

ЛЕКЦИИ LECTURES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.9

Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса

Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Трухан Ирина Сергеевна, e-mail: PREDEL4@yandex.ru

Резюме

Лизосомы – многофункциональные клеточные органеллы, которые не только обеспечивают деградацию макромолекул люменальными кислыми гидролазами, но также участвуют в регуляции клеточного метаболизма, поддержании ионного гомеостаза и индукции программируемой клеточной гибели. Особый интерес вызывает изучение этого компартмента при различных патологических состояниях, в том числе при развитии онкологических заболеваний различного генеза. Метаболические и морфологические изменения клеток в процессе онкогенеза приводят к pH-зависимому перераспределению лизосом в пределах клетки, сопровождающуюся секрецией лизосомальных протеаз катепсинов во внеклеточное пространство. Цистеиновые, сериновые и аргининовые катепсины, выделяемые как опухолевыми клетками, так и клетками, ассоциированными с опухолью, катализируют расщепление различных компонентов внеклеточного матрикса и базальной мембраны или протеолитически активируют другие ферменты, также участвующие в этом процессе. При этом лизосомальные протеазы непосредственно влияют на способность клеток к инвазии и метастатический потенциал опухолевого образования. Кроме того, было продемонстрировано прогностическое значение некоторых катепсинов (особенно катепсинов В, К и D), количество и активность которых в опухолевой ткани и в её микроокружении сопряжены со злокачественностью образования, а также с плохим прогнозом по выживаемости пациентов и возможностью возникновения рецидивов.

Ключевые слова: лизосомы, инвадоподии, внеклеточный матрикс, катепсины, метастазирование

Для цитирования: Трухан И.С., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А. Роль лизосом в онкогенезе: акцент на деградацию внеклеточного матрикса. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 77-87. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.9.

The Role of Lysosomes in the Cancer Progression: Focus on the Extracellular Matrix Degradation

Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Irina S. Trukhan, e-mail: PREDEL4@yandex.ru

Abstract

Lysosomes are multifunctional cell organelles that not only provide degradation of macromolecules by luminal acid hydrolases, but also contribute in the regulation of cell metabolism, ion homeostasis maintenance, and programmed cell death induction. The study of this compartment in various pathological conditions, including the oncological diseases by different origins is of particular interest. This article discusses the lysosome involvement in the process of malignant cell transformation, as well as the role of these organelles in the tumor cell metastasis mediated by proteolytic cleavage of the extracellular matrix components. Metabolic and morphological changes of cells during oncogenesis lead to pH-dependent redistribution of lysosomes within the cell, accompanied by the secretion of lysosomal proteases cathepsins into the extracellular space. Cysteine, serine, and arginine cathepsins released by both tumor cells and tumor-associated cells catalyze the cleavage of various components of the extracellular matrix and basement membrane, or proteolytically activate other enzymes also involved in this process. In this instance, lysosomal proteases directly affect the ability of cells to invade and the metastatic potential of tumor formation. In addition, it was demonstrated the prognostic importance of some cathepsins (especially cathepsins B, K, and D) the number and activity of which in the tumor tissue and its microenvironment are associated with malignancy of the formation, as well as with a poor prognosis for patient survival and with the possibility of recurrences.

Key words: lysosomes, invadopodia, extracellular matrix, cathepsins, metastasis

For citation: Trukhan I.S., Dremina N.N., Shurygina I.A. The Role of Lysosomes in the Cancer Progression: Focus on the Extracellular Matrix Degradation. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 77-87. doi: 10.29413/ABS.2020-5.6.9.

ПРИНЯТЫЕ СОКРАЩЕНИЯ

LAMP	– ассоциированные с лизосомальной мембраной белки (англ. lysosome-associated membrane protein)
LAV	– крупные кислые везикулы (англ. large acidic vesicles)
M6PR	– рецептор маннозо-6-фосфата (англ. mannose-6-phosphate receptor)
MMP	– матриксные металлопротеиназы (англ. matrix metalloproteinase)
NHE	– натрий-протонный антипортер (англ. Na ⁺ /H ⁺ exchanger)
TGF-β	– трансформирующий фактор роста бета (англ. transforming growth factor beta)
TIMP	– тканевые ингибиторы металлопротеиназ (англ. tissue inhibitor of metalloproteinases)
uPA	– активатор плазминогена урокиназного типа (англ. urokinase-type plasminogen activator)

ВВЕДЕНИЕ

Лизосомы – округлые органеллы с кислым содержанием, считавшиеся со времени открытия в 1955 г. статичными компартментами, отвечающими за деградацию макромолекул с образованием низкомолекулярных метаболитов [1]. Однако проведенные за последние десятилетия исследования показали, что роль лизосом в клетке не ограничивается гидролитической функцией, эти органеллы участвуют в сигнальной трансдукции и регуляции метаболизма клеток, поддержании ионного гомеостаза, а также в индукции программируемой клеточной гибели [1, 2]. Кроме того, лизосомы начали активно изучать в связи с их ролью в развитии онкологических, нейродегенеративных, сердечно-сосудистых, костно-мышечных заболеваний [2]. Целью данной статьи является обзор изменений, происходящих с лизосомами в процессе злокачественной трансформации клеток, а также обсуждение роли данного компартмента в таком ключевом этапе онкогенеза как метастазирование, опосредованное деградацией внеклеточного матрикса.

ЛИЗОСОМЫ В МОРФОЛОГИИ
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

D. Hanahan и R.A. Weinberg (2011) описали общие признаки, лежащие в основе онкогенеза, такие как приобретение клетками способности к активной неограниченной пролиферации и выживанию в отсутствие факторов роста, нечувствительности к ингибиторам роста и апоптотическим сигналам, возникновение миграционного потенциала [3]. Также авторы предлагают рассматривать опухолевые ткани как гетерогенные образования, в состав которых помимо клеток, подвергшихся раковой трансформации, входят незлокачественные клетки, рекрутированные в микроокружение опухоли и коэволюционировавшие с опухолевыми клетками. Так, строму опухоли могут составлять эндотелиальные клетки, перициты, иммунные и воспалительные клетки (макрофаги, нейтрофилы и Т- и В-лимфоциты), ассоциированные с опухолью фибробласты. При этом известно, что клетки стромы наряду с опухолевыми клетками секретируют компоненты внеклеточного матрикса (фибронектин, коллагены, протеоглики, гликопротеины), избыточные количества факторов роста, гормонов, хемокинов и цитокинов, протеолитических ферментов и других молекул, составляющих секретом опухоли [4]. В настоящее время опухоли признаны сложными многокомпонентными системами, в состав которых помимо раковых и нормальных клеток, рекрутированных в микроокружение, входят неклеточные компоненты, а именно внеклеточный матрикс и межклеточный секретом, включающий сигнальные молекулы и везикулы [5]. И, хотя вклад каждого из компонентов в развитие опухо-

левого образования до конца не определён, общепризнанным считается утверждение о том, что опухолевые клетки взаимодействуют со своим микроокружением посредством паракринной сигнализации и секреции протеаз, что приводит к двунаправленным изменениям в метаболизме клеток, увеличению секреторной активности и подвижности, а также модулирует ангиогенез и метастазирование [4, 5].

Основным постулируемым признаком ракового перерождения клеток с 1920-х гг. считается перепрограммирование энергетического метаболизма клеток, в результате которого раковые клетки демонстрируют высокую скорость ферментативного гликолиза даже в присутствии достаточного количества кислорода (эффект Варбурга), что приводит к повышенному продуцированию лактата и генерации избыточного количества протонов в цитозоле [6]. Однако, так как понижение pH ведет к ингибированию ферментов, участвующих в гликолизе, что потенциально может снижать метаболическую активность клеток и ограничивать их пролиферацию, в опухолевых клетках происходят изменения адаптивного характера, направленные на регуляцию внутриклеточного pH посредством активного транспорта лактата и протонов во внеклеточное пространство [7, 8, 9]. Из транспортёров плазматической мембраны наибольшее значение для поддержания цитозольного pH гомеостаза имеют монокарбоксилатные транспортёры (MCT1 и MCT4), обеспечивающие транспорт лактата, Na⁺/H⁺ антипортер, натрий-зависимый и независимый HCO₃²⁻/Cl⁻ антипортеры, H⁺/лактат котранспортёр и V-АТФаза (или вакуолярная АТФаза). Причём было показано, что в злокачественных клетках уровень экспрессии и/или активности этих транспортёров часто бывает повышен [8, 9]. Кроме того, в регуляцию внутриклеточного pH вносят вклад лизосомальные V-АТФазы, NHE и Cl⁻/H⁺ антипортер, активность которых также направлена на подщелачивание цитозоля [10]. В результате в опухолевых структурах возникает градиент pH, характерный для развития данной патологии и отличающий активно пролиферирующие опухолевые клетки от незлокачественных тканей. Так, в норме внутриклеточный pH поддерживается в диапазоне от 6,9 до 7,2, а внеклеточный – от 7,2 до 7,4, тогда как в клетках опухоли наблюдается подщелачивание цитозоля (pH от 7,2 до 7,7) с одновременным подкислением внеклеточного пространства (pH от 6,2 до 7,1) [4, 11]. В совокупности данные изменения влияют на скорость размножения клеток, их способность к выживанию (позволяя избежать индукцию апоптоза и ингибировать противоопухолевые иммунные эффекторы), а также опосредуют возможность их метастатического распространения [8, 10, 11]. Кроме того, закисление внеклеточного пространства является одним из механизмов, при помощи которых раковые

клетки влияют на состав и функцию ассоциированной с опухолью стромы [8].

Ранее было продемонстрировано, что инкубация макрофагов и фибробластов при слабокислом pH (~6,5) приводит к перераспределению лизосом из центра организации микротрубочек к периферии клетки [12]. Подобное перемещение лизосом, сопровождающееся секрецией лизосомальных протеаз катепсинов, наблюдается в норме у клеток, участвующих в инвазивных процессах, например, у остеокластов при резорбции костей, у тучных клеток и эозинофилов при защите от паразитов, у сперматозоидов во время оплодотворения, а также у меланоцитов в процессе пигментации [13]. Однако было доказано, что подобные процессы происходят также в опухолевых клетках различного происхождения, а именно в клетках молочной железы, лёгких, толстого кишечника, предстательной железы [14–17], что определяет их способность к деградации матрикса, составляющего каркас микроокружения, и, соответственно, к направленной инвазии, сопряжённой со злокачественным прогрессирующим [17, 18].

Изучение перераспределения LAMP1 и LAMP2, высокогликозилированных трансмембранных лизосомальных белков, в плазматическую мембрану позволило утверждать, что выход катепсинов во внеклеточное пространство сопровождается слиянием мембран и, соответственно, происходит путём лизосом-опосредованного экзоцитоза [19]. Кроме того, так как высокое содержание LAMP2 в мембранах этих органелл связано, предположительно, с адаптацией к низкому pH и защитой мембраны от деградации, транслокация этого белка в плазмалемму также может предотвращать повреждение мембранных компонентов [19].

Однако перемещение лизосом к периферической области клетки не приводит к высвобождению во внеклеточное пространство всего разнообразия лизосомальных ферментов, что может объясняться гетерогенностью популяции этих органелл и различиями в составе протеаз [4]. Отчасти присутствие в клетках двух и более популяций лизосом подтверждается особенностями процесса репарации плазматической мембраны, при котором транспорт лизосом к периферии сопровождается секрецией сначала цистеиновых катепсинов В и L, непосредственно вовлечённых в восстановление мембраны, а затем катепсина D, аспарагиновой протеазы, подавляющей этот процесс [20]. Подобная гетерогенность была также продемонстрирована на клетках рака молочной железы человека, когда закисление среды приводило к миграции в направлении плазматической мембраны трёх популяций лизосом, различающихся по составу протеаз. Экспериментально были идентифицированы органеллы, содержащих только катепсин В или только катепсин D, а также лизосомы, в просвете которых иммуноцитохимически подтверждалось наличие обоих этих катепсинов [21].

Кроме того, в исследованиях была продемонстрирована роль факторов роста в создании градиента pH и связанных с ним метаболическими изменениями опухолевых клеток. Так, воздействие эпидермальным и гепатоцитарным факторами роста приводило к NHE-зависимому закислению внеклеточного пространства и перемещению лизосом по направлению к клеточной мембране, опосредованному активацией MAPK сигналь-

ного пути или сигналинга, зависящего от активности фосфоинозитид-3-киназы (phosphoinositide-3-kinase, PI3K) и RhoA ГТФазы [16, 17].

Ещё одним следствием закисления внеклеточного пространства является появление у опухолевых клеток инвадоподий, высокодинамичных богатых актином и лизосомальными структурами мембранных выростов, обладающих перичеллюлярной протеолитической активностью и имеющих особое значение для процесса метастазирования [22]. Известно, что данные структуры, характерные для высокоинвазивных раковых клеток, аналогичны подосомам незлокачественных клеток, которые в норме играют ключевую роль в таких процессах, как резорбция костного матрикса остеокластами, деградация внеклеточного матрикса и перемещение по направлению к кровотоку кроветворных клеток, миграция стволовых клеток во время эмбриогенеза и постнатального развития, ангиогенез и ремоделирование сосудистой системы, развитие нейронов, вращание аксонов моторных нейронов в периферическую ткань миотома и созревание постсинаптической мембраны [22, 23]. В то же время исследования, проведённые на трансформированных фибробластах [24], а также на клетках рака молочной железы, предстательной железы, на клетках аденокарциномы толстой и прямой кишки [4, 17, 18, 25], позволили продемонстрировать, что высокая протеолитическая активность инвадоподий также опосредуется pH-зависимым внутриклеточным транспортом лизосом, ассоциированным с секрецией катепсинов. При этом основную роль в изменении pH микроокружения играет функционирование NHE-1 [17], локализованного преимущественно в области формирования инвадоподий и обеспечивающего транспорт протонов из цитозоля во внеклеточное пространство. Высокий уровень активности и сверхэкспрессия этого антипортера были продемонстрированы на раковых клетках шейки матки и молочной железы, на клетках гепатоцеллюлярной карциномы и глиомы [22, 23].

Изучение процесса формирования инвадоподий у культивируемых адгезивных клеток показало, что при выращивании 2D-культуры эти структуры локализуются, как правило, на вентральной стороне, тогда как при культивировании на 3D-матрицах они наблюдаются по всей поверхности клетки. Количество и частота образования как инвадоподий, так и подосом, как было показано, зависят от свойств внеклеточного матрикса, его состава и ригидности [23]. Несмотря на сходство в строении и функционировании были описаны отличия в морфологии данных структур у опухолевых и нормальных клеток. В частности, инвадоподии по сравнению с подосомами являются более крупными образованиями, глубоко погруженными во внеклеточный матрикс. Ядро инвадоподий, как и ядро подосом, состоит из F-актиновых филаментов, но без опоясывающего кольца интегринов, характерного для последних. Кроме того, инвадоподии являются более стабильными и долгоживущими образованиями, однако их количество на одной клетке значительно уступает количеству подосом (примерно в 100 раз) [26]. Перечисленные различия являются определяющими для функциональных особенностей, то есть протеолитической активности: большое количество более равномерно распределённых короткоживущих подосом обеспечивает неглубокий лизис внеклеточного

матрикса, не имеющий определённого направления, тогда как деградация матрикса инвадоподиями характеризуется строгой направленностью и значительной глубиной воздействия [26].

Известно четыре основных класса протеаз, секретируемых клетками в области формирования инвадоподий или независимо от этих структур [4, 23, 27]. К первому классу относятся цинк-зависимые матриксные металлопротеиназы и ADAM-протеазы. Во второй, более разнородный класс, входят сериновые протеазы, объединяющие внеклеточные растворимые ферменты (uPA), трансмембранные протеазы (TMPRSS11D; hepsin; matrilysin-2; cox1), а также сериновые протеазы лизосомального происхождения (катепсины А и G). Третий класс составляют лизосомальные цистеиновые катепсины, представленные у человека одиннадцатью различными белками. К четвёртому классу относятся лизосомальные аспарагиновые протеазы, к которым причисляют катепсины D и E [4, 23, 27].

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ ЦИСТЕИНОВЫЕ КАТЕПСИНЫ

Опухолевые ткани в целом демонстрируют более высокую протеолитическую активность, связанную, вероятно, с нарушением регуляции ферментов как на транскрипционном, так и на посттрансляционном уровнях (ускорение активации зимогенов или пространственное разобщение протеаз с ингибиторами), что было продемонстрировано на резецированных фрагментах саркомы мягкой ткани и на клетках рака молочной железы [27]. Однако в большей степени внимание учёных привлекает внеклеточная протеолитическая активность опухолевых клеток, опосредующая их способность к метастазированию. Несмотря на то, что наиболее известными ферментами, влияющими на степень инвазивности клеток, традиционно считаются внеклеточные растворимые матриксные металлопротеиназы MMP2 и MMP9, сериновая протеаза uPA, а также трансмембранная ADAM-протеаза MT1-MMP, в последние десятилетия появляется всё больше доказательств того, что протеазы лизосомального происхождения также играют значимую роль в формировании у клеток злокачественного фенотипа [23, 27]. При этом наиболее изученным классом лизосомальных ферментов, участвующих в деградации компонентов внеклеточного матрикса, являются цистеиновые катепсины [28, 29, 30].

Цистеиновые катепсины относятся к семейству C1A папаиноподобных протеолитических ферментов и представлены преимущественно мономерными белками с молекулярной массой 20–35 кДа и цистеин-гистидиновой парой в активном центре, образованном двумя доменами. Исключением является тетрамерный катепсин С с молекулярной массой 200 кДа [29, 30]. Большинство катепсинов функционируют в качестве эндопептидаз и обладают широкой субстратной специфичностью с предпочтительным расщеплением после основных и гидрофобных остатков. Однако некоторые представители семейства также проявляют экзопептидазную активность, например, катепсины В и Х являются карбоксипептидазами, катепсины С и Н – аминопептидазами. Катепсин В наряду с экзопептидазной активностью может проявлять свойства эндопептидазы при нейтральном pH [27, 31], что определяет универсальность этого фермента. В частности, он может компенсиро-

вывать в клетках полную утрату активности катепсина Z, но не наоборот [29, 31].

Семь представителей этого семейства, а именно катепсины В, С, F, H, L, О и X/Z/P, экспрессируются повсеместно во всех тканях млекопитающих, тогда как экспрессия катепсинов J, K, С, V и W является тканеспецифичной. Так, катепсин К присутствует в остеокластах и синовиальных фибробластах, катепсин S преимущественно обнаружен в антигенпрезентирующих клетках, катепсин V – в тимусе и семенниках, а катепсин W – в CD8⁺ лимфоцитах и NK-клетках [28, 29]. Однако появляется всё больше сообщений о высокой внеклеточной активности некоторых катепсинов, ранее считавшихся тканеспецифичными, в опухолевых тканях различного происхождения [31, 32].

Все катепсины синтезируются в виде проферментов, их активация является pH-зависимой и происходит как правило в кислой среде, впоследствии активность катепсинов регулируется уровнем pH, компартиментализацией и присутствием эндогенных белковых ингибиторов [27, 30, 31]. Оптимальная активность цистеиновых протеаз наблюдается в кислых и слабокислых условиях pH, при этом все катепсины, за исключением катепсинов В и S, при нейтральном pH необратимо инактивируются. Несмотря на то, что pH микроокружения опухоли является слабокислым (6,2–7,1), в отличие от сильнокислого лизосомального pH (4–5), он считается достаточным для поддержания целостности и активности лизосомальных ферментов. Кроме того, предполагается, что некоторые компоненты внеклеточного матрикса, такие как гликозаминогликаны (например, хондроитинсульфат), могут стабилизировать активность катепсинов в условиях pH, отличных от оптимальных [30, 31].

Изначально активность катепсинов связывали исключительно с неспецифической, зависимой от кислого pH деградацией белка в лизосомах. Однако впоследствии стало ясно, что функции этих ферментов в клетке не ограничиваются лизосомальным компартментом. Так, катепсины были обнаружены в ядре, где они участвуют в деградации факторов транскрипции, а также в цитозоле, где они способствуют индукции апоптоза [27, 31]. Внеклеточная активность цистеиновых протеаз, приводящая к локальной деструкции внеклеточного матрикса, активно изучается в рамках исследований, посвящённых патогенезу онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний, воспалительных и иммунных нарушений, а также заболеваний костей и суставов [28, 30].

Хотя присутствие цистеиновых протеаз во внеклеточном компартменте было описано в физиологических условиях, так как катепсины вовлечены в процессы заживления ран, ремоделирования костной ткани и активации прогормонов, высокий уровень их внеклеточной активности, который является результатом дерегуляции транскрипции, активации и/или локализации протеаз, считается диагностическим маркером, часто коррелирующим с плохим прогнозом для онкологических больных [28, 33]. В целом повышенный уровень экспрессии и/или внеклеточной активности одного или нескольких цистеиновых катепсинов, ассоциированный с прогрессированием опухоли, был продемонстрирован при раке молочной железы, меланоме, раке желудка, раке поджелудочной и предстательной желез [39], гепатоцеллюлярном раке, колоректальном раке и раке яичников [34–41].

Кроме того, было обнаружено, что катепсины высоко экспрессируются и могут секретироваться не только раковыми клетками, но и клетками микроокружения, например, ассоциированными с опухолью макрофагами, миофибробластами, эндотелиальными клетками неоваскуляризации, что также ассоциировано с процессами инвазии, ангиогенеза, некроза или воспаления [15, 33, 34, 42]. В данном случае предполагается, что секреция катепсинов клетками стромы индуцируется аутокринными и паракринными сигналами, в частности интерлейкинами [28].

Высокая экспрессия и/или внеклеточная активность катепсина К, функционирование которого ранее связывали исключительно с ремоделированием костной ткани, была продемонстрирована в клетках миелогенной гигантоклеточной опухоли, хондросаркомы, почечных и внепочечных периваскулярных эпителиоидно-клеточных опухолей, альвеолярной саркомы мягких тканей, а также при раке лёгких, щитовидной, молочной и предстательной желез, меланоме и немеланомном раке кожи, раке шейки матки, почек, желудка и мультиформной глиобластоме. Более того, было доказано, что катепсин К является одной из пяти наиболее высоко экспрессируемых на уровне мРНК и белка протеаз в клетках глиобластомы [31, 32]. Развитие как сарком, так и карцином, сопровождающееся высокой внеклеточной активностью катепсина К, в большинстве известных случаев было связано с повышенной способностью клеток к инвазии, в том числе в костные ткани, которое может сопровождаться активацией остеокластов или происходить независимо от него (например, при меланоме) [32].

Среди лизосомальных цистеиновых протеаз наиболее распространённой в тканях млекопитающих и наиболее подробно изученной является катепсин В. Повышение уровня внеклеточной активности этой лизосомальной протеазы было зарегистрировано в клетках рака толстой кишки, печени, молочной и предстательной желез, аденокарциномы пищевода, глиомы, рака лёгких человека [17, 18, 43, 44]. В то же время в нескольких исследованиях была продемонстрирована взаимозависимость между активностью данного катепсина и метастатическим потенциалом клеток. Например, на трёх клеточных линиях (клетках меланомы мыши, опухолевых клетках молочной железы человека и клетках колоректальной карциномы человека) было показано, что зависимость от закисления и транспорта лизосом способность клеток секретировать катепсин В была различной у выбранных линий и зависела от исходной злокачественности культуры [14]. Кроме того, на клетках рака молочной железы было продемонстрировано, что применение специфических ингибиторов катепсины В и S приводит к снижению их способности к инвазивному распространению на 65 % [29, 44].

После секреции катепсины могут либо оставаться связанными с плазматической мембраной, что играет ключевую роль в защите протеаз от инактивации под воздействием неблагоприятных условий среды, либо переходить в растворимую форму и взаимодействовать с молекулами внеклеточного матрикса [29]. При ассоциации с плазматической мембраной катепсины, как правило, ко-локализуются с мембранными интегринными (катепсины S и X) либо с тетрамерами аннексина II и с сайтами расположения кавеол на клеточной поверхности

(катепсин В). При этом было показано, что мембраносвязанные формы не только более устойчивы, но их количество может служить прогностическим признаком. Например, наличие таких ассоциированных с плазмолеммой катепсинов при колоректальном раке коррелирует с плохой выживаемостью [30].

Внеклеточные субстраты цистеиновых катепсинов многочисленны, так как они участвуют в ремоделировании матрикса практически во всех тканях, что определяет их роль не только в онкогенезе, но и в патогенезе других заболеваний. Так, почти все цистеиновые катепсины расщепляют коллагены I и II типов, при этом катепсин К способен расщеплять коллагены в области телопептида [30]. Катепсины К, S и V участвуют в деградации эластина, однако наиболее высокая эластолитическая активность продемонстрирована у катепсина V. Ещё одним субстратом катепсинов L и S является коллаген XVIII типа, который может служить источником эндостатина, подавляющего ангиогенез. Также хорошо изучена активность катепсинов в отношении белков базальной мембраны. Например, катепсин S участвует в деградации нидогена-1, а катепсины В, L и S расщепляют фибронектин и ламинин, при этом в результате протеолитической активности катепсина S образуется фрагмент с проангиогенными эффектами [28–31]. Кроме того, было показано, что катепсины играют ключевую роль в ремоделировании матрикса специализированных тканей. Так, одним из идентифицированных субстратов катепсина В является тенасцин-С, гликопротеин внеклеточного матрикса в центральной нервной системе, протеолиз которого приводит к проангиогенному эффекту при глиоме. Катепсины В, L, S и К расщепляют агрекан, протеогликан матрикса хрящевой ткани [28, 29, 30], тогда как основной характеристикой катепсина К является способность деградировать компоненты костного матрикса, периостин и остеонектин, лизис которых опосредует метастазированию в костную ткань, как было показано при раке молочной и предстательной желез [29, 30, 32].

Помимо непосредственного вклада в деградацию внеклеточного матрикса катепсины участвуют в протеолитической активации других ферментов, также вовлечённых в этот процесс. Например, катепсины В и L катализируют расщепление аспарагинового прокатепсина D с образованием зрелой формы [45]. Катепсин В может участвовать в активации uPA, который в свою очередь активирует прокатепсин В с формированием петли положительной обратной связи [23, 29]. Таким образом, функционирование цистеиновых катепсинов, зависимое от кислого pH микроокружения, инициирует каскадную протеолитическую активность, направленную на деградацию внеклеточного матрикса и обеспечивающую высокий миграционный потенциал опухолевых клеток.

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ СЕРИНОВЫЕ ПРОТЕАЗЫ

Сериновые протеазы, характеризующиеся наличием консервативного серинового остатка в составе каталитического центра, являются наиболее многочисленной и разнородной группой протеаз, принадлежащих 40 семействам. Известно, что большая часть описанных ферментов данной группы относится к эндопептидазам и участвует в деградации внеклеточного матрикса при физиологических и патологических состояниях [46].

Катепсин А является многофункциональным гликопротеином семейства S10, обладающим карбоксипептидазной активностью в кислых условиях среды и дезамидазной и эстеразной активностями при нейтральном рН. Предпочтительными субстратами для пептидазной активности фермента являются субстраты с гидрофобными аминокислотными остатками на С-конце [47, 48, 49]. Известно, что данный катепсин широко распространён в тканях млекопитающих, демонстрируя более высокую экспрессию в эндотелиоцитах, в клетках дистальных канальцев и собирательных трубочек, эпителиальных клетках лёгких, клетках печени, в крупных нейронах, в антигенпрезентирующих клетках, а также в клетках плаценты. Кроме того, известно, что катепсин А секретируется в плазму крови тромбоцитами и лимфоцитами [47, 48, 50]. Функции данной протеазы связаны преимущественно с внутрилизосомальной активностью, однако есть сведения о её секреции во внеклеточное пространство, хотя данных, подтверждающих её участие в деградации внеклеточного матрикса, нет [48, 49, 50].

Тем не менее сообщалось о высокой активности катепсина А в лизатах первичных и метастатических очагов злокачественной меланомы, при этом однако не было установлено, какие именно клетки были источниками данной активности – меланоциты или ассоциированные с опухолью кератиноциты, фибробласты и/или лейкоциты [47]. Также была продемонстрирована связь между более высоким уровнем экспрессии катепсина А и метастазированием в печень при колоректальном раке [49], тогда как снижение экспрессии данного катепсина приводило к подавлению способности клеток к миграции и инвазии как при колоректальном раке [49], так и при аденокарциноме лёгких [48]. Кроме того, при помощи протеомного анализа было продемонстрировано повышение количества данного катепсина в крови пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, в связи с чем авторами было предложено считать катепсин А наряду с альдо-кеторедуктазой AKR1B10 потенциальным сывороточным биомаркером для диагностики данного заболевания [51]. Диагностическое и прогностическое значение катепсина А было также подтверждено при исследовании рака молочной железы, при котором высокая экспрессия данной протеазы была связана не только с плохим прогнозом, но и с более коротким безрецидивным потенциалом [50].

Катепсин G является гликопротеином с протеазной активностью и относится к суперсемейству химотрипсинов. Он обнаружен в эндоцитарных компартментах моноцитов, В-клеток, миелоидных и плазмацитоидных дендритных клеток, кортикальных тимических эпителиальных клеток человека, в микроглии мыши, но не экспрессируется в линиях В-лимфобластоидных клеток, моноцитарных дендритных клеток и в фибробластных клеточных линиях. Однако было показано, что секретированный катепсин G может быть интернализирован в эндоцитарные компартменты клеток, неэкспрессирующих его, в том числе в эндосомы опухолевых клеток, что может вызывать изменения в их метаболизме [52, 53]. Данная сериновая протеаза синтезируется в виде неактивного предшественника, которому для преобразования в зрелую форму необходима активность цистеинового катепсина С [53]. Экспериментально было определено, что при нейтральных значениях рН данный катепсин активен в отношении фибриллярных коллагенов I, II и III типов,

коллагена IV типа, эластина, ламинина, фибронектина и агреккана [52, 54].

Связь между высокой активностью катепсина G и развитием опухоли была описана при изучении мелкоклеточного рака лёгких и рака молочной железы [54, 55, 56]. В обоих случаях источником активности сериновой протеазы были нейтрофилы, рекрутированные в опухолевую ткань и активно взаимодействующие со злокачественными клетками. При этом катепсин G обнаруживался в этих клетках в основном в азурофильных гранулах до процесса дегрануляции [46, 53]. Несмотря на то, что рекрутирование в опухолевые очаги нейтрофилов описано во многих исследованиях [4, 8, 57], их роль в развитии злокачественного образования до сих пор считается неоднозначной. С одной стороны, данные клетки могут обладать противоопухолевой активностью, продуцируя цитокины, хемокины и активные формы кислорода, вызывающие элиминацию раковых клеток. Такие нейтрофилы принято относить к клеткам N1-подобного фенотипа. С другой стороны, клетки, предположительно принадлежащие к типу N2-подобных нейтрофилов, напротив, способствуют прогрессированию опухоли, секретируют протеазы, хемокины, обеспечивающие рекрутирование в опухолевую ткань других клеток, а также различные факторы, влияющие на способность клеток к миграции, инвазии и ангиогенезу [57]. В связи с этим присутствие в опухоли инфильтрованных нейтрофилов, ассоциированных с протеолитической активностью, является фактором, предрасполагающим к формированию злокачественного фенотипа.

Исследование активности катепсина G при немелкоклеточном раке лёгких показало, что уровень активности данной протеазы в ткани зависел от вида рака и степени его злокачественности. Так, наиболее высокая активность наблюдалась в клетках аденокарциномы, ниже активность была в клетках плоскоклеточного рака и наиболее низкий уровень активности данного катепсина был обнаружен в клетках при крупноклеточном раке [55]. Кроме того, активность сериновой протеазы напрямую коррелировала с количеством нейтрофилов, ассоциированных с опухолью, и зависела от степени дифференциации опухоли и клинической стадии заболевания [55].

На культуре аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 была продемонстрирована не связанная напрямую с ремоделированием внеклеточного матрикса роль катепсина G в метастазировании опухоли [54, 56]. Было показано, что данная протеаза индуцирует E-кадгерин-опосредованную агрегацию опухолевых клеток, необходимую для выхода из первичного опухолевого очага и диссеминации в кровеносных сосудах и лимфатических узлах. При этом было выявлено, что агрегация опухолевых клеток, приводящая к формированию сфероида, опосредуется связыванием катепсина G с клеточной поверхностью и требует его ферментативной активности [54, 56]. Кроме того, было продемонстрировано, что данная протеаза участвует в метастазировании костной ткани при раке молочной железы, протеолитически активируя зимоген MMP9 с образованием активной формы фермента. MMP9 в свою очередь обеспечивает активацию TGF- β , который, являясь митогеном, способствует росту опухоли и хемоаттракции опухолевых клеток, индуцирует активацию остеокластов, а, следовательно, и резорбцию костной ткани [58].

Помимо MMP9 катепсин G может участвовать в протеолитической активации зимогенов MMP2 [59] и uPA [60], а также в инактивации эндогенных ингибиторов протеиназ, например, α 2-антиплазмина, α 1-антихимотрипсина и TIMP [59]. Так, протеолитическая активность катепсина, связанная с активацией ферментов, была описана при изучении патогенеза рака мочевого пузыря. В данной работе повышение количества катепсина G в моче пациентов авторы связывали, с одной стороны, с его каталитической активностью в отношении компонентов внеклеточного матрикса (коллагена, ламининов), а с другой – с активацией uPA и MMP2, содержание которых в моче пациентов также было повышено [61].

Таким образом несмотря на то, что роль катепсина G в деградации матрикса давно известна, подобную активность связывают как правило с развитием таких заболеваний, как ревматоидный артрит, заболевания лёгких и сердечно-сосудистой системы [46, 53], тогда как вклад данной сериновой протеазы в онкогенез заключается в основном в протеолитической активации других молекул, опосредующих метаболические изменения в опухолевых тканях и модулирующих их метастатический потенциал [54, 55, 56].

ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ АСПАРАГИНОВЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ

К этому семейству относятся пищеварительные ферменты (пепсин и химозин), ренин, а также лизосомальные катепсины D и E, характеризующиеся наличием двух остатков аспарагиновой кислоты в каталитических центрах. Несмотря на то, что катепсины D и E являются гомологичными, выполняемые ими функции в клетках, по-видимому, значительно различаются как при физиологических, так и при патологических условиях. При этом роль катепсина D в онкогенезе и, в частности, в метастазировании и деградации внеклеточного матрикса активно исследуется [62, 63]. Однако, что касается катепсина E, никаких сведений о секреции этой протеазы, а также о её возможной роли в расщеплении матричных белков не сообщалось [64, 65].

Катепсин D является растворимой аспарагиновой эндопептидазой, функционирование которой в нормальных клетках связано преимущественно с внутрилизосомальной ферментативной активностью [66]. В отличие от других известных лизосомальных катепсинов созревание данной протеиназы является многостадийным процессом, при этом функциональное значение в физиологических и патологических процессах имеет не только конечная активная форма. Известно, что синтез неактивного препрокатепсина D (43 кДа) происходит в гранулярном эндоплазматическом ретикулуме, в котором этот белок расщепляется и гликозилируется с образованием прокатепсина D (52 кДа), содержащего два присоединённых с N-конца олигосахаридов, модифицированных остатками маннозо-6-фосфата. Олигосахаридная метка обеспечивает дальнейшее направление неактивного прокатепсина D в кислые компартменты клетки, такие как поздние эндосомы, лизосомы и фагосомы. При низком pH происходит диссоциация данного белка с M6PR и расщепление пропептида с образованием одноцепочечной промежуточной активной формы фермента (48 кДа). Последующее расщепление приводит к формированию зрелой активной лизосомальной протеазы, состоящей

из тяжёлой (34 кДа) и лёгкой (14 кДа) цепей, связанных нековалентным взаимодействием. Последние два этапа созревания являются зависимыми от значения pH и происходят либо аутокаталитически, либо под действием цистеиновых катепсинов внутри кислых компартментов, а также, предположительно, во внеклеточной среде [63, 66]. Однако при некоторых физиологических и патологических состояниях наблюдается секреция клетками незрелой формы белка, а именно прокатепсина D. Такая форма катепсина была обнаружена в молоке человека, крысы и коровы, в поте и моче здоровых людей, богатых макрофагами областях атеросклеротических поражений, в синовиальной жидкости в норме и при развитии воспалительных заболеваний [66]. Кроме того, при изучении патогенеза различных онкологических заболеваний наиболее часто регистрируемой секретируемой формой протеиназы является именно прокатепсин D, что может быть связано как с нарушением внутривезикулярной сортировки проферментов и насыщением ограниченного числа сайтов связывания M6PR в сочетании со сверхэкспрессией катепсина, так и с изменением pH в клеточных компартментах или регуляцией через различные сигнальные пути [62, 67, 68].

Функции прокатепсина D, выполняемые во внеклеточном пространстве, остаются спорными. Некоторые исследователи предполагают, что неактивная форма фермента может участвовать в паракринном взаимодействии между опухолевыми клетками и клетками стромы, а также стимулировать активную пролиферацию клеток независимо от протеолитической активности, выполняя функцию митогена [69, 70]. В то же время было показано, что прокатепсин D может транспортироваться посредством эндоцитоза как в опухолевые клетки, так и в ассоциированные с опухолью фибробласты с последующим созреванием во внутриклеточных компартментах до активной протеазы [69].

Катепсин D экспрессируется во всех тканях млекопитающих, его активность необходима для нормального внутриутробного развития плода, а её снижение связано с развитием нейродегенеративных нарушений. Хотя оптимальным pH для зрелой формы катепсина D считается кислый (pH 2,8–5,5), есть сведения о протеолитической активности этого фермента при нейтральном pH в цитозоле апоптотических клеток, а также при нейтральном или слабощелочном pH внеклеточного пространства [62, 66, 68].

Повышение уровня мРНК, белка и/или секреции как прокатепсина D, так и зрелой формы во внеклеточную среду было продемонстрировано при различных видах онкологических заболеваний: злокачественной глиоме, плоскоклеточном раке, раке щитовидной железы, меланоме, при раке молочной железы, раке яичников, аденокарциноме эндометрия, остеосаркоме, немелкоклеточном раке лёгких, раке желудка, колоректальном раке, раке предстательной железы и других видах рака [62, 68, 71–76]. При этом исследования с применением различных методологических подходов (иммуногистохимия, гибридизация *in situ*, Вестерн блоттинг) показали, что, например, при раке молочной железы экспрессия катепсина D в опухолевых клетках в 2–50 раз выше, чем в нормальных клетках молочной железы или в фибробластах [67].

Как и в случае цистеиновых катепсинов, количество данной протеиназы, в том числе секретируемой

клетками, непосредственно влияет на метастатический и ангиогенный потенциал опухолевых клеток [71]. Кроме того, было доказано, что секреция прокатепсина D не только усиливает пролиферацию опухолевых клеток, но и снижает их чувствительность к химиотерапевтическим агентам [77].

Однако соотношение неактивной и активной форм и их вклад в злокачественность опухоли существенно различаются в зависимости от вида рака и от поражённого органа. Например, на трёх клеточных линиях рака предстательной железы человека (PC-3, DU-145 и LNCaP) было показано, что зрелая форма катепсина D преобладала в всех трёх линиях, тогда как незрелый прокатепсин обнаруживалась в основном в нормальной ткани. Воздействие на опухолевые клетки антибиотика брэфельдина А, подавляющего их пролиферацию, авторы также связывали с блокированием созревания или активации зрелой формы катепсина D [62]. В то же время известно, что в некоторых клеточных линиях рака молочной железы уровень секретируемого прокатепсина D может достигать 90 % [67].

Ряд исследований продемонстрировал непосредственное влияние катепсина D, секретируемого стромальными клетками, рекрутированными в опухолевую ткань (фибробластами, макрофагами), на размер опухоли, её инвазивность и агрессивность [62, 75–78]. Активная экспрессия данной протеиназы стромальными клетками является прогностическим признаком в отношении выживаемости пациента и риска возникновения рецидива [76]. Кроме того, с плохим прогнозом для пациентов связано повышение уровня экспрессии и активности данного катепсина в метастатических очагах или в лимфатических узлах [62].

Несмотря на то, что связь между повышением уровня экспрессии и секреции катепсина D и злокачественностью опухоли была прослежена для многих видов онкологических заболеваний, механизм, посредством которого данная протеаза модулирует свойства опухоли, и его связь с протеолитической активностью остаются неясными. И хотя было выявлено, что при кислом pH катепсин D деградирует пептиды, состоящие по меньшей мере из пяти L-аминокислот и содержащие в месте расщепления гидрофобные остатки, при этом расщепление идёт преимущественно по –Phe–Phe–, –Leu–Tyr–, –Tyr–Leu– и –Phe–Tyr– связям [63], физиологические субстраты данной протеазы до сих пор неизвестны. Данное обстоятельство существенно осложняет определение вклада катепсина D в деградацию внеклеточного матрикса. Однако в пользу внеклеточной протеолитической активности данного фермента свидетельствуют результаты исследований, в которых было показано, что при метастазировании аденокарциномы толстого кишечника в печень повышение активности катепсинов B и D наблюдалось на границе инвазии стволовых клеток опухоли [74]. В другом исследовании было продемонстрировано, что уровень экспрессии катепсина D значительно выше в клетках из инвазивной области опухоли и в метастазах в печени, чем клетках из основного тела опухоли [79].

Хотя роль секретируемого катепсина D в ремоделировании внеклеточного матрикса остаётся спорной, была доказана его протеолитическая активность в отношении компонентов матрикса внутри клеток. Исследования культур опухолевых клеток молочной железы

(MDA-MB231) показали присутствие в высокоинвазивных клетках так называемых крупных кислых везикул (large acidic vesicles, LAV), содержащих высокие концентрации активного катепсина D [80]. В отличие от лизосом и поздних эндосом LAV характеризуются более крупными размерами (≥ 5 мкм в диаметре) и гораздо более кислым pH (от 1,0 до 1,5), чем у лизосом (pH ~5). Везикулы с подобными свойствами были обнаружены не только в культивируемых клетках, но и в биоптатах рака молочной железы [78], что подтверждает, что данные структуры возникают *in vivo*, а не являются артефактом, вызванным инкубацией клеток на искусственных матрицах. При этом были получены доказательства того, что присутствие и количество этих структур в опухолевых клетках коррелировало с их способностью к инвазии. Так, исходная клеточная популяция содержала 7 % LAV-позитивных клеток, тогда как после миграции через Матригель процент клеток, содержащих LAV (от 1 до 10), увеличился до 28 % [80]. Авторы предложили считать эти везикулы крупными гетерофагосомами, так как они содержали внеклеточный материал, несмотря на то что образование подобных структур считается исключительным признаком клеток, выполняющих специализированные фагоцитарные функции, таких как макрофаги, моноциты и нейтрофилы. Кроме того, pH описанных везикул был значительно ниже, чем pH фагосом и лизосом фагоцитарных клеток [80]. Ещё одной отмеченной особенностью LAV является их высокий деградирующий потенциал: флуоресцентный декстран накапливался в крупных кислых везикулах в течение 20 минут, тогда как для достижения лизосом классическим эндосомальным путём требовалось от 1 до 24 часов в зависимости от клеточной линии [80]. Авторы предположили, что данные структуры, формирующиеся в клетках в процессе инвазии, могут играть ключевую роль в обеспечении клеток питательными веществами на последних этапах метастазирования, при вторжении опухолевых клеток в ткани, удалённые от первичного очага распространения [80].

Как и в случае других катепсинов, данная протеаза может запускать протеолитический каскад, приводящий к деградации внеклеточного матрикса, посредством активации прокатепсина B и/или обеспечивая расщепление ингибиторов цистеиновых протеаз цистатинов [67].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Множество исследований, посвященных изучению патогенеза онкологических заболеваний, подтвердили, что лизосомы являются динамичными компартментами, изменяющимися в зависимости от условий клеточного микроокружения свою локализацию, функциональную направленность и состав. При этом наблюдаемые преобразования сопряжены с метаболическими (переход на гликолитический тип энергетического обмена) и морфологическими (формирование инвадоподий) изменениями, происходящими в клетках в процессе онкогенеза. В то же время лизосомы, являясь источниками цистеиновых, сериновых и аргининовых катепсинов, непосредственно участвующих в деградации белков внеклеточного матрикса или запускающих протеолитические каскады посредством активации других протеаз (MMP, uPA), опосредуют прогрессирование роста и метастазирование раковых клеток. Секретируемые во внеклеточную среду опухолевыми или ассоциированными с опухолью

клетками лизосомальные ферменты, наиболее изученными из которых являются катепсины В, К и D, считаются прогностическими маркерами, количество и активность которых сопряжены со злокачественностью и агрессивностью опухолевого процесса, а также с плохим прогнозом по выживаемости пациентов и возможности возникновения рецидивов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Ballabio A, Bonifacio JS. Lysosomes as dynamic regulators of cell and organismal homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21: 101-118. doi: 10.1038/s41580-019-0185-4
- Lawrence RE, Zoncu R. The lysosome as a cellular centre for signalling, metabolism and quality control. *Nat Cell Biol.* 2019; 21(2): 133-142. doi: 10.1038/s41556-018-0244-7
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell.* 2011; 144(5): 646-674. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013
- Ji K, Mayernik L, Moin K, Sloane BF. Acidosis and proteolysis in the tumor microenvironment. *Cancer Metastasis Rev.* 2019; 38(1-2): 103-112. doi: 10.1007/s10555-019-09796-3
- Pavlova NN, Thompson CB. The emerging hallmarks of cancer metabolism. *Cell Metab.* 2016; 23(1): 27-47. doi: 10.1016/j.cmet.2015.12.006
- Warburg O. The metabolism of carcinoma cells. *Cancer Research.* 1925; 9(1), 148-163. doi: 10.1158/jcr.1925.148
- Pascale RM, Calvisi DF, Simile MM, Feo CF, Feo F. The Warburg effect 97 years after its discovery. *Cancers (Basel).* 2020; 12(10): 2819. doi: 10.3390/cancers12102819
- Boedtker E, Pedersen SF. The acidic tumor microenvironment as a driver of cancer. *Annu Rev Physiol.* 2020; 82: 103-126. doi: 10.1146/annurev-physiol-021119-034627
- Parks SK, Mueller-Klieser W, Pouyssegur J. Lactate and acidity in the cancer microenvironment. *Annu Rev Cancer Biol.* 2020; 4: 141-158. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-030419-033556
- Ko M, Quiñones-Hinojosa A, Rao R. Emerging links between endosomal pH and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2020; 39(2): 519-534. doi: 10.1007/s10555-020-09870-1
- White KA, Grillo-Hill BK, Barber DL. Cancer cell behaviors mediated by dysregulated pH dynamics at a glance. *J Cell Sci.* 2017; 130(4): 663-669. doi: 10.1242/jcs.195297
- Heuser J. Changes in lysosome shape and distribution correlated with changes in cytoplasmic pH. *J Cell Biol.* 1989; 108(3): 855-864. doi: 10.1083/jcb.108.3.855
- Settembre C, Fraldi A, Medina DL, Ballabio A. Signals from the lysosome: a control centre for cellular clearance and energy metabolism. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2013; 14(5): 283-296. doi: 10.1038/nrm3565
- Rozhin J, Sameni M, Ziegler G, Sloane BF. Pericellular pH affects distribution and secretion of cathepsin B in malignant cells. *Cancer Res.* 1994; 54(24): 6517-6525.
- Hazen LG, Bleeker FE, Lauritzen B, Bahns S, Song J, Jonker A, et al. Comparative localization of cathepsin B protein and activity in colorectal cancer. *J Histochem Cytochem.* 2000; 48(10): 1421-1430. doi: 10.1177/002215540004801012
- Dykes SS, Steffan JJ, Cardelli JA. Lysosome trafficking is necessary for EGF-driven invasion and is regulated by p38 MAPK and Na⁺/H⁺ exchangers. *BMC Cancer.* 2017; 17(1): 672. doi: 10.1186/s12885-017-3660-3
- Steffan JJ, Williams BC, Welbourne T, Cardelli JA. HGF-induced invasion by prostate tumor cells requires anterograde lysosome trafficking and activity of Na⁺-H⁺ exchangers. *J Cell Sci.* 2010; 123(Pt 7): 1151-1159. doi: 10.1242/jcs.063644
- Glunde K, Guggino SE, Solaiyappan M, Pathak AP, Ichikawa Y, Bhujwalla ZM. Extracellular acidification alters lysosomal trafficking in human breast cancer cells. *Neoplasia.* 2003; 5(6): 533-545. doi: 10.1016/s1476-5586(03)80037-4
- Damaghi M, Tafreshi NK, Lloyd MC, Sprung R, Estrella V, Wojtkowiak JW, et al. Chronic acidosis in the tumour microenvironment selects for overexpression of LAMP2 in the plasma membrane. *Nat Commun.* 2015; 6: 8752. doi: 10.1038/ncomms9752
- Castro-Gomes T, Corrotte M, Tam C, Andrews NW. Plasma membrane repair is regulated extracellularly by proteases released from lysosomes. *PLoS One.* 2016; 11(3): e0152583. doi: 10.1371/journal.pone.0152583
- Sameni M, Elliott E, Ziegler G, Fortgens PH, Dennison C, Sloane BF. Cathepsin B and D are localized at the surface of human breast cancer cells. *Pathol Oncol Res.* 1995; 1(1): 43-53. doi: 10.1007/BF02893583
- Paterson EK, Courtneidge SA. Invadosomes are coming: new insights into function and disease relevance. *FEBS J.* 2018; 285(1): 8-27. doi: 10.1111/febs.14123
- Brisson L, Reshkin SJ, Goré J, Roger S. pH regulators in invadosomal functioning: Proton delivery for matrix tasting. *Eur J Cell Biol.* 2012; 91(11-12): 847-860. doi: 10.1016/j.ejcb.2012.04.004
- Tu C, Ortega-Cava CF, Chen G, Fernandes ND, Cavallo-Medved D, Sloane BF, et al. Lysosomal cathepsin B participates in the podosome-mediated extracellular matrix degradation and invasion via secreted lysosomes in v-Src fibroblasts. *Cancer Res.* 2008; 68(22): 9147-9156. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5127
- Kryczka J, Papiewska-Pajak I, Kowalska MA, Boncela J. Cathepsin B is upregulated and mediates ECM degradation in colon adenocarcinoma HT29 cells overexpressing snail. *Cells.* 2019; 8(3): 203. doi: 10.3390/cells8030203
- Linder S, Wiesner C, Himmel M. Degrading devices: Invadosomes in proteolytic cell invasion. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011; 27: 185-211. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154216
- Vasiljeva O, Hostetter DR, Moore SJ, Winter MB. The multifaceted roles of tumor-associated proteases and harnessing their activity for prodrug activation. *Biol Chem.* 2019; 400(8): 965-977. doi: 10.1515/hsz-2018-0451
- Kramer L, Turk D, Turk B. The future of cysteine cathepsins in disease management. *Trends Pharmacol Sci.* 2017; 38(10): 873-898. doi: 10.1016/j.tips.2017.06.003
- Vizovišek M, Fonović M, Turk B. Cysteine cathepsins in extracellular matrix remodeling: Extracellular matrix degradation and beyond. *Matrix Biol.* 2019; 75-76: 141-159. doi: 10.1016/j.matbio.2018.01.024
- Vidak E, Javoršek U, Vizovišek M, Turk B. Cysteine cathepsins and their extracellular roles: Shaping the microenvironment. *Cells.* 2019; 8(3): 264. doi: 10.3390/cells8030264
- Yadati T, Houben T, Bitorina A, Shiri-Sverdlov R. The ins and outs of cathepsins: Physiological function and role in disease management. *Cells.* 2020; 9(7): 1679. doi: 10.3390/cells9071679
- Verbovšek U, Van Noorden CJ, Lah TT. Complexity of cancer protease biology: Cathepsin K expression and function in cancer progression. *Semin Cancer Biol.* 2015; 35: 71-84. doi: 10.1016/j.semcancer.2015.08.010
- Lah TT, Cercek M, Blejec A, Kos J, Gorodetsky E, Somers R, et al. Cathepsin B, a prognostic indicator in lymph node-negative breast carcinoma patients: comparison with cathepsin D, cathepsin L, and other clinical indicators. *Clin Cancer Res.* 2000; 6(2): 578-584.
- Gocheva V, Wang HW, Gadea BB, Shree T, Hunter KE, Garfall AL, et al. IL-4 induces cathepsin protease activity in tumor-associated macrophages to promote cancer growth and invasion. *Genes Dev.* 2010; 24(3): 241-255. doi: 10.1101/gad.1874010
- Tripathi R, Fiore LS, Richards DL, Yang Y, Liu J, Wang C, et al. Abl and Arg mediate cysteine cathepsin secretion to facilitate melanoma invasion and metastasis. *Sci Signal.* 2018; 11(518): ea00422. doi: 10.1126/scisignal.aao0422
- Chen S, Dong H, Yang S, Guo H. Cathepsins in digestive cancers. *Oncotarget.* 2017; 8(25): 41690-41700. doi: 10.18632/oncotarget.16677
- da Costa AC, Santa-Cruz F, Mattos LAR, Rêgo Aquino MA, Martins CR, Bandeira Ferraz AA, et al. Cathepsin S as a target in gastric cancer. *Mol Clin Oncol.* 2020; 12(2): 99-103. doi: 10.3892/mco.2019.1958
- Singh N, Saraya A. Roles of cathepsins in pancreatic cancer. *Trop Gastroenterol.* 2016; 37(2): 77-85.

39. Fernández PL, Farré X, Nadal A, Fernández E, Peiró N, Sloane BF, et al. Expression of cathepsins B and S in the progression of prostate carcinoma. *Int J Cancer*. 2001; 95(1): 51-55. doi: 10.1002/1097-0215(20010120)95:1<51::aid-ijc1009>3.0.co;2-j
40. Wang J, Chen L, Li Y, Guan XY. Overexpression of cathepsin Z contributes to tumor metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. *PLoS One*. 2011; 6(9): e24967. doi: 10.1371/journal.pone.0024967
41. Kuester D, Lippert H, Roessner A, Krueger S. The cathepsin family and their role in colorectal cancer. *Pathol Res Pract*. 2008; 204(7): 491-500. doi: 10.1016/j.prp.2008.04.010
42. Hölzen L, Parigiani MA, Reinheckel T. Tumor cell- and microenvironment-specific roles of cysteine cathepsins in mouse models of human cancers. *Biochim Biophys Acta Proteins Proteom*. 2020; 1868(7): 140423. doi: 10.1016/j.bbapap.2020.140423
43. Maacha S, Hong J, von Lersner A, Zijlstra A, Belkhir A. AXL mediates esophageal adenocarcinoma cell invasion through regulation of extracellular acidification and lysosome trafficking. *Neoplasia*. 2018; 20(10): 1008-1022. doi: 10.1016/j.neo.2018.08.005
44. Mijanović O, Branković A, Panin AN, Savchuk S, Timashev P, Ulasov I, et al. Cathepsin B: A sellsword of cancer progression. *Cancer Lett*. 2019; 449: 207-214. doi: 10.1016/j.canlet.2019.02.035
45. Liaudet-Coopman E, Beaujoui M, Derocq D, Garcia M, Glondu-Lassis M, Laurent-Matha V, et al. Cathepsin D: Newly discovered functions of a long-standing aspartic protease in cancer and apoptosis. *Cancer Lett*. 2006; 237(2): 167-179. doi: 10.1016/j.canlet.2005.06.007
46. Korkmaz B, Horwitz MS, Jenne DE, Gauthier F. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases. *Pharmacol Rev*. 2010; 62(4): 726-759. doi: 10.1124/pr.110.002733
47. Kozłowski L, Wojtkiewicz MZ, Ostrowska H. Cathepsin A activity in primary and metastatic human melanocytic tumors. *Arch Dermatol Res*. 2000; 292(2-3): 68-71. doi: 10.1007/s004030050012
48. Hu B, Zhu X, Lu J. Cathepsin A knockdown decreases the proliferation and invasion of A549 lung adenocarcinoma cells. *Mol Med Rep*. 2020; 21(6): 2553-2559. doi: 10.3892/mmr.2020.11068
49. Ni S, Weng W, Xu M, Wang Q, Tan C, Sun H, et al. miR-106b-5p inhibits the invasion and metastasis of colorectal cancer by targeting CTSA. *Onco Targets Ther*. 2018; 11: 3835-3845. doi: 10.2147/OTT.S172887
50. Toss MS, Miligy IM, Haj-Ahmad R, Gorringer KL, AlKawaz A, Mittal K, et al. The prognostic significance of lysosomal protective protein (cathepsin A) in breast ductal carcinoma in situ. *Histopathology*. 2019; 74(7): 1025-1035. doi: 10.1111/his.13835
51. Du Z, Liu X, Wei X, Luo H, Li P, Shi M, et al. Quantitative proteomics identifies a plasma multi-protein model for detection of hepatocellular carcinoma. *Sci Rep*. 2020; 10(1): 15552. doi: 10.1038/s41598-020-72510-9
52. Burster T, Macmillan H, Hou T, Boehm BO, Mellins ED. Cathepsin G: Roles in antigen presentation and beyond. *Mol Immunol*. 2010; 47(4): 658-665. doi: 10.1016/j.molimm.2009.10.003
53. Gao S, Zhu H, Zuo X, Luo H. Cathepsin G and its role in inflammation and autoimmune diseases. *Arch Rheumatol*. 2018; 33(4): 498-504. doi: 10.5606/ArchRheumatol.2018.6595
54. Yui S, Osawa Y, Ichisugi T, Morimoto-Kamata R. Neutrophil cathepsin G, but not elastase, induces aggregation of MCF-7 mammary carcinoma cells by a protease activity-dependent cell-oriented mechanism. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 971409. doi: 10.1155/2014/971409
55. Maksimowicz T, Chyczewska E, Chyczewski L, Nikliński J, Ostrowska H, Szyszko J, et al. Activity and tissue localization of cathepsin G in non-small cell lung cancer. *Rocz Akad Med Białymst*. 1997; 42(Suppl 1): 199-216.
56. Morimoto-Kamata R, Mizoguchi S, Ichisugi T, Yui S. Cathepsin G induces cell aggregation of human breast cancer MCF-7 cells via a 2-step mechanism: Catalytic site-independent binding to the cell surface and enzymatic activity-dependent induction of the cell aggregation. *Mediators Inflamm*. 2012; 2012: 456462. doi: 10.1155/2012/456462
57. Kim J, Bae JS. Tumor-associated macrophages and neutrophils in tumor microenvironment. *Mediators Inflamm*. 2016; 2016: 6058147. doi: 10.1155/2016/6058147
58. Wilson TJ, Nannuru KC, Singh RK. Cathepsin G-mediated activation of pro-matrix metalloproteinase 9 at the tumor-bone interface promotes transforming growth factor-beta signaling and bone destruction. *Mol Cancer Res*. 2009; 7(8): 1224-1233. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0028
59. Shamamian P, Schwartz JD, Pocock BJ, Monea S, Whiting D, Marcus SG, et al. Activation of progelatinase A (MMP-2) by neutrophil elastase, cathepsin G, and proteinase-3: A role for inflammatory cells in tumor invasion and angiogenesis. *J Cell Physiol*. 2001; 189(2): 197-206. doi: 10.1002/jcp.10014
60. Drag B, Petersen LC. Activation of pro-urokinase by cathepsin G in the presence of glucosaminoglycans. *Fibrinolysis*. 1994; 8: 192-199.
61. Bastos P, Magalhães S, Santos LL, Ferreira R, Vitorino R. The role of urinary proteases in bladder cancer. In: Chakraborti S, Dhalla N. *Pathophysiological aspects of proteases*. Singapore: Springer; 2017. doi: 10.1007/978-981-10-6141-7_4
62. Leto G, Tumminello FM, Crescimanno M, Flandina C, Gebbia N. Cathepsin D expression levels in nongynecological solid tumors: Clinical and therapeutic implications. *Clin Exp Metastasis*. 2004; 21(2): 91-106. doi: 10.1023/b:clin.0000024740.44602.b7
63. Masson O, Bach AS, Derocq D, Prébois C, Laurent-Matha V, Pattingre S, et al. Pathophysiological functions of cathepsin D: Targeting its catalytic activity versus its protein binding activity? *Biochimie*. 2010; 92(11): 1635-1643. doi: 10.1016/j.biochi.2010.05.009
64. O'Donoghue AJ, Ivry SL, Chaudhury C, Hostetter DR, Hanahan D, Craik CS. Procathepsin E is highly abundant but minimally active in pancreatic ductal adenocarcinoma tumors. *Biol Chem*. 2016; 397(9): 871-881. doi: 10.1515/hsz-2016-0138
65. Pontious C, Kaul S, Hong M, Hart PA, Krishna SG, Lara LF, et al. Cathepsin E expression and activity: Role in the detection and treatment of pancreatic cancer. *Pancreatology*. 2019; 19(7): 951-956. doi: 10.1016/j.pan.2019.09.009
66. Benes P, Vetvicka V, Fusek M. Cathepsin D – many functions of one aspartic protease. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008; 68(1): 12-28. doi: 10.1016/j.critrevonc.2008.02.008
67. Garcia M, Platel N, Liaudet E, Laurent V, Derocq D, Brouillet JP, et al. Biological and clinical significance of cathepsin D in breast cancer metastasis. *Stem Cells*. 1996; 14(6): 642-650. doi: 10.1002/stem.140642
68. Pranjal ZI, Whatmore JL. Cathepsin D in the tumor microenvironment of breast and ovarian cancers. *Adv Exp Med Biol*. 2020; 1259: 1-16. doi: 10.1007/978-3-030-43093-1_1
69. Laurent-Matha V, Maruani-Herrmann S, Prébois C, Beaujoui M, Glondu M, Noël A, et al. Catalytically inactive human cathepsin D triggers fibroblast invasive growth. *J Cell Biol*. 2005; 168(3): 489-499. doi: 10.1083/jcb.200403078
70. Vetvicka V, Vetvickova J, Fusek M. Role of procathepsin D activation peptide in prostate cancer growth. *Prostate*. 2000; 44(1): 1-7. doi: 10.1002/1097-0045(20000615)44:1<1::aid-pros1>3.0.co;2-4
71. Yang L, Cui M, Zhang L, Song L. FOXM1 facilitates gastric cancer cell migration and invasion by inducing cathepsin D. *Oncotarget*. 2017; 8(40): 68180-68190. doi: 10.18632/oncotarget.19254
72. Kang J, Yu Y, Jeong S, Lee H, Heo HJ, Park JJ, et al. Prognostic role of high cathepsin D expression in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Ther Adv Med Oncol*. 2020; 12: 1758835920927838. doi: 10.1177/1758835920927838
73. Gemoll T, Epping F, Heinrich L, Fritzsche B, Roblick UJ, Szymczak S, et al. Increased cathepsin D protein expression is a biomarker for osteosarcomas, pulmonary metastases and other bone malignancies. *Oncotarget*. 2015; 6(18): 16517-16526. doi: 10.18632/oncotarget.4140
74. Mehrotra S, Wickremesekera SK, Brasch HD, Van Schaijk B, Marsh RW, Tan ST, et al. Expression and localization of cathepsins B, D and G in cancer stem cells in liver metastasis from

colon adenocarcinoma. *Front Surg.* 2018; 5: 40. doi: 10.3389/fsurg.2018.00040

75. Basu S, Cheriyaundath S, Gavert N, Brabletz T, Haase G, Ben-Ze'ev A. Increased expression of cathepsin D is required for L1-mediated colon cancer progression. *Oncotarget.* 2019; 10(50): 5217-5228. doi: 10.18632/oncotarget.27155

76. Pruitt FL, He Y, Franco OE, Jiang M, Cates JM, Hayward SW. Cathepsin D acts as an essential mediator to promote malignancy of benign prostatic epithelium. *Prostate.* 2013; 73(5): 476-488. doi: 10.1002/pros.22589. Epub 2012 Sep 19

77. Osmak M, Niksíc D, Brozović A, Ristov AA, Vrhovec I, Skrk J. Drug resistant tumor cells have increased levels of tumor markers for invasion and metastasis. *Anticancer Res.* 1999; 19(4B): 3193-3197.

78. Roger P, Montcourrier P, Maudelonde T, Brouillet JP, Pages A, Laffargue F, et al. Cathepsin D immunostaining in paraffin-embedded breast cancer cells and macrophages: Correlation with cytosolic assay. *Hum Pathol.* 1994; 25(9): 863-871. doi: 10.1016/0046-8177(94)90004-3

79. Kirana C, Shi H, Laing E, Hood K, Miller R, Bethwaite P, et al. Cathepsin D expression in colorectal cancer: From proteomic discovery through validation using Western blotting, immunohistochemistry, and tissue microarrays. *Int J Proteomics.* 2012; 2012: 245819. doi: 10.1155/2012/245819

80. Montcourrier P, Mangeat PH, Valembois C, Salazar G, Sahuquet A, Duperray C, et al. Characterization of very acidic phagosomes in breast cancer cells and their association with invasion. *J Cell Sci.* 1994; 107(Pt 9): 2381-2391.

Сведения об авторах

Трухан Ирина Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: predel4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Дремина Наталия Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Information about the authors

Irina S. Trukhan – Cand. Sci. (Biol.), Senior Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: PREDEL4@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0270-404X>

Nataliya N. Dremina – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: drema76@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2540-4525>

Irina A. Shurygina – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: irinashurygina@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-3980-050X>

Статья получена: 17.11.2020. Статья принята: 26.11.2020. Статья опубликована: 26.12.2020.

Received: 17.11.2020. Accepted: 26.11.2020. Published: 26.12.2020.