

Современные молекулярные подходы к диагностике и лечению низкодифференцированных глиом

Д.б.н. Г.В. ПАВЛОВА¹, д.м.н. В.П. БАКЛАУШЕВ^{2,3}, студ. М.А. ИВАНОВА⁵, к.м.н. С.А. ГОРЯЙНОВ⁴, к.б.н. Е.Ю. РЫБАЛКИНА⁶, проф. А.М. КОПЫЛОВ⁵, акад. РАН В.П. ЧЕХОНИН^{2,3}, акад. РАН А.А. ПОТАПОВ⁴, акад. РАН А.Н. КОНОВАЛОВ⁴

¹ФГБУ «Институт биологии гена» РАН; ²Национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России; ³Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского Минздрава России; ⁴ФГБНУ «Научно-исследовательский институт нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко»; ⁵химический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова; ⁶ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина», Москва

Анализируется современное состояние проблемы диагностики и терапии глиом высокой степени злокачественности с позиции существующих на сегодняшний день наиболее перспективных подходов. Рассматривается перспективность применения в целях диагностики и терапии молекулярно-генетического анализа маркеров глиобластомы, расположенных на поверхности опухолевой клетки. В качестве наиболее интересных подходов к терапии анализируется применение генотерапии, лечения с помощью дендритных клеток и онколитических вирусов. Работа поддержана грантом РФФИ 13-04-40202-Н КОМФИ (13-04-40200-Н, 13-04-40203-Н, 13-04-40201-Н, 13-04-40202-Н), программой МКБ.

Ключевые слова: глиобластома, молекулярный анализ, таргетная терапия, генетические маркеры.

Modern molecular approaches to diagnosis and treatment of high-grade brain gliomas

G.V. PAVLOVA, V.P. BAKLAUSHEV, M.A. IVANOVA, S.A. GORYAINOV, E.YU. RYBALKINA, A.M. KOPYLOV, V.P. CHEKHONIN, A.A. POTAPOV, A.N. KONOVALOV

¹Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; ²N.I. Pirogov National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; ³V.P. Serbsky State Research Center for Social and Forensic Psychiatry, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; ⁴N.N. Burdenko Neurosurgical Institute, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia; ⁵Department of Chemistry, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ⁶N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

The review analyzes the current state of the problem of diagnosis and therapy of high-grade gliomas on the basis of the most promising present-day approaches. The diagnostic and treatment perspectives of the molecular genetic analysis of glioblastoma markers located on the tumor cell surface are considered. Gene therapy and the use of dendritic cells and oncolytic viruses are considered as the most interesting approaches to therapy of high-grade gliomas. This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant 13-04-40202 CIBR (13-04-40200-N, 13-04-40203-N, 13-04-40201-N, 13-04-40202-N)) and the ICD program.

Key words: glioblastoma, molecular analysis, target therapy, genetic markers.

Первичные опухоли центральной нервной системы (ЦНС) составляют около 2% всех опухолей и занимают четвертое место в структуре онкологической смертности [1]. Около 60% выявляемых опухолей головного мозга — глиомы, из них до 50—70% имеют морфологические признаки, позволяющие отнести их к глиомам III—IV степени злокачественности. Мультиформная глиобластома (МГ) является наиболее часто встречающейся опухолью ЦНС [2].

Несмотря на все современные успехи нейрохирургии, развитие интраоперационной навигации, химио- и лучевой терапии, лечение первичных злокачественных опухолей головного мозга продолжает оставаться недостаточно эффективным. Средняя продолжительность жизни таких пациентов после операции на фоне химио- и лучевой терапии составляет для МГ и анапластической астроцитомы

14 и 25 мес соответственно, а 5-летняя выживаемость больных с МГ не превышает 10% [3].

С точки зрения молекулярной биологии МГ представляет собой постоянно эволюционирующую, поликлональную, генетически и фенотипически гетерогенную популяцию клеток с множественными генными и геномными изменениями, дисрегулированными внутриклеточными сигнальными путями, пластично реорганизующуюся в процессе терапии. Эти особенности МГ делают малоэффективными существующие методы лечения МГ, включая самые современные цитотоксические химиопрепараты и антиангиогенную терапию с помощью моноклональных антител и низкомолекулярных ингибиторов. В связи с этим поиск новых эффективных методов противоопухолевой терапии остается крайне актуальным.

Разработка инновационных молекулярно-биологических подходов к терапии МГ идет в нескольких направлениях. В частности, исследуются возможности создания таргетных противоопухолевых препаратов на основе наноконтейнеров, снабженных «направляющими» моноклональными антителами [4], обладающих рН-чувствительностью или каким-либо другим свойством, увеличивающим тропность к очагу опухоли [5]. В рамках этого же направления активно разрабатываются новые способы лечения, основанные на доставке и экспрессии терапевтических генов, которые могут привести к гибели опухолевых клеток, ингибировать сосудобразование в опухоли или активировать эффективный иммунный ответ против глиобластомы. Иммуностимулирующая терапия МГ и создание противоопухолевых вакцин как ДНК, так и клеточных, составляет отдельное направление исследований. Большие надежды в этой связи возлагают на применение аутологичных дендритных клеток. Сенсибилизация этих клеток антигенами опухолевой ткани позволяет существенно повысить противоопухолевый клеточный иммунный ответ [6].

Еще одним инновационным подходом к терапии низкодифференцированных глиом является применение онколитических вирусов (ОВ). Препринципиальные исследования на культурах опухолевых клеток и на животных с экспериментальными опухолями человека (включая экспериментальные глиомы) демонстрируют очень высокий терапевтический потенциал ОВ, превосходящий возможности всех существующих клинико-экспериментальных методов терапии. Малая вероятность формирования внутренней резистентности в опухолевых клетках к ОВ и отсутствие значительных побочных эффектов даже при высоких дозах системного введения делают их особо привлекательными для генно-инженерной разработки улучшенных вариантов с высокой терапевтической активностью [7, 8].

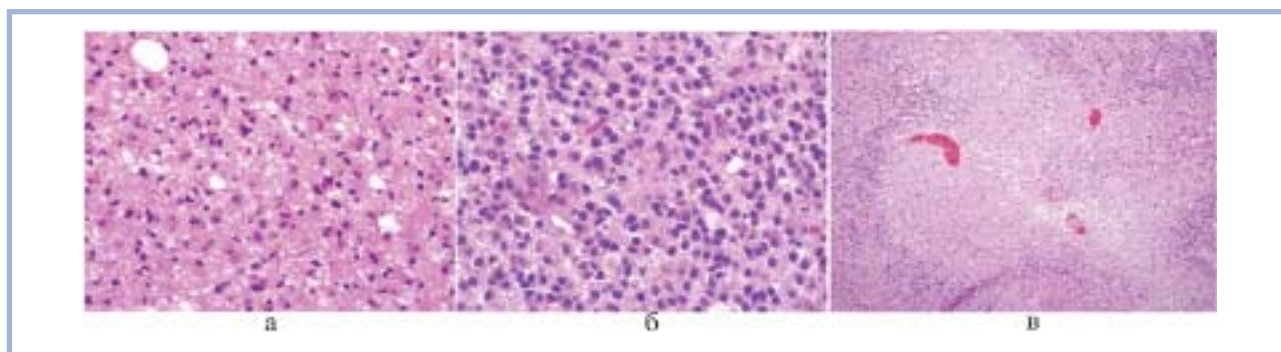
Цель настоящего обзора — анализ наиболее перспективных инновационных подходов, которые в ближайшем будущем могут быть также транслированы в нейроонкологическую практику. В обзоре проведен обобщенный анализ известных на сегодняшний день мембранных маркеров глиомы человека, который может послужить основой для разработки таргетной терапии данного заболевания.

Диагностика глиом

Общая ежегодная заболеваемость глиомами составляет 5–6 на 100 000 населения [2, 3]. Анапластические астроцитомы, анапластические олигодендроглиомы и олигоастроцитомы (Grade III по классификации ВОЗ), а также глиобластомы (Grade IV по классификации ВОЗ) относятся к злокачественным глиомам, тогда как глиомы I и II степени по классификации ВОЗ считаются доброкачественными и характеризуются благоприятным прогнозом [9]. Гистологический диагноз является одним из факторов, определяющим тактику послеоперационного лечения [11]. Глиомы Grade III, в отличие от опухолей I–II степени злокачественности, характеризуются митотической активностью и полиморфизмом ядер опухолевых клеток. Для определения опухолей IV степени (глиобластомы) важными критериями являются повышенная сосудистая пролиферация, наличие микрокровоизлияний и очагов некроза [9].

Для подтверждения гистологического типа глиом в настоящее время применяется иммуногистохимический анализ с помощью антител к GFAP (маркер высокодифференцированных астроцитов), виментину, белку S-100b, MBP (маркеры олигодендроглиом), белку-супрессору p53 и др. Иммуногистохимическими признаками злокачественности глиом являются низкий уровень перечисленных выше белков и высокое содержание в опухолевых клетках таких белков, как Ki-67 (ядерный белок, индуктор пролиферации), CD34 (маркер активации эндотелия), цитокератины и некоторые другие белки, ассоциированные с повышенной пролиферативной активностью и ингибированием апоптоза [11].

Большое количество исследований посвящено молекулярно-генетической диагностике глиом и поиску генетических маркеров, обеспечивающих долговременное выживание пациентов со злокачественными глиомами. Последние данные свидетельствуют о возможности классифицировать глиомы по экспрессии кластера маркерных генов. Опираясь на подобную классификацию, возможно корректировать методы лечения, приводящие к повышению выживаемости пациентов. Исследователи показали, что в подобной классификации можно использовать около 44 генов, отвечающих за пролиферацию, миграцию, стимуляцию образования сосудов и др. Таким образом, предложено разделение глиом на четыре группы в зависимости от экспрессии генетических маркеров, при этом от-



Гистологические характеристики злокачественных глиом.

а — анапластическая астроцитома: умеренно клеточная астроцитарная опухоль с митозами и плеоморфными ядрами; б — олигодендроглиома: плотно расположенные опухолевые клетки с округлыми ядрами и перинуклеарными ореолами, типичными для анапластической олигодендроглиомы; в — глиобластома: области некроза, кровоизлияния и перинекротические «палисадные» формации, характерные для глиобластомы [10].

мечено, что выживаемость пациентов коррелировала с экспрессией определенных генов. Наибольшая выживаемость отмечалась у пациентов с глиомами, экспрессирующими факторы, отвечающие за дифференцировочный потенциал [12].

Другой пример генетического прогнозирования выживаемости пациента — определение метилированного состояния MGMT промотора. MGMT (О6-метилгуанин-ДНК метилтрансфераза) — фермент системы репарации ДНК, препятствующий генотоксическим эффектам алкилирующих агентов, таких как темозоломид. Метилирование промотора MGMT ведет к угнетению экспрессии гена MGMT и связано с наиболее благоприятным исходом для пациентов с глиобластомой, лечившихся темозоломидом [13].

В настоящее время по меньшей мере три молекулярных маркера считаются важными при диагностике злокачественных глиом [14]: 1p/19q коделеция, метилирование промотора MGMT и мутация изоцитратдегидрогеназы-1/2 (ИДГ-1/2). Совместная потеря участков хромосом 1 и 19, вероятно, вызывается нестабильными транслокациями и четко связана с олигодендроглиальной морфологией глиом [15]. 1p/19q коделеция выявляется флуоресцентной *in situ* гибридизацией или анализами на основе минисателлитной полимеразной цепной реакции (ПЦР) для детекции аллельных потерь и дает более благоприятный прогноз. Метилирование промотора MGMT оценивается специфической к метилированию ПЦР промоторного участка [16]. Есть предположения, что в результате него происходит потеря MGMT, фермента, противостоящего повреждениям ДНК, вызванным алкилирующими агентами. Этот молекулярный маркер не распределен дифференциально среди различных типов глиомы, но остается потенциальным маркером для предсказания успешной химиотерапии [17]. Мутации генов ИДГ, в основном ИДГ-1, могут быть выявлены ПЦР и направленным секвенированием и очень распространены в глиомах II и III степени, но редки в глиобластомах [18, 19]. Это свидетельствует о том, что многие глиобластомы — биологически далекие опухоли, которые не связаны с типичными предшественниками ранних степеней. Патогенная роль мутаций ИДГ в глиоматогенезе остается спорной, но может включать появление новых, альтернативных функций мутантных ИДГ ферментов, которые производят онкометаболит α -гидроксиглутарат. Мутации ИДГ прогностически благоприятны и почти никогда не появляются у пожилых пациентов со злокачественными глиомами, что частично объясняет отрицательное прогностическое влияние возраста этих пациентов [19]. Иммуногистохимический анализ с помощью специфических антител к мутантной ИДГ R132H может быть диагностически ценным, так как эти мутации распространены в глиомах II и III степени, но отсутствуют, например, в пилоцитарных астроцитомах или эпендимомах [18].

Весьма перспективными молекулярными маркерами глиом могут служить микроРНК. В частности, показано, что экспрессия одних микроРНК, например miR-650 [20], повышается в глиомах, тогда как других, например miR-203 [21], снижается. Данные изменения экспрессии коррелируют с неблагоприятным прогнозом заболевания. Предполагается, что анализ паттерна микроРНК может дать ценную дополнительную информацию не только о прогнозе, но и о степени злокачественности, а также резистентности к химио- и радиотерапии [22].

Принципы современного лечения глиом головного мозга

Лечение злокачественных глиом в настоящий момент комбинированное и включает микрохирургическое удаление опухоли, лучевую и химиотерапию [1]. Основной задачей хирургического лечения внутримозговых опухолей является удаление опухолевой ткани (циторедукция) с минимальным повреждением мозга и установление гистологического диагноза. Максимальная радикальность оперативного вмешательства с учетом физиологической дозволенности приводит к одномоментной элиминации большого количества жизнеспособных опухолевых клеток, в том числе и резистентных к терапии, уменьшает внутричерепную гипертензию и может способствовать улучшению нарушенных неврологических функций [23]. Полное удаление злокачественных внутримозговых опухолей практически невозможно в силу инфильтративного характера роста и поражения функционально важных зон мозга, что может привести к выраженному неврологическому дефициту после операции.

При проведении всех видов лечения у пациентов с глиобластомами частота 5-летней выживаемости, к сожалению, не превышает 10% [3]. Прогноз в наибольшей степени зависит от патоморфологической характеристики опухоли и возраста пациента [24], в меньшей степени от радикальности оперативного вмешательства [25].

Генотерапия

Генно-терапевтические подходы уже частично перешли от преклинических исследований к I и II фазе клинических испытаний [36, 41]. Общая цель генной терапии состоит в достижении селективной экспрессии генотерапевтической конструкции в опухолевых клетках для их элиминации и стойкой защиты от рецидива.

Один из вариантов генотерапии — метод антиангиогенной терапии разработан для предотвращения сосудобразования в опухолях, необходимого для их роста и метастазирования [26]. В иммуностимулирующих подходах стремятся использовать собственную иммунную систему пациента для направленного разрушения опухоли [27]. Также, предположительно, при этом подходе может быть активирована иммунологическая память для защиты от рецидива заболевания. Онколитические вирусы провоцируют лизис опухолевой клетки и распространение вируса после инфекции, специфично заражая опухолевые клетки с генетическими или метаболическими изменениями [28, 29]. Стратегии с использованием направленных токсинов используют рецепторы, специфически экспрессирующиеся на глиомных клетках, для направленного уничтожения этих клеток [30, 31].

Опухолевые супрессоры, онкогены и другие векторы с репликационным компонентом

Все опухолевые клетки изначально произошли из нормальных предшественников [33]. Однако опухолевые клетки содержат «вредные» мутации в ключевых генах, опухолевых супрессорах или онкогенах, которые регулируют пролиферацию и/или апоптоз. Общеизвестно, что канцерогенез является многоэтапным процессом, для которого необходимы мутации различных генов в ДНК отдельных клеток, таких как гены, которые регулируют клеточный цикл, независимость от факторов роста, сосудобразование, клеточную миграцию, изменение адгезив-

ных свойств, сниженные уровни апоптоза и пониженную чувствительность к химиотерапевтическим агентам [33].

Генетика глиомогенеза хорошо охарактеризована в сравнении с различными видами рака, и эта информация также может быть использована для разработки генной терапии для исправления этих генетических нарушений. С развитием глиомы у человека, как правило, связывают мутации четырех сигнальных путей: P53/ARF/MDM2 путь, P16/Rb/cyclinD/CDK4 путь, RTK/Ras путь и PI3K/PTEN/Akt путь [34]. Разработаны вирусные векторы, экспрессирующие трансгены, обычно мутировавшие в глиоме, для коррекции генетических мутаций [28].

Существуют аденовирусные векторы для доставки p53 к опухолевым клеткам. Экспрессия гена p53 критически необходима для нормального клеточного цикла и апоптоза [35]. В глиоме человека наиболее распространены мутации p53 или инактивирующих его белков. Инактивация p53 позволяет опухолевым клеткам обходить нормальный контроль клеточного роста. В попытке ингибирования опухолевого роста и запуска апоптоза ген p53 доставляли в клетки глиомы с помощью репликативно некомпетентного аденовирусного вектора [36].

В первой фазе испытаний пациентам имплантировали микрокатетеры для инъекции аденовирусных векторов с p53 в опухолевую ткань. Через несколько дней после введения вируса выполняли резекцию опухоли, оценивали степень биологического эффекта. В послеоперационном периоде было проведено дальнейшее введение аденовирусов с p53 в образовавшуюся после резекции полость для определения токсичности. При этом была показана трансдукция p53, хотя трансдуцированные клетки были обнаружены на расстоянии не более 5–8 мм от места введения. Признаки апоптоза выявлялись в небольшой доле опухолевых клеток. Тогда как активного вируса за пределами ЦНС не было обнаружено, титры антиаденовирусных антител были повышены. У некоторых пациентов развились неврологические побочные эффекты, которые купировались лечением кортикостероидами. Время до развития рецидива составляло в среднем 7 мес [37].

Онколитические вирусы в терапии мультиформной глиобластомы

История виротерапии опухолей насчитывает более 100 лет: первое сообщение о регрессе опухоли в области шеи у женщины после введения вакцины, содержащей истощенный вирус бешенства, датировано 1912 г. [7]. В дальнейшем были и другие наблюдения, показывающие, что перенесенная вирусная инфекция замедляет развитие опухоли. Современная эра онколитической виротерапии началась в 90-х годах прошлого столетия, когда развитие генной инженерии сделало возможным конструирование вирусного генома, а понимание основных молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза и вирусной инвазии позволило определить мишени, обеспечивающие тропность вирусов к опухолевым клеткам. Первый лабораторный вирус для онколитической терапии был создан на основе Herpes simplex virus (HSV; вирус простого герпеса) в 1991 г. R. Martuza и соавт. [38]. В 1996 г. были опубликованы данные о первом генно-инженерном онколитическом аденовирусе [39]. В настоящее время известны более 20 потенциальных ОБ более чем из 10 различных вирусных семейств, список же созданных на их основе модифицированных форм ОБ уже не поддается

исчислению. В фазе клинических испытаний находятся ОБ, созданные на основе HSV, аденовируса, вируса болезни Ньюкасла, реовируса, парвовируса H1 [40–42], вируса кори, вируса полиомиелита [7].

Мультиформная глиобластома почти с самого начала развития концепции ОБ рассматривалась в качестве кандидата для онколитической терапии, и не только в связи с неэффективностью существующих методов лечения. Во-первых, эта опухоль не имеет отдаленных метастазов и почти всегда локализована в пределах одного органа, что позволяет применять локальное введение ОБ. Во-вторых, за исключением реактивных астроцитов, образующих перитуморальный глиальный вал, все остальные клетки вокруг опухоли являются высокодифференцированными и не вступают в митоз, что позволяет еще больше повысить тропность ОБ по отношению к глиомным клеткам, поскольку для эффективной репликации вируса требуются пролиферирующие клетки. В-третьих, высокая специализация клеток нервной ткани, обусловленная особенностями генетической экспрессии, подразумевает, в частности, наличие тканеспецифических промоторов (например, промотор GFAP и других нейроспецифических белков). Применение таких промоторов также может позволить увеличить тропность вируса по отношению к опухолевым клеткам нейроэпителиального происхождения.

Перечисленные преимущества для применения ОБ, вкупе с высокой актуальностью разработки новых методов терапии МГ, обусловили большое количество исследований в этом направлении. Со времени первой публикации R. Martuza в 1991 г. опубликовано 250 работ по онколитической виротерапии глиом с помощью 15 различных ОБ, из которых 7 в настоящее время проходят I и II фазы клинических испытаний.

Концепция онколитической виротерапии. Концепция создания ОБ подразумевает селекцию или генно-инженерные модификации вирусного генома, в результате которых репликативно-компетентный вирус приобретает определенную тропность и при введении в организм человека селективно реплицируется в опухолевых клетках, приводя к их лизису и усиливая сенсibilизацию иммуннокомпетентных клеток опухолевыми антигенами.

Все разрабатываемые ОБ можно разделить на три группы: 1) патогенные для человека вирусы; 2) вирусные вакцины, 3) условно непатогенные для человека вирусы. Наиболее распространенные представители первой группы — вирус простого герпеса (HSV) [43] и аденовирусы [44, 45]. Основная проблема для ОБ этой группы — снижение патогенности для нормальных клеток человека. Примеры ОБ на основе вирусных вакцин — генно-инженерные препараты, созданные на базе вируса натуральной оспы (Vaccinia) [46], вируса полиомиелита [47] и вируса кори [48–50]. Для этих ОБ проблема патогенности отодвигается на второй план после придания вирусам селективности по отношению к опухолевым клеткам. В случае разработки ОБ на основе вирусных вакцин на первый план также может выходить проблема преодоления устойчивого иммунитета к перечисленным вирусам, которым обладает большинство людей. Наконец, ОБ третьей группы, как правило, вообще не требуют модификаций, связанных с устранением патогенности. Это ОБ, созданные на базе таких вирусов, как вирус болезни Ньюкасла, вирус миксомы, парвовирус H1, вирус везикулярного стоматита, вирус Синдбис, вирус псевдостолбняка, вирус долины Сенека.

Не являясь, за редким исключением, вирулентными для нормальных клеток человека, данные вирусы, иногда даже без каких-либо генно-инженерных модификаций, проявляют способность селективно инфицировать опухолевые клетки, вследствие значительных перестроек у последних мембранных рецепторов и внутриклеточных белков. Ярким примером немодифицированного непатогенного для человека ОВ является парвовирус Н1 [40, 41].

Мембранные механизмы селективности ОВ. Селективное связывание вируса с мембранным рецептором клетки-мишени — самый первый и иногда ключевой механизм, обеспечивающий тропность вируса к опухолевым клеткам. В частности, вирус кори селективно взаимодействует с рецептором CD46, который в большом количестве содержится на поверхности многих, в том числе и глиомных, опухолевых клеток [48]. Корорецептор CD155, необходимый для адгезии и последующей интернализации вируса полиомиелита, гиперпродуцирован на поверхности глиомных клеток [51]. Рецептором для вируса Синдбиса оказался 67 кД высокоаффинный рецептор к ламинину, гиперэкспрессия гена которого наблюдается, например, в клетках рака яичника [52]. Сродство вирусов к опухолюассоциированным рецепторам может быть создано с помощью генной инженерии, путем экспонирования на поверхности вируса вариабельных доменов антител или специфических лигандов. В качестве рецепторов-мишеней для ОВ исследуются: рецептор эпидермального фактора роста vIII (EGFRvIII), рецептор тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), рецептор интерлейкина-13 (IL-13R) и ряд других опухолюассоциированных белков [7, 49]. Экспонирование на поверхности аденовируса хорошо известного циклического трипептида RGD, селективно взаимодействующего с опухолевым интегрином $\alpha v \beta 3$, позволяет соответствующим образом нацеливать вирус [44, 53]. Поиск опухолюселективных поверхностных маркеров активно продолжается.

Цитоплазматические механизмы онкоспецифичности. В цитоплазме нормальных клеток присутствуют потенциальные противовирусные агенты. Например, появление двухцепочечной РНК, которая необходима для цикла некоторых РНК-содержащих вирусов, запускает систему противовирусной защиты, в результате чего активируется протеин-киназа R (PKR) и интерфероновый путь. Активированная PKR ингибирует синтез вирусных белков и запускает апоптоз, а интерфероны приводят к активации ряда противовирусных медиаторов [7]. Опухолевые клетки, подчас имеющие различные поломки в проапоптотических каскадах, могут обладать и дефектами в системе противовирусной защиты. Так, дефект интерфероновой цепи у некоторых опухолевых клеток делает их чувствительными к вирусам везикулярного стоматита [54, 55] и миксомы [56]. Функция PKR нарушается у опухолевых клеток, с активированным RAS сигнальным путем. На этом свойстве основан онкотропизм реовирусов [57] и HSV с удаленным геном F134.5 [58]. Активация AKT-пути в опухолевых клетках делает их подверженными к инфицированию вирусом миксомы, что также используется для создания ОВ [59].

Мощным потенциалом для разработки опухолюселективных ОВ обладает паттерн микроРНК. Известно, что экспрессия многих опухолюсупрессивных микроРНК практически отсутствует в опухолевых клетках [22]. Недавно было показано, что репликация вируса везикулярного стоматита и вируса кори в нормальных клетках почти

полностью снижается при включении в вирусный геном последовательности, комплементарной противоопухолевой микроРНК miR7. При этом в опухолевых клетках, в которых экспрессия данной микроРНК отсутствует, такие miR7-чувствительные вирусы хорошо реплицировались и способствовали лизису зараженных клеток [50, 60].

Ядерные механизмы онкоспецифичности ОВ. Для репликационного цикла некоторых вирусов, например автономных парвовирусов (Autonomous parvoviruses), необходимо, чтобы клетка-хозяин обязательно прошла S-фазу митоза [42]. Эта особенность делает парвовирусы непатогенными для всех постмитотических клеток, что особенно актуально для нервной системы. Почти такое же свойство приобретает мутантный HSV с удаленными генами тимидинкиназы и рибонуклеотидредуктазы [61].

Продукт аденовирусного гена E1A, взаимодействуя с pRB (cellular retinoblastoma tumor suppressor protein), запускает в клетке-хозяине S-фазу митоза. Белок E1B при этом выполняет функцию супрессора апоптоза путем связывания и инактивации p53, который обычно запускает апоптоз в ответ на срабатывание механизмов противовирусной защиты. Вследствие этого дефектные по генам E1A и E1B аденовирусы не могут реплицироваться в нормальных клетках и приобретают селективность по отношению к опухолевым клеткам с дефектными pRB и p53 [62].

Другим весьма перспективным генно-инженерным способом придания ОВ онкоспецифичности является создание вирусов, гены которых находятся под контролем опухолю- или тканеспецифических промоторов, таких как Nestin-1, GFAP, Ki-67 и др. [45].

Опыт 20-летних исследований показывает, что ОВ, созданные на базе вируса простого герпеса, аденовируса, вируса болезни Ньюкасла, кори, парвовируса и др. безопасны для организма и характеризуются селективной репликацией в опухолевых клетках. Кроме того, ОВ способствуют презентированию опухолюассоциированных антигенов иммунокомпетентными клетками и, таким образом, могут стимулировать противоопухолевый иммунный ответ. Резюмируя данные доклинических исследований и клинических испытаний ОВ, можно с уверенностью заключить, что этот подход, несомненно, будет эффективно применяться для лечения МГ в ближайшем будущем.

Биомаркеры глиом

Для всех направлений генотерапии необходимо понимание биомаркеров глиом. Многие новые методы лечения глиомы, так или иначе, основаны на доставке терапевтических веществ к клеткам-мишеням. Как правило, такими веществами являются цитостатические препараты или киллерные гены, поэтому чем более селективна доставка лекарства к опухолевым клеткам, тем менее выражены побочные эффекты, связанные с поражением нормальных клеток. Обеспечить такую адресность можно, направляя препарат к поверхностным рецепторам, гиперпродуцированным в глиомных клетках. С другой стороны, колоссальная опухолевая гетерогенность от пациента к пациенту и даже в пределах субпопуляций опухолевых клеток у одного пациента диктует необходимость индивидуального подхода к адресной терапии. Очевидно, что нацеливание на какой-либо один поверхностный маркер опухолевых клеток не позволит эффективно элиминиро-

вать все опухолевые клетки. Таким образом, возникает задача как можно более полного анализа поверхностных маркеров клеток глиобластомы и создания некоего паттерна молекулярных мишеней, которые, с одной стороны, обеспечивали бы селективность доставки в опухоль, а с другой — ее универсальность для гетерогенных популяций опухолевых клеток. В данном разделе суммирован материал по наиболее изученным на сегодняшний день маркерам МГ.

IL-13R α

IL-13R α 2 — маркерный рецептор клеток глиобластомы, структурно отличается от рецептора нормальных клеток [63]. IL-13R α 2 может связывать только IL-13, но не IL-4 и представлен в избытке на поверхности клеток глиом III и IV стадии [63]. IL-13R α 2 имеет свойства раково-семенниковых антигенов, расположен на хромосоме X, и единственная нормальная ткань, где ген этого белка значительно экспрессируется, — семенники. Предполагается, что IL-13R α 2 — рецептор-ловушка для IL-13, не имеющий внутриклеточного каскада передачи сигнала [65]. Однако существует и другая точка зрения, предполагающая наличие сигнальной роли этого рецептора [64]. IL-13R α 2 — первый рецептор, гиперпродукция которого была обнаружена в опухолевых клетках у большинства пациентов с глиобластомой и при этом не наблюдается в нормальных клетках нервной ткани. Авторадиографический и иммуногистохимический анализы выявили гиперэкспрессию IL-13R α 2 у пациентов с глиобластомой в 75% случаев [66]. Были созданы молекулярные лекарственные препараты, нацеленные на IL-13R α 2, первый из которых сейчас в 3-й фазе клинических испытаний по лечению рекуррентной глиобластомы [67].

IL-13R α 1 — фрагмент белка IL13R α 1, сам по себе имеет низкое сродство к IL-13. Соединяясь с IL4R α 1 цепью, он формирует IL-13R с высоким сродством к IL-13, и, таким образом, IL-13R α 1 последовательность важна для связывания IL-4/IL-13. В экспериментах IL-13R α 1 обнаружен на мембранах во всех глиомных клеточных линиях [68].

EphA2

EphA2 входит в семейство рецепторов Eph с тирозинкиназной активностью. Они уникальны в том, что их эндогенные лиганды — эфрины, поверхностно заякорены в мембране соседних клеток. Рецепторы Eph делятся на классы А и В на основании типа прикрепления к плазматической мембране [69]. Эфрины А прикреплены гликозилфосфатидилинозитольной связью, тогда как эфрины В содержат трансмембранную последовательность с внутриклеточным доменом, который участвует в прикреплении к клеточной мембране. Все эфрины взаимодействуют со специфическими рецепторами эфринов, а некоторые из них связываются более чем с одним рецептором [70].

Рецепторы Eph и эфрины показывают специфический паттерн экспрессии в течение развития [71]. Обнаружено, что в развитии нервной системы рецепторы Eph и их лиганды играют важную роль в направлении роста аксона с участием контактозависимых процессов между клетками [72]. EphA2 представлен в нервной системе в течение эмбрионального развития, но в отличие от большинства других рецепторов Eph он также экспрессируется на поверхности пролиферирующих зрелых клеток эпителия

[73]. EphA2 играет важную роль в сосудодообразовании и неоваскуляризации опухоли путем связывания с его эндогенным лигандом ephrinA1 [74].

EphA2 гиперпродуцируется в глиобластоме [75] на мембране опухолевых клеток, а также в связанных с опухолью сосудах, что делает EphA2 привлекательной целью. Более того, этот рецептор гиперэкспрессируется еще в некоторых солидных опухолях, включая рак молочной железы [76] и рак поджелудочной железы [77]. Таким образом, можно заключить, что EphA2 является онкобелком, играющим важную функциональную роль в формировании злокачественного фенотипа.

uPAR

Белок uPA (урокиназный активатор пламиногена) и его рецептор uPAR играют важную роль в локализации пламина на поверхности клеток, производящих uPAR. Различные физиологические и патологические процессы, например органогенез во время эмбрионального развития, инвазивное и метастатическое распространение злокачественных опухолей и воспалительные реакции требуют, чтобы определенные типы клеток мигрировали из места своего стандартного расположения в различные зоны организма. Чтобы разрешить такие клеточные миграции, должны быть доступны механизмы, обеспечивающие фокальную деградацию компонентов внеклеточного матрикса. На основе ряда исследований предположили, что внеклеточный протеолиз, катализируемый плазминогенным активатором, может играть важную роль в событиях, необходимых для миграции клеток в тканях. В настоящее время хорошо известно, что различные типы клеток синтезируют и секретируют uPA, к ним относятся клетки, такие как моноциты/макрофаги, полиморфно-ядерные лейкоциты, а также клетки, полученные из злокачественных опухолей. Образование пламина на поверхности клетки разрушает внеклеточный матрикс путем активации матриксных металлопротеиназ. Это, возможно, значимое событие в опухолевой инвазии и метастазировании и в миграции клеток [78]. uPAR сильно гликозилирован и образует множество дисульфидных мостиков и обладает высоким сродством к uPA. uPAR состоит примерно из 284 аминокислотных остатков, включая 3 повтора по 90 остатков [79], первый из которых взаимодействует с лигандом, а последний заякоривает uPAR в плазматической мембране цепью гликозил-фосфатидилинозитола [80]. Обнаруженные сайты для AP-1 и Sp-1 в предпромоторной области uPAR играют важную роль в регуляции этого гена в клетках рака толстой кишки и других типах раковых клеток [81].

Обнаружено, что повышенный уровень белков uPA и uPAR коррелирует с повышением злокачественности [82]. Более того, выработка uPA и uPAR на поверхности мембраны клеток злокачественных опухолей мозга, но не нормальной ткани, свидетельствует о том, что эти белки могут участвовать в опухолевой инвазии. Воздействие антителами к uPAR [83], или антисенсными нуклеотидами [84] уменьшает инвазивность клеток глиобластомы человека. Инвазивное поведение клеток в стабильных трансфицированных клонх клеточной линии глиобластомы значительно снижается *in vitro* и *in vivo* при использовании антисмыслового транскрипта (блокатора), комплементарного 300 п.н. (пар нуклеотидов) с 5'конца мРНК uPAR

в сравнении с поведением клеток исходной клеточной линии [84].

FPR

FPR — связанный с G белком рецептор, изначально найденный в фагоцитирующих лейкоцитах, участвующий в клеточном хемотаксисе и активирующийся в ответ на бактериальные формилированные хемотаксические белки. Связываясь с FPR, агонист включает сигнальный каскад, вовлекающий фосфатидилинозитол-3-киназу, белковую киназу C, митогенактивируемые белковые киназы и транскрипционный фактор NF- κ B [88]. Предполагается, что благодаря своей экспрессии в клетках иммунной системы и взаимодействию с бактериальными хемотаксическими белками FPR участвует в защите организма против микробных инфекций [85]. Обнаружено несколько хемотаксических агонистов FPR — формилпептиды, вероятно, синтезируемые митохондриями поврежденных клеток [86], аннексин I, производимый активированным эпителием [89], и фермент гранул нейтрофилов, катепсин G [90]. Ко всему прочему, функциональный FPR был найден в клетках негематопоэтического происхождения, таких как клетки легочного эпителия [91] и гепатоциты [92]. Следовательно, спектр патофизиологических процессов, в которых участвует FPR, расширяется.

Обнаружено, что опухолевые клетки большинства злокачественных глиом человека, включая анапластическую астроцитому и глиобласту, также экспрессируют FPR [93, 94]. FPR, экспрессируемый в опухолевых клетках из глиобластомы человека в ответ на родственный белок-агонист fMLF и агонисты из отмирающих опухолевых клеток, вызывает направленную миграцию, выживаемость и производство сосудобразующих факторов опухолевыми клетками [93, 95]. Удаление FPR короткими интерферирующими РНК заметно снижает онкогенность глиобластомных клеток в мозгу иммунодефицитной мыши [93]. Таким образом, *in vitro* и *in vivo* показано, что FPR потенциально способен усугублять прогрессию злокачественных глиом человека.

AMPA

AMPA — ионотропный трансмембранный рецептор глутамата, участвующий в быстрой синаптической передаче сигнала в ЦНС. Может активироваться синтетическим аналогом глутамата — α -амино-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропоновой кислотой. AMPA состоит из четырех типов субъединиц GluR1, GluR2, GluR3 и GluR4, которые в совокупности образуют тетрамеры [96].

Клетки глиомы могут регулировать проводимость кальция, изменяя экспрессию субъединиц AMPAR. Транскрипты субъединицы GluR2 подвергаются Q/R редактированию, вызывающему непроницаемость рецептора. При восстановлении субъединицы GluR2 в глиобластомных клетках с помощью вирусного вектора глиобластомные клетки не смогли сформировать опухоль в мозгу иммунодефицитной мыши, что указывает на необходимость подавления GluR2 для выживания глиобластомных клеток [97]. Показано, что в образцах ткани и клеточных линиях глиобластомы снижена экспрессия белка и мРНК AMPAR по сравнению с нормальными клетками мозга [98]. Более того, мРНК субъединицы GluR2 претерпевает частичное посттранскрипционное редактирование в первичных опухолевых клетках [98]. Вероятно, подавление

экспрессии рецептора позволяет клеткам глиобластомы избежать клеточной смерти.

Напротив, субъединица GluR1 гиперэкспрессируется клетками глиобластомы, что приводит к усилению формирования комплексов фокальных контактов, колокализации актина и паксиллина и клеточной поляризации [99]. Клетки, гиперэкспрессирующие GluR1, содержат повышенные количества FA киназы, и стимуляция глутаматом приводит к возросшей активности Rac1 ГТФазы. Иммунопреципитация показала, что GluR1 может быть связана с рецепторами интегрина. Уровень экспрессии AMPAR коррелирует с инвазивностью глиомных клеток *in vitro* и *in vivo* [99].

NgR

Nogo-66 — нейрональный гликозилфосфатидилинозитол-заякоренный белок, формирующий комплекс сигнальной трансдукции с трансмембранными белками p75NTR и LINGO-1 [101]. Служит рецептором для молекулы, связанной с миелином, ингибирующей рост нейронов, Nogo-A [100]. Nogo-66 — C-терминальный внемембранный домен Nogo-A, связывается с NgR [102].

Nogo-A вовлечен в созревание олигодендроцитов и формирование миелина [103]. Nogo-A активно экспрессируется в олигодендроцитах ЦНС и в демиелинизирующих поражениях [104]. Кроме демиелинизации, Nogo-A также вовлечен в онкогенез. Присоединение к субстрату и миграция клеток из клеточной линии глиомы U87MG значительно ослабляется внемембранными доменами Nogo-A (Nogo-66) и миелин-ассоциированного гликопротеина (MA6) [105]. Клетки, подвергшиеся воздействию антител к NgR, показали повышенную способность связываться и передвигаться по субстратам, покрытым Nogo-66 и МА6. Таким образом, Nogo-66 и МА6 могут замедлять рост и движение глиомы, действуя через NgR [105].

В образцах глиомы человека экспрессия NgR понижается с возрастом степени глиомы [106]. Возможно, это снижает ингибирующий эффект Nogo-A.

CTR и CRLR

CTR относится к семейству B, G белок-сопряженных рецепторов (GPCR) и, как было обнаружено, широко экспрессируется как в эмбриональных тканях, так и в нормальных и опухолевых тканях [107]. Некоторые лиганды и белки, изменяющие активность рецептора (RAMPs), взаимодействуют с CTR и совместно с разнородным образованием GPCR димеров обеспечивают основу для значительного разнообразия ответов на эндогенные лиганды.

CTR экспрессируется в большинстве глиобластом. CTR-иммунопозитивными являются в основном клетки глии. CTR-иммунопозитивные клетки также позитивны на глиальный фибриллярный кислый белок, нестин и CD133 [108]. Системы вторичных посредников были значительно модифицированы кальцитонином в клеточной линии A172 [108], что указывает на пригодность CTR в качестве цели для терапии.

CRLR также представлен на поверхности клеток глиомы человека. Экспрессия рецептора в эндотелиальных клетках и в опухолевых астроцитах соотносится с тем, что его эндогенный лиганд аденомедуллин может влиять на рост глиомы прямо, активируя пролиферацию, и косвенно, давая сосудобразующий эффект. CRLR может быть ценной целью в терапии глиомы [109].

Рецепторы хемокинов

Хемокины являются группой небольших (8–15 кД) хемотаксических хемокинов, их рецепторы необходимы для миграции лейкоцитов в иммунной системе. Однако они также играют важную роль в инициации, прогрессии и метастазировании опухоли [110]. Хемокин CXCL12 предположительно имеет особое значение в биологии рака, особенно метастазов. Взаимодействие CXCL12 с рецептором CXCR4, который экспрессируется на некоторых раковых клетках, направляет их в периферические ткани, такие как легкие, печень, лимфатические узлы или костный мозг, в которых лиганд постоянно экспрессируется [111]. Более того, CXCL12 и CXCR4 способствуют паракринному росту опухоли, инвазивности раковых клеток и сосудеобразованию [112]. Недавно был найден еще один рецептор к CXCL12, названный CXCR7 [113]. Последний, помимо CXCL12, связывается с CXCL11 с десятикратно меньшим сродством. CXCL11 также служит лигандом для CXCR3, который связывается еще с CXCL9 и CXCL10.

CXCR4, CXCR7 и CXCL12 были обнаружены в клетках глиомы человека и почти отсутствуют в нормальных клетках мозга [112]. При этом экспрессия гена CXCR4 ограничена небольшой субпопуляцией глиомных клеток, имеющих признаки стволовости, и уменьшается после дифференцировки [114, 115]. Другой рецептор — CXCR7, наоборот, широко распространен в клетках астроцитов и глиобластомы, его количество может возрастать в зависимости от степени дифференцировки. Более того, CXCR7 функционально активен в клеточных линиях глиомы и ингибирует апоптоз, вызываемый производными камптотецина и темозоломидом [116].

Другой принадлежащий к подсемейству CXС хемокиновых рецепторов белок CXCR3 также обнаруживается на поверхности клеток глиомы III и IV степени злокачественности; при этом CXCR3 также экспрессируется в активированных Т-клетках, естественных киллерах и в микроглии [117].

Рецептор CXCR3 и являющийся его лигандом хемокин CXCL10 экспрессируются в ряде клеточных линий глиомы человека (U373MG, SW1033, SW1783, NP750/96, IPMS, ITPR/96) [118], что дает основание предположить важную роль этого хемокина в биологии рака головного мозга. Экспрессия CXCL10 повышена в глиомах III и IV степени по сравнению с нормальными астроцитами. В дополнение уровень CXCR3 также повышен в глиомах III и IV степени и его активация может усилить синтез ДНК этих клеток *in vitro*. Эффект повышенного синтеза ДНК, вызываемый CXCL10 в глиомных клетках, устраняется воздействием CXCL10-связывающих антител [118]. CXCR3 рецептор также был обнаружен в первичных опухолях, полученных из клеток глиобластомы. CXCL10 и CXCL9 усиливают пролиферацию клеточных линий U87-GS и U138-GS, этот эффект нивелируется антагонистом рецептора CXCR3 NBI-74330, что подтверждает возможность использования CXCR3 в качестве терапевтической цели [119].

ERBB рецепторы (EGFR, HER2, erbB3, erbB4)

ErbB — семейство тирозинкиназных рецепторов, состоящее из четырех элементов: erbB1/EGFR/HER1, erbB2/neu/HER2, erbB3/HER3, erbB4/HER4. Рецепторы ErbB активируются факторами роста пептидной природы

из семейства EGF. Рецепторы ErbB необходимы для развития и функционирования нервной системы. Они регулируют ключевые процессы, такие как пролиферация, самообновление и миграция стволовых клеток и клеток-предшественников, а также регулируют их превращение в разные типы нервных клеток [120, 121]. Клеточная неоднородность ЦНС особенно хорошо заметна в глиобластомах, где опухолевые клетки могут экспрессировать астроцитарные и олигодендроглиальные маркеры (GFAP и Olig-белки соответственно) [122] наряду с нейрональными маркерами (белки нейрофиламентов, MAP-2, NeuN) [123, 124]. Более того, в глиобластомах была обнаружена небольшая популяция стволоподобных клеток, экспрессирующих маркер CD133, которые проявляют свойства нейральных стволовых клеток [125], на основании чего можно предположить, что фенотипическая неоднородность может возникнуть из-за неправильной дифференциации раковых стволовых клеток [126].

EGFR — один из наиболее часто изменяющихся генов в глиобластоме. Повышенный уровень EGFR отмечен приблизительно в 40% случаев и часто связан с перестановками, ведущими к синтезу постоянно активных мутантных рецепторов. Все эти нарушения регуляции приводят к чрезмерной активации сигнального пути EGFR, что активирует пролиферацию, увеличивает подвижность, выживаемость и устойчивость к апоптозу глиомных клеток [127]. В большинстве глиобластом экспрессируется мутантный рецептор EGFRvIII [128]. EGFRvIII образуется в результате делеции экзонов 2–7, которые кодируют лигандсвязывающий домен, из-за отсутствия которого рецептор постоянно активен [129]. EGFRvIII повышает онкогенность в глиомах [130], а также отвечает за устойчивость раковых клеток к радиотерапии [131] и химиотерапии [132]. Уровень EGFR гораздо выше в низкодифференцированных глиомах (III, IV степень, ВО3), по сравнению с глиомами I–II степени [133]. EGFR также может быть молекулярной мишенью для адресной терапии глиомы.

Рецептор HER2 не экспрессируется в зрелых клетках ЦНС [134], но его экспрессия возрастает по мере развития астроцитомы [135]. Гиперэкспрессия HER2 была обнаружена в глиобластомах в различных соотношениях [136] и оказалась маркером неблагоприятного прогноза [137]. Причем высокую интенсивность экспрессии HER2 показали первичные глиобластомы, а вторичные — низкую. Низкая экспрессия HER2 связана с более благоприятным прогнозом и длительной выживаемостью. Профиль экспрессии HER2 в глиомах III степени и вторичных глиобластомах одинаков [138]. Анти-HER2 антитела вызывают апоптоз и цитотоксикоз клеток клеточных линий глиобластомы (U251, U373, T98G) *in vitro* [139]. Эффект возрастает с повышением плотности HER2 на мембране [140]. Более того, при имплантации клеток из клеточной линии человеческой глиобластомы U251MG в balb/c иммунодефицитную мышь, плотность рецептора возрастала [141]. Таким образом, HER2 является привлекательной целью в терапии глиомы.

В отношении других рецепторов EGF можно отметить, что уровень ErbB2-3 не коррелирует со злокачественностью глиомы, а ген ErbB4, наоборот, гиперэкспрессирован в глиомах с благоприятным прогнозом и низкой степенью злокачественности [16]. В то же время ErbB3 в большом количестве обнаруживается в CD133-позитивных клетках. Это позволяет предполагать, что

данный рецептор также может быть связан с опухоленностью [142].

CD133

Ген CD133 у человека располагается на хромосоме 4p15.33 и кодирует 120 кД белок [143]. Структурно CD133 состоит из пяти трансмембранных доменов, внеклеточного N-терминального, цитоплазматического C-терминального, двух длинных внеклеточных и двух коротких цитоплазматических петель [144]. Хотя функции CD133 неизвестны, расположение экспрессии антигена AC133 (гликозилированного эпитопа CD133) на микроворсинках эпителиальных клеток указывает на возможную роль в поддержании функциональной асимметрии плазматической мембраны, в частности, апикально-базальной полярности клетки. Связь CD133 с мембранным холестерином может означать, что CD133 участвует в регуляции липидного состава клеточной мембраны [145]. Обнаружено, что CD133+ клетки, полученные из зародышевой человеческой аорты, активировали Wnt — зависимое сосудообразование в течение заживления ран при ишемической диабетической язве. Наряду с этим показано, что экспрессия AC133 в глиомной ткани возрастает с увеличением степени злокачественности и связана с неблагоприятным прогнозом, что указывает на ключевую роль AC133-позитивных клеток в росте опухоли [146].

мРНК CD133 и сам белок обнаруживаются во всех полученных на данный момент клеточных линиях глиобластомы. В нормальных клетках CD133 аккумулируется в районе эндоплазматического ретикула (ЭПР) и аппарата Гольджи. Связанная с мембраной экспрессия CD133 мРНК наблюдается у раковых клеток, несущих внеклеточный эпипептид AC133. Только в этих клетках дифференциация и уровень кислорода отчетливо влияют на экспрессию AC133 и, в некоторой степени, затрагивают экспрессию мРНК и содержание белка CD133. Примечательно, что модуляция уровня AC133 может происходить независимо от изменений в транскрипции мРНК CD133, трансляции белка, хранения или потери белка [147].

MELK

MELK — атипичный представитель семейства *snfl*/AMPK серин-треониновых киназ [148]. Это семейство связано с выживанием клеток в неблагоприятных условиях окружающей среды, таких как недостаток питательных веществ [149]. MELK регулирует самообновление нейральных стволовых клеток, контролируя клеточный цикл [150]. Также было обнаружено, что MELK влияет на регуляцию клеточного цикла в клетках ряда карцином, таких как рак толстой кишки, легкого и яичников [151].

MELK широко экспрессируется в глиомах высокой степени злокачественности. Функциональные тесты показали, что MELK является значимым регулятором пролиферации и выживания клеток глиобластомы, а также регулирует пролиферацию CD133-положительных стволовых клеток глиобластомы в культуре. MELK также необходим для выживания и пролиферации клеток медуллобластомы *in vitro*. Резюмируя эти данные, можно заключить, что MELK является высокоприоритетной целью в терапии опухолей мозга, направленной на стволоподобные клетки опухоли [152].

Notch-рецепторы

Сигнальный путь Notch участвует в широком спектре клеточных процессов, включая поддержание самообновления, пролиферации, спецификации клеточной судьбы или дифференциации, и апоптоза у стволовых клеток [153, 154].

Гены Notch кодируют семейство рецепторов, которые участвуют в близкодействующих сигнальных событиях. У млекопитающих есть 4 типа Notch рецепторов: Notch1, Notch2, Notch3, Notch4, а также 5 лигандов: Delta-подобные 1, 3, 4 и Jagged 1 и 2. Notch рецептор — единственный трансмембранный белок, содержащий различные структурные домены. Внеклеточная часть содержит много EGF повторов и три цистеинбогатых Notch/Lin 12 повторов. N-концевые EGF-подобные повторы связываются с лигандами. Внутриклеточная часть содержит RAM домен, 6 анкириновых повторов, 2 сигнала ядерной локализации, домен трансактивации транскрипции и пролин-глутамин-серин-треонин богатый домен. Структуры 4 типов Notch рецепторов высокоомологичны. Различия проявляются в числе EGF повторов во внеклеточной области и в наличии/отсутствии TAD в цитоплазматической области [155]. Сигнальный путь Notch активируется, когда лиганды семейств Delta и Jagged с соседних клеток связываются с рецепторами и вызывают протеолитическое расщепление Notch рецептора.

Активация сигнального пути Notch ведет к различным результатам, варьирующим от контроля пролиферации к апоптозу, дифференциации, поддержанию состояния стволовых клеток и выбору клеточной судьбы [156]. Нарушения регуляции сигнального пути Notch вовлечены в некоторые генетические заболевания и онкогенез. Исследования показывают, что путь Notch может активизироваться при развитии многих опухолей, его роль в онкогенезе показана для таких заболеваний, как острая лимфобластная лейкемия [157], рак молочной железы [158] и рак толстой кишки [159]. Однако показано, что Notch также может действовать как опухолевый супрессор, в частности при раке кожи [160]. Таким образом, роль сигнального пути Notch в разнообразных видах рака может быть как онкогенной, так и супрессивной в зависимости от специфического клеточного контекста.

Только недавно обратили внимание на потенциальную роль сигнального пути Notch в развитии опухолей мозга. В астроцитах была обнаружена гиперэкспрессия Notch1, 3 и 4, при этом Notch2 не экспрессируется в астроцитах [161]. Процент иммунопозитивных опухолевых клеток и уровень экспрессии Notch1 возрастают со степенью глиомы. Причем рост астроцитарных клеток глиомы замедляется *in vitro* и *in vivo* при воздействии на них siRNA к Notch1 [162]. Однако ген Notch2 гиперэкспрессирован в медуллобластомах, тогда как экспрессия Notch1, 3 и 4 мала или не детектируется; ингибирование сигнального пути Notch2 подавляет рост клеток медуллобластомы, на основании чего можно предположить, что Notch1, 2, 3 и 4 могут по-разному влиять на рост опухоли в пределах одного типа опухоли [161]. Немаловажно, что рецепторы семейства Notch практически отсутствуют в клетках нормальной нервной ткани [161]. Таким образом, Notch рецепторы являются привлекательной целью в терапии глиомы.

VEGFR

Существуют два основных VEGF рецептора: VEGFR1 (fms-подобная тирозинкиназа Flt-1) и VEGFR2 (KDR, или, как мышинный гомолог, зародышевая печеночная киназа-1 Flk-1). VEGF рецепторы имеют схожую структуру с молекулярной массой 170—180 кД и относятся к рецепторным тирозинкиназам.

Лигандом VEGFR служит VEGF-A, фактор сосудодообразования, изначально описанный как белок, выделенный из раковых клеточных линий (TA3-St, HSV-NIL8, MOPC 21, BALB/c 3T3, B77 Rat 1, RR 1022), повышающий проницаемость кровеносных сосудов в опухоли [164]. VEGF-A — гликопротеин с молекулярной массой около 45 кД, состоящий из двух идентичных белковых цепей, соединенных дисульфидными мостиками [165]. Благодаря альтернативному сплайсингу единой мРНК предшественника, у человека существует 6 изоформ VEGF-A, длина каждой цепи в изоформах изменяется от 121 до 206 аминокислотных остатков, также изоформы различаются по тканеспецифичным паттернам экспрессии и по своим биохимическим и биологическим характеристикам. Все шесть изоформ связываются с VEGF рецепторами. Присоединение лиганда вызывает димеризацию рецептора, самофосфорилирование по остаткам тирозина и дальнейшее фосфорилирование внутриклеточных белков, например митогенактивируемых протеинкиназ или фосфоинозитид-3-киназ. Для клеток эндотелия VEGF-A является потенциальным митогеном, вызывающим их миграцию и экспрессию нескольких генов, вовлеченных в деградацию внеклеточного матрикса. Оба VEGFR прежде всего экспрессируются на эндотелиальных клетках, но их также экспрессируют некоторые другие типы клеток [166], в том числе и клетки МГ [167].

Глиомы характеризуются высокой степенью васкуляризации [169]; как мРНК, так и белок VEGF-A активно производятся клетками глиомы [170], причем количество VEGF коррелирует со степенью злокачественности глиомы [171]. Эти и многие другие данные позволяют заключить, что VEGF является ключевым фактором ангиогенеза и повышения сосудистой проницаемости в глиомах [172]. Наряду с эндотелиоцитами мишенями VEGF-A также являются клетки микроглии, составляющие до 30% всех клеток глиом, у которых он активирует миграцию и пролиферацию. Более того, экспрессия VEGFR2 также была обнаружена в глиомных клетках [167]. Таким образом, в клетках глиобластомы предполагается наличие аутокринного механизма активации VEGFR2 и передачи митогенного сигнала с помощью собственного VEGF [168].

VEGFR3 — рецепторная тирозинкиназа, по структуре близкая к VEGFR1 и VEGFR2 [173]. При эмбриогенезе VEGFR3 активно продуцируется в кровеносных сосудах, что предполагает значительную роль VEGFR3 в эмбриональном сосудодообразовании. В дефинитивных эндотелиоцитах экспрессия гена этого рецептора отсутствует [174], но в большом количестве наблюдается в эндотелии лимфатических сосудов. Лигандами VEGFR3 служат VEGF-C и -D и, так как эти белки играют центральную роль в образовании лимфатических сосудов, была показана их роль в распространении опухоли и метастазировании [175]. В глиобластомах VEGFR3 активно экспрессируется в опухолевом эндотелии, VEGF-C и -D присутствуют в клетках в областях с высокой плотностью сосудов. На уровне

мРНК обнаружено значительное повышение экспрессии VEGFR3 в глиобластоме по сравнению с низкодифференцированными глиомами и нормальным мозгом. В анапластической астроцитоме экспрессия VEGFR3 умеренная, аналогичный вывод можно сделать и по экспрессии VEGF-C и -D на уровне мРНК и белка. Таким образом, экспрессия VEGFR3 коррелирует со степенью глиомы. VEGFR3 локализуется, в основном, на эндотелиальных клетках, что подтверждается экспрессией многих эндотелиальных маркеров клетками, изолированными из глиобластомы [172]. VEGFR3 также может служить целью для антиангиогенной терапии глиомы.

PDGFR

PDGFR — один из наиболее часто мутирующих тирозинкиназных рецепторов в глиобластомах [176]. PDGFR представляет собой трансмембранный рецептор с 5 иммуноглобулинподобными повторами во внеклеточном домене и тирозинкиназой во внутриклеточном домене и относится к семейству рецепторов тромбоцитарного фактора роста. Связывание лиганда с рецептором активирует основные низлежащие пути передачи сигнала, вызывающие онкогенез, включая MAP киназу, PI3K/AKT, JAK/STAT, и PLC-PKC [177].

Известно, что PDGFR играет важную роль в нормальном развитии ЦНС, регулируя нормальную пролиферацию глиальных клеток и дифференциацию олигодендроцитов [178]. Вместе с тем PDGFR вовлечен в онкогенез и опухолевую прогрессию ряда солидных опухолей, включая опухоли нейроэпителиального происхождения [179]. Действительно, некоторые аномалии экспрессии и процессинга PDGFR обнаружены в глиомах (амплификация, гиперэкспрессия, делеции внутри рамки считывания, точечные мутации и перестройки) [176, 180]. Точечные мутации PDGFR наблюдались исключительно в глиобластомах. Аномалии PDGFR сейчас являются потенциальными целями инновационных молекулярных терапий глиомы в персонализированной медицине.

PDGFRB — другой представитель семейства рецепторов тромбоцитарного фактора роста. Характер экспрессии этого рецептора в глиомах еще плохо изучен. Известно, что уровень мРНК, кодирующей PDGFRB, повышен в 2 раза в глиобластоме по сравнению с нормальными тканями [181].

ERR

ERR α и ERR γ совместно с ERR β образуют подсемейство орфановых ядерных рецепторов, имеющих значительную гомологию по последовательности с рецепторами эстрогена ER α и ER β [182]. Подобно другим ядерным рецепторам, ERR организованы как модульные домены с менее характерным N-концевым доменом, высококонсервативным ДНК-связывающим доменом и потенциальным лигандсвязывающим доменом. ERR высокоомологичны по ДНК-связывающему домену и постоянно активны без связывания с природным эстрогеном [183]. Как и ER, ERR связываются с классическим ERE мотивом (AGGTCANNNTGACCT), что предполагает возможность вовлечения ERR в соответствующие ER-опосредованные сигнальные пути через ассоциацию с корегуляторными белками и регуляцию экспрессии целевых генов. ERR также присоединяются к ERE-связанным реагирующим элементам с расширенным основным полу-сайтом

(TNAAGGTCA; ERRE/SF-1RE), что указывает на возможное наличие у ERR собственных независимых регуляторных путей или функций, далеких от функций ER. Таким образом, вполне вероятно, что ERR могут регулировать широкий спектр генов в клетке-мишени. В ходе исследований обнаружено, что ERR α и ERR γ экспрессировались в контекстной зависимости ER-негативными глиомными клеточными линиями (A172, U87, U118, U373), причем глиобластомная клеточная линия U87 экспрессировала оба рецептора [184]. Тем не менее характер экспрессии ERR в глиоме пока еще слабо изучен. Дальнейшие исследования в этой области могут привести к разработке новых методов лечения глиомы.

Заключение

Сегодня существует огромный пласт исследований, посвященных глиомам человека с обнаруженными изменениями экспрессии различных генов. Исследования проводятся на линейных клетках глиомы, на перевиваемых культурах, на первичных клеточных культурах, а также на тканевом материале, полученном после удаления опухоли. Часто результаты, полученные на разных образцах (тканях, культурах, линиях), противоречат друг другу, что говорит о чрезмерном разнообразии причин образования глиомных опухолей. В этой связи необходимо упорядочить полученные знания в области молекулярно-генетических исследований, что даст возможность классифицировать глиомы по генетическим нарушениям. Очевидно, что индивидуальное развитие регулируется иерархически организованной системой генных ансамблей. Огромную роль в управлении клеточной дифференциров-

кой играют «master» гены, от которых зависит специфика развития определенной ткани или органа. Такого типа гены запускают каскады экспрессии структурных генов, обеспечивающих синтез тканеспецифических белков. Таким образом, изменение экспрессии ключевых генов может изменить дифференцировку не только клетки, но и всей ткани и тем самым вызвать процессы, приводящие к опухолевым образованиям. Поиск и изучение эволюционно консервативных систем, управляющих нейрогенезом, позволит разобраться в процессах, происходящих при глиомах.

В настоящем обзоре мы попытались охватить максимальное количество данных по перспективным подходам к терапии глиом человека. Были описаны вероятные молекулярно-генетические маркеры глиомы человека и составлена их база.

Обнаружение устойчивого спектра генетических и белковых изменений при опухолевых образованиях мозга человека позволит развить индивидуальную терапию глиомы и даст возможность усовершенствовать раннюю диагностику образования злокачественных опухолей мозга, что в свою очередь позволит проводить менее травматичные операции. Кроме того, лучшее понимание маркеров глиомы даст возможность использовать адресную терапию, щадящую здоровые клетки мозга. Объединение усилий нейрохирургов, гистологов, иммуногистохимиков, молекулярных биологов и химиков позволит обобщить знания различных направлений медицины и науки и найти новые пути терапии и диагностики глиом человека.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-04-40202-Н КОМФИ (13-04-40200-Н, 13-04-40203-Н, 13-04-40201-Н, 13-04-40202-Н), программой МКБ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кобяков Г.И. Химиотерапия в комплексном лечении больных с первичными злокачественными опухолями головного мозга: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М 2012.
2. Crocetti E., Trama A., Stiller C. et al., RARECARE working group. Epidemiology of glial and non-glial brain tumours in Europe. Eur J Cancer 2012; 48: 10: 1532–1542.
3. Stupp R., Hegi M.E., Mason W.P. et al. European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumour and Radiation Oncology Groups; National Institute of Canada Clinical Trials Group. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised Phase III study: 5-year analysis of the EORTCNCIC trial. Lancet Oncol 2009; 10: 5: 459–466.
4. Chekhonin V.P., Baklaev V.P., Yusubalieva G.M., Belorusova A.E., Gulyaev M.V., Tsitrin E.B., Grinenko N.F., Gurina O.I., Pirogov Y.A. Targeted delivery of liposomal nanocontainers to the peritumoral zone of glioma by means of monoclonal antibodies against GFAP and the extracellular loop of Cx43. Nanomedicine 2012; 8: 1: 63–70.
5. Biswas S., Torchilin V.P. Nanopreparations for organelle-specific delivery in cancer. Adv Drug Deliv Rev 2013. pii: S0169-409X(13)00263-9.
6. Олюшин В.Е., Филатов М.В., Улитин А.Ю., Ростовцев Д.М., Фадеева Т.Н., Маслова Л.Н., Папаян Г.В. Новые технологии в терапии больных злокачественными глиомами полушарий большого мозга. Практ онкол 2013; 14: 3: 175–179.
7. Wollmann G., Ozduman K., van den Pol A.N. Oncolytic Virus Therapy for Glioblastoma Multifforme Concepts and Candidates. Cancer J 2012; 18: 1: 69–81.
8. Cheema T.A., Wakimoto H., Fecci P.E., Ning J., Kuroda T., Jeyaretna D.S., Martuza R.L., Rabkin S.D. Multifaceted oncolytic virus therapy for glioblastoma in an immunocompetent cancer stem cell model. Proc Natl Acad Sci USA 2013; 110: 29: 12006–12011.
9. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D., Cavenee W.K., Burger P.C., Jouvet A. et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. Acta Neuropathol 2007; 114: 97–109.
10. Weller M. Novel diagnostic and therapeutic approaches to malignant glioma. Swiss Med Wkly 2011; 141: w13210.
11. Dunbar E., Yachnis A.T. Glioma diagnosis: immunohistochemistry and beyond. Adv Anat Pathol 2010; 17: 3: 187–201. doi: 10.1097/PAP.0b013e3181d98cd9.
12. Freije W.A., Castro-Vargas F.E., Fang Z. et al. Gene expression profiling of gliomas strongly predicts survival. Cancer Res 2004; 64: 6503–6510.
13. Weller M., Stupp R., Reifenberger G. et al. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? Nat Rev Neurol 2010; 6: 39–51.
14. Tabatabai G., Stupp R., van den Bent M.J., Hegi M.E., Tonn J.C., Wick W., Weller M. Molecular diagnostics of gliomas: the clinical perspective. Acta Neuropathol 2010; 120: 585–592.
15. Jenkins R.B., Blair H., Ballman K.V., Giannini C., Arusell R.M., Law M. et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. Cancer Res 2006; 66: 9852–9861.
16. Andersson U., Guo D., Malmer B., Bergenheim A.T., Brännström T., Hedman H., Henriksson R. Epidermal growth factor receptor family (EGFR, ErbB2-4) in gliomas and meningiomas. Acta Neuropathol 2004; 108: 2: 135–142.
17. Weller M., Stupp R., Reifenberger G., Brandes A.A., Van den Bent M.J., Wick W. et al. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? Nature Rev Neurol 2010; 6: 39–51.
18. Yan H., Parsons D.W., Jin G., McLendon R., Rasheed B.A., Yuan W. et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. N Engl J Med 2009; 360: 765–773.

19. Hartmann C., Hentschel B., Wick W., Capper D., Felsberg J., Simon M. et al. Patients with IDH1 wild type anaplastic astrocytomas exhibit worse prognosis than IDH1-mutated glioblastomas, and IDH1 mutation status accounts for the unfavorable prognostic effect of higher age: implications for classification of gliomas. *Acta Neuropathol* 2010; 120: 707–718.
20. Sun B., Pu B., Chu D., Chu X., Li W., Wei D. MicroRNA-650 expression in glioma is associated with prognosis of patients. *J Neurooncol* 2013.
21. He J., Deng Y., Yang G., Xie W. MicroRNA-203 down-regulation is associated with unfavorable prognosis in human glioma. *J Surg Oncol* 2013; 108: 2: 121–125. doi: 10.1002/jso.23315. Epub 2013 Jun 29.
22. Chistiakov D.A., Chekhonin V.P. Contribution of microRNAs to radio- and chemoresistance of brain tumors and their therapeutic potential. *Eur J Pharmacol* 2012; 684: 1–3: 8–18.
23. Макаров М.С., Древалъ О.Н., Борзунов А.Н. и др. Методы интраоперационного контроля при удалении внутримозговых опухолей головного мозга. *Вопр нейрохир* 2010; 3: 20–25.
24. Nakamura M., Konishi N., Tsunoda S. et al. Analysis of prognostic and survival factors related to treatment of low-grade astrocytomas in adults. *Oncology* 2000; 58: 108–116.
25. Nicolato J.A., Gerosa M.A., Fina P. et al. Prognostic factors in low-grade supratentorial astrocytomas: a uni- and multivariate statistical analysis in 76 surgically treated adult patients. *Surg Neurol* 1995; 44: 208–223.
26. Chen Q.R., Zhang L., Gasper W., Mixson A.J. Targeting tumor angiogenesis with gene therapy. *Mol Genet Metabol* 2001; 74: 120–127.
27. Darnell R.B., DeAngelis L.M. Regression of small-cell lung carcinoma in patients with paraneoplastic neuronal antibodies. *Lancet* 1993; 341: 21–22.
28. Forsyth P., Roldan G., George D. et al. A phase I trial of intratumoral administration of reovirus in patients with histologically confirmed recurrent malignant gliomas. *Mol Ther* 2008; 16: 627–632.
29. Huang J.H., Zhang S.N., Choi K.J. et al. Therapeutic and tumor-specific immunity induced by combination of dendritic cells and oncolytic adenovirus expressing IL-12 and 4-1BBL. *Mol Ther* 2010; 18: 264–274.
30. Todhunter D.A., Hall W.A., Rustamzadeh E., Shu Y., Doumbia S.O., Vallera D.A. A bispecific immunotoxin (DTAT13) targeting human IL-13 receptor (IL-13R) and urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) in a mouse xenograft model. *Protein Eng Des Sel* 2004; 17: 157–164.
31. Weaver M., Laske D.W. Transferrin receptor ligand-targeted toxin conjugate (Tf-CRM107) for therapy of malignant gliomas. *J Neurooncol* 2003; 65: 3–13.
32. Yoshida J., Mizuno M., Wakabayashi T. Interferon-beta gene therapy for cancer: basic research to clinical application. *Cancer Sci* 2004; 95: 858–865.
33. Szala S., Jarosz M., Smolarczyk R., Cichon T. Vicious circles of glioblastoma tumors: vascularization and invasiveness. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2012; 66: 888–900.
34. Merlo A. Genes and pathways driving glioblastomas in humans and murine disease models. *Neurosurg Rev* 2003; 26: 145–158.
35. Karamitopoulou E., Perentes E., Diamantis I. p53 protein expression in central nervous system tumors: an immunohistochemical study with CM1 polyvalent and DO-7 monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol* 1993; 85: 6: 611–616.
36. Vecil G.G., Lang F.F. Clinical trials of adenoviruses in brain tumors: a review of Ad-p53 and oncolytic adenoviruses. *J Neurooncol* 2003; 65: 237–246.
37. Lang F.F., Bruner J.M., Fuller G.N. et al. Phase I trial of adenovirus-mediated p53 gene therapy for recurrent glioma: biological and clinical results. *J Clin Oncol* 2003; 21: 2508–2518.
38. Martuza R.L., Malick A., Markert J.M. et al. Experimental therapy of human glioma by means of a genetically engineered virus mutant. *Science* 1991; 252: 854–856.
39. Bischoff J.R., Kirn D.H., Williams A. et al. An adenovirus mutant that replicates selectively in p53-deficient human tumor cells. *Science* 1996; 274: 373–376.
40. Moehler M., Zeidler M., Schede J., Rommelaere J., Galle P.R., Cornelis J.J., Heike M. Oncolytic parvovirus H1 induces release of heat-shock protein HSP72 in susceptible human tumor cells but may not affect primary immune cells. *Cancer Gene Ther* 2003; 10: 6: 477–480.
41. Geletneky K., Huesing J., Rommelaere J., Schlehofer J.R., Leuchs B., Dahm M., Krebs O., von Knebel Doeberitz M., Huber B., Hajda J. Phase I/IIa study of intratumoral/intracerebral or intravenous/intracerebral administration of Parvovirus H-1 (ParvOryx) in patients with progressive primary or recurrent glioblastoma multiforme: ParvOryx01 protocol. *BMC Cancer* 2012; 12: 99.
42. Rommelaere J., Geletneky K., Angelova A.L. et al. Oncolytic parvoviruses as cancer therapeutics. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 185–195.
43. Todo T., Martuza R.L., Rabkin S.D. et al. Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6396–6401.
44. Fueyo J., Alemany R., Gomez-Manzano C. et al. Preclinical characterization of the antiglioma activity of a tropism-enhanced adenovirus targeted to the retinoblastoma pathway. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 652–660.
45. Nandi S., Lesniak M.S. Adenoviral virotherapy for malignant brain tumors. *Exp Opin Biol Ther* 2009; 9: 737–747.
46. Guse K., Cerullo V., Hemminki A. Oncolytic vaccinia virus for the treatment of cancer. *Exp Opin Biol Ther* 2011; 11: 595–608.
47. Gromeier M., Lachmann S., Rosenfeld M.R. et al. Intergeneric poliovirus recombinants for the treatment of malignant glioma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 6803–6808.
48. Dorig R.E., Marcell A., Chopra A. et al. The human CD46 molecule is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell* 1993; 75: 295–305.
49. Nakamura T., Peng K.W., Harvey M. et al. Rescue and propagation of fully retargeted oncolytic measles viruses. *Nat Biotechnol* 2005; 23: 209–214.
50. Leber M.F., Bossow S., Leonard V.H. et al. MicroRNA-sensitive oncolytic measles viruses for cancer-specific vector tropism. *Mol Ther* 2011; 19: 1097–1106.
51. Merrill M.K., Bernhardt G., Sampson J.H. et al. Poliovirus receptor CD155-targeted oncolysis of glioma. *Neurol Oncol* 2004; 6: 208–217.
52. van den Brule F.A., Castronovo V., Menard S. et al. Expression of the 67 kd laminin receptor in human ovarian carcinomas as defined by a monoclonal antibody, MLC5. *Eur J Cancer* 1996; 32A: 1598–1602.
53. Pasqualini R., Koivunen E., Ruoslahti E. alpha-Integrins as receptors for tumor targeting by circulating ligands. *Nat Biotechnol* 1997; 15: 542–546.
54. Stojdl D.F., Lichty B., Knowles S. et al. Exploiting tumor-specific defects in the interferon pathway with a previously unknown oncolytic virus. *Nat Med* 2000; 6: 821–825.
55. Wollmann G., Robek M.D., van den Pol A.N. Variable deficiencies in the interferon response enhance susceptibility to vesicular stomatitis virus oncolytic actions in glioblastoma cells but not in normal human glial cells. *J Virol* 2007; 81: 1479–1491.
56. Wang F., Ma Y., Barrett J.W. et al. Disruption of Erk-dependent type I interferon induction breaks the myxoma virus species barrier. *Nat Immunol* 2004; 5: 1266–1274.
57. Wilcox M.E., Yang W., Senger D. et al. Reovirus as an oncolytic agent against experimental human malignant gliomas. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 903–912.
58. Smith K.D., Mezhr J.J., Bickenbach K. et al. Activated MEK suppresses activation of PKR and enables efficient replication and in vivo oncolysis by Deltagamma(1)34.5 mutants of herpes simplex virus 1. *J Virol* 2006; 80: 1110–1120.
59. Wang G., Barrett J.W., Stanford M. et al. Infection of human cancer cells with myxoma virus requires Akt activation via interaction with a viral ankyrin-repeat host range factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 4640–4645.
60. Edge R.E., Falls T.J., Brown C.W. et al. A let-7 MicroRNA-sensitive vesicular stomatitis virus demonstrates tumor-specific replication. *Mol Ther* 2008; 16: 1437–1443.
61. Parker J.N., Bauer D.F., Cody J.J. et al. Oncolytic viral therapy of malignant glioma. *Neurotherapeutics* 2009; 6: 558–569.
62. Jiang H., Gomez-Manzano C., Lang F.F. et al. Oncolytic adenovirus: preclinical and clinical studies in patients with human malignant gliomas. *Curr Gene Ther* 2009; 9: 422–427.
63. Debinski W., Gibo D.M. Molecular expression analysis of restrictive receptor for interleukin 13, a brain tumor-associated cancer/testis antigen. *Mol Med* 2000; 6: 440–449.
64. Fichtner-Feigl S., Strober W., Kawakami K., Puri R.K., Kitani A. IL-13 signaling through the IL-13 α 2 receptor is involved in induction of TGF- β 1 production and fibrosis. *Nat Med* 2006; 12: 99–106.
65. Rahaman S.O., Sharma P., Harbor P.C., Aman M.J., Vogelbaum M.A., Haque S.J. IL-13R(α 2), a decoy receptor for IL-13 acts as an inhibitor of

- IL-4-dependent signal transduction in glioblastoma cells. *Cancer Res* 2002; 62: 1103–1109.
66. Liu T.F., Willingham M.C., Tatter S.B. et al. Diphtheria toxin-epidermal growth factor fusion protein and *Pseudomonas* exotoxin-interleukin 13 fusion protein exert synergistic toxicity against human glioblastoma multiforme cells. *Biocon Chem* 2003; 14: 1107–1114.
67. Kunwar S., Prados M.D., Chang S.M. et al. Direct intracerebral delivery of cintredekin besudotox (IL13-38QQR) in recurrent malignant glioma: a report by the Cintredekin Besudotox Intraparenchymal Study Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 837–844.
68. Bernard J., Treton D., Vermot-Desroches C., Boden C., Horellou P., Angevin E., Galanaud P., Wijdenes J., Richard Y. Expression of interleukin 13 receptor in glioma and renal cell carcinoma: IL13Ralpha2 as a decoy receptor for IL13. *Lab Invest* 2001; 81: 9: 1223–1231.
69. Van der Geer P., Hunter T., Lindberg R.A. Receptor protein-tyrosine kinases and their signal transduction pathways. *Ann Rev Cell Biol* 1994; 10: 251–337.
70. Davis S., Gale N.W., Aldrich T.H. et al. Ligands for EPH-related receptor tyrosine kinases that require membrane attachment or clustering for activity. *Science* 1994; 266: 816–819.
71. Flenniken A.M., Gale G.W., Yancopoulos G.D., Wilkinson D.G. Distinct and overlapping expression patterns of ligands for Eph-related receptor tyrosine kinases during mouse embryogenesis. *Dev Biol* 1996; 199: 382–401.
72. Nakamoto M., Cheng H., Friedman G.C. et al. Topographically specific effects of ELF-1 on retinal axon guidance in vitro and retinal axon mapping in vivo. *Cell* 1996; 86: 755–766.
73. Andres A.C., Zuercher G., Djonov V., Flueck M., Ziemiecki A. Protein tyrosine kinase expression during the estrous cycle and carcinogenesis of the mammary gland. *Int J Cancer* 1995; 63: 288–296.
74. Kinch M.S., Carles-Kinch K. Overexpression and functional alterations of the EphA2 tyrosine kinase in cancer. *Clin Exp Metast* 2003; 20: 59–68.
75. Wykosky J., Gibo D.M., Stanton C., Debinski W. EphA2 as a novel molecular marker and target in glioblastoma multiforme. *Mol Cancer Res* 2005; 3: 541–551.
76. Zelinski D.P., Zantek N.D., Stewart J.C., Irizarry A.R., Kinch M.S. EphA2 overexpression causes tumorigenesis of mammary epithelial cells. *Cancer Res* 2001; 61: 2301–2306.
77. Duxbury M.S., Ito H., Zinner M.J., Ashley S.W., Whang E.E. EphA2: a determinant of malignant cellular behavior and a potential therapeutic target in pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene* 2004; 23: 1448–1456.
78. Vassalli J.D., Baccino D., Belin D.B. A cellular binding site of Mr 55000 form of the human plasminogen activator, urokinase. *J Cell Biol* 1995; 100: 86–92.
79. Behrendt N., Ploug M., Patthy L., Houen G., Blasi F., Dano K. The ligand-binding domain of the cell surface receptor for urokinase-type plasminogen activator. *J Biol Chem* 1991; 266: 7842–7847.
80. Ploug M., Ronne E., Behrendt N., Jensen A., Blasi F., Dano K. Cellular receptor for urokinase plasminogen activator. Carboxyl-terminal processing and membrane anchoring by glycosyl-phosphatidylinositol. *J Biol Chem* 1991; 266: 1926–1933.
81. Lengyel E., Gum R., Stepp E., Juarez J., Wang H., Boyd D. Regulation of urokinase-type plasminogen activator expression by an ERK1-dependent signaling pathway in a squamous cell carcinoma cell line. *J Cell Biochem* 1996; 3: 430–443.
82. Yamamoto M., Sawaya R., Mohanam S., Bruner J., Nicolson G., Oka K., Rao V., Tomonaga M., Rao J.S. Expression and localization of urokinase-type plasminogen activator receptor in human gliomas. *Cancer Res* 1994; 54: 5016–5020.
83. Mohanam S., Sawaya R., McCutcheon I., Ali-Osman F., Boyd D., Rao J.S. Modulation of in vitro invasion of human glioblastoma cells by urokinase-type plasminogen activator receptor antibody. *Cancer Res* 1993; 53: 4143–4147.
84. Mohanam S., Chintala S., Go Y., Bhattacharya A., Venkaiah B., Boyd D., Gokaslan Z., Sawaya R., Rao J.D. In vitro inhibition of human glioblastoma cell line invasiveness by antisense uPA receptor. *Oncogene* 1997; 14: 1351–1359.
85. Southgate E.L., He R.L., Gao J.L., Murphy P.M., Nanamori M., Ye R.D. Identification of formyl peptides from *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* as potent chemoattractants for mouse neutrophils. *J Immunol* 2008; 181: 2: 1429–1437.
86. Rabiet M.J., Huet E., Boulay F. Human mitochondria-derived N-formylated peptides are novel agonists equally active on FPR and FPRL1, while *Listeria monocytogenes*-derived peptides preferentially activate FPR. *Eur J Immunol* 2005; 35: 8: 2486–2495.
87. Xu G., Wen X., Hong Y., Du H., Zhang X., Song J., Yin Y., Huang H., Shen G. An anti-transferrin receptor antibody enhanced the growth inhibitory effects of chemotherapeutic drugs on human glioma cells. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 11: 1844–1849. doi: 10.1016/j.intimp.2011.07.014. Epub 2011 Aug 3.
88. Cheng N., He R., Tian J., Dinanuer M.C., Ye R.D. A critical role of protein kinase C delta activation loop phosphorylation in formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-induced phosphorylation of p47(phox) and rapid activation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase. *J Immunol* 2007; 179: 11: 7720–7728.
89. Xia S.H., Hu L.P., Hu H., Ying W.T., Xu X., Cai Y., Han Y.L., Chen B.S., Wei F., Qian X.H., Cai Y.Y., Shen Y., Wu M., Wang M.R. Three isoforms of annexin I are preferentially expressed in normal esophageal epithelia but down-regulated in esophageal squamous cell carcinomas. *Oncogene* 2002; 21: 43: 6641–6648.
90. Sun R., Iribarren P., Zhang N., Zhou Y., Gong W., Cho E.H., Lockett S., Chertov O., Bednar F., Rogers T.J., Oppenheim J.J., Wang J.M. Identification of neutrophil granule protein cathepsin G as a novel chemotactic agonist for the G protein-coupled formyl peptide receptor. *J Immunol* 2004; 173: 1: 428–436.
91. Rescher U., Danielczyk A., Markoff A., Gerke V. Functional activation of the formyl peptide receptor by a new endogenous ligand in human lung A549 cells. *J Immunol* 2002; 169: 3: 1500–1504.
92. McCoy R., Haviland D.L., Molmenti E.P., Ziambaras T., Wetsel R.A., Perlmutter D.H. N-formylpeptide and complement C5a receptors are expressed in liver cells and mediate hepatic acute phase gene regulation. *J Exp Med* 1995; 182: 1: 207–217.
93. Zhou Y., Bian X., Le Y., Gong W., Hu J., Zhang X., Wang L., Iribarren P., Salcedo R., Howard O.M., Farrar W., Wang J.M. Formylpeptide receptor FPR and the rapid growth of malignant human gliomas. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 11: 823–835.
94. Huang J., Chen K., Gong W., Zhou Y., Le Y., Bian X., Wang J.M. Receptor 'hijacking' by malignant glioma cells: a tactic for tumor progression. *Cancer Lett* 2008a; 267: 2: 254–261.
95. Yao X.H., Ping Y.F., Chen J.H., Chen D.L., Xu C.P., Zheng J., Wang J.M., Bian X.W. Production of angiogenic factors by human glioblastoma cells following activation of the G-protein coupled formylpeptide receptor FPR. *J Neurooncol* 2008a; 86: 1: 47–53.
96. Shi S.H., Hayashi Y., Petralia R.S. et al. Rapid spine delivery and redistribution of AMPA receptors after synaptic NMDA receptor activation. *Science* 1999; 284: 5421: 1811–1816. doi:10.1126/science.284.5421.1811. PMID 10364548.
97. Ishiuchi S., Tsuzuki K., Yoshida Y., Yamada N., Hagimura N. et al. Blockage of Ca(2+)-permeable AMPA receptors suppresses migration and induces apoptosis in human glioblastoma cells. *Nat Med* 2002; 8: 971–978.
98. van Vuurden D.G., Yazdani M., Bosma I., Broekhuizen A.J., Postma T.J., Heimans J.J., van der Valk P., Aronica E., Tannous B.A., Würdinger T., Kaspers G.J., Cloos J. Attenuated AMPA receptor expression allows glioblastoma cell survival in glutamate-rich environment. *PLoS One* 2009; 4: 6: e5953. doi: 10.1371/journal.pone.0005953.
99. Piao Y., Lu L., de Groot J. AMPA receptors promote perivascular glioma invasion via beta1 integrin-dependent adhesion to the extracellular matrix. *Neurol Oncol* 2009; 11: 3: 260–273. doi: 10.1215/15228517-2008-094. Epub 2008 Oct 28.
100. Chen M.S., Huber A.B., van der Haar M.E., Frank M., Schnell L., Spillmann A.A., Christ F., Schwab M.E. Nogo-A is a myelin-associated neurite outgrowth inhibitor and an antigen for monoclonal antibody IN-1. *Nature* 2000; 403: 434–439.
101. Wang K.C., Kim J.A., Sivasankaran R., Segal R., He Z. p75 interacts with the Nogo receptor as a co-receptor for Nogo. *MAG and OMgp*. *Nature* 2002; 420: 74–78.
102. Mi S., Lee X., Shao Z., Thill G., Ji B., Relton J., Levesque M., Allaire N., Perrin S., Sands B., Crowell T., Cate R.L., McCoy J.M., Pepinsky R.B. LINGO-1 is a component of the Nogo-66 receptor/p75 signaling complex. *Nat Neurosci* 2004; 7: 221–228.

103. Pernet V., Joly S., Christ F., Dimou L., Schwab M.E. Nogo-A, myelin-associated glycoprotein differently regulate oligodendrocyte maturation, myelin formation. *J Neurosci* 2008; 28: 7435–7444.
104. Kuhlmann T., Remington L., Maruschak B., Owens T., Brück W. Nogo-A is a reliable oligodendroglial marker in adult human and mouse CNS and in demyelinated lesions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007; 66: 238–246.
105. Liao H., Duka T., Teng F.Y., Sun L., Bu W.Y., Ahmed S., Tang B.L., Xiao Z.C. Nogo-66 and myelin-associated glycoprotein (MAG) inhibit the adhesion and migration of Nogo-66 receptor-expressing human glioma cells. *J Neurochem* 2004; 90: 1156–1162.
106. Xiong N., Shen J., Li S., Li J., Zhao H. Expression of Nogo-66 receptor in human astrocytoma is correlated with tumor malignancy. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 3: 2625–2632. doi: 10.1007/s11033-011-1015-8. Epub 2011 Jun 18.
107. Wookey P., Zulli A., Lo C. et al. Calcitonin receptor (CTR) expression in embryonic, foetal and adult tissues: developmental and pathophysiological implications. In: The calcitonin gene-related peptide family: form, function and future perspectives. Eds. D. Hay, I. Dickerson. Netherlands: Springer 2009; 199–233.
108. Wookey P.J., McLean C.A., Hwang P., Furness S.G., Nguyen S., Kourakis A., Hare D.L., Rosenfeld J.V. The expression of calcitonin receptor detected in malignant cells of the brain tumour glioblastoma multiforme and functional properties in the cell line A172. *Histopathology* 2012; 60: 6: 895–910. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04146.x.
109. Benes L., Kappas C., McGregor G.P., Bertalanffy H., Mennel H.D., Hagner S. The immunohistochemical expression of calcitonin receptor-like receptor (CRLR) in human gliomas. *J Clin Pathol* 2004; 57: 2: 172–176.
110. Vandercappellen J., Van Damme J., Struyf S. The role of CXC chemokines and their receptors in cancer. *Cancer Lett* 2008; 267: 226–244.
111. Müller A., Homey B., Soto H. et al. Involvement of chemokine receptors in breast cancer metastasis. *Nature* 2001; 410: 50–56.
112. Bajetto A., Barbieri F., Dorcarratto A. et al. Expression of CXC chemokine receptors 1–5 and their ligands in human glioma tissue: role of CXCR4 and SDF-1 in glioma cell proliferation and migration. *Neurochem Int* 2006; 49: 423–432.
113. Balabanian K., Lagane B., Infantino S. et al. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. *J Biol Chem* 2005; 280: 35760–35766.
114. Ehteshami M., Yuan X., Kabos P. et al. Glioma tropic neural stem cells consist of astrocytic precursors and their migratory capacity is mediated by CXCR4. *Neoplasia* 2004; 6: 287–293.
115. Ma Y.H., Mentlein R., Knerlich F., Kruse M.L., Mehdorn H.M., Held-Feindt J. Expression of stem cell markers in human astrocytomas of different WHO grades. *J Neurooncol* 2008; 86: 31–45.
116. Hattermann K., Held-Feindt J., Lucius R., Mürkötter S.S., Penfold M.E., Schall T.J., Mentlein R. The chemokine receptor CXCR7 is highly expressed in human glioma cells and mediates antiapoptotic effects. *Cancer Res* 2010; 70: 8: 3299–2308. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3642.
117. Wendel M. et al. Natural killer cell accumulation in tumors is dependent on IFN- γ and CXCR3 ligands. *Cancer Res* 2008; 68: 8437–8445.
118. Maru S.V. et al. Chemokine production and chemokine receptor expression by human glioma cells: role of CXCL10 in tumour cell proliferation. *J Neuroimm* 2008; 199: 35–45.
119. Liu C., Luo D., Reynolds B.A., Meher G., Katritzky A.R., Lu B., Gerard C.J., Bhadha C.P., Harrison J.K. Chemokine receptor CXCR3 promotes growth of glioma. *Carcinogenesis* 2011; 32: 2: 129–137. doi: 10.1093/carcin/bgq224.
120. Wong R.W., Guillaud L. The role of epidermal growth factor and its receptors in mammalian CNS. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 147–156.
121. Buonanno A., Fischbach G.D. Neuregulin and ErbB receptor signaling pathways in the nervous system. *Curr Opin Neurobiol* 2001; 11: 287–296.
122. Mokhtari K., Paris S., Aguirre-Cruz L. et al. Olig2 expression, GFAP, p53 and 1p loss analysis contribute to glioma subclassification. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2005; 31: 62–69.
123. Wharton S.B., Chan K.K., Whittle I.R. Microtubule-associated protein 2 (MAP-2) is expressed in low and high grade diffuse astrocytomas. *J Clin Neurosci* 2002; 9: 165–169.
124. Preusser M., Laggner U., Haberler C. et al. Comparative analysis of NeuN immunoreactivity in primary brain tumours: conclusions for rational use in diagnostic histopathology. *Histopathology* 2006; 48: 438–444.
125. Bao S., Wu Q., McLendon R.E. et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444: 756–760.
126. Clarke M.F. Neurobiology: at the root of brain cancer. *Nature* 2004; 432: 281–282.
127. Nicholas M.K., Lukas R.V., Jafri N.F. et al. Epidermal growth factor receptor — mediated signal transduction in the development and therapy of gliomas. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7261–7270.
128. Wikstrand C.J., McLendon R.E., Friedman A.H., Bigner D.D. Cell surface localization and density of the tumor-associated variant of the epidermal growth factor receptor, EGFRvIII. *Cancer Res* 1997; 57: 4130–4140.
129. Hurtt M.R., Moosy J., Donovan-Peluso M., Locker J. Amplification of epidermal growth factor receptor gene in gliomas: histopathology and prognosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 84–90.
130. Nishikawa R., Ji X.D., Harmon R.C. et al. A mutant epidermal growth factor receptor common in human glioma confers enhanced tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 7727–7731.
131. Lammering G., Valerie K., Lin P.S., Hewitt T.H., Schmidt-Ullrich R.K. Radiation-induced activation of a common variant of EGFR confers enhanced radioresistance. *Radiother Oncol* 2004; 72: 267–273.
132. Nagane M., Levitzki A., Gazit A., Caveness W.K., Huang H.J. Drug resistance of human glioblastoma cells conferred by a tumor-specific mutant epidermal growth factor receptor through modulation of Bcl-XL and caspase-3-like proteases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 5724–5729.
133. Li-li Zhao, Kan-lun Xu, Shan-wei Wang, Bai-lai Hu, Li-rong Chen. Pathological significance of epidermal growth factor receptor expression and amplification in human gliomas. *Histopathology* 2012. Doi: 10.1111/j.1365-2559.2012.
134. Press M.F., Cordon-Cardo C., Slamon D.J. Expression of the HER2/neu proto-oncogene in normal adult and fetal tissues. *Oncogene* 1990; 5: 953–962.
135. Koka V., Potti A., Forseen S.E., Pervez H., Fraiman G.N., Koch M., Levitt R. Role of HER2/neu overexpression and clinical determinants of early mortality in glioblastoma multiforme. *Am J Clin Oncol* 2003; 26: 332–335.
136. Schlegel J., Stumm G., Brandt K. et al. Amplification and differential expression of members of the erbB-gene family in human glioblastoma. *J Neurooncol* 1994; 22: 201–207.
137. Mineo J.F., Bordron A., Baroncini M. et al. Low HER2-expressing glioblastomas are more often secondary to anaplastic transformation of low-grade glioma. *J Neurooncol* 2007; 85: 281–287.
138. Mineo J.F., Bordron A., Baroncini M., Maurage C.A., Ramirez C., Siminski R.M., Berthou C., Hieu P.D. Low HER2-expressing glioblastomas are more often secondary to anaplastic transformation of low-grade glioma. *J Neuro-Oncol* 2007; 85: 3: 281–287.
139. Mineo J.F., Bordron A., Quintin-Roué I., Loisel S., Le Ster K., Buhe V., Lagarde N., Berthou C. Recombinant humanized anti-HER2/neu antibody (Herceptin) induces cellular death of glioblastomas. *Br J Cancer* 2004; 91: 1195–1199.
140. Fujimura M., Katsumata N., Tsuda H., Uchi N., Miyaka S., Hidaka T., Sakai M., Saito S. HER2 is frequently over-expressed in ovarian clear cell adenocarcinoma: possible novel treatment modality using recombinant monoclonal antibody against HER2. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 1250–1257.
141. Mineo J.F., Bordron A., Quintin-Roué I., Maurage C.A., Buhé V., Séverine L., Dubois F., Blond S., Berthou C. Increasing of HER2 Membrane Density in Human Glioblastoma U251MG Cell Line Established in a New Nude Mice Model. *J Neuro-Oncol* 2006; 76: 3: 249–255.
142. Duhem-Tonnelle V., Bièche I., Vacher S., Loyens A., Maurage C.A., Collier F., Baroncini M., Blond S., Prevot V., Sharif A. Differential distribution of erbB receptors in human glioblastoma multiforme: expression of erbB3 in CD133-positive putative cancer stem cells. *J Neuropathol Exp Neurol* 2010; 69: 6: 606–622.
143. Shmelkov S.V., Clair R.S., Lyden D. et al. AC133/CD133/Prominin-1. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 715–719.
144. Miraglia S., Godfrey W., Yin A.H. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997; 90: 5013–5021.
145. Wan F., Zhang S., Xie R. et al. The utility and limitations of neurosphere assay, CD133 immunophenotyping and side population assay in glioma stem cell research. *Brain Pathol* 2010; 20: 877–889.

146. Zeppernick F, Ahmadi R, Campos B, Dictus C, Helmke B.M., Becker N., Lichter P., Unterberg A., Radlwimmer B., Herold-Mende C.C. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 123–129.
147. Campos B., Zeng L., Daotrong P.H., Eckstein V., Unterberg A., Mairbäurl H., Herold-Mende C. Expression and regulation of AC133 and CD133 in glioblastoma. *Glia* 2011; 59: 12: 1974–1986.
148. Lizcano J.M., Goransson P., Toth R., Deak M., Morrice N.A., Boudeau J., Hawley S.A., Udd L., Makela T.P., Hardie D.G., Alessi D.R. LKB1 is a master kinase that activates 13 kinases of the AMPK subfamily, including MARK/PAR-1. *Embo J* 2004; 23: 833–843.
149. Kato K., Ogura T., Kishimoto A., Minegishi Y., Nakajima N., Miyazaki M., Esumi H. Critical roles of AMP-activated protein kinase in constitutive tolerance of cancer cells to nutrient deprivation and tumor formation. *Oncogene* 2002; 21: 6082–6090.
150. Nakano I., Paucar A.A., Bajpai R., Dougherty J.D., Zewail A., Kelly T.K., Kim K.J., Ou J., Groszer M., Imura T., Freije W.A., Nelson S.F., Sofroniew M.V., Wu H., Liu X., Tersikh A.V., Geschwind D.H., Kornblum H.I. Maternal embryonic leucine zipper kinase (MELK) regulates multipotent neural progenitor proliferation. *J Cell Biol* 2005; 170: 413–427.
151. Gray D., Jubb A.M., Hogue D., Dowd P., Kljavin N., Yi S., Bai W., Frantz G., Zhang Z., Koeppen H., de Sauvage F.J., Davis D.P. Maternal embryonic leucine zipper kinase/murine protein serine-threonine kinase 38 is a promising therapeutic target for multiple cancers. *Cancer Res* 2005; 65: 9751–9761.
152. Nakano I., Masterman-Smith M., Saigusa K., Paucar A.A., Horvath S., Shoemaker L., Watanabe M., Negro A., Bajpai R., Howes A., Lelievre V., Waschek J.A., Lazareff J.A., Freije W.A., Liao L.M., Gilbertson R.J., Cloughesy T.F., Geschwind D.H., Nelson S.F., Mischel P.S., Tersikh A.V., Kornblum H.I. Maternal embryonic leucine zipper kinase is a key regulator of the proliferation of malignant brain tumors, including brain tumor stem cells. *J Neurosci Res* 2008; 86: 1: 48–60.
153. Mizutani K., Yoon K., Dang L. et al. Differential Notch signalling distinguishes neural stem cells from intermediate progenitors. *Nature* 2007; 449: 351–355.
154. Fiúza U.M., Arias A.M. Cell and molecular biology of Notch. *J Endocrinol* 2007; 194: 459–474.
155. Lubman O.Y., Korolev S.V., Kopan R. Anchoring notch genetics and biochemistry; structural analysis of the ankyrin domain sheds light on existing data. *Mol Cell* 2004; 13: 619–626.
156. Artavanis-Tsakonas S., Rand M.D., Lake R.J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 1999; 284: 770–776.
157. Weng A.P., Nam Y., Wolfe M.S. et al. Growth suppression of pre-T acute lymphoblastic leukemia cells by inhibition of notch signaling. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 655–664.
158. Weijzen S., Rizzo P., Braid M. et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Rasttransformed cells. *Nat Med* 2002; 8: 979–986.
159. Zagouras P., Stifani S., Blaumueller C.M. et al. Alterations in Notch signaling in neoplastic lesions of the human cervix. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 6414–6418.
160. Nicolas M., Wolfer A., Raj K. et al. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin. *Nat Genet* 2003; 33: 416–421.
161. Peng Xu., Shizhu Yu., Rongcai Jiang., Chunsheng Kang., Guangxiu Wang., Hao Jiang., Peiyu Pu. Differential Expression of Notch Family Members in Astrocytomas and Medulloblastomas. *Pathol Oncol Res* 2009; 15: 4: 703–710.
162. Qiu M.Z., Pu P.Y., Kang C.S. et al. The inhibitory effect of siRNA targeting Notch1 on the U251 glioblastoma cell growth in vivo. *Chin J Microsurg* 2008; 31: 214–215.
163. Garner J.M., Fan M., Yang C.H., Du Z., Sims M., Davidoff A.M., Pfeiffer L.M. Constitutive activation of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) and nuclear factor κ B signaling in glioblastoma cancer stem cells regulates the Notch pathway. *J Biol Chem* 2013; 288: 36: 26167–26176.
164. Senger D.R., Galli S.J., Dvorak A.M., Perruzzi C.A., Harvey V.S., Dvorak H.F. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1993; 219: 983–985.
165. Robinson C.J., Stringer S.E. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci* 2001; 114: 853–865.
166. Veikkola T., Karkkainen M., Claesson-Welsh L., Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res* 2000; 60: 203–212.
167. Herold-Mende C., Steiner H.H., Andl T., Riede D., Buttler A., Reisser C., Fusenig N.E., Mueller M.M. Expression and functional significance of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors in human tumor cells. *Lab Invest* 1999; 79: 1573–1582.
168. Chekhonin V.P., Shein S.A., Korchagina A.A., Gurina O.I. Targets. *Curr Cancer Drug* 2013; 13: 4: 423–443.
169. Kleihues P., Cavenee W. Tumors of the Nervous System: Pathology and Genetics. 2nd edn. Intern Agency Res Cancer (Lyon, France) 2000.
170. Plate K.H., Breier G., Weich H.A., Risau W. Vascular endothelial growth factor is a potential tumour angiogenesis factor in human gliomas in vivo. *Nature* 1992; 359: 845–848.
171. Chaudhry I.H., O'Donovan D.G., Brenchley P.E., Reid H., Roberts I.S. Vascular endothelial growth factor expression correlates with tumour grade and vascularity in gliomas. *Histopathology* 2001; 39: 409–415.
172. Pore N., Liu S., Haas-Kogan D.A., O'Rourke D.M., Maity A. PTEN mutation and epidermal growth factor receptor activation regulate vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNA expression in human glioblastoma cells by transactivating the proximal VEGF promoter. *Cancer Res* 2003; 63: 236–241.
173. Grau S.J., Trillsch F., Herms J., Thon N., Nelson P.J., Tonn J.-C., Goldbrunner R. Expression of VEGFR3 in glioma endothelium correlates with tumor grade. *J Neuro-Oncol* 2007; 82: 2: 141–150.
174. Iljin K., Karkkainen M.J., Lawrence E.C., Kimak M.A., Uutela M., Taipale J., Pajusola K., Alhonen L., Halmekyto M., Finegold D.N., Ferrell R.E., Alitalo K. VEGFR3 gene structure, regulatory region, and sequence polymorphisms. *FASEB J* 2001; 15: 1028–1036.
175. Alitalo K., Carmeliet P. Molecular mechanisms of lymphangiogenesis in health and disease. *Cancer Cell* 2002; 1: 219–227.
176. Alentorn A., Yannick M., Carpentier C., Boisselier B., Giry M., Labussière M., Mokhtari K., Khê Hoang-Xuan, Sanson M., Delattre J.-Y., Idhah A. Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008; 455: 7216: 1061–1068.
177. Verhaak R.G., Hoadley K.A., Purdom E. et al. Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 2010; 17: 1: 98–110.
178. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature* 2001; 411: 6835: 355–365.
179. Richardson W.D., Pringle N., Mosley M.J., Westermarck B., Dubois-Dalcq M. A role for platelet-derived growth factor in normal gliogenesis in the central nervous system. *Cell* 1988; 53: 2: 309–319.
180. Martinho O., Longatto-Filho A., Lambros M.B.K. et al. Expression, mutation and copy number analysis of platelet-derived growth factor receptor A (PDGFRA) and its ligand PDGFA in gliomas. *Br J Cancer* 2009; 101: 6: 973–982.
181. Clarke I.D., Dirks P.B. A human brain tumor-derived PDGFR- α deletion mutant is transforming. *Oncogene* 2003; 22: 5: 722–733.
182. Gandhari M.K., Frazier C.R., Hartenstein J.S., Cloix J.F., Bernier M., Wainera I.V. Identification and characterization of estrogen receptor-related receptor alpha and gamma in human glioma and astrocytoma cells. *Mol Cell Endocrinol* 2010; 315: 1–2: 314. doi: 10.1016/j.mce.2009.10.001.
183. Ariazi E.A., Jordan V.C. Review Estrogen-related receptors as emerging targets in cancer and metabolic disorders. *Curr Top Med Chem* 2006; 6: 3: 203–215.
184. Yoshimoto K., Xinlong Ma, Guan Y., Mizoguchi M., Nakamizo A., Amano T., Hata N., Kuga D., Sasaki T. Expression of stem cell marker and receptor kinase genes in glioblastoma tissue quantified by real-time RT-PCR. *Brain Tumor Pathol* 2011; 28: 4: 291–296.

Комментарий

Обзорная работа «Современные молекулярно-генетические подходы к диагностике и лечению низкодифференцированных глиом» написана известными специалистами из таких учреждений, как Институт биологии гена РАН, РНИМУ им. Н.И. Пирогова, НИИ нейрохирургии им. Бурденко, ФГБУ ГНЦССП им. В.П. Сербского и химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова.

Работа посвящена анализу современного состояния проблемы диагностики и терапии глиом высокой степени злокачественности, в отношении которых существующие методы терапии недостаточно эффективны. В частности, для мультиформной глиобластомы средняя продолжительность жизни пациентов после операции на фоне химио- и лучевой терапии составляет 14 мес. Для анапластической астроцитомы — 25 мес. Пятилетняя выживаемость больных с мультиформной глиобластомой не превышает 10%.

В качестве наиболее перспективных подходов, проходящих в настоящее время лабораторные испытания и первую клиническую апробацию, исследуются возможности создания таргетных противоопухолевых препаратов на основе наноконтейнеров, снабженных «направляющими» моноклональными антителами, обладающих рН-чувствительностью или каким-либо другим свойством, увеличивающим тропность к очагу опухоли. В рамках этого же направления активно разрабатываются новые способы лечения, основанные на доставке и экспрессии терапевтических генов, которые могут привести к гибели опухолевых клеток, ингибировать сосудобразование в опухоли или активировать эффективный иммунный ответ против глиобластомы.

В отдельном разделе обзора рассматривается перспективность применения в целях диагностики и терапии молекулярно-генетического анализа маркеров глиобластомы, расположенных на поверхности опухолевой клетки.

Еще один инновационный подход, подробно анализирующийся в обзоре, базируется на применении для терапии злокачественных глиом онколитических вирусов. Преклинические исследования на культурах опухолевых клеток и на животных с экспериментальными опухолями человека (включая экспериментальные глиомы) демонстрируют очень высокий терапевтический потенциал онколитических вирусов, превосходящий все существующие клинично-экспериментальные методы терапии. Малая вероятность формирования внутренней резистентности в опухолевых клетках к онколитическим вирусам и отсутствие значительных побочных эффектов, даже при высоких дозах системного введения, делает их особо привлекательными для генно-инженерной разработки улучшенных вариантов с высокой терапевтической активностью.

Таким образом, в обзоре систематизированы современные применяющиеся в клинической практике подходы к диагностике и терапии низкодифференцированных глиом, а также проведен анализ наиболее перспективных инновационных подходов, которые в ближайшем будущем могут быть также транслированы в нейроонкологическую практику.

О.И. Гурина (Москва)