

ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР Zeb1 И ЕГО РОЛЬ В ПРОЦЕССАХ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ И ОНКОГЕНЕЗА

© 2019 г. Д. Ю. Поздняков¹, О. Ю. Шувалов¹, Н. А. Барлев¹, А. Г. Миттенберг¹, *

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: a.mittenberg@gmail.com

Поступила в редакцию 18.06.2019 г.

После доработки 16.07.2019 г.

Принята к публикации 17.07.2019 г.

Метастазирование и рецидивы являются основной причиной смертности от рака молочной железы, но основные их механизмы до сих пор изучены недостаточно. Понимание механизмов метастазирования важно для ранней диагностики и лечения опухоли. Появление и последующий рост клеток карциномы вне первичного опухолевого узла является сложным и многоступенчатым процессом. Ключевую роль в нем играет эпителиально-мезенхимный переход (ЭМП), который ослабляет межклеточные контакты и позволяет раковым клеткам мигрировать от основного очага опухоли. Процесс ЭМП подвергается сложной, многоуровневой регуляции с помощью транскрипционных факторов, сигнальных каскадов и специфических молекул РНК. Одним из мастер-регуляторов ЭМП является транскрипционный фактор Zeb1, регуляции активности которого, а также его вкладу в метастазирование злокачественных новообразований, и посвящен настоящий обзор современной научной периодики.

Ключевые слова: карцинома молочной железы, эпителиально-мезенхимный переход, транскрипционный фактор Zeb1, метастазирование, регуляция экспрессии генов

DOI: 10.1134/S0041377119110087

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее часто диагностируемой злокачественной опухолью человека. Ежегодно в России фиксируется более пятидесяти тысяч новых случаев заболевания РМЖ, а в целом по земному шару их число превышает миллион (Ferlay et al., 2015). Карциномы молочной железы также рассматриваются в качестве второй основной причины смертности от рака у женщин (Siegel et al., 2017). Приблизительно 15–20% всех случаев РМЖ составляют так называемые трижды негативные (triple-negative, TN) опухоли (Bauer et al., 2007), для которых характерно отсутствие экспрессии трех рецепторов – эстрогенового (ER), прогестеронового (PR) и рецептора эпидермального фактора роста 2 человека (HER2/neu) (Dent et al., 2007). Вследствие этого, пациентки с TN РМЖ обычно демонстрируют значительно более слабый ответ на химиотерапию или гормональную терапию по сравнению с другими типами РМЖ (Liedtke et al., 2008; Wahba, El-Nadaad,

2015), а также худший клинический прогноз и высокий риск метастазирования в отдаленные сайты (Bauer et al., 2007; Dent et al., 2007) – легкие, мозг, печень и кости (Foulkes et al., 2010; Tseng et al., 2013). Среди пациенток более 90% летальных исходов, связанных с раком молочной железы, вызваны не первичной опухолью, а метастазами. В 6–10% диагнозов РМЖ опухоль уже метастазирует в другие части тела, а у 30% пациенток с ранними стадиями РМЖ наблюдается метастатическое или рецидивирующее заболевание. Понимание механизмов метастазирования данной опухоли важно для ранней диагностики и лечения РМЖ. Точные механизмы, которые участвуют в переходе неинвазивных опухолевых клеток в таковые с метастатическим потенциалом, до сих пор не совсем понятны. Однако литературные данные последних лет свидетельствуют о том, что одним из основных механизмов метастазирования рака молочной железы является эпителиально-мезенхимный переход (Simeone et al., 2019).

Эпителиально-мезенхимный переход (Epithelial Mesenchymal Transition, EMT, ЭМП) – обратимая генетическая программа, реализуемая в процессе эмбрионального развития и патологически активируемая при раке (Roxanis, 2013; Wang, Zhou, 2013). Этот процесс сопровождается потерей межклеточных контактов и полярности эпителиальных клеток,

Принятые сокращения: МЭП – мезенхимно-эпителиальный переход, РМЖ – рак молочной железы, ЭМП – эпителиально-мезенхимный переход, ЭМП-ТФ – транскрипционные факторы, регулирующие эпителиально-мезенхимный переход, ЭФР – эпидермальный фактор роста, HDAC – гистондеацетилаза, HDM – деметилаза гистонов, HMT – гистонметилтрансфераза, TN РМЖ – трижды негативный РМЖ (характеризующийся отсутствием рецепторов ЭФР, эстрогена и прогестерона).

глобальной реорганизацией цитоскелета, приводящей к потере эпителиальных свойств и усилению признаков мезенхимальной морфологии, а также повышенной подвижностью клеток и устойчивостью к терапии (Dave et al., 2012; Mallini et al., 2014). Явление ЭМП было рассмотрено в контексте отдаленных метастазов в разных типах карцином, в том числе, в опухолях молочной железы. Программа ЭМП контролируется несколькими группами транскрипционных факторов (ЭМП-ТФ), среди которых выделяют мастер-регуляторы SNAIL1, Zeb1 и Zeb2 (Barrallo-Gimeno, Nieto, 2005; Eger et al., 2005; Shirakihara et al., 2007). Их экспрессия коррелирует с плохим прогнозом у пациентов с РМЖ. Механизмы регуляции транскрипционных факторов ЭМП активно изучаются в последние годы.

Отличительной чертой ЭМП является “выключение” экспрессии E-кадгерина, ключевой молекулы межклеточной адгезии. В регуляции ЭМП задействовано подавляющее большинство известных сигнальных путей. Несколько транскрипционных факторов, в том числе, семейства Snail/Slug, Twist, Zeb1/Zeb2 и E12/E47, отвечают на эти сигналы и выступают в качестве главных молекулярных регуляторов программы ЭМП. Данные транскрипционные факторы узнают E-box последовательности ДНК, расположенные вблизи сайтов инициации транскрипции E-кадгерина, куда они рекрутируют кофакторы и гистондеацетилазы (Caramel et al., 2018).

Семейство ZEB (Zeb1/2) представлено цинк-цинкерными транскрипционными факторами, распознающими консенсусный элемент типа E-Box, которые известны как белки Zeb. Эти транскрипционные факторы распознают последовательности 5'-CACCT-3' в промоторных областях различных генов и, связываясь с ними, подавляют транскрипцию этих генов (Simeone et al., 2019). Экспрессия Zeb1 и/или Zeb2 повышает агрессивность и метастатическую способность злокачественных новообразований молочной железы. Zeb1 и Zeb2 подавляют экспрессию не только E-кадгерина, но и других эпителиальных маркеров, участвующих в клеточной полярности, компонентов плотных контактов, щелевых контактов и десмосом. Кроме того, Zeb1 играет важную роль в прогрессировании опухоли и плохом клиническом исходе у раковых больных. Zeb1 является специфическим индуктором ЭМП, обеспечивающим проявление раковыми стволовыми клетками таких свойств, как радиорезистентность и лекарственная устойчивость. Zeb2 напрямую подавляет экспрессию белков плотных контактов — клаудина-4 и зона occludens 3. Он также снижает экспрессию десмосомного белка плакофилина-2 и индуцирует экспрессию таких мезенхимных белков, как виментин, N-кадгерин и матриксная металлопротеиназа-2, по неизвестному механизму.

В процессе ЭМП клетки теряют эпителиальные признаки и получают мезенхимальные характеристики. ЭМП характеризуется потерей клеточной адгезии и фенотипическим изменением от типичной кубической до удлинённой веретенообразной формы, что приводит к увеличению миграционной способности клеток. На ранней стадии метастазирования опухоли раковые клетки из первичного опухолевого узла могут приобретать инвазивные свойства и получать доступ к кровеносным или лимфатическим сосудам в качестве циркулирующих опухолевых клеток, что обеспечивается неоангиогенезом и ремоделированием базальной мембраны. В кровеносных и лимфатических сосудах циркулирующие клетки опухоли способны выжить и, в конечном счете, достичь отдаленных вторичных участков, таких как кости, легкие, печень и мозг (Foulkes et al., 2010; Tseng et al., 2013). Это происходит, главным образом, при мезенхимально-эпителиальном переходе (МЭП), который вносит существенный вклад в колонизацию циркулирующими опухолевыми клетками новых метастатических очагов. Такие динамические переходы состояний ЭМП/МЭП могут играть решающую роль при метастазировании опухоли. Процессы ЭМП/МЭП можно сравнивать не с переключателем, как это делалось раньше в обзорах по данной тематике, а скорее с чрезвычайно гибкой трансдифференцировкой от одного состояния к другому и наоборот, недавно обозначенной как “эпителиально-мезенхимная пластичность”. В последние годы несколько исследовательских групп идентифицировали гибридные эпителиально-мезенхимальные фенотипы с “частично” активированной программой ЭМП, что подтверждает данную концепцию. В ходе прогрессирования опухоли в ней присутствуют множественные субпопуляции клеток, характеризующиеся различным состоянием ЭМП и различным же инвазивным и метастатическим потенциалом (Pastushenko et al., 2018; Tulchinsky et al., 2019).

Такие сложные метастабильные состояния клетки требуют не менее тонкой и изощренной многоуровневой настройки, в том числе — и молекул, регулирующих эти состояния. Основное внимание в настоящем обзоре обращено на Zeb1 — ключевой транскрипционный фактор, играющий центральную роль в управлении эпителиально-мезенхимным переходом.

РЕГУЛЯЦИЯ ZEB1 НА УРОВНЕ ТРАНСКРИПЦИИ

Экспрессия ЭМП-ТФ Zeb1 регулируется на уровне транскрипции координированным действием множественных факторов. В литературе описана активация Zeb1 с помощью ЭМП-ТФ Goosecoid, Snail, Twist и Slug. Для первых трех было показано, что их сверхэкспрессия в трансформированных клетках эпителия молочной железы приводит к повышению экспрессии белка Zeb1 (Taube et al., 2010), в то время

как транскрипционный фактор *Slug* в клетках меланомы линий WM164 и WM9 участвует в регуляции транскрипции *Zeb1* через связывание со специфическими промоторными элементами (Wels et al., 2011). Как было показано в нескольких работах, влияние ЭМП-ТФ Snail на экспрессию *Zeb1* может происходить как напрямую, так и опосредованно (Dave et al., 2011; Wu et al., 2017). Так, в клетках HepG2 воздействие форболового эфира приводило к связыванию факторов Snail, SP1 и EGR1 с промотором *Zeb1* (Wu et al., 2017). Кроме того, обнаружено, что Snail может участвовать в регуляции транскрипции *Zeb1* опосредованно, через взаимодействие с ЭМП-ТФ Twist и Ets1, которые связываются с дистальными и проксимальными промоторными элементами гена *Zeb1*, таким образом, участвуя в TGF- β -опосредованном запуске его экспрессии (Dave et al., 2011).

На модели рака толстой кишки показано, что сигнальные пути Wnt и STAT регулируют ЭМП, запуская экспрессию *Zeb1* (Sánchez-Tilló et al., 2011; Xiong et al., 2012): комплекс β -катенин/TCF4 напрямую связывается с промотором гена *Zeb1* и активирует его экспрессию (Sánchez-Tilló et al., 2011). В случае нокдауна β -катенина/TCF4 в мутантных по APC клетках рака толстой кишки наблюдается подавление транскрипции *Zeb1*, в то время как транслокация β -катенина в ядро в клетках рака толстой кишки с APC дикого типа, запускает экспрессию *Zeb1 de novo*, что приводит к активации проинвазивных генов. Отмечена также прямая корреляция между *Zeb1* и STAT. Уровень экспрессии *Zeb1* значительно снижается при нокдауне STAT3 и возрастает при его оверэкспрессии, что объясняется наличием двух сайтов связывания STAT3 в промоторе *Zeb1* и подтверждает непосредственную регуляцию экспрессии *Zeb1* белками STAT. В дальнейшем, эти данные были подтверждены иммуногистохимическими экспериментами *in vivo*, когда в клетках рака толстой кишки наблюдали повышенный уровень экспрессии *Zeb1* и фосфорилированного STAT, по сравнению с нормальным эпителием толстой кишки (Xiong et al., 2012). В этом плане представляется интересной работа (Yang et al., 2010), которая описывает участие метилтрансферазы Set7/9 в регуляции активности Stat3, который, в свою очередь, может контролировать экспрессию *Zeb1*.

Повышенная экспрессия *Zeb1* была также продемонстрирована в ассоциации с многими другими транскрипционными факторами, в числе которых BCL6, NF- κ B, SOX2, HIF1 α и FOXO2, что приводило к активации ЭМП и повышению агрессивности опухоли (Hollier et al., 2013; Yu et al., 2015; Zhang et al., 2015; Werden et al., 2016; Singh et al., 2017). Хотя функциональные взаимоотношения этих транскрипционных факторов в регуляции экспрессии *Zeb1* и ЭМП еще нуждаются в детальном исследовании, механизмы действия каждого из них уже изучены. Так, например, фактор HIF1 α активирует экспрессию *Zeb1*, напрямую связываясь со специфическими последовательностями (HRE-3), расположенными в

его проксимальном промоторе. В тканях рака толстой кишки HIF1 α также положительно коррелировал с уровнем *Zeb1* и других мезенхимных маркеров (Zhang et al., 2015).

Также было обнаружено, что при немелкоклеточном раке легкого комплексы AKIP1 (A-kinase interacting protein 1) и SP1 (stimulatory protein 1) напрямую связываются с промотором *Zeb1* и активируют его транскрипцию (Guo et al., 2017).

В литературе имеются данные о том, что повышенное содержание HMXIP, онкобелка, который может влиять на развитие различных типов рака (Fujii et al., 2006; Liu et al., 2014a), способствует развитию РМЖ (Liu et al., 2015; Shi et al., 2016) через повышенные экспрессии *Zeb*. Активация транскрипции этого гена осуществляется посредством ТФ Sp1, взаимодействующего с промотором гена *Zeb1* (Jiang et al., 2018). На клеточной модели колоректального рака было также показано, что регуляция транскрипции *Zeb1* может осуществляться с помощью фактора MEF2D (Myocyte enhancer factor 2D), обеспечивая тем самым ЭМП и метастазирование в ответ на стимулы микроокружения (Su et al., 2016).

Помимо активаторов транскрипции *Zeb1*, обнаружен и ряд ее репрессоров. Так, было продемонстрировано, что Rb1 подавляет экспрессию гена *Zeb1* посредством связывания с его промотором (Liu et al., 2007, 2013, 2014c). Предложенная модель супрессии опухоли белком RB основана на формировании стабильного комплекса E2F-Rb-репрессор HDAC (Liu et al., 2007). Такой уровень регуляции уникален для *Zeb1*, поскольку, хоть промоторы других ЭМП ТФ, таких как *Zeb2* и Snail, могут быть распознаны E2F, что влияет на их экспрессию, однако механизм их регуляции не связан с белком Rb. Данный феномен можно объяснить необходимостью специфической регуляции экспрессии различных ЭМП-ТФ в конкретных условиях. О роли белка Rb1 в канцерогенезе говорит наличие функциональной связи между нарушением нормальной работы гена *Rb1* и активацией *Zeb1*, опосредованной Ras: инактивация *Rb1* (мутациями или гиперфосфорилированием циклин-зависимыми киназами) приводила к Ras-опосредованной индукции экспрессии *Zeb1* (Liu et al., 2014b).

В качестве другого примера репрессора транскрипции *Zeb1* можно привести транскрипционный фактор GRHL2 (Cieply et al., 2012, 2013). Взаимодействие двух этих транскрипционных факторов представляет собой реципрокную петлю отрицательной обратной связи, поскольку *Zeb1* является репрессором GRHL2 (Liu et al., 2007). На модели клеток РМЖ (линия MDA-MB-231) было показано, что эктопическая экспрессия *GRHL2* приводит к активации ЭМП с функциональным подавлением миграции клеток и инвазии и не оказывает значительного эффекта на рост клеток. В отличие от этого, нокдаун *GRHL2* с помощью малой шпилечной РНК приводил к ча-

стичным ЭМП-подобным изменениям и снижению пролиферации (Werner et al., 2013).

Среди репрессоров ЭМП-ТФ *Zeb1* наиболее детально изученным является фактор *Ovol2*. Продукты генов *OVOL1/2* участвуют в приобретении клетками эпителиального фенотипа, а также способны напрямую регулировать гены, ответственные за активацию ЭМП клеток эпидермиса, связываясь со специфическими сайтами в промоторах мезенхимных генов (Lee et al., 2014). Экспрессия *Ovol2* в метастатических клетках линии MDA-MB-231, запускала активацию синтеза E-кадгерина и подавление экспрессии виментина и *Zeb1*, приводя к снижению способности данных клеток к инвазии (Watanabe et al., 2014). Таким образом, при экспрессии *Ovol2* имел место полный возврат к устойчивому эпителиальному фенотипу, что также отмечено на модели рака простаты, где оверэкспрессия *Ovol2* запускала MET и снижала метастатический потенциал этих клеток *in vivo* (Roca et al., 2013). Наблюдаемый регуляторный эффект является двунаправленным, т.е. не только *Ovol2* может подавлять экспрессию *Zeb1*, но и *Zeb1* также способен подавлять экспрессию *Ovol2*, регулируя прохождение клетками ЭМП под контролем внешних сигналов активации и различных ингибирующих петель обратной связи (Hong et al., 2015; Jia et al., 2015).

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ *Zeb1*

Активация или репрессия маркеров ЭМП на мезенхимных или эпителиальных клеточных моделях РМЖ может осуществляться с помощью эпигенетических модификаций гистоновых белков, в частности – ацетилирования и метилирования (Messier et al., 2016). Сайт-специфические модификации гистонов представляют собой основной путь эпигенетической регуляции экспрессии *Zeb1* (Chaffer et al., 2013). Так, повышение уровня экспрессии *Zeb1* обнаружили на моделях РМЖ базального типа, которые демонстрировали высокий метастатический потенциал и уровень экспрессии мезенхимных маркеров. В этих клетках наблюдается высокий уровень экспрессии CD44, а паттерн метилирования хроматина (триметилирование лизина 4 (H3K4me3) и диметилирование лизина 79 (H3K79me2) гистона H3) указывают на активную транскрипцию с промотора *Zeb1*. Напротив, клетки РМЖ с низким уровнем CD44 различались по вариантам метилирования гистона H3: в клетках люминального типа наблюдалось повышение H3K4me3, что соответствует активации транскрипции, а в базальных клетках повышался уровень H3K27me3, ассоциирующийся с репрессией транскрипции. После стимуляции TGF- β , только клетки базального типа с низким CD44 были способны трансформироваться в клетки с фенотипом, представленным высоким CD44, и увеличивать экспрессию *Zeb1*. Это достигалось переходом из бивалентной (состояние ожидания) формы хроматина в активную, за счет значительного снижения тримети-

лирования лизина 27 гистона H3 (H3K27me3) (Chaffer et al., 2013). Эти модификации регулируются специфическими гистонметилтрансферазами (HMT) и деметилазами гистонов (HDM), которые осуществляют регуляцию ЭМП через контроль транскрипции *Zeb1* и других ЭМП-ТФ (Skrypek et al., 2017). Также недавно получены данные в пользу участия аргининметилтрансферазы PRMT1 в активации транскрипции *Zeb1* через асимметричное диметилирование аргинина 3 гистона H4 (H4R3me2as) в промоторной области *Zeb1*, что указывает на важную роль такой эпигенетической регуляции в ЭМП и старении (Gao et al., 2016); эта же метилтрансфераза активировала *Zeb1* для запуска ЭМП в клетках рака поджелудочной железы (Lin et al., 2018b).

Zeb1 В ОБЕСПЕЧЕНИИ ВЫЖИВАНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК И УСТОЙЧИВОСТИ К ТЕРАПИИ

Имеются литературные данные о влиянии *Zeb1* на p53- и RB-зависимые пути подавления опухоли через предотвращение как старения, так и апоптоза раковых клеток, двух важнейших барьеров на пути развития злокачественных новообразований. Отмечено, что эмбриональные фибробласты мыши с нокаутом гена *Zeb1* претерпевали раннее репликативное старение, что может объясняться способностью *Zeb1* подавлять ингибиторы некоторых циклин-зависимых киназ (CDKN1A, INK4B), таким образом обеспечивая прохождение клеткой стадии G1/S клеточного цикла (Liu et al., 2008). Также было показано, что *Zeb1* способствует прохождению начальных стадий опухолеобразования, взаимодействуя с активированными онкогенами, для подавления апоптоза и старения клетки. На последующих же стадиях развития опухоли, *Zeb1* регулирует экспрессию p53, снижает потребность в K-Ras и обеспечивает устойчивость к антипролиферативной терапии (Browne et al., 2010). Экспрессия p53 дикого типа приводила к ингибированию циклинов и циклин-зависимых киназ, а также *Zeb1*, что приводило к остановке клеточного цикла на стадии G0/G1 и подавлению пролиферации и инвазии клеток рака мочевого пузыря (Wang et al., 2016).

На модели опухоли эпителия пищевода было показано, что *Zeb1* препятствует онкоген-опосредованному старению, запускаемому гиперэкспрессией рецептора эпидермального фактора роста (EGFR), через подавление экспрессии ингибиторов циклин-зависимых киназ p16ink4a и p15ink4b (Ohashi et al., 2010).

Следует отметить, что *Zeb1* и *Zeb2* могут иметь противоположные эффекты в контроле репликативного старения. Есть данные, что принудительная экспрессия *Zeb2* в линиях клеток рака молочной железы и печени способствует старению через подавление транскрипции *hTERT* – каталитической субъединицы теломеразы (Lin, Elledge, 2003). Высокий уровень *hTERT* отмечен в более чем 85% случаев зло-

качественных новообразований человека, но не был обнаружен в соматических клетках, таким образом, повышенная экспрессия *hTERT* может представлять собой механизм, с помощью которого раковые клетки предотвращают укорачивание теломеров, тем самым не достигая лимита Хейфлика (Reddel, 2014). В вышеописанных событиях задействован транскрипционный фактор *Zeb1*, для которого продемонстрирована способность связываться с промоторной областью гена *hTERT*, приводя к повышению экспрессии последнего. Интересно, что в данном случае *Zeb1* не связывается с E-box доменами; для активации экспрессии *hTERT* он взаимодействует со специфическим коактиватором YAP (Yes-associated protein) (Yu et al., 2018).

Одним из естественных путей борьбы организма со злокачественными новообразованиями является фагоцитоз раковых клеток. CD47 – поверхностный клеточный гликопротеин, который, связываясь с белками SIRP α и TSP-1 на поверхности макрофагов и дендритных клеток, блокирует фагоцитоз (Willingham et al., 2012). Факторы *Zeb1* и *Snail* способны связываться с E-box-подобными промоторными элементами гена трансмембранного белка CD47, обеспечивая повышение его экспрессии. Оверэкспрессия *Zeb1* или *Snail* приводила к запуску ЭМП и активации экспрессии CD47, что позволяло клеткам РМЖ избегать гибели путем фагоцитоза макрофагами (Noman et al., 2018). В этой же работе была экспериментально продемонстрирована возможность восстановления фагоцитоза клеток с активированным ЭМП через блокирование CD47 специфическими антителами, либо путем подавления экспрессии генов *SNAIL1*, *Zeb1* или *CD47* (Noman et al., 2018).

Еще одним способом элиминации опухолевых клеток может быть секреция во внеклеточный матрикс тканевого ингибитора металлопротеаз TIMP3, который может индуцировать запрограммированную гибель мезенхимальных или эндотелиальных клеток (Koers-Wunrau et al., 2013; Qi, Anand-Apte, 2015). Недавние исследования показали, что *Zeb1* подавляет экспрессию TIMP3. Соответственно, в клетках РМЖ, не экспрессирующих *Zeb1*, наблюдался повышенный уровень экспрессии TIMP3, что приводило к подавлению пролиферации и индукции апоптоза (Maturi et al., 2018).

Недавно было показано, что *Zeb1* играет важную роль в метаболизме липидов, а также в синтезе, хранении и использовании длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот. Эти липиды являются субстратами для перекисного окисления липидов, что приводит к образованию токсичных пероксидов липидов, которые могут в конечном счете вызвать ферроптоз, неапоптотическую форму гибели клеток. В устойчивых к химиотерапии мезенхимных клетках глутатионпероксидаза GPX4 расщепляет эти активные пероксиды и, таким образом, защищает клетки от гибели (Viswanathan et al., 2017). В целом эти дан-

ные свидетельствуют о том, что фермент GPX4 может быть ахиллесовой пятой резистентных раковых клеток, и использование его в качестве мишени представляет собой инновационный подход к борьбе с опосредованной *Zeb1* устойчивостью к терапии. Наконец, в нескольких исследованиях показано, что экспрессия *Zeb1* коррелирует с устойчивостью к новым вариантам противоопухолевой терапии (Shibue, Weinberg, 2017). Например, *Zeb1*-зависимый фенотип ЭМП способствует резистентности к эрлотинибу в EGFR-мутантных линиях немелкоклеточного рака легкого (Zhang, Ma, 2012). В BRAFV600-мутантной меланоме высокий уровень экспрессии *Zeb1* связан с первичной резистентностью к ингибиторам MAPK киназ (Richard et al., 2016). Так, обнаружено, что подавление экспрессии *Zeb1* делает клетки меланомы чувствительными к ингибиторам BRAF (BRAFi) и снижает жизнеспособность клеток меланомы, устойчивых к BRAFi, тогда как принудительная экспрессия ЭМП-ТФ в слабо экспрессирующих *Zeb1* клетках вызывает быструю адаптацию, индуцирует стволовой фенотип, и способствует появлению резистентности. Напротив, экспрессия *Zeb2* связана с повышенной чувствительностью к BRAFi, что также указывает на двойную роль *Zeb1* и *Zeb2* в развитии данного типа опухоли (Richard et al., 2016).

Для борьбы со многими видами онкологических заболеваний широко используется радиотерапия, направленная на формирование двунитевых разрывов ДНК и индукцию апоптоза (Prise et al., 2005). Однако применение лучевой терапии при TN РМЖ не способствовало выживаемости пациенток (Kundi et al., 2008; O'Rourke et al., 2016), а в случае лечения гепатоцеллюлярной карциномы вызывало образование печеночных и внепеченочных метастазов (Liang et al., 2005; Kim et al., 2006). На модели карцином молочной железы (линии клеток MDA-MB-231 и MDA-MB-468) было показано, что воздействие ионизирующего излучения значительно усиливает экспрессию таких маркеров мезенхимных клеток, как виментин, фибронектин, матриксная металлопротеаза 2, а также фактора *Zeb1* (но не активирует экспрессию *Snail*, *Slug* и *Twist*, которые также способны вызывать ЭМП). Влияние *Zeb1* на опухолеобразование, опосредованное рентгеновским излучением, было доказано с использованием малой интерферирующей РНК si-Zeb1, которая, подавляя *Zeb1*, снижала инвазию раковых клеток, а также уменьшала экспрессию белков виментина и фибронектина (Lin et al., 2018a).

Помимо повышения радиорезистентности клеток РМЖ, *Zeb1* способствовал и росту устойчивости к химиотерапии, повышая уровень репарации ДНК путем гомологичной рекомбинации: недавно было продемонстрировано, что он способен активировать экспрессию серин-треониновой протеинкиназы АТМ (ataxia-telangiectasia mutated), которая является ключевым элементом ДНК-повреждающего сигнального пути. Активация экспрессии АТМ происходит за

счет формирования комплекса между белками Zeb1/p300/PCAF на промоторе АТМ (Zhang et al., 2018). Кроме того, было показано, что гиперактивированная АТМ киназа фосфорилирует и стабилизирует Zeb1, который, в свою очередь, взаимодействует с убиквитин-специфичной протеазой 7 (USP7) и повышает ее способность к деубиквитилированию и стабилизации киназы СНК1, тем самым обеспечивая репарацию ДНК и радиорезистентность (Zhang et al., 2014). Прежде всего, как упоминалось выше, активация Zeb1 ответа на повреждение ДНК способствует радиорезистентности клеток рака молочной железы (Zhang et al., 2014).

Кроме того, недавно было показано, что Zeb1, путем подавления E-кадгерина в AR-негативных сублиниях клеток РС-3 и DU145, обеспечивает и запуск ЭМП, и устойчивость к митотическому ингибитору доцетакселу (Hanrahan et al., 2017).

Zeb1 И СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

Под контролем транскрипционного фактора Zeb1 в опухолевой клетке протекает множество процессов, от активации ЭМП и роста опухоли, до формирования метастазов. Однако Zeb1 играет лишь роль конечного эффектора в сложной и многоступенчатой системе регуляции клеточных функций, в основе которой лежат сигнальные пути, принимающие участие в онкогенезе. К таким путям, регулирующим в конечном итоге уровень экспрессии Zeb1, относят TGF- β , PI3K/Akt, NF- κ B, Wnt/ β -катенин, RAS/ERK и рецепторные тирозин-киназы (Zhang et al., 2019). Через активацию и подавление данных сигнальных путей и происходит регуляция важнейших программ в злокачественно трансформированной клетке.

В опухолевых клетках часто повышен уровень TGF- β , который может выделяться в микроокружение опухоли паракринным и аутокринным путем, способствуя развитию рака (Pickup et al., 2013). Было показано, что в клетках глиобластомы TGF- β усиливает экспрессию ТФ pSMAD2 и Zeb1, обеспечивая проявление мезенхимального фенотипа. pSMAD2/3 образует комплекс с белком SMAD2, перемещая его затем в ядро, где он связывается с промотором гена Zeb1, активируя транскрипцию последнего (Joseph et al., 2014). Также недавно получены данные о способности TGF- β активировать тирозинкиназу PEAK1 для последующего запуска Zeb1-опосредованного ЭМП, в наиболее агрессивных (TN) опухолях молочной железы (Agajanian et al., 2015). Кроме того, обнаружено, что поддержание стабильного мезенхимного состояния клеток почки собаки MDCK осуществляется через TGF- β сигналинг, который повышает уровень экспрессии Zeb1. Этот процесс осуществляется за счет метилирования ДНК промоторов miR-200 (Gregory et al., 2011). В свою очередь, восстановление экспрессии miR-200с блокировало TGF- β сигналинг через подавление экспрессии Zeb1

и ZNF217, что приводило к снижению инвазивности клеток РМЖ и повышению чувствительности к химиотерапии трастузумаб-резистентных клеток (Bai et al., 2014). И, наконец, есть данные, демонстрирующие, что miR-217 подавляет экспрессию Zeb1, обеспечивающую TGF- β 1-опосредованную пролиферацию и миграцию гладкомышечных клеток дыхательных путей (Gao et al., 2018).

Было отмечено, что в клетках рака легкого экспрессия E-кадгерина при ЭМП и инвазии подавляется с помощью сигнального пути Wnt/ β -катенин. При связывании белка Wnt со своим рецептором, β -катенин диссоциирует от деградирующего комплекса, в состав которого входят аксин, казеинкиназа 1 α , опухолевый супрессор APC и киназа GSK-3 β . Накопленный β -катенин затем транспортируется из цитоплазмы в ядро, где он активирует транскрипцию Zeb1 (Kalra et al., 2018). Важнейшей мишенью Zeb1 в опухолях является транскрипционный фактор Zeb1, который активно экспрессируется в злокачественных клетках для обеспечения ЭМП, проинвазивного и стволового фенотипов раковых клеток и определяет неблагоприятный клинический прогноз в большинстве случаев злокачественных опухолей человека (Cong et al., 2013). В случае рака легкого, сигнальный путь Wnt/ β -катенин активирует экспрессию гена Zeb1, продукт которого запускает ЭМП, подавляя синтез E-кадгерина путем связывания с его промотором, что приводит к метастазированию в кости (Yang et al., 2015). При повышенной экспрессии Zeb1 происходит подавление экспрессии эпителиальных маркеров и активация транскрипции мезенхимальных генов (в их числе – таких мишеней Wnt как гамма-ламинин 2 (LINC2) и урокиназный активатор плазминогена (uPA)), что способствует повышению инвазивности опухоли (Moon et al., 2015). Считается, что экспрессия гена белка uPA, участвующего в ремоделировании матрикса, регулируется через путь передачи сигналов Wnt (β -катенин/TCF4) (Hiendlmeyer et al., 2004). Кроме того, для Wnt-опосредованной индукции синтеза uPA важна экспрессия Zeb1, который с помощью гистонацетилтрансферазы p300 активирует экспрессию uPA путем связывания с промотором данного гена, что повышает инвазивность опухоли (Sánchez-Tilló et al., 2013). В клетках колоректальной карциномы, содержащих мутантный TP53, Zeb1 за счет транскрипционной активации экспрессии белков DKK1, TP53, MDM2 и СТВР подавляет экспрессию связанных со старением генов *macroH2A1* и *SAHF*, что вызывает блокировку старения опухолевых клеток *in vivo*, снижая, таким образом, выживаемость пациентов (de Baggio et al., 2017). Кроме того, недавно обнаружено, что активация взаимодействия β -катенин/Zeb1 АТФ-зависимой РНК-геликазой DDX3 через Akt/GSK-3 β сигнальный путь приводит к повышению экспрессии онкогенного белка KRAS и агрессивности опухолей толстой кишки (Wu et al., 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Транскрипционный фактор Zeb1, как мастер-регулятор ЭМП, играет важную роль в прогрессии опухоли и метастазировании и коррелирует с плохими клиническими исходами у онкологических больных. Кроме того, он способствует развитию устойчивости к терапии при многих злокачественных новообразованиях с помощью как ЭМП-зависимых, так и независимых механизмов. Zeb1 использует несколько различных механизмов регуляции устойчивости к терапии, в зависимости от конкретной опухоли и типа лечения. Данные механизмы могут быть опосредованы различными транскрипционными мишенями Zeb1, которые, в свою очередь, определяют его интерактомом. Таким образом, механизмы устойчивости к терапии определяют необходимость индивидуального подхода в конкретных ситуациях.

Диссеминированные опухолевые клетки могут являться привлекательной мишенью для анти-ЭМП терапии, так как подавление их ЭМП-статуса может привести к ре-дифференцировке и ре-инициации пролиферации и колонизации. В свою очередь, подавление МЭП (мезенхимально-эпителиального перехода) для поддержания диссеминированных отдельных клеток в состоянии покоя представляется весьма многообещающей стратегией.

С накоплением новых данных становится все более очевидным, что спектр действия ЭМП-ТФ при развитии опухоли значительно шире, нежели предполагалось ранее. Они представляют собой плеiotропные транскрипционные факторы, которые могут управлять не только клеточной пластичностью, онкогенной трансформацией, подвижностью и метастазированием, но и метаболизмом, а также устойчивостью к генотоксическому стрессу. Их универсальность и множественность функций, возможно, затрудняют окончательное понимание того, как сеть ЭМП-ТФ регулируется на молекулярном уровне. Дальнейшее изучение механизмов действия Zeb1 и других мастер-регуляторов ЭМП определенно приведет как к лучшему пониманию онтогенеза опухолей и эволюции их резистентности к терапии, так и поспособствует разработке более совершенных и менее токсичных вариантов противоопухолевой терапии.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-09073-мк; А.Г. Миттенберг) и Российского научного фонда (проект № 19-45-02011; Н.А. Барлев).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При подготовке работы экспериментов с использованием животных или с участием людей не проводили.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Agajanian M., Runa F., Kelber J.A.* 2015. Identification of a PEAK1/ZEB1 signaling axis during TGF β /fibronectin-induced EMT in breast cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 465 : 606–612.
- Bai W.D., Ye X.M., Zhang M.Y., Zhu H.Y., Xi W.J., Huang X., Zhao J., Gu B., Zheng G.X., Yang A.G., Jia L.T.* 2014. MiR-200c suppresses TGF β signaling and counteracts trastuzumab resistance and metastasis by targeting ZNF217 and ZEB1 in breast cancer. *Int. J. Cancer.* 135 : 1356–1368.
- Barrallo-Gimeno A., Nieto M.A.* 2005. The snail genes as inducers of cell movement and survival: Implications in development and cancer. *Development.* 132 : 3151–3161.
- Bauer K.R., Brown M., Cress R.D., Parise C.A., Caggiano V.* 2007. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: A population-based study from the California cancer Registry. *Cancer.* 109 : 1721–1728.
- Browne G., Sayan A.E., Tulchinsky E.* 2010. ZEB proteins link cell motility with cell cycle control and cell survival in cancer. *Cell Cycle.* 9 : 886–891.
- Caramel J., Ligier M., Puisieux A.* 2018. Pleiotropic roles for ZEB1 in cancer. *Cancer Res.* 78 : 30–35.
- Chaffer C.L., Marjanovic N.D., Lee T., Bell G., Kleer C.G., Reinhardt F., D'Alessio A.C., Young R.A., Weinberg R.A.* 2013. Poised chromatin at the ZEB1 promoter enables breast cancer cell plasticity and enhances tumorigenicity. *Cell.* 154 : 61–74.
- Cieply B., Farris J., Denvir J., Ford H.L., Frisch S.M.* 2013. Epithelial-mesenchymal transition and tumor suppression are controlled by a reciprocal feedback loop between ZEB1 and Grainyhead-like-2. *Cancer Res.* 73 : 6299–6309.
- Cieply B., Riley P.4th., Pifer P.M., Widmeyer J., Addison J.B., Ivanov A.V., Denvir J., Frisch S.M.* 2012. Suppression of the epithelial-mesenchymal transition by Grainyhead-like-2. *Cancer Res.* 72 : 2440–2453.
- Cong N., Du P., Zhang A., Shen F., Su J., Pu P., Wang T., Zjang J., Kang C., Zhang Q.* 2013. Downregulated microRNA-200a promotes EMT and tumor growth through the Wnt/ β -catenin pathway by targeting the E-cadherin repressors ZEB1/ZEB2 in gastric adenocarcinoma. *Oncol. Rep.* 29 : 1579–1587.
- Dave B., Mittal V., Tan N.M., Chang J.C.* 2012. Epithelial-mesenchymal transition, cancer stem cells and treatment resistance. *Breast Cancer Res.* 14 : 202.
- Dave N., Guaita-Esteruelas S., Gutarra S., Frias À., Beltran M., Peiró S., de Herrerias A.G.* 2011. Functional cooperation between Snail1 and twist in the regulation of ZEB1 expression during epithelial to mesenchymal transition. *J. Biol. Chem.* 286 : 12024–12032.
- de Barrios O., Györfy B., Fernández-Aceñero M.J., Sánchez-Tilló E., Sánchez-Moral L., Siles L., Esteve-Arenys A., Roué G., Casal J.I., Darling D.S., Castells A., Postigo A.* 2017. ZEB1-induced tumorigenesis requires senescence inhibition via activation of DKK1/mutant p53/Mdm2/CtBP and repression of macroH2A1. *Gut.* 66 : 666–682.

- Dent R., Trudeau M., Pritchard K.I., Hanna W.M., Kahn H.K., Sawka C.A., Lickley L.A., Rawlinson E., Sun P., Narod S.A.* 2007. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin. Cancer Res.* 13 : 4429–4434.
- Eger A., Aigner K., Sonderegger S., Dampier B., Oehler S., Schreiber M., Berx G., Cano A., Beug H., Foisner R.* 2005. DeltaEF1 is a transcriptional repressor of E-cadherin and regulates epithelial plasticity in breast cancer cells. *Oncogene.* 24 : 2375–2385.
- Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F.* 2015. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer.* 136 : E359–E386.
- Foulkes W.D., Smith I.E., Reis-Filho J.S.* 2010. Triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 363 : 1938–1948.
- Fujii R., Zhu C., Wen Y., Marusawa H., Bailly-Maitre B., Matsuzawa S., Zhang H., Kim Y., Bennett C.F., Jiang W., Reed J.C.* 2006. HBXIP, cellular target of hepatitis B virus oncoprotein, is a regulator of centrosome dynamics and cytokinesis. *Cancer Res.* 66 : 9099–9107.
- Gao Y., Wang B., Luo H., Zhang Q., Xu M.* 2018. miR-217 represses TGF- β 1-induced airway smooth muscle cell proliferation and migration through targeting ZEB1. *Biomed. Pharmacother.* 108 : 27–35.
- Gao Y., Zhao Y., Zhang J., Lu Y., Liu X., Geng P., Huang B., Zhang Y., Lu J.* 2016. The dual function of PRMT1 in modulating epithelial-mesenchymal transition and cellular senescence in breast cancer cells through regulation of ZEB1. *Sci. Rep.* 6 : 19874.
- Gregory P.A., Bracken C.P., Smith E., Bert A.G., Wright J.A., Roslan S., Morris M., Wyatt L., Farshid G., Lim Y.Y., Lindeman G.J., Shannon M.F., Drew P.A., Khew-Goodall Y., Goodall G.J.* 2011. An autocrine TGF-beta/ZEB/miR-200 signaling network regulates establishment and maintenance of epithelial-mesenchymal transition. *Mol. Biol. Cell.* 22 : 1686–1698.
- Guo X., Zhao L., Cheng D., Mu Q., Kuang H., Feng K.* 2017. AKIP1 promoted epithelial-mesenchymal transition of non-small-cell lung cancer via transactivating ZEB1. *Am. J. Cancer Res.* 7 : 2234–2244.
- Hanrahan K., O'Neill A., Principe M., Bugler J., Murphy L., Fabre A., Puhir M., Culig Z., Murphy K., Watson R.W.* 2017. The role of epithelial-mesenchymal transition drivers ZEB1 and ZEB2 in mediating docetaxel-resistant prostate cancer. *Mol. Oncol.* 11 : 251–265.
- Hiendlmeyer E., Regus S., Wassermann S., Hlubek F., Hayn A., Dimmler A., Koch C., Knoll C., van Beest M., Reuning U., Brabletz T., Kirchner T., Jung A.* 2004. Beta-catenin up-regulates the expression of the urokinase plasminogen activator in human colorectal tumors. *Cancer Res.* 64 : 1209–1214.
- Hollier B.G., Tinnirello A.A., Werden S.J., Evans K.W., Taube J.H., Sarkar T.R., Sphyris N., Shariati M., Kumar S.V., Battula V.L., Herschkowitz J.I., Guerra R., Chang J.T., Miura N., Rosen J.M., Mani S.A.* 2013. FOXC2 expression links epithelial-mesenchymal transition and stem cell properties in breast cancer. *Cancer Res.* 73 : 1981–1982.
- Hong T., Watanabe K., Ta C.H., Villarreal-Ponce A., Nie Q., Dai X.* 2015. An Ovol2-Zeb1 mutual inhibitory circuit governs bidirectional and multi-step transition between epithelial and mesenchymal states. *PLoS Comput. Biol.* 11 : e1004569.
- Jia D., Jolly M.K., Boareto M., Parsana P., Mooney S.M., Pienta K.J., Levine H., Ben-Jacob E.* 2015. OVOL guides the epithelial-hybrid-mesenchymal transition. *Oncotarget.* 6 : 15436–15448.
- Jiang Y., Wang D., Ren H., Shi Y., Gao Y.* 2018. Oncogenic HBXIP enhances ZEB1 through Sp1 to accelerate breast cancer growth. *Thorac. Cancer.* 9 : 1664–1670.
- Joseph J.V., Conroy S., Tomar T., Eggens-Meijer E., Bhat K., Co-pray S., Walenkamp A.M., Boddeke E., Balasubramanyian V., Wagemakers M., den Dunnen W.F., Kruyt F.A.* 2014. TGF- β is an inducer of ZEB1-dependent mesenchymal transdifferentiation in glioblastoma that is associated with tumor invasion. *Cell Death Dis.* 5 : e1443.
- Kalra R.S., Chaudhary A., Yoon A.R., Bhargava P., Omar A., Garg S., Yun C.O., Kaul S.C., Wadhwa R.* 2018. CARF enrichment promotes epithelial-mesenchymal transition via Wnt/ β -catenin signaling: Its clinical relevance and potential as a therapeutic target. *Oncogenesis.* 7 : 39.
- Kim T., Kim D., Park J., Kim S., Choi J., Kim H., Lee W., Park S., Hong E., Kim C.* 2006. Dose-volumetric parameters predicting radiation-induced hepatic toxicity in unresectable hepatocellular carcinoma patients treated with three dimensional conformal radiotherapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 66 : S294–S295.
- Koers-Wunrau C., Wehmeyer C., Hillmann A., Pap T., Dankbar B.* 2013. Cell surface-bound TIMP3 induces apoptosis in mesenchymal Cal78 cells through ligand-independent activation of death receptor signaling and blockade of survival pathways. *PLoS ONE.* 8 : e70709.
- Kyndi M., Sorensen F.B., Knudsen H., Overgaard M., Nielsen H.M., Overgaard J.* 2008. Estrogen receptor, progesterone receptor, HER-2, and response to postmastectomy radiotherapy in high-risk breast cancer: The Danish Breast Cancer Cooperative Group. *J. Clin. Oncol.* 26 : 1419–1426.
- Lee B., Villarreal-Ponce A., Fallahi M., Ovidia J., Sun P., Ito S., Yu Q.C., Sinha S., Nie Q., Dai X.* 2014. Transcriptional mechanisms link epithelial plasticity to adhesion and differentiation of epidermal progenitor cells. *Dev. Cell.* 29 : 47–58.
- Liang S.X., Zhu X.D., Lu H.J., Pan C.Y., Li F.X., Huang Q.F., Wang A.Y., Chen L., Fu X.L., Jiang G.L.* 2005. Hypofractionated three-dimensional conformal radiation therapy for primary liver carcinoma. *Cancer.* 103 : 2181–2188.
- Liedtke C., Mazouni C., Hess K.R., Andre F., Tordai A., Mejia J.A., Symmans W.F., Gonzalez-Angulo A.M., Hennessy B., Green M., Cristofanilli M., Hortobagyi G.N., Pusztai L.* 2008. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 26 : 1275–1281.
- Lin S.Y., Elledge S.J.* 2003. Multiple tumor suppressor pathways negatively regulate telomerase. *Cell.* 113 : 881–889.
- Lin Y., Bai X., Zhou W., He Y., Wu Y., Wang X.* 2018a. Radiation exposure triggers the progression of triple negative breast cancer via stabilizing ZEB1. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 107 : 1624–1630.
- Lin Z., Chen Y., Lin Z., Chen C., Dong Y.* 2018b. Overexpressing PRMT1 inhibits proliferation and invasion in pancreatic cancer by inverse correlation of ZEB1. *IUBMB Life.* 70 : 1032–1039.
- Liu F., You X., Wang Y., Liu Q., Liu Y., Zhang S., Chen L., Zhang X., Ye L.* 2014a. The oncoprotein HBXIP enhances

- angiogenesis and growth of breast cancer through modulating FGF8 and VEGF. *Carcinogenesis*. 35 : 1144–1153.
- Liu F., Zhang W., You X., Liu Y., Li Y., Wang Z., Wang Y., Zhang X., Ye L. 2015. The oncoprotein HBXIP promotes glucose metabolism reprogramming via downregulating SCO2 and PDHA1 in breast cancer. *Oncotarget*. 6 : 27199–27213.
- Liu Y., Costantino M.E., Montoya-Durango D., Higashi Y., Darling D.S., Dean D.C. 2007. The zinc finger transcription factor ZFH1A is linked to cell proliferation by Rb-E2F1. *Biochem. J.* 408 : 79–85.
- Liu Y., El-Naggar S., Darling D.S., Higashi Y., Dean D.C. 2008. Zeb1 links epithelial-mesenchymal transition and cellular senescence. *Development*. 135 : 579–588.
- Liu Y., Lu X., Huang L., Wang W., Jiang G., Dean K.C., Clem B., Telang S., Jenson A.B., Cuatrecasas M., Chesney J., Darling D.S., Postigo A., Dean D.C. 2014c. Different thresholds of ZEB1 are required for Ras-mediated tumour initiation and metastasis. *Nat. Commun.* 5 : 5660.
- Liu Y., Sánchez-Tilló E., Lu X., Clem B., Telang S., Jenson A.B., Cuatrecasas M., Chesney J., Postigo A., Dean D.C. 2013. Rb1 family mutation is sufficient for sarcoma initiation. *Nat. Commun.* 4 : 2650.
- Liu Y., Sánchez-Tilló E., Lu X., Huang L., Clem B., Telang S., Jenson A.B., Cuatrecasas M., Chesney J., Postigo A., Dean D.C. 2014b. The ZEB transcription factor acts in a negative feedback loop with miR200 downstream of Ras and Rb1 to regulate Bmi1 expression. *J. Biol. Chem.* 289 : 4116–4125.
- Mallini P., Lennard T., Kirby J., Meeson A. 2014. Epithelial-to-mesenchymal transition: What is the impact on breast cancer stem cells and drug resistance. *Cancer Treat. Rev.* 40 : 341–348.
- Maturi V., Enroth S., Heldin C.H., Moustakas A. 2018. Genome-wide binding of transcription factor ZEB1 in triple-negative breast cancer cells. *J. Cell. Physiol.* 233 : 7113–7127.
- Messier T.L., Gordon J.A., Boyd J.R., Tye C.E., Browne G., Stein J.L., Lian J.B., Stein G.S. 2016. Histone H3 lysine 4 acetylation and methylation dynamics define breast cancer subtypes. *Oncotarget*. 7 : 5094–5109.
- Moon Y.W., Rao G., Kim J.J., Shim H.S., Park K.S., An S.S., Kim B., Steeg P.S., Sarfaraz S., Changwoo Lee L., Voeller D., Choi E.Y., Luo J., Palmieri D., Chung H.C., Kim J.H., Wang Y., Giaccone G. 2015. LAMC2 enhances the metastatic potential of lung adenocarcinoma. *Cell Death Differ.* 22 : 1341–1352.
- Noman M.Z., van Moer K., Marani V., Gemmill R.M., Tranchesi L.-C., Azuaje F., Muller A., Chouaib S., Thiery J. P., Berchem G., Janji B. 2018. CD47 is a direct target of SNAI1 and ZEB1 and its blockade activates the phagocytosis of breast cancer cells undergoing EMT. *Oncoimmunology*. 7 : e1345415.
- O'Rourke M.A., Murray L.J., Brand J.S., Bhoo-Pathy N. 2016. The value of adjuvant radiotherapy on survival and recurrence in triple-negative breast cancer: A systematic review and meta-analysis of 5507 patients. *Cancer Treat. Rev.* 47 : 12–21.
- Ohashi S., Natsuzaka M., Wong G.S., Michaylira C.Z., Grugan K.D., Stairs D.B., Kalabis J., Vega M.E., Kalman R.A., Nakagawa M., Klein-Szanto A.J., Herlyn M., Diehl J.A., Rustgi A.K., Nakagawa H. 2010. Epidermal growth factor receptor and mutant p53 expand an esophageal cellular subpopulation capable of epithelial-to-mesenchymal transition through ZEB transcription factors. *Cancer Res.* 70 : 4174–4184.
- Pastushenko I., Brisebarre A., Sifrim A., Fioramonti M., Revenco T., Boumahdi S., van Keymeulen A., Brown D., Moers V., Le-maire S., de Clercq S., Minguijón E., Balsat C., Sokolow Y., Dubois C., de Cock F., Scozzaro S., Sopena F., Lanas A., D'Haene N., Salmon I., Marine J.C., Voet T., Sotiropoulou P.A., Blanpain C. 2018. Identification of the tumour transition states occurring during EMT. *Nature*. 556 : 463–468.
- Pickup M., Novitskiy S., Moses H.L. 2013. The roles of TGF β in the tumour microenvironment. *Nat. Rev. Cancer*. 13 : 788–799.
- Prise K.M., Schettino G., Folkard M., Held K.D. 2005. New insights on cell death from radiation exposure. *Lancet Oncol.* 6 : 520–528.
- Qi J.H., Anand-Apte B. 2015. Tissue inhibitor of metalloproteinase-3 (TIMP3) promotes endothelial apoptosis via a caspase-independent mechanism. *Apoptosis*. 20 : 523–534.
- Reddel R.R. 2014. Telomere maintenance mechanisms in cancer: clinical implications. *Curr. Pharmaceut. Des.* 20 : 6361e6374.
- Richard G., Dalle S., Monet M.A., Ligier M., Boespflug A., Pomnier R.M., de la Fouchardière A., Perier-Muzet M., Depaepe L., Barnault R., Tondeur G., Ansieau S., Thomas E., Bertolotto C., Ballotti R., Mourah S., Battistella M., Lebbé C., Thomas L., Puisieux A., Caramel J. 2016. ZEB1-mediated melanoma cell plasticity enhances resistance to MAPK inhibitors. *EMBO Mol. Med.* 8 : 1143–1161.
- Roca H., Hernandez J., Weidner S., McEachin R.C., Fuller D., Sud S., Schumann T., Wilkinson J.E., Zaslavsky A., Li H., Maher C.A., Daignault-Newton S., Healy P.N., Pienta K.J. 2013. Transcription factors OVOL1 and OVOL2 induce the mesenchymal to epithelial transition in human cancer. *PLoS One*. 8 : e76773.
- Roxanis I. 2013. Occurrence and significance of epithelial-mesenchymal transition in breast cancer. *J. Clin. Pathol.* 66 : 517–521.
- Sánchez-Tilló E., de Barrios O., Siles L., Amendola P.G., Darling D.S., Cuatrecasas M., Castells A., Postigo A. 2013. ZEB1 promotes invasiveness of colorectal carcinoma cells through the opposing regulation of uPA and PAI-1. *Clin. Cancer Res.* 19 : 1071–1082.
- Sánchez-Tilló E., de Barrios O., Siles L., Cuatrecasas M., Castells A., Postigo A. 2011. β -catenin/TCF4 complex induces the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)-activator ZEB1 to regulate tumor invasiveness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 108 : 19204–19209.
- Shi H., Li Y., Feng G., Li L., Fang R., Wang Z., Qu J., Ding P., Zhang X., Ye L. 2016. The oncoprotein HBXIP upregulates FGF4 through activating transcriptional factor Sp1 to promote the migration of breast cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 471 : 89–94.
- Shibue T., Weinberg R.A. 2017. EMT, CSCs, and drug resistance: The mechanistic link and clinical implications. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 14 : 611–629.
- Shirakihara T., Saitoh M., Miyazono K. 2007. Differential regulation of epithelial and mesenchymal markers by deltaEF1 proteins in epithelial mesenchymal transition induced by TGF-beta. *Mol. Biol. Cell*. 18 : 3533–3544.
- Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. 2017. Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* 67 : 7–30.
- Simeone P., Trerotola M., Franck J., Cardon T., Marchisio M., Fournier I., Salzet M., Maffia M., Vergara D. 2019. The multiverse nature of epithelial to mesenchymal transition.

- Semin Cancer Biol. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.11.004>
- Singh D.K., Kollipara R.K., Vemireddy V., Yang X.L., Sun Y., Regmi N., Klingler S., Hatanpaa K.J., Raisanen J., Cho S.K., Sirasanagandla S., Nannepaga S., Piccirillo S., Mashimo T., Wang S., Humphries C.G., Mickey B., Maher E.A., Zheng H., Kim R.S., Kittler R., Bachoo R.M. 2017. Oncogenes activate an autonomous transcriptional regulatory circuit that drives glioblastoma. *Cell Rep.* 18 : 96–976.
- Skrypek N., Goossens S., de Smedt E., Vandamme N., Berx G. 2017. Epithelial-to-mesenchymal transition: Epigenetic reprogramming driving cellular plasticity. *Trends Genet.* 33 : 943–959.
- Su L., Luo Y., Yang Z., Yang J., Yao C., Cheng F., Shan J., Chen J., Li F., Liu L., Liu C., Xu Y., Jiang L., Guo D., Prieto J., Avila M.A., Shen J., Qian C. 2016. MEF2D transduces micro-environment stimuli to ZEB1 to promote epithelial-mesenchymal transition and metastasis in colorectal cancer. *Cancer Res.* 76 : 5054–5067.
- Taube J.H., Herschkowitz J., Komurov K., Zhou A.Y., Gupta S., Yang J., Hartwell K., Onder T.T., Gupta P.B., Evans K.W., Hollier B.G., Ram P.T., Lander E.S., Rosen J.M., Weinberg R.A., Mani S.A. 2010. Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin low and metaplastic breast cancer subtypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107 : 15449–15459.
- Tseng L.M., Hsu N.C., Chen S.C., Lu Y.S., Lin C.H., Chang D.Y., Li H., Lin Y.C., Chang H.K., Chao T.C., Ouyang F., Hou M.F. 2013. Distant metastasis in triple-negative breast cancer. *Neoplasia.* 60 : 290–294.
- Tulchinsky E., Demidov O., Kriaievska M., Barlev N.A., Imyan-ito E. 2019. EMT: A mechanism for escape from EGFR-targeted therapy in lung cancer. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer.* 1871 : 29–39.
- Viswanathan V.S., Ryan M.J., Dhruv H.D., Gill S., Eichhoff O.M., Seashore-Ludlow B., Kaffenberger S.D., Eaton J.K., Shimada K., Aguirre A.J., Viswanathan S.R., Chattopadhyay S., Tamayo P., Yang W.S., Rees M.G., Chen S., Boskovic Z.V., Javaid S., Huang C., Wu X., Tseng Y.Y., Roider E.M., Gao D., Cleary J.M., Wolpin B.M., Mesirov J.P., Haber D.A., Engelman J.A., Boehm J.S., Kotz J.D., Hon C.S., Chen Y., Hahn W.C., Levesque M.P., Doench J.G., Berens M.E., Shamji A.F., Clemons P.A., Stockwell B.R., Schreiber S.L. 2017. Dependency of a therapy-resistant state of cancer cells on a lipid peroxidase pathway. *Nature.* 547 : 453–457.
- Wahba H.A., El-Hadaad H.A. 2015. Current approaches in treatment of triple-negative breast cancer. *Cancer Biol. Med.* 12 : 106–116.
- Wang C., Ge Q., Zhang Q., Chen Z., Hu J., Li F., Ye Z. 2016. Targeted p53 activation by saRNA suppresses human bladder cancer cells growth and metastasis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 35 : 53.
- Wang Y., Zhou B.P. 2013. Epithelial-mesenchymal Transition – A Hallmark of Breast Cancer Metastasis. *Cancer Hallm.* 1 : 38–49.
- Watanabe K., Villarreal-Ponce A., Sun P., Salmans M.L., Fallahi M., Andersen B., Dai X. 2014. Mammary morphogenesis and regeneration require the inhibition of EMT at terminal end buds by *Ovol2* transcriptional repressor. *Dev. Cell.* 29 : 59–74.
- Wels C., Joshi S., Koefinger P., Bergler H., Schaidler H. 2011. Transcriptional activation of ZEB1 by slug leads to cooperative regulation of the epithelial–mesenchymal transition-like phenotype in melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 131 : 1877–1885.
- Werden S.J., Sphyris N., Sarkar T.R., Paranjape A.N., LaBaff A.M., Taube J.H., Hollier B.G., Ramirez-Peña E.Q., Soundararajan R., den Hollander P., Powell E., Echeverria G.V., Miura N., Chang J.T., Piwnicka-Worms H., Rosen J.M., Mani S.A. 2016. Phosphorylation of serine 367 of FOXC2 by p38 regulates ZEB1 and breast cancer metastasis, without impacting primary tumor growth. *Oncogene.* 35 : 5977–5988.
- Werner S., Frey S., Riethdorf S., Schulze C., Alawi M., Kling L., Vafaizadeh V., Sauter G., Terracciano L., Schumacher U., Pantel K., Assmann V. 2013. Dual roles of the transcription factor grainyhead-like 2 (GRHL2) in breast cancer. *J. Biol. Chem.* 288 : 22993–23008.
- Willingham S.B., Volkmer J.P., Gentles A.J., Sahoo D., Dalerba P., Mitra S.S., Wang J., Contreras-Trujillo H., Martin R., Cohen J.D., Lovelace P., Scheeren F.A., Chao M.P., Weiskopf K., Tang C., Volkmer A.K., Naik T.J., Storm T.A., Mosley A.R., Edris B., Schmid S.M., Sun C.K., Chua M.S., Murillo O., Rajendran P., Cha A.C., Chin R.K., Kim D., Adorno M., Raveh T., Tseng D., Jaiswal S., Enger P.O., Steinberg G.K., Li G., So S.K., Majeti R., Harsh G.R., van de Rijn M., Teng N.N., Sunwoo J.B., Alizadeh A.A., Clarke M.F., Weissman I.L. 2012. The CD47-signal regulatory protein alpha (SIRPα) interaction is a therapeutic target for human solid tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109 : 6662–6667.
- Wu D.W., Lin P.L., Cheng Y.W., Huang C.C., Wang L., Lee H. 2016. DDX3 enhances oncogenic KRAS-induced tumor invasion in colorectal cancer via the β-catenin/ZEB1 axis. *Oncotarget.* 7 : 22687–22699.
- Wu W.S., You R.I., Cheng C.C., Lee M.C., Lin T.Y., Hu C.T. 2017. Snail collaborates with EGR-1 and SP-1 to directly activate transcription of MMP 9 and ZEB1. *Sci. Rep.* 7 : 17753.
- Xiong H., Hong J., Du W., Lin Y.W., Ren L.L., Wang Y.C., Su W.Y., Wang J.L., Cui Y., Wang Z.H., Fang J.Y. 2012. Roles of STAT3 and ZEB1 proteins in E-cadherin down-regulation and human colorectal cancer epithelial-mesenchymal transition. *J. Biol. Chem.* 287 : 5819–5832.
- Yang J., Huang J., Dasgupta M., Sears N., Miyagi M., Wang B., Chance M.R., Chen X., Du Y., Wang Y., An L., Wang Q., Lu T., Zhang X., Wang Z., Stark G.R. 2010. Reversible methylation of promoter-bound STAT3 by histone-modifying enzymes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107 : 21499–21504.
- Yang X., Li L., Huang Q., Xu W., Cai X., Zhang J., Yan W., Song D., Liu T., Zhou W., Li Z., Yang C., Dang Y., Xiao J. 2015. Wnt signaling through Snail1 and ZEB1 regulates bone metastasis in lung cancer. *Am. J. Cancer Res.* 5 : 748–755.
- Yu J.M., Sun W., Hua F., Xie J., Lin H., Zhou D.D., Hu Z.W. 2015. BCL6 induces EMT by promoting the ZEB1-mediated transcription repression of E-cadherin in breast cancer cells. *Cancer Lett.* 365 : 190–200.
- Yu P., Shen X., Yang W., Zhang Y., Liu C., Huang T. 2018. ZEB1 stimulates breast cancer growth by up-regulating hTERT

- expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 495 : 2505–2511.
- Zhang J., Ma L. 2012. MicroRNA control of epithelial-mesenchymal transition and metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 31 : 653–662.
- Zhang P., Wei Y., Wang L., Debeb B.G., Yuan Y., Zhang J., Yuan J., Wang M., Chen D., Sun Y., Woodward W.A., Liu Y., Dean D.C., Liang H., Hu Y., Ang K.K., Hung M.C., Chen J., Ma L. 2014. ATM-mediated stabilization of ZEB1 promotes DNA damage response and radioresistance through CHK1. *Nat. Cell Biol.* 16 : 864–875.
- Zhang W., Shi X., Peng Y., Wu M., Zhang P., Xie R., Wu Y., Yan Q., Liu S., Wang J. 2015. HIF-1 α promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis through direct regulation of ZEB1 in colorectal cancer. *PLoS One.* 10(6) : e0129603.
- Zhang X., Zhang Z., Zhang Q., Zhang Q., Sun P., Xiang R., Ren G., Yang S. 2018. ZEB1 confers chemotherapeutic resistance to breast cancer by activating ATM. *Cell Death Dis.* 9 : 57.
- Zhang Y., Xu L., Li A., Han X. 2019. The roles of ZEB1 in tumorigenic progression and epigenetic modifications. *Bio-medicine & Pharmacotherapy* 110 : 400–408.

TRANSCRIPTION FACTOR Zeb1 AND ITS ROLE IN METASTASIS AND CARCINOGENESIS

D. Y. Pozdnyakov^a, O. Y. Shuvalov^a, N. A. Barlev^a, and A. G. Mittenberg^{a, *}

^a*Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 194064 Russia*

**e-mail: a.mittenberg@gmail.com*

Metastasis and relapse are the main causes of breast cancer mortality, but their major mechanisms are still not studied well. Understanding the mechanisms of metastasis is important for early diagnosis and treatment of tumors. The appearance and subsequent growth of carcinoma cells outside the primary tumor nodule is a complicated and multistep process. The epithelial-mesenchymal transition (EMT), which attenuates cell-cell junctions and allows tumor cells to migrate away from the bulk of the tumor characterized by multi-level regulation via transcription factors, signaling cascades and specific RNA molecules plays the key role in it. One of the master regulators of the epithelial-mesenchymal transition is the Zeb1 transcription factor, and the regulation of its activity, as well as its contribution to the metastasis of malignant tumors, the present review of recent scientific periodicals is dedicated.

Keywords: breast carcinoma, epithelial-mesenchymal transition, Zeb1 transcription factor, metastasis, regulation of gene expression