180 может отражать различия их углеводной или белковой структуры. В клетках глиомы C6 NCAM отличаются от нормальной глиальной NCAM как в углеводной, так и белковой частях. Аналогичные отличия выявлены и в молекуле L1 в некоторых линиях нейрональных опухолевых клеток. Однако неизвестно, насколько эти изменения модифицируют функции МКА в опухолевых клетках.

Чувствительный к температуре вирус саркомы Рауса трансформирует клетки сетчатки цыплят, при этом снижается экспрессия NCAM.

На метастазирующих опухолях (клетки BT4C7 глиомы и K175MI меланомы) или совсем не выявляют NCAM, или его экспрессия значительно снижена. Наоборот, L1 не экспрессируется на неметастазирующих клетках K1735C116 меланомы, их обнаруживают на метастазирующих.

Экспрессия молекул L1 на опухолевых клетках зависит от происхождения и степени злокачественности опухоли. Так, при исследовании МКА L1 на клетках глиомы и астроцитарных опухолей установлено, что L1 хорошо экспрессировались на клетках глиомы и слабо — на астроцитарных клетках с высоким уровнем кислого глиального протеина [28]. МКА L1 отсутствовали также в 11 из 12 медуллобластом [14], тогда как другие МКА, в частности, NCAM и HNK-1 выявляли на всех медуллобластомах.

Наличие на поверхности опухолевой клетки L1 молекул усиливает ее подвижность и миграцию, а подавление экспрессии или связывание ее антителами угнетает миграцию клеток. Более того, установлено, что за локомоторные свойства клеток отвечает не вся молекула L1, а только ее C-2 домен, при связывании которого специфическими антителами происходит ингибция миграции *in vitro* C-6 глиомных клеток [20]. Хотя в более поздних исследованиях V. Senner и соавторы [27] показали, что в клетках этой же опухоли глиомы L6 при изучении их роста и миграции *in vitro* на миелине или на специальном геле Matrigel, содержащем молекулы экстрацеллюлярного матрикса (коллаген IV, фибронектин и др.), L1 больше ответственна за фиксацию к этим структурам и меньше — за миграцию. Так, если заблокировать L1 молекулу, адгезия снижается, а миграция клеток — не изменяется [27].

Угнетение экспрессии L1 молекулы на мембране клетки достигали путем активации ядерного тетрациклинзависимого промотора, который регулирует экспрессию этой молекулы [27], это позволило авторам заключить, что адсорбция и миграция — это независимые процессы, и молекула L1 имеет большее отношение к адгезии, чем к миграции. Уровень экспрессии L1 МКА обратно пропорционально коррелировал с содержанием кислого глиального белка и не коррелировал с экспрессией пролиферативного индекса Ki-67 [28], но прямо пропорционально коррелировал с экспрессией p-53 и β -трансформирующего фактора. При гистохимическом исследовании 27 глиальных L1 молекула выявлена на 33% из них, в основ-

ном злокачественных, белок Р-53 — на 43%, β -трансформирующий фактор — на 53% [29]. Причем эта корреляция между частотой выявления Р-53, фактора роста и L1 была характерна только для анапластических глиом и глиобластом [31]. Авторы считают, что экспрессия молекулы L1, в отличие от NCAM, коррелирует со степенью злокачественности опухоли, чем выше злокачественность, тем больше экспрессия этой молекулы на поверхности клеток. В то же время это заключение в какой-то степени расходится с данными других исследователей [28], не отметивших корреляции L1 молекулы с пролиферативным индексом и скоростью миграции клеток. Следовательно, роль МКА-L1 в процессах миграции и злокачественности до конца не изучена и требует дополнительных исследований.

В отношении роли в онкогенезе другой молекулы МКА NCAM имеется большее число исследований, хотя их результаты противоречивы. Так, еще в 80-е годы прошлого столетия было показано, что NCAM экспрессируется как глиальными, так и другими опухолями [2]. Изучая экспрессию NCAM на клетках различных линий медуллобластом, авторы [33] установили, что на одних опухолях они хорошо экспрессируются и это медуллобластомы нейронального происхождения, на медуллобластомах глиального происхождения они экспрессируются слабо. Однако D. Figorella-Branger и соавторы [15] показали, что NCAM экспрессируется как на глиальных опухолях, так и на клетках медуллобластом и эпендимом. Различие в экспрессии NCAM на этих опухолях заключалось лишь в степени сиалирования молекулы. Для астроцитом и эпендимом была характерна низкая степень сиалирования, для медуллобластом — высокая. Авторы склонны связывать степень сиалирования с дифференцировкой и созреванием опухолей [15].

Молекула адгезии NCAM является не только рецептором эктодермальных опухолей, она экспрессируется и на лимфоцитах, в частности, киллерах, содержащих FcR рецептор иммуноглобулинов. Наличие этой молекулы на лимфоцитах важно для осуществления лизиса глиальных клеток цитотоксическими клетками-киллерами. Предполагают, что за счет гомофильного соединения через NCAM молекулу опухолевой клетки и клетки-киллера происходит фиксация киллера на опухолевой клетке, а затем осуществляется специфический лизис [13].

Помимо опухолей мозга, NCAM хорошо экспрессируются на клетках меланомы, мелкоклеточной карциномы легкого, их выявляли на 70% и более метастазов меланомы [25], причем,

экспрессия NCAM на метастатических клетках меланомы обратно коррелировала с уровнем внутриклеточного циклического АМФ. При увеличении в клетках опухоли содержания цАМФ или их обработки форболацетатом в течение 24–48 ч отмечено снижение экспрессии NCAM на поверхности культивируемых клеток.

Особенностью NCAM является то, что при культивировании клеток опухоли или кратковременной обработке протеолитическими ферментами они отделяются от мембраны опухолевых клеток, особенно это характерно для NCAM120, в которых отсутствует трансмембранный фрагмент, что затрудняет исследование этих молекул в процессе культивирования [17]. Эта молекула связана с фосфотилинозитолом специфической фосфокиназой C, которая также участвует в отделении NCAM120 от мембраны клетки. Расчеты показывают, что около 25% NCAM могут отделяться от клеток опухоли в процессе культивирования [17]. Аналогичные данные о потере NCAM при культивировании приводят и другие авторы, в частности, в процессе 12 пассажей *in vitro* клеток медуллобластомы происходила потеря NCAM, тогда как другие молекулы, например, CD44, или маркеры стволовых клеток нестин и виментин экспрессировали в 54,5 и 24,3% наблюдений, и они не исчезали при культивировании *in vitro*. Авторы полагают, что при длительном культивировании ослабевают клеточные контакты и исчезает аутокринный стимул для нового синтеза клетками NCAM. Снижение экспрессии NCAM отмечено и при культивировании глиальных опухолевых клеток и метастазов [21].

Таким образом, при культивировании *in vitro* опухолевых клеток происходит упрощение их мембраны, что способствует формированию клона или штамма клеток, адаптированного к условиям жизни вне организма. NCAM, как показано в ряде исследований, хорошо экспрессируется и на других клетках организма [8]. Определенный интерес представляют работы об экспрессии NCAM на лимфоцитах, в частности, клетках-киллерах, что трактуют как необходимость соединения клетки-киллера и мишени за счет NCAM молекулы. В более поздних работах это нашло экспериментальное подтверждение, выделенные клетки, содержащие NCAM на своей мембране, соединялись с клетками глиомы *in vitro* и оказывали на них цитотоксическое действие, тогда как на другие NCAM-отрицательные клетки, в частности, фибробласты и эндотелиальные клетки, клетки-киллеры не действовали [32]. Усиления экспрессии NCAM на клетках-киллерах можно достичь разными путями, например, культивируя их с дендритными клетками, осуществляющими

антигенпрезентацию, или путем введения вирусного вектора с геном NCAM, или введения в клетку мРНК или самой NCAM. Авторы склонны рассматривать NCAM как потенциальные молекулы, которые можно использовать для специфической иммунотерапии опухолей мозга, на клетках которых экспрессируются эти молекулы [32].

Молекулы NCAM экспрессируются на различных опухолях мозга, но лишь в исследованиях Н. Sasaki и соавторов [26] на большом клиническом материале (52 глиальных опухоли) установлено, что все формы NCAM присутствуют на астроцитомах I и II степени злокачественности, на анапластических глиомах III степени злокачественности и глиобластомах они представлены меньше. Экспрессия NCAM обратно коррелировала с пролиферативным индексом pCIS и высоким инвазивным ростом опухоли, по данным магниторезонансной терапии. Авторы впервые получили клинические доказательства обратной корреляции инвазивного роста и степени злокачественности с экспрессией NCAM [26]. В последующих морфогистохимических исследованиях эти результаты подтверждены. Так, при исследовании 15 глиальных опухолей NCAM180 выявлены в 6, NCAM140 — в 8, NCAM120 — в 3, т.е. низкомолекулярные NCAM обнаруживали в 2–3 раза реже, чем крупномолекулярные. В интактной ткани мозга выявляли все три формы, но чаще NCAM180. На поверхности метастазов в мозге также выявляли клетки NCAM. В частности, метастазы меланомы и карциномы легкого, но не карциномы другой локализации, экспрессировали NCAM. Этот факт, что не все метастазы в мозге имеют NCAM, не позволяет однозначно определить ведущую роль этих молекул в процессе метастазирования путем взаимодействия NCAM метастатических клеток и NCAM интактного вещества мозга [21]. Содержание NCAM на клетках зависит от степени злокачественности. Так, NCAM выявлены на 95% астроцитом I и II степени анаплазии (в 19 из 20 образцов), на атипичных астроцитомах — в 38,9% наблюдений, на глиобластомах — в 20% (в 2 из 10) [20].

Помимо наличия на мембране опухоли молекул NCAM, важное значение имеет степень ее сialiрирования. Так М. Suzuki и соавторы [28] показали, что, если усилить сialiрирование NCAM молекул в клетках мышинной глиомы C-6 мышей путем трансфекции в клетку гена трансферазы, который вызывает гиперсialiрирование более чем 50% молекул NCAM, происходит увеличение подвижности и снижение адгезивности клеток при их введении в мозг мышей по сравнению с исходным штаммом опухоли. Более того, сialiрированные клетки C-6 глиомы

инфильтрировали мозолистое тело, тогда как обычно опухоль очень редко прорастает в это образование. Если же эти два вида клеток вводили генетически дефектным мышам по NCAM молекулам, то оба они прорастали мозолистое тело. Авторы делают выводы, что, во-первых, сialiрирование является причиной снижения адгезивных свойств и увеличения подвижности клеток; во-вторых, при отсутствии в интактной ткани или на межклеточном матриксе молекул NCAM (дефектные по NCAM животные) обе опухоли ведут себя одинаково. Более того, сialiрирование, дающее мощный отрицательный заряд клетке, является причиной метастазирования меланом и мелкоклеточного рака легкого, иногда высокая экспрессия NCAM сочетается с метастазированием [28].

Но все же основным назначением NCAM считают адгезию и торможение миграции клеток, хотя конкретные механизмы этих процессов недостаточно изучены. Установлено, что прилипание и подвижность клеток глиомы по внеклеточному матриксу зависит от активности нерцепторной тирозинкиназы, активация которой ингибирует подвижность клеток путем усиления экспрессии NCAM. При исследовании прилипания и подвижности клеток по фибронектиновой мембране установлено, что NCAM (+) клетки тормозят подвижность NCAM (-) клеток за счет прямого воздействия NCAM рецептора на этих клетках или же наличия растворимой формы NCAM, способной адсорбироваться на NCAM (-) клетках, либо через паракринную стимуляцию синтеза этих структур у NCAM (-) клеток. По внеклеточному матриксу, где нет экспрессии NCAM, NCAM клетки связываются с гепаринсульфатгликаном. По данным исследования адгезии и подвижности клеток глиальных опухолей в специальной камере Бойдена с поликарбамидным фильтром, NCAM (+) клетки менее подвижны, чем NCAM (-) клетки, миграция клеток через поры фильтра происходит в течение 18 ч культивирования. Другие молекулы адгезии, в частности, ганглиозид GD-3 не влияли на эту функцию [16].

В то же время имеются и другие данные об участии NCAM в процессах адгезии и инвазии. Так, при исследовании резистентных к химиопрепаратам линий клеток глиальных опухолей установлено, что на этих клетках экспрессируется меньше NCAM рецепторов, чем в других NCAM, в частности, интегринов α -2, 3, 4 и больше адгезия этих клеток к искусственному экстраклеточному матриксу — мембране, содержащей ламинин, фибронектин, коллаген IV типа. По сравнению с обычными, нерезистентными к химиотерапии, линиями клеток проникновение резистентной линии клеток

через поры этой мембраны было меньше. После обработки клеток антителами к NCAM отмечено замедление проникновения клеток через мембрану. Такие результаты позволили заключить, что в этой линии клеток NCAM ответственны не за адгезию, а за миграцию и проникновение через поры [18]. При искусственной суперэкспрессии NCAM140 в клетке путем введения в клетки глиальной опухоли человека линии CNS-1 ретровирусного вектора с геном NCAM *in vitro* уменьшалось проникновение клеток через базальную мембрану при их введении в мозг мышам. Установлено, что при суперэкспрессии NCAM уменьшалась перивентрикулярная и перивазальная миграция клеток по сравнению с таковой клеток обычной линии [23]. В то же время эта суперэкспрессия не угнетала инфильтрацию клетками опухоли мозговой ткани, окружающей место введения клеток, а также темпы роста опухоли. Активация других молекул, имеющих отношение к росту и миграции клеток, в частности, продукции фактора роста опухоли и активности металлопротеаз 2,9 не влияла на инвазивный потенциал этих трансфекцированных геном NCAM клеток опухоли [23]. Авторы делают заключение, что NCAM молекулы ограничивают миграцию и инфильтративный рост в определенных направлениях и не влияют на рост самой опухоли и инфильтрацию нейроопухолей.

Усиление экспрессии NCAM молекул на мембране клеток может быть достигнуто и другими путями, в частности, путем обработки клеток опухолей вальпроатовой кислотой в определенной концентрации, которая тормозит рост, усиливает дифференциацию клеток опухоли, а также увеличивает экспрессию NCAM, и наоборот, уменьшает экспрессию другой молекулы адгезии CD44. Эти изменения проявляются уже на 4-е сутки культивирования *in vitro* клеток опухоли с вальпроатовой кислотой. Эти результаты позволили предположить, что высокая экспрессия NCAM — признак дифференциации клеток, CD44 — признак злокачественности [22].

Изучена роль МКА в адгезии и миграции с использованием методов иммуногистохимии, особо можно выделить работы [30], в которых с помощью гистохимических маркеров изучали миграцию и инвазию клеток опухоли 45 глиом человека.

Исследована экспрессия на клетках NCAM, металлопротеаз 2,9, галастина-3, тенасцина, катеписина Д, CD44 — основных элементов адгезии, миграции и инвазии. Установлено, что NCAM больше экспрессируются в опухолевом узле, чем на отдельных клетках опухоли, начавших миграцию, тогда как катеписин Д и

металлопротеазы больше экспрессировались на отдельных клетках опухоли [30]. При исследовании внутриопухолевых сосудов на мембранах и их клетках NCAM и CD44 не выявлены, не было различий в экспрессии этих молекул на клетках первичных и повторно оперированных глиом. Несмотря на то, что авторам не удалось выделить какой-то один маркер, ответственный за миграцию или инвазию клеток, они склонны условно выделять МКА 2 групп: молекулы адгезии — NCAM, CD44 и тенесцин, и молекулы инвазии — катеписин Д, металлопротеазы 2,9 [30]. Хотя в последующих исследованиях авторы менее категорично трактуют свои результаты, акцентируя внимание на том, что на одиночных, начавших миграцию клетках отмечено лишь преобладание металлопротеаз и катеписина-Д, чем других исследованных показателей.

Таким образом, в большинстве исследований показано, что NCAM имеют отношение больше к адгезии клеток между собой или к определенному субстрату, тогда как в процессах миграции и инвазии они имеют меньшее значение. Взаимодействие NCAM осуществляется путем соединения с подобной молекулой на другой клетке опухоли, структурах интактного мозга или на гепарисульфатгликане межклеточного матрикса. Наличие NCAM может влиять на направленность миграции клеток, а растворимые формы этих молекул способны влиять на адгезивные свойства клеток, не содержащих NCAM. По мере озлокачествления глиальных опухолей содержание на клетках NCAM молекул уменьшается. Помимо адгезивных, NCAM характерны другие свойства, в частности, имеются разноречивые данные об их отношении к пролиферации клеток, показано как снижение пролиферации клеток, так и отсутствие влияния NCAM на рост клеток.

Важное значение имеет степень сиалирования NCAM. Чем больше сиалирование, тем выше миграционный потенциал и меньше адгезивная способность. Установлено, что NCAM экспрессируются на других клетках организма, хотя значение их в других клетках окончательно не установлено, вероятно, и там эти молекулы играют роль в адгезии клеток, хотя в отношении лимфоцитов доказано их важное значение для клеток-киллеров. Посредством их молекул происходит соединение их с клеткой-мишенью, затем наступает лизис опухолевой клетки. Отсутствие их молекул на опухолевой клетке делает невозможным цитотоксическое действие лимфоцитов, что косвенно подтверждает механизм «ускользания» злокачественных клеток от иммунного надзора, так как опухолевые клетки анапластических глиом и глиобластом экспрессируют NCAM только в 10–30% случаев.

NCAM имеет важное значение и в процессах метастазирования опухолей в мозг, в частности, меланомы и карциномы легких, метастазы которых экспрессировали NCAM.

Следовательно, NCAM являются полифункциональными молекулами, ответственными за адгезивное связывание с подобными молекулами других клеток организма, что имеет отношение к росту, миграции, инвазии, метастазированию и захвату мигрирующих клеток, цитотоксической активности лимфоцитов. Недостаточно изучены вопросы взаимодействия этих молекул с другими МКА и ферментными системами, участвующими в миграции и инвазии, не ясны механизмы активации, подавления, синтеза и экспрессии этих молекул на мембранах, взаимосвязь с факторами пролиферации, системой циклических нуклеотидов, механизмами передвижения клеток по внеклеточному матриксу. Имеются единичные попытки использования NCAM в качестве мишени для иммунотерапии путем избыточной гиперпродукции этих молекул или введения в организм радиоактивно или химически меченых антител к ним. Делаются первые попытки использования NCAM в качестве дополнительного диагностического и прогностического показателя при определении злокачественности и инвазивности роста опухоли, а также прогноза заболевания.

Таким образом, при малигнизации клеток мозга наблюдают четыре вида нарушений экспрессии МКА: появление в большом количестве растворимых форм NCAM, повышение уровня полисиалирования NCAM (преобладание эмбриональной формы), нарушение экспрессии NCAM и L1 на поверхности клеток и изменение углеводной и белковой структур молекул.

Выявление указанных нарушений представляет значительный интерес как при диагностике, контроле эффективности терапии и прогнозировании исхода заболевания, так и для понимания молекулярных механизмов возникновения опухолей нервной ткани, а также особенностей инфильтративного роста или миграции по ликворным путям либо метастазирования медуллобластом.

Экспрессия NCAM на клетках карциномы легких означает негативный прогноз хирургического лечения больного. С другой стороны, повышенный уровень NCAM в крови больных с мелкоклеточным раком легких предполагает возможность применения антител к NCAM для лечения метастазов и опухолей.

Список литературы

- Березин В.А. Характеристика мембранных нейроспецифических белков // *Нейрохимия*. — 1984. — Т.3, №1. — С.57–70.
- Березин В.А. Молекулы клеточной адгезии нервной ткани // *Успехи соврем. биологии*. — 1986. — Т.101, №1. — С.54–68.
- Березин В.А., Белик Я.В. Специфические белки нервной ткани. — К: Наук. думка, 1990. — 263 с.
- Березин В.А., Жмарева Е.Н., Шаповал Т.И., Жолудь Х.М. Нейроспецифические мембранные антигены в опухолях головного мозга человека // *Нейрохимия*. — 1994. — Т.3, №3. — С.269–275.
- Березин В.А., Жмарева Е.Н., Ромоданов С.А. и др. Нейроспецифические белки в диагностике опухолей головного мозга человека // *Вопр. онкологии*. — 1995. — Т.31, №12. — С.7–17.
- Осинский С.П., Глузман Д.Ф. Диссеминированные опухолевые клетки в крови и костном мозге (молекулярный прогноз в клинической онкологии) // *Клин. онкология*. — 2006. — №2. — С.102–108.
- Шепелева И.И., Чехонин В.П. Нейрогенные молекулы клеточной адгезии (структура, функции и клинко-диагностическая перспектива) // *Неврология и психиатрия*. — 1996. — №5. — С.113–118.
- Шубич М.Г., Авдеева М.Г., Вакуленко А.Д. Адгезивные межклеточные взаимодействия // *Арх. патологии*. — 1997. — №6. — С.3–9.
- Bock E. Identification and characterization of water soluble rat brain antigens. Brain and species specificity // *J. Neurochem*. — 1972. — V.19, N6. — P.1731–1736.
- Bock E. Nervous system specific proteins // *J. Neurochem*. — 1978. — V.30, N1. — P.7–14.
- Edelman J.M. Cell adhesion molecules // *Science*. — 1976. — V.192. — P.218–228.
- Edelman J.M. Expression of cell adhesion molecules during embryogenesis and regeneration // *Exp. Cell Res*. — 1984. — V.161, N1. — P.1–16.
- Fantini J., Gno X.J., Mervaldi J., Rongon G. Suramin inhibits proliferation of rat glioma cells and alters N-CAM cell surface expression // *Int. J. Cancer*. — 1990. — N3. — P.554–561.
- Figorella-Branger D., Benbec P., Bianco N. Expression of adhesion molecules NCAM. L-1 and HNK-1 epitope by medulloblastoma // *Rev. Neurol*. — 1992. — N6–7. — P.417–422.
- Figorella-Branger D.F., Durbel P.L., Rongon G.N. Differential spectrum of expression of neural cell adhesion molecule isoforms and L-1 adhesion molecules on human neuroectodermal tumors // *Cancer Res*. — 1990. — N19. — P.6364–6370.
- Gratsa A., Rooproi H.K., Rogers J.P., Martin K.H. Correlation of expression of NCAM and CD-3 ganglioside to matile behaviour in neoplastic glia // *Auticanc. Res*. — 1997. — N66. — P.4111–4117.
- He H.T., Fnne J., Goridic C. Biosynthesis membrane association and release of NCAM-120, a phosphatidylinositol — linked form of neural cell adhesion molecule // *J. Cell. Biol*. — 1987. — N6. — P.2489–2500.
- Hikawa T., Mori T., Abtpori S. The ability in adhesion and invasion of drug-resistant human glioma cells // *J. Exp. Clin. Canc. Res*. — 2000. — V.19, N3. — P.357–362.
- Huang C.X., Hu S.K., Cheu B. Expression of the neural cell adhesion molecule in human

- astrocytomas // Hunan LiKeDeXue Bao. — 2001. — N6. — P.543–545.
20. Isumoto O., Ohnishi A.N., Hiraga S. et al. Gene expression of neural cell adhesion molecule L-1 in malignant gliomas and biological significance of L-1 in glioma // J. Exp. Clin. Cancer Res. — 1996. — V.15. — P.271–283.
 21. Kleinschmidt J.A., De-Mastord B.K., Orz E.A. et al. Paucity of retinoic acid receptor alpha (RAR alpha) nuclear immunostaining in gliomas and inability of retinoic acid to influence neural cell adhesion molecule (NCAM) expression // J. Neurooncol. — 1999. — N1. — P.31–42.
 22. Knuffer U.M., Hernair-Drieverd P., Pappenbord N. et al. Valproic acid inhibits proliferation and changes expression of CD44 and CD56 of malignant glioma cells in vitro // Anticancer Res. — 1998. — N5A. — P.3585–3589.
 23. Owens G.J., Orz E.A., De-Master B.K. et al. Over expression of a transmembrane isoform of neural cell adhesion molecule alters the invasiveness of rat CNS-1 glioma // Cancer Res. — 1998. — N9. — P.2020–2028.
 24. Parker H., Pilkington G.J. Morphological, immunocytochemical and flow cytometric in vitro characterization of a surface adherent medulloblastoma // Cancer Res. — 2005. — N6B. — P.3833–3863.
 25. Rumml M., Sers J.J.P. Phorbol ester and cyclic AMP-mediated regulation of the melanoma-associated cell adhesion molecule MUC18/MCAM. — 1996.
 26. Sasaki H., Gushido K., Sheda E. et al. Expression of neural cell adhesion molecule in astrocytic tumors: an inverse correlation with malignancy // Cancer. — 1998. — N10. — P.1921–1931.
 27. Senner V., Kismanu F., Ruttman S. et al. L-1 expressed by glioma cells promotes adhesion but not migration // Glia N. — 2002. — N2. — P.146–154.
 28. Suzuki M., Nakoyama J. et al. Polysialic acid facilitates tumor invasion by glioma cell // Glycobiology. — 2005. — N9. — P.887–894.
 29. Suzuki T., Izumoto S., Ohnishi T. et al. Neural cell adhesion molecule L-1 in gliomas: correlation with TGF-beta and p-53 // J. Clin. Pathol. — 1998, N1. — P.13–17.
 30. Tews D.S., Nessen A. Expression of adhesion factors and degrading proteins in primary and secondary glioblastomas and their precursor tumors // Invas. Metastas. — 1998–1999. — N5–6. — P.271–284.
 31. Tsuzuki T., Izumoto S., Fugimoto I. et al. Clinicopathological study of cellular proliferation and invasion in gliomatosis cerebri: important role of neural cell adhesion molecule L-1 in tumor invasion // J. Clin. Pathol. — 2005. — N2. — P.166–171.
 32. Vinchatorn P., Wongkajarnislip A., Retvisec S. et al. Dendritic cells pulsed with total tumor RNA for activation NK-like T-cells against glioblastoma multiforme // J. Neurooncol. — 2005. — N2. — P.111–118.
 33. Wikstrand C.J., Friedmen H.S., Bigner D.D. Medulloblastoma cell-substrate interaction in vitro // Invas. Metastas. — 1991. — N6. — P.310–324.

Молекули нейрональної клітинної адгезії та нейроонкогенез

Лісяний М.І., Лісяний О.М.

В огляді літератури наведені дані про експресію молекул нейрональної клітинної адгезії (NCAM) на клітинах пухлин мозку. Багатьма роботами було доведено їх роль в адгезії між собою та за межами клітинного матриксу, а також в міграції та метастазуванні. Чим більша експресія NCAM, тим менша рухомість та міграція клітин пухлини, і навпаки.

Neural cell adhesion molecules and neurooncogenesis

Lisayny N.I., Lisayny A.N.

In the literature review data of neural cell adhesion molecules (NCAM) expression on brain tumors cells are presented. Numerous researches have shown the NCAM role in cells adhesion and also their role in migration, invasion and malignant cells metastasis. As higher the NCAM expression is on tumor cell, as cells migration is lower, and vice versa.