

Взаимодействие аутофагии и эпителиально-мезенхимального перехода в развитии опухолевой прогрессии

О.О. Рябая, А.А. Прокофьева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Оксана Олеговна Рябая oxa2601@yandex.ru

Аутофагия и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) являются основными биологическими процессами, участвующими в опухолевой прогрессии, и тесно взаимосвязаны между собой. С одной стороны, активация аутофагии обеспечивает энергию и основные питательные вещества для ЭМП во время распространения метастазов, что помогает клеткам выживать в неблагоприятных условиях окружающей среды. С другой стороны, аутофагия, выступая в качестве функции, подавляющей опухолевый рост, склонна препятствовать метастазированию путем избирательного подавления основных транскрипционных факторов ЭМП на ранних стадиях. Следовательно, воздействие на ЭМП ингибиторами или активаторами аутофагии может быть стратегией, которая позволит предположить новые мишени для противоопухолевой терапии.

Цель данного обзора — освещение современных знаний о перекрестном взаимодействии процессов аутофагии и ЭМП в развитии опухолевой прогрессии и суммирование данных, поддерживающих параллельное регулирование этих двух процессов через общие пути сигнализации.

Ключевые слова: эпителиально-мезенхимальный переход, аутофагия, метастазирование, опухолевая прогрессия

Для цитирования: Рябая О.О., Прокофьева А.А. Взаимодействие аутофагии и эпителиально-мезенхимального перехода в развитии опухолевой прогрессии. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(2):8–19.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-2-8-19



The interplay of autophagy and epithelial-to-mesenchymal transition in cancer progression

O.O. Ryabaya, A.A. Prokofieva

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Autophagy and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) are the main biological processes involved in tumor progression, and are closely linked. On the one hand, activation of autophagy provides energy and essential nutrients for EMT during the metastases spreading, which is required for tumor cells survival in adverse environmental conditions. On the other hand, autophagy, acting as a tumor suppressor, tends to inhibit metastasis by selectively suppressing the transcription factors of EMT in the early stages. Therefore, inhibition of EMT by inhibitors or inducers of autophagy may be a new strategy for antitumor therapy.

Thus, the aim of this review is to highlight current knowledge about the crosstalk between autophagy and EMT processes in tumor progression and to summarize data supporting the necessity of parallel regulation of two processes through signaling pathways.

Key words: epithelial-to-mesenchymal transition, autophagy, metastasis, tumor progression

For citation: Ryabaya O.O., Prokofieva A.A. The interplay of autophagy and epithelial-to-mesenchymal transition in cancer progression. Uspekh molekul'noy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2020;7(2):8–19. (In Russ.).

Введение

Несмотря на успехи в лечении злокачественных новообразований в последние годы, проблема возникновения резистентности к существующей терапии и дальнейшей опухолевой прогрессии требует изучения биологии опухолевой клетки. Опухолевая прогрессия позволяет опухолевым клеткам преодолевать неблагоприятные условия и физиологические барьеры, сдерживающие рост, за счет приобретения новых функций. Аутофагия и эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) являются основными биологическими

процессами в опухоли [1, 2]. ЭМП представляет собой механизм инвазии и метастазирования опухолей, в результате которого эпителиальные клетки теряют апикально-базальную полярность и межклеточные контакты с последующей реорганизацией цитоскелета с приобретением мезенхимального фенотипа [3, 4]. Ключевым событием в процессе ЭМП является так называемое переключение кадгеринов (cadherin switch) — снижение экспрессии центральной молекулы межклеточных адгезионных контактов E-кадгерина и повышение уровня N-кадгерина, характерного

для мезенхимальных клеток. Кроме этого, опухолевые клетки секретируют повышенное количество матрикс-деградирующих протеаз для разрушения внеклеточного матрикса и облегчения миграции клеток. Клетки с мезенхимальным фенотипом более устойчивы к ингибиторам EGFR и PI3K/AKT [5]. Лекарственная устойчивость к таким препаратам, как гемцитабин, 5-фторурацил, цисплатин и адриамицин, соответствует уровням ZEB1 и TWIST и отрицательно коррелирует с экспрессией E-кадгерина [6]. Гиперэкспрессия TWIST, SNAIL и FOXC2 в клетках рака молочной железы не только обеспечивает активацию программы ЭМП опухолевых клеток, но и повышает регуляцию транскрипции ABC-транспортеров [7].

Аутофагия – эволюционно сложившийся процесс лизосомальной утилизации белков и органелл для поддержания своего гомеостаза и жизнедеятельности при неблагоприятных условиях [8]. Аутофагия служит самозащитным средством, позволяя опухолевым клеткам выживать при нехватке питательных веществ, энергии или гипоксии, предотвращая накопление токсинов внутри клетки [9]. Аутофагия на базальном уровне регулируется определенными набором сигнальных молекул во всех клетках организма и индуцируется различными стимулами. В формировании и утилизации аутофагосом участвуют эволюционно консервативные гены, связанные с аутофагией (autophagy-related genes, ATG) [10]. Данный процесс разделяется на несколько стадий: образование фагофоры, ее элонгация, образование (созревание) аутофагосомы, синтез аутолизосомы и ее деградация [11]. Инициация начинается с активации комплекса ULK1 (также известного как ATG1), включающего ULK1, ULK2, ATG13, FIP200 и ATG101. Данный комплекс активирует комплекс PI3K III класса: VPS15, VPS34/PIK3C3, ATG14, Beclin 1, UVRAG, AMBRA1, все из которых связаны с Beclin 1 [12]. Комплекс ATG5–ATG12 образует конъюгат с ATG16 для элонгации мембраны аутофагосом. Цитозольная форма LC3-I и GABARAP при участии белков ATG7, ATG3 и ATG12–ATG5–ATG16 образуют комплекс с фосфатидилэтаноламином, который встраивается в мембрану фагофоры, вследствие чего получается форма LC3-II белка, непосредственно связанная с мембраной аутофагосомы [11]. LC3-II постоянно присутствует в аутофагосоме и считается самым надежным маркером аутофагии. Белок p62/SQSTM1 связывает убиквитин на поверхности поврежденных компонентов и доставляет их в аутофагосомы путем связывания с белком LC3-II [13].

Аутофагия может как способствовать опухолевому росту, так и подавлять его, что зависит от типа клеток и тканей, а также от стадий опухолевого процесса. Различные исследования подчеркивают ключевую роль аутофагии в модуляции подвижности опухолевых клеток и инвазии, лекарственной устойчивости и иммунологическом надзоре, определяющие метастатический успех злокачественных клеток [14, 15]. Наоборот,

аберрантная аутофагия может приводить к неконтролируемой деградации белков и органелл, которые необходимы для поддержания выживаемости опухолевых клеток, что в конечном итоге приводит к их гибели [16]. Аутофагия способствует разрушению фокальной адгезии, опосредованной взаимодействием белка LC3 с паксиллином – ключевым компонентом фокальной адгезии – за счет фосфорилирования паксиллина онкогенным SRC, что в конечном итоге приводит к опухолевой миграции и метастазированию [17]. Более того, рецептор NBR1 также участвует в нарушении фокальной адгезии в клетках, что свидетельствует о том, что селективная аутофагия позволяет специфически отключать белки адгезии во время миграции [18]. Аутофагия необходима для мобильности опухолевых клеток, поскольку ее ингибирование блокирует их миграцию и инвазию *in vitro* и уменьшает количество метастазов *in vivo* [17].

Сигнальные пути, связанные с ЭМП, оказывают влияние на аутофагию. В свою очередь, активация аутофагии может подавлять или способствовать ЭМП, регулируя различные сигнальные пути [15, 19]. Так, M. Gugnoni и соавт. показали, что, с одной стороны, клетки, подвергающиеся программе ЭМП, нуждаются в активации аутофагии для выживания во время метастатического распространения [15]. Было продемонстрировано, что ЭМП-подобный фенотип соответствует более высокому уровню аутофагии, а сочетание ингибитора аутофагии хлорокина с противоопухолевыми препаратами приводит к подавлению ЭМП при раке почки [20]. С другой стороны, аутофагия выступает в роли онкосупрессора и предотвращает раннее метастазирование, тем самым ограничивая приобретение ЭМП-фенотипа опухолевыми клетками [15]. Было показано, что индукция аутофагии путем голодания или добавления рапамицина (ингибитора mTOR) приводит к уменьшению миграции и инвазии клеток глиобластомы. Ингибирование аутофагии за счет подавления экспрессии генов *ATG5*, *ATG7* или *Beclin 1* приводит к увеличению подвижности и инвазивности клеток, ассоциированной с активацией SNAIL и SLUG, основными транскрипционными факторами процесса ЭМП [21]. I. Akalau и соавт. показали, что приобретение ЭМП-фенотипа в клетках рака молочной железы MCF7 связано с ослаблением иммунного ответа и повышенной аутофагией. Инактивация Beclin 1 и соответствующее ингибирование аутофагии восстанавливают чувствительность к цитотоксическим Т-лимфоцитам, предполагая, что аутофагия играет определенную роль в преодолении иммунного ответа опухолевыми клетками в процессе ЭМП [22]. Несмотря на то что инактивация аутофагии не приводила к снижению миграционной способности клеток гепатоцеллюлярного рака и рака легкого, она снижала их резистентность к терапии и способность к колониеобразованию [23]. Другими авторами показано, что селективная инактивация специфических белков ЭМП

является основным молекулярным механизмом, благодаря которому аутофагия контролирует процесс ЭМП. Транскрипционные факторы TWIST1, SNAIL и SLUG – активаторы процесса ЭМП [24]. Ингибирование аутофагии при плоскоклеточной карциноме и меланоме приводит к активации TWIST1 и, соответственно, ЭМП *in vitro* и *in vivo*. Стабилизация TWIST1 в опухолевых клетках в этом случае опосредуется накоплением убиквитинилирующего белка SQSTM1/p62, который является мишенью аутофагии. SQSTM1/p62 связывается к TWIST1 и предотвращает его деградацию в протеасомах или аутофагосомах [25]. Ингибирование аутофагии посредством антималярийного препарата хлорокина приводит к усилению цитотоксичности цисплатина при назофарингеальной карциноме и темсиролимуса при светлоклеточном раке почки, а также предотвращает ЭМП [20, 26]. Недавно была исследована прогностическая значимость маркеров аутофагии и ЭМП LC3B, E-кадгерина и виментина в предсказании общей выживаемости у пациентов с карциномой

желудка, гастроинтестинальными опухолями и раком почки [27].

Цель обзора – освещение последних данных о взаимодействии двух процессов ЭМП и аутофагии в опухоли и их совместной роли в опухолевой прогрессии.

Механизмы взаимодействия аутофагии и эпителиально-мезенхимального перехода

Среди множества механизмов выделяют ряд наиболее важных сигнальных каскадов, вовлеченных в активацию как аутофагии, так и процесса ЭМП: сигнальные пути PI3K/AKT/mTOR и JAK/STAT. В процессе ЭМП есть несколько сигнальных молекул, в том числе Beclin 1, WNT, NF-κB, TGF-β, и транскрипционные факторы MiT/TFE, ZEB, TWIST, SNAIL, которые играют решающую роль и в аутофагии (рис. 1). Кроме этого, последние наблюдения демонстрируют, что функциональное взаимодействие между цитоскелетом и митохондриями также является важнейшим регуляторным механизмом в процессах аутофагии и ЭМП.

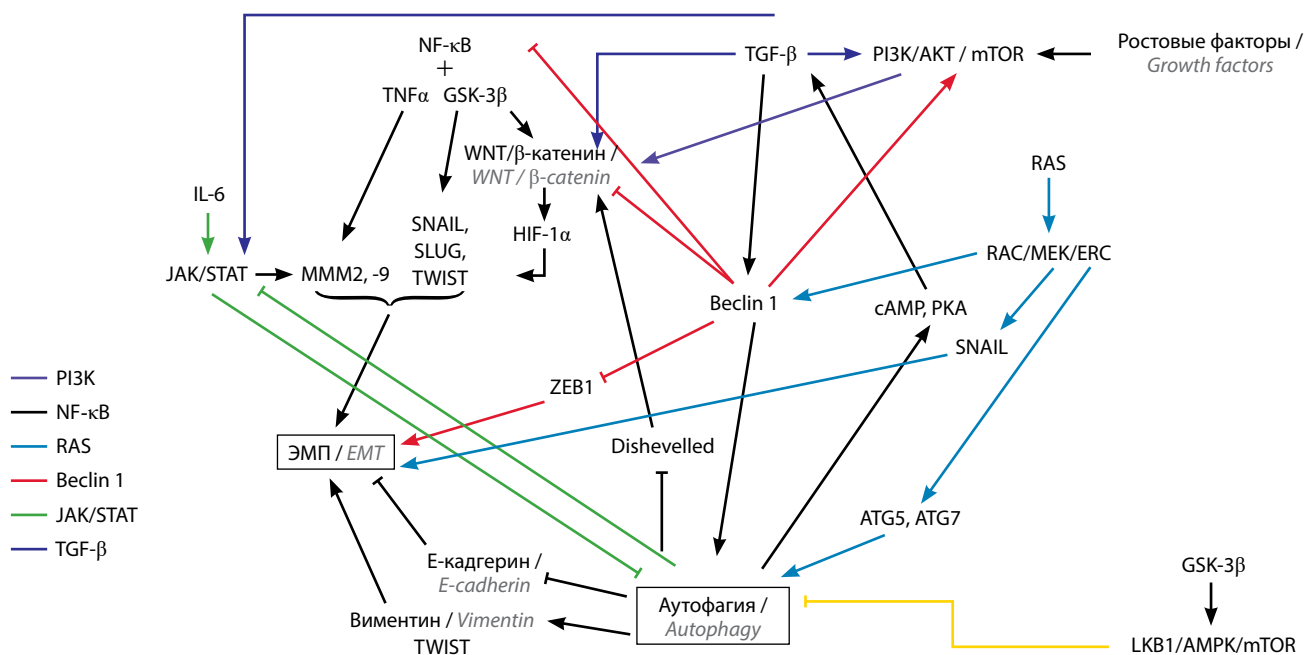


Рис. 1. Взаимодействие основных белков аутофагии и эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП) в развитии опухолевой прогрессии. Активация PI3K индуцируется взаимодействием с рецепторами фактора роста, прямым связыванием с RAS, активацией NF-κB и TGF-β. Активация сигнального пути PI3K/AKT/mTOR блокирует аутофагию. Путь PI3K/AKT положительно регулирует WNT/β-катенин за счет фосфорилирования β-катенина и GSK-3β, увеличивая уровни внутриклеточного β-катенина и снижая уровни E-кадгерина. Активация PI3K/AKT усиливает ядерные факторы SNAIL и SLUG, способствуя активации ЭМП. GSK-3β напрямую индуцирует аутофагию, активируя LKB1/AMPK и подавляя путь PI3K/AKT/mTOR. LKB1/AMPK препятствует ЭМП, ингибируя активность SMAD2/3 и TGF-β. Мутация белка RAS приводит к активации аутофагии и усилению ЭМП. Активация белка JAK/STAT стимулируется IL-6, что приводит к усилению экспрессии MMP-2 и SNAIL, активации ЭМП и подавлению аутофагии. Индукция аутофагии препятствует ЭМП посредством подавления передачи сигналов JAK/STAT (адаптировано из [14, 28] с разрешения авторов)

Fig. 1. Crosslink between autophagy and epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) in tumor progression. PI3K activation is induced by interaction with a growth factor receptor, direct binding to RAS, activation of NF-κB and TGF-β. Activation of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway blocks autophagy. The PI3K/AKT pathway positively regulates WNT/β-catenin through phosphorylating β-catenin and GSK-3β, which increases intracellular β-catenin and decreases E-cadherin. The PI3K/AKT pathway activity up-regulates nuclear factors SNAIL and SLUG, contributing to EMT activation. GSK-3β directly induces autophagy by activating LKB1/AMPK and prohibiting the PI3K/AKT/mTOR pathway by inhibiting SMAD2/3 and TGF-β activity. RAS protein mutation results in autophagy activation and EMT enhancement. JAK/STAT signaling pathway regulated autophagy and EMT. Activation of JAK/STAT protein is stimulated by IL-6, leading to the up-regulation of the expression of MMP-2 and SNAIL, activation of EMT and autophagy inhibition. Autophagy induction hinders EMT through suppressing JAK/STAT signaling (adapted from [14, 28] with permission of the authors)

Сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR

Сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR представляет собой серин-треониновые киназы, контролирующие ряд важных клеточных функций. Изменения в активности белка mTOR оказывают существенное влияние на трансляцию, транскрипцию и разрушение белка, перестройку цитоскелета, клеточный метаболизм и аутофагию [29]. Сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR играет важную роль в ЭМП. Подавление сигнального пути PI3K/AKT/mTOR может разрушать β -катенин и ингибировать ЭМП за счет увеличения E-кадгерина и снижения N-кадгерина и миграции опухолевых клеток [30]. Активация PI3K/AKT приводит к повышенной экспрессии мезенхимальных белков, репрессии E-кадгерина и усиленной миграции клеток меланомы [31]. Активация PI3K/AKT/mTOR связана с ЭМП-стимулирующим эффектом TGF- β [24]. Каталитическая субъединица mTOR входит в состав комплексов mTORC1 и mTORC2, каждый из которых может быть активирован передачей сигналов TGF- β . TGF- β способствует увеличению размера клеток, что необходимо для поддержания миграции клеток и инвазии [32]. Этот эффект опосредуется mTORC1, который фосфорилирует и активирует киназу S6K1 и 4E-связывающий белок 1 (4E-BP1), оба из которых являются прямыми регуляторами инициации трансляции [33]. TGF- β также индуцирует активность киназы mTORC2, которая требуется во время фазы завершения ЭМП. Потеря активности mTORC2 нарушает диссеминацию раковых клеток и образование метастазов у мышей [32]. Кроме этого, mTORC2 способствует клеточной инвазии посредством SNAIL-зависимой активации матриксной металлопротеиназы (MMP) 9 [34]. Было обнаружено, что активация сигнального пути PI3K/AKT/mTOR может приводить к изменениям ЭМП при плоскоклеточном раке языка [35]. PI3K/AKT положительно регулирует WNT/ β -катенин путем фосфорилирования β -катенина [36]. Кроме этого, сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR индуцируется факторами роста, способствующими развитию метастазирования клеток и ЭМП за счет активации NF- κ B, SNAIL и SLUG и стимулирования (MMP) для разрушения клеточного матрикса. ЭМП может возникать при длительной активации NF- κ B даже при отсутствии TGF- β [37].

Активация пути PI3K/AKT/mTOR регулирует аутофагию. Комплекс mTORC1 приводит к фосфорилированию и последующей инактивации серин-треониновой киназы ULK1, которая регулирует образование аутофагосом и, соответственно, всего процесса аутофагии [38]. Одновременно активируя ЭМП через SMAD-зависимые и SMAD-независимые пути, TGF- β может сдерживать аутофагию. Инактивация mTOR индуцирует аутофагию, которая, в свою очередь, приводит к снижению миграционной способности и инвазии клеток глиобластомы, тогда как отключение аутофагии за счет микроРНК к ATG5, ATG7 приводит к увеличению клеточной подвижности и инвазии [21].

Активация аутофагии путем ингибирования mTOR ослабляет миграцию и инвазию клеток рака желчного пузыря [39]. Так, метформин может подавлять пролиферацию, миграцию и ЭМП путем ингибирования передачи сигналов mTOR и стимуляции аутофагии в клеточных линиях рака щитовидной железы [40].

АМПК является ключевым регулятором метаболизма на клеточном и организменном уровнях, представляя энергетический сенсор клетки. АМПК играет ключевую роль в поддержании клеточных функций в условиях ограниченной энергии. Активированный АМПК передает сигнал на mTOR – центральный контролер роста и пролиферация клеток – и тем самым ингибирует синтез глюкозы, липидов, белков и рост клеток [41]. Активация LKB1/АМПК играет ключевую роль в стимулировании аутофагии за счет снижения фосфорилирования mTOR и нижестоящей p70s6k, что ограничивает активность PI3K/AKT/mTOR [42]. GSK-3 β является многофункциональной протеинкиназой, которая активирует LKB1/АМПК и, в свою очередь, инактивирует PI3K/AKT/mTOR [43]. Она также косвенно активирует аутофагию через гидролиз β -катенина с последующей активацией LKB1/АМПК и ингибированием mTOR. Нокдаун β -катенина способен усиливать апоптоз и аутофагию через активацию пути LKB1/АМПК и подавление сигналинга PI3K/AKT/mTOR при плоскоклеточном раке головы и шеи [44].

Таким образом, малотоксичные препараты, которые нацелены на ЭМП-связанный путь PI3K/AKT/mTOR, являются актуальной мишенью терапии [39]. В настоящее время исследуется ряд препаратов, направленных на PI3K/AKT/mTOR-путь: куркумин, BEZ235 [45, 46]. BEZ235 значительно повышал радиочувствительность, подавляя сигнальный путь PI3K/AKT/mTOR [46].

Сигнальный путь JAK/STAT

Сигнальный путь JAK/STAT оказывает значительное влияние на основные клеточные механизмы, такие как пролиферация, инвазия, выживание, воспаление и иммунитет, через индукцию программы ЭМП и ингибирование аутофагии. Транскрипционный фактор TWIST1 является ключевым регулятором активации ЭМП. Ингибирование STAT3 уменьшает инвазию и предотвращает образование метастазов опухолей. Было показано, что JAK/STAT может передавать внеклеточные сигналы к ядру путем активации тирозинкиназных рецепторов и транскрипции активирующих таргетных генов, что приводит к запуску ЭМП за счет активации интерлейкина 6 (IL-6), регуляции MMP-2 и увеличения экспрессии SNAIL [47]. Кроме этого, ингибиторы JAK/STAT-пути WP1066 и овододиолит предотвращали IL-6-опосредованную активацию данного пути, что приводило к подавлению развития рака носоглотки путем стимулирования апоптоза и ингибирования транскрипционных факторов ЭМП

TWIST и SNAIL [48]. С другой стороны, IL-6-опосредованный сигнальный путь JAK/STAT ускоряет процесс канцерогенеза за счет подавления аутофагии [49]. Результаты недавних исследований показали, что ресвератрол может индуцировать аутофагию и предотвращать миграцию клеток рака яичников путем ингибирования IL-6-зависимого JAK/STAT-сигналинга. Кроме этого, кверцетин вызывает аутофагию путем ингибирования пути STAT3 при лимфоме [50, 51]. Таким образом, активаторы аутофагии могут быть использованы для предотвращения ЭМП путем подавления JAK/STAT-сигналинга.

Сигнальный путь Beclin 1

Beclin 1 является гомологом гена дрожжей *ATG6/VPS30*, который связывается с *VPS34* (каталитическая субъединица PI3K III класса), образуя комплекс для индукции аутофагии. С одной стороны, Beclin 1 подавляет ЭМП посредством инактивации ZEB1, WNT1 и NF-κB. С другой стороны, Beclin 1-индуцированная аутофагия запускает программу ЭМП, повышая экспрессию виментина и TWIST и снижая экспрессию E-катгерина [14]. Beclin 1 использовался в качестве независимого биомаркера для прогнозирования общей выживаемости и выживаемости без прогрессирования у пациентов с раком желудка и печени [52]. Низкая экспрессия Beclin 1 в образцах аденокарциномы желудка коррелировала с более агрессивным фенотипом опухоли и снижением показателей общей и безрецидивной выживаемости [53]. Тем не менее гиперэкспрессия Beclin 1 может вызвать гибель клеток [54].

Результаты недавних исследований показали, что нокдаун Beclin 1 приводит к тому, что опухолевые клетки щитовидной железы теряют свои эпителиальные свойства и приобретают мезенхимальные за счет стабилизации мРНК ZEB1. Таким образом, существует отрицательная корреляция между Beclin 1 и ZEB1 при раке щитовидной железы [55].

Результаты дальнейших исследований показали, что нокаут или низкая экспрессия гена *Beclin 1* может способствовать ЭМП и канцерогенезу путем активации WNT-сигнального пути, что ассоциировано с плохим прогнозом течения заболевания [56]. Нокдаун Beclin 1 посредством микроРНК значительно ингибировал активацию рапамицининдуцированной аутофагии, подавляя ЭМП и инвазивность клеток рака толстой кишки за счет снижения экспрессии виментина и TWIST и увеличения экспрессии E-катгерина [57]. В другой работе показано, что индукция аутофагии, вызванная ингибированием пути mTOR, приводит к уменьшению миграции и инвазии клеток глиобластомы, в то время как подавление аутофагии за счет микроРНК ATG5, ATG7 или Beclin 1 способствовало увеличению подвижности и инвазивности клеток. Активация аутофагии приводит к снижению регуляции SNAIL и SLUG, двух основных факторов процесса ЭМП [21].

Таким образом, регуляция Beclin 1-индуцированной аутофагии может рассматриваться как перспективная противоопухолевая стратегия.

Сигнальный путь WNT

Существуют классический (канонический) и неклассический (неканонический) пути WNT, которые участвуют в процессе ЭМП. Аутофагия может подавлять ЭМП путем деградации белка TWIST1 и ингибирования WNT. В классическом пути WNT/β-катенин активирует HIF-1α-индуцированный ЭМП за счет связывания с внутриклеточным доменом E-катгерин. При этом гипоксия или гиперэкспрессия HIF-1α стимулирует ЭМП и способствует приобретению метастатического фенотипа клеток. HIF-1α усиливает экспрессию TWIST, SLUG и SNAIL и, следовательно, активацию программы ЭМП [58]. Сниженная активность аутофагии в клетках приводит к стабилизации TWIST1 за счет накопления p62/SQSTM1: деградация TWIST1 блокируется за счет взаимодействия между p62/SQSTM1 и TWIST1 в аутофагосомах и протеасомах. TWIST является ключевым регулятором p62/SQSTM1, таким образом, предполагается, что p62-опосредованная стабилизация TWIST1 может быть стратегией профилактики и лечения рака [59]. В клеточных линиях рака толстой кишки гиперэкспрессия SNAIL увеличивает экспрессию генов-мишеней сигнального пути WNT за счет взаимодействия между SNAIL-N и β-катенином, что активирует экспрессию нижестоящих мишеней WNT-пути, приводя к положительной обратной связи WNT-сигналинга [14].

Dishevelled (Dvl) – основной компонент передачи сигналов от WNT как в β-катениноопосредованном каноническом, так и в β-катениннезависимом неканоническом пути [60]. Экспрессия Dvl отрицательно регулируется аутофагией на поздних стадиях развития опухоли, что, в свою очередь, тормозит WNT. Опухолевый супрессор GABARAP1 через p62/SQSTM1 способен разрушать Dvl2. GABARAP1-опосредованное подавление Dvl2 блокируется при введении 3-метиладенина, специфического ингибитора аутофагии [61]. Кроме этого, GABARAP представляет собой цитоплазматический кадгерин 6 (CDH6), который участвует в ЭМП. Результаты исследований показали, что подавление CDH6 предотвращает ЭМП и уменьшает метастазирование клеток рака щитовидной железы, что сопровождается индукцией аутофагии [62].

Таким образом, изучение взаимодействия между Dvl, ингибированием WNT-сигналинга и индукцией аутофагии может способствовать открытию новых мишеней для лечения рака [14].

Сигнальный путь NF-κB

NF-κB является еще одним важным регулятором ЭМП за счет активации транскрипционных факторов SNAIL1, SLUG, TWIST1. Его активация связана с агрессивностью и метастатическим потенциалом

опухоли [63]. Он ингибирует аутофагию за счет подавления Beclin 1 и активирует ряд маркеров ЭМП. Однако аутофагия может подавлять сигналинг NF-κB путем регуляции экспрессии MMP. Сам NF-κB может либо стимулировать, либо препятствовать аутофагии. С одной стороны, NF-κB подавляет Beclin 1-зависимую аутофагию [64]. При этом подавление NF-κB значительно снижает пролиферацию клеток гепатокарциномы, что связано с усилением аутофагии [65]. С другой стороны, активные формы кислорода (АФК) оказывают влияние на клеточную трансформацию, метастазирование и ответ на терапию при различных стадиях развития опухоли, что стимулируется NF-κB-зависимой аутофагией [66]. Тем не менее активация аутофагии может подавлять передачу сигналов АФК-NF-κB, необходимую для активации MMP-2 и MMP-9, способствуя ингибированию ЭМП [67]. Таким образом, активаторы аутофагии могут быть использованы для нарушения сигналинга NF-κB, следовательно, подавления ЭМП и опухолевой прогрессии.

Сигнальный путь TGF-β

TGF-β представляет собой многофункциональный цитокин, участвующий в регуляции множества клеточных функций [24]. TGF-β главным образом выступает онкосупрессором, подавляя рост клеток и индуцируя апоптоз. Однако TGF-β, секретируемый как опухолевыми клетками, так и стромальным микроокружением, является одним из наиболее важных индукторов ЭМП за счет взаимодействия со SMAD и активации экспрессии транскрипционных факторов SNAIL, SLUG и TWIST1, которые, в свою очередь, управляют «переключением кадгеринов» [24, 68]. Помимо активации SMAD, сигналинг TGF-β передается внутри клеток посредством активации других неканонических сигнальных путей, включая p38/JNK, PI3K/AKT/mTOR и MAPK. TGF-β запускает аутофагию, стимулируя экспрессию мРНК ATG-генов. При этом аутофагия усиливает экспрессию TGF-β за счет активации циклического аденозинмонофосфата (сAMP) и протеинкиназы А (PKA), что ведет к запуску ЭМП. После активации TGF-β транскрипционный фактор STAT3 взаимодействует с Ras, индуцируя экспрессию SNAIL и способствуя программе ЭМП [69].

TGF-β оказывает двойное действие на развитие и прогрессию опухоли, что зависит от типа клеток и микроокружения [70]. С одной стороны, TGF-β стимулирует инвазию клеток карциномы путем индукции аутофагии, при этом ингибирование аутофагии 3-метиладенином может эффективно обращать этот процесс [71]. С другой стороны, TGF-β стимулирует экспрессию Beclin 1, ATG5, ATG7, приводя к накоплению аутофагосом и, соответственно, активируя процесс аутофагии, что потенцирует индукцию проапоптотического белка Bim из семейства Bcl-2 и способствует Bim-опосредованному апоптозу [72]. Стоит отметить, что аутофагия

активирует TGF-β-зависимый ЭМП в клетках гепатоцеллюлярного рака за счет запуска передачи сигналов сAMP/PKA/CREB, которая основана на деградации фосфодиестеразы 4A (PDE4A) [73].

TGF-β индуцирует ЭМП через активацию CDH6 в нормальных и опухолевых клетках. Подавление CDH6 восстанавливает ЭМП фенотип и сдерживает миграцию и инвазию клеток рака щитовидной железы [74], а также вызывает GABARAP-опосредованную активацию аутофагии [15]. Активация аутофагии наблюдается при подавлении CDH6 и связана в том числе с репрессией фосфорилирования AKT.

Таким образом, можно предположить, что TGF-β способен как активировать, так и подавлять аутофагию, и выбор может зависеть от типа клеток и стадии опухолевой прогрессии. На ранних этапах образования опухоли TGF-β способствует аутофагии как часть TGFβ-онкосупрессивной программы. Позднее, при прогрессии опухоли, TGF-β сдерживает аутофагию, вызывая ЭМП и метастатическое распространение опухолевых клеток.

Микрофталмия-ассоциированный транскрипционный фактор

Биогенез лизосом и аутофагосом регулируется семейством транскрипционных факторов MiT/TFE, к которому относятся TFE3, TFEB и микрофталмия-ассоциированный транскрипционный фактор (MITF). Активность белков семейства MiT/TFE регулируется посредством mTORC1-фосфорилирования. При неблагоприятных условиях происходит инактивация mTORC1 и, следовательно, дефосфорилирование TFE3, TFEB и MITF, после чего белки перемещаются из цитоплазмы в ядро, где они стимулируют экспрессию сотен генов, что приводит к лизосомальному биогенезу и индукции аутофагии (рис. 2) [75]. Наибольшая экспрессия факторов MiT/TFE отмечается при меланоме, раке почки и раке поджелудочной железы [28]. Повышенная экспрессия факторов MiT/TFE коррелировала с увеличением размера аутофагосом и лизосом при раке поджелудочной железы. Кроме этого, нокдаун TFE3, TFEB или MITF вызывает подавление аутофагии и лизосомассоциированных генов-мишеней при раке поджелудочной железы [28].

MITF является ключевым регулятором дифференциации меланоцитов из нервного гребня. Экспрессия MITF коррелирует с экспрессией меланосомных генов как в образцах опухоли, так и в клеточных линиях меланомы человека. Экспрессия MITF, TFEB и TFE3 также коррелирует с экспрессией лизосомальных и аутофагосомальных генов в образцах меланомы. Тем не менее экспрессия TFE3 и TFEB отрицательно коррелирует с экспрессией MITF в меланоме. Так, TFEB и TFE3 регулируют экспрессию лизосомальных и аутофагосомальных генов в ответ на неблагоприятные факторы, включая голодание, а MITF участвует в регулировании этого ответа в меланоцитах и клетках

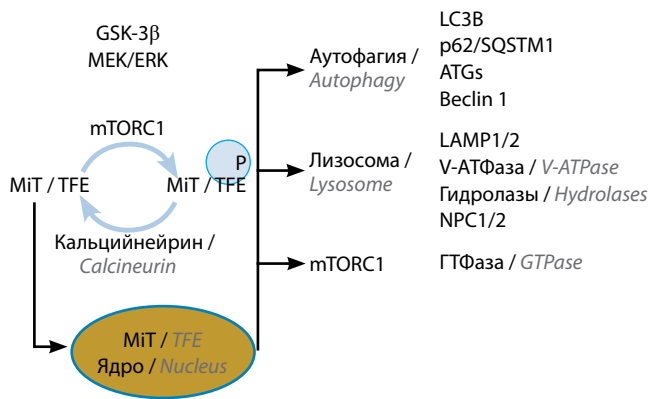


Рис. 2. Регуляция транскрипционных факторов MiT/TFE. Белки MiT/TFE негативно регулируются посредством фосфорилирования консервативных сериновых остатков за счет mTORC1, а также GSK-3β и ERK. Дефосфорилирование с помощью кальцийнейрина обеспечивает ядерную транслокацию белков MiT/TFE и последующее связывание с генами-мишенями. Сигнальные пути и клеточные процессы, регулируемые факторами MiT/TFE, включают аутофагию, лизосомальный биогенез и передачу сигналов mTORC1 через активацию ГТФаза RagD (адаптировано из [14, 28] с разрешения авторов)

Fig. 2. Regulation of MiT/TFE transcription factors. MiT/TFE proteins are negatively regulated through phosphorylation of conserved serine residues by mTORC1 as well as GSK-3β and ERK. Dephosphorylation by calcineurin enables the nuclear translocation of MiT/TFE proteins and consequent binding to their target genes. Signal pathways and cellular processes regulated by MiT/TFE factors include autophagy, lysosomal biogenesis, and mTORC1 signaling through upregulation of RagD GTPase (adapted from [14, 28] with permission of the authors)

меланомы. Нокдаун MITF приводит к снижению клеточной старости, по-видимому, за счет меньшего образования аутофагосом. При этом экспрессия лизосомальных и аутофагосомальных генов снижалась при нокдауне MITF [76]. Факторы MiT/TFE способствуют расщеплению молекул, доставляемых в лизосомы в результате аутофагии или макропиноцитоза, которые далее могут служить источником питательных веществ для опухолевых клеток. Профилирование метаболитов при отсутствии TFE3 выявило заметное снижение уровня аминокислот и продуктов их распада. Клетки аденокарциномы поджелудочной железы, гиперэкспрессирующие TFE3 или MITF, были способны поддерживать активность mTORC1 и имели повышенный клоногенный рост по сравнению с контролем при культивировании в среде с низким содержанием аминокислот. Таким образом, повышенная активность аутофагии и лизосом позволяет клеткам рака поджелудочной железы преодолевать нехватку аминокислот [28].

Роль MITF в программе ЭМП является сложной. При раке почки отмечается нарушение WNT-сигналинга, однако роль этого изменения в прогрессировании заболевания остается неясной [77]. Транскриптомный анализ образцов опухолей почки, полученных от *Tfeb*-трансгенных мышей, выявил значительную индукцию компонентов сигнального пути WNT и таргетных генов-мишеней (*Ccnd1* и *cMyc*). Кроме этого, наблюдалось повышение уровня белка β-катенина и инактивация GSK-3β в ряде опухолей. Применение

ингибиторов сигнального пути WNT значительно снизило рост опухоли. Таким образом, инактивация передачи сигналов WNT может быть терапевтическим подходом при TFE3-зависимом раке почки [78]. MITF является онкосупрессором, вызывая арест клеточного цикла в нормальных меланоцитах и способствуя апоптозу [79]. С другой стороны, высокий уровень MITF снижает инвазию, но при этом вызывает пролиферацию опухолевых клеток [28]. TWIST и ZEB в меланоцитах активируют MITF для индукции путей дифференцировки клеток [80]. Транскрипционная активность антиапоптотического семейства Bcl-2 связана с высокими уровнями MITF [80, 81]. Другие данные свидетельствуют о том, что клетки с низкой экспрессией MITF обладают большим потенциалом для инвазии и уменьшение экспрессии MITF *in vitro* способствует большей инвазии меланомы [82]. Недавно было показано, что MITF подавляет инвазию путем уменьшения внутриклеточных пулов гуанозинтрифосфата (ГТФ) путем индукции гуанозинмонофосфата (ГМФ) редуктазы [83]. Эти данные привели к общему мнению, что MITF обладает дозозависимым эффектом на рост меланомы: высокие уровни экспрессии связаны с выживанием и пролиферацией, а низкая экспрессия – с инвазией [80]. Таким образом, роль транскрипционных факторов семейства MiT/TFE в программе ЭМП требует дальнейшего изучения.

Сигнальный путь RAS/RAF/MEK/ERK (MAPK)

Белок RAS представляет собой ГТФазу, которая регулирует последующую активацию сигнальных путей, включая MAPK и PI3K, и вовлечена в прогрессирование меланомы [84]. Нижестоящий белок BRAF представлен мутантной формой в 50–70 % случаев меланомы и в 5–15 % случаев колоректального рака и рака щитовидной железы. BRAF-активация может индуцировать подвижность клеток меланомы; его активация связана с увеличением экспрессии TWIST и ZEB, что приводит к большей инвазии меланомных клеток [85]. Кроме этого, мутация BRAF потенцирует путь NF-κB, который, в свою очередь, стимулирует экспрессию MMP, увеличивая миграционную способность и индуцируя экспрессию SNAIL, известного драйвера метастазирования [86]. Митогенактивированная протеинкиназа киназа (MEK) является нисходящим эффектором BRAF и потенциальной мишенью для терапии меланомы [87]. Однако недавние данные свидетельствуют о том, что ингибирование MEK может фактически увеличить инвазивный потенциал в меланоме [88].

В BRAF-мутированных опухолях аутофагия активируется как защитный механизм в ответ на клеточные стрессы [89]. Результаты исследований показали, что ингибирование MAPK-сигнального каскада стимулировало аутофагию через активацию ключевого регулятора метаболизма AMPK [90, 91]. При низком содержании глюкозы в среде AMPK фосфорилирует ULK1,

приводя к образованию аутофагосом и инициации аутофагии. Наоборот, в условиях высокой доступности питательных веществ mTOR фосфорилирует ULK1, предотвращая его взаимодействие с AMPK [91]. В доклинических исследованиях ингибитор MEK1/2 киназы траметиниб в сочетании с ингибитором аутофагии хлорокином продемонстрировал синергизм действия на моделях рака поджелудочной железы, колоректального рака и меланомы с мутациями RAS и BRAF [90]. Аутофагия служит адаптивным механизмом выживания и миграции BRAF-мутированных опухолевых клеток [89].

Взаимодействие цитоскелета и митохондрий

Перестройка цитоскелета имеет решающее значение в движении клеток и поддержании процесса ЭМП. Цитоскелет состоит из актиновых филаментов, микротрубочек и промежуточных филаментов, которые связаны со свойствами митохондриальной сети и различными функциями митохондрий [14].

Изменения в профиле молекул адгезии во время ЭМП определяют активацию полимеризации актина и образование неполяризованных волокон [92]. Эти структуры цитоскелета необходимы для поддержания движения клеток и выдерживания механического напряжения при потере межклеточных взаимодействий и взаимодействий клеток с внеклеточным матриксом (рис. 3) [93]. Перестройка цитоскелета является не просто следствием активации процесса ЭМП, а играет регулируемую роль в данном процессе. Демполимеризация актинового цитоскелета уменьшает размер клетки, меняет ее форму и меняет фенотип ЭМП в опухолевых клетках [94, 95]. Кроме этого, демполимеризация актиновых филаментов индуцирует транслокацию SNAIL из ядра в цитоплазму, что приводит к повышению экспрессии E-кадгерина и торможению ЭМП [94].

Митохондрии – многофункциональные органеллы, которые опосредуют преобразование энергии и являются важными регуляторами сигнальных путей, связанных с прогрессией опухоли [96]. Взаимодействие цитоскелета и митохондрий играет важную роль в клеточной подвижности. Помимо их морфологической пластичности митохондрии обладают способностью перемещаться по клетке к сайтам, где их энергетическая поддержка требуется в данный момент. Движение и локализация митохондрий внутри клеток опосредуются их взаимодействием с цитоскелетом [96]. Взаимодействие митохондрий с микротрубочками и актиновыми филаментами позволяет митохондриям перемещаться по клетке, в то время как взаимодействие с промежуточными филаментами необходимо для остановки митохондрий в определенных клеточных участках. Присутствие митохондрий у клеточной мембраны обуславливает образование филоподий и ламеллоподий, необходимых для движения клеток во время ЭМП [96, 97]. Актин и мембранно-цитоскелет-

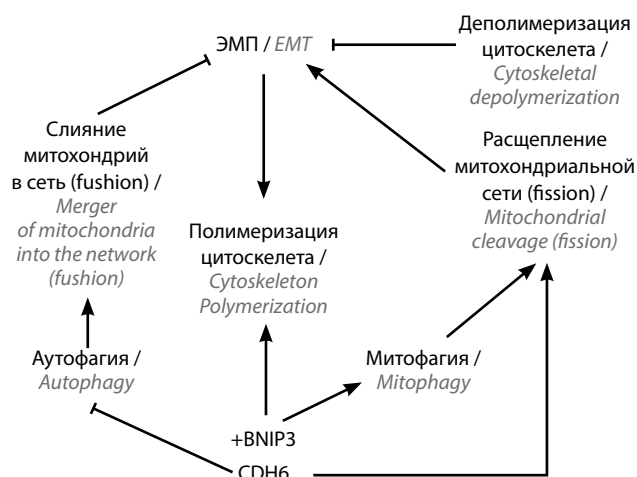


Рис. 3. Взаимодействие цитоскелета и митохондрий. Полимеризация цитоскелета индуцируется процессом эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), который, в свою очередь, обеспечивает расщепление митохондриальной сети (fission), необходимое для дальнейшего поддержания процесса ЭМП. Демполимеризация цитоскелета предотвращает ЭМП. Активация аутофагии вызывает слияние митохондрий (fusion) и восстановление митохондриальной сети и противодействует ЭМП. Митохондриальный белок BNIP3 участвует напрямую в разделении митохондриальной сети за счет полимеризации цитоскелета или опосредованно за счет активации митофагии путем связывания как с митохондриями, так и с аутофагосомным белком LC3. Взаимодействие между BNIP3 и CDH6 вызывает ЭМП, сдерживает аутофагию и способствует разделению митохондриальной сети (адаптировано из [14, 28] с разрешения авторов)

Fig. 3. Interaction between cytoskeleton and mitochondria. Cytoskeleton polymerization induced by epithelial-to-mesenchymal transition (EMT), which in turn supports mitochondrial fission that are essential for further sustain EMT process. Depolymerization of actin cytoskeleton is sufficient for reversing EMT phenotype. Activation of autophagy induces mitochondrial fusion and the reconstitution of mitochondrial network, which counteracts EMT. Mitochondrial protein BNIP3 supports mitochondrial fission directly through cytoskeleton polymerization or indirectly through stimulation of mitophagy and the autophagosomal protein LC3. The interaction between BNIP3 and CDH6 drives EMT, restrains autophagy and promotes mitochondrial fission (adapted from [14, 28] with permission of the authors)

ные каркасы необходимы для образования аутофагосом при неблагоприятных условиях, что было подтверждено колокализацией актиновых филаментов с ключевыми маркерами аутофагии [98]. Митохондрии являются важным энергетическим ресурсом для множества биологических процессов, таких как аутофагия, миграция и инвазия. Разрушение митохондриальной сети является характеристикой онкогенной трансформации, приводящей к ускорению активации программы ЭМП и миграции опухолевых клеток [99]. Кроме этого, активность ГТФазы DRP1, участвующей в расщеплении сетевой организации митохондрий, увеличена в метастатических клетках по сравнению с нематастатическими, что подтверждает, что фракционирование сети в единичные митохондрии необходимо при опухолевой прогрессии [100].

Для того чтобы двигаться по клетке, митохондрии должны быть свободными от тесной сетевой организации. Полимеризация актина способствует разделению митохондриальной сети [101]. Показано, что

активация программы ЭМП с помощью TGF- β в клетках рака легкого A549 приводит к значительному увеличению общего количества митохондрий [102]. При этом актиндеполимеризующие препараты способны ингибировать DRP1 в митохондриях и, как следствие, ингибировать сокращение длины митохондриальной сети [97, 102]. Участие митохондрий в ЭМП обуславливается поставкой аденозинтрифосфат (АТФ) для перестройки цитоскелета во время прогрессии опухоли. Аутофагия регулирует жизнедеятельность митохондрий, устраняя поврежденные органеллы неселективно или селективно (процесс также известный как селективная митофагия). Митофагия приводит к разобщению митохондриальной цепи, после чего митохондрии посылают сигнал на аутофагосомы для разрушения [103]. Неселективная аутофагия, наоборот, вызывает слияние митохондрий [104]. Митохондриальная сеть в таком случае не подвергается деградации посредством аутофагии и способствует производству АТФ при нехватке питательных веществ. Как митофагия, так и неселективная аутофагия приводит к снижению количества свободных митохондрий в клетках, регулируя формирование филоподий и ламеллоподий и, следовательно, сокращение миграционной способности клеток [15].

Таким образом, регуляция функционального взаимодействия митохондрий и цитоскелета пред-

ставляет собой способ взаимодействия между ЭМП и аутофагией.

Заключение

Опухолевая прогрессия характеризуется сложным взаимодействием между ЭМП и аутофагией. Взаимосвязь этих биологических процессов обусловлена несколькими аспектами, включая фазу опухолевого роста, стадию развития и прогрессирувания. Сложность этого взаимодействия отражается в запутанной сети регуляторных сигнальных путей, отвечающих за регуляцию как ЭМП, так и аутофагии, равновесие между которыми может быть смещено в любой момент. Тесная связь цитоскелета с митохондриями и их важность в регулировании обоих этих процессов становятся новым уровнем взаимного регулирования между ЭМП и аутофагией и заслуживают дальнейших исследований.

Экспериментальные модели на генномодифицированных мышах — пример того, как инактивация аутофагии в опухолях *in vivo* подавляет инициацию, рост, прогрессию и малигнизацию опухолей. Поскольку аутофагия играет важную роль в здоровых тканях, необходимо выяснить, являются ли опухоли более аутофагиязависимыми, чем нормальные ткани, и с учетом этого подбирать новые терапевтические и диагностические мишени.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Levine B., Kroemer G. Autophagy in the Pathogenesis of Disease. *Cell* 2008;132:27–42. DOI: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
- Kalluri R., Weinberg R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009;119(6):1420–8. DOI: 10.1172/JCI39104.
- Singh A., Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer. *Oncogene* 2010;29:4741–51. DOI: 10.1038/onc.2010.215.
- Глушанкова Н.А., Житняк И.Ю., Рубцова С.Н. Роль эпителиально-мезенхимального перехода в опухолевой прогрессии. *Биохимия* 2018;83:1802–11. DOI: 10.1134/S0320972518120059. [Glushankova N.A., Zhitnyak I.Yu., Rubtsova S.N. The role of the epithelial-mesenchymal transition in tumor progression. *Biokhimiya = Biochemistry* 2018;83:1802–11. (In Russ.)].
- Byers L.A., Diao L., Wang J. et al. An epithelial-mesenchymal transition gene signature predicts resistance to EGFR and PI3K inhibitors and identifies Axl as a therapeutic target for overcoming EGFR inhibitor resistance. *Clin Cancer Res* 2013;19:279–90. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1558.
- Ramachandran V., Wang H., Arumugam T. et al. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009;69:5820–8. DOI: 10.1158/0008-5472.can-08-2819.
- Saxena M., Stephens M.A., Pathak H. et al. Transcription factors that mediate epithelial-mesenchymal transition lead to multidrug resistance by upregulating ABC transporters. *Cell Death Dis* 2011;2:e179. DOI: 10.1038/cddis.2011.61.
- Yang X., Yu D.D., Yan F. et al. The role of autophagy induced by tumor microenvironment in different cells and stages of cancer. *Cell Biosci* 2015;5:14. DOI: 10.1186/s13578-015-0005-2.
- Maes H., Rubio N., Garg A.D. et al. Autophagy: Shaping the tumor microenvironment and therapeutic response. *Trends Mol Med* 2013;19(7):428–46. DOI: 10.1016/j.molmed.2013.04.005.
- Mizushima N., Yoshimori T., Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2011;27:107–32. DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005.
- Ryabaya O.O., Egorova A.V., Stepanova E.V. The role of autophagy in mechanisms of tumor cell death. *Biol Bull Rev* 2015;5:579–88. DOI: 10.1134/s2079086415060067.
- Liang X.H., Jackson S., Seaman M. et al. Induction of autophagy and inhibition of tumorigenesis by Beclin 1. *Nature* 1999;402(6762):672–6. DOI: 10.1038/45257.
- Klionsky D.J., Abdelmohsen K., Abe A. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edn.). *Autophagy* 2016;12:1–222. DOI: 10.1080/15548627.2015.1100356.
- Chen H.T., Liu H., Mao M.J. et al. Crosstalk between autophagy and epithelial-mesenchymal transition and its application in cancer therapy. *Mol Cancer* 2019;18:101. DOI: 10.1186/s12943-019-1030-2.
- Gugnoni M., Sancisi V., Manzotti G. et al. Autophagy and epithelial-mesenchymal transition: an intricate interplay in cancer. *Cell Death Dis* 2016;7:e2520. DOI: 10.1038/cddis.2016.415.
- Menzies F.M., Fleming A., Rubinsztein D.C. Compromised autophagy and neuro-

- degenerative diseases. *Nat Rev Neurosci* 2015;16(6):345–57. DOI: 10.1038/nrn3961.
17. Sharifi M.N., Mowers E.E., Drake L.E. et al. Autophagy promotes focal adhesion disassembly and cell motility of metastatic tumor cells through the direct interaction of paxillin with LC3. *Cell Rep* 2016;15:1660–72. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.04.065.
 18. Kenific C.M., Stehbens S.J., Goldsmith J. et al. NBR1 enables autophagy-dependent focal adhesion turnover. *J Cell Biol* 2016;212:577–90. DOI: 10.1083/jcb.201503075.
 19. Yang L., Shang Z., Long S. et al. Roles of genetic and microenvironmental factors in cancer epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic implication. *Exp Cell Res* 2018;370:190–7. DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.07.046.
 20. Singla M., Bhattacharyya S. Autophagy as a potential therapeutic target during epithelial to mesenchymal transition in renal cell carcinoma: an *in vitro* study. *Biomed Pharmacother* 2017;94:332–40. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.070.
 21. Catalano M., D'Alessandro G., Lepore F. et al. Autophagy induction impairs migration and invasion by reversing EMT in glioblastoma cells. *Mol Oncol* 2015;9:1612–25. DOI: 10.1016/j.molonc.2015.04.016.
 22. Akalay I., Janji B., Hasmim M. et al. Epithelial-to-mesenchymal transition and autophagy induction in breast carcinoma promote escape from T-cell-mediated lysis. *Cancer Res* 2013;73:2418–27. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2432.
 23. Peng Y.F., Shi Y.H., Ding Z.B. et al. Autophagy inhibition suppresses pulmonary metastasis of HCC in mice via impairing anoikis resistance and colonization of HCC cells. *Autophagy* 2013;9:2056–68. DOI: 10.4161/autophagy.26398.
 24. Massagué J. TGF- β signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13:616–30. DOI: 10.1038/nrm3434.
 25. Bertrand M., Petit V., Jain A. et al. SQSTM1/p62 regulates the expression of junctional proteins through epithelial-mesenchymal transition factors. *Cell Cycle* 2015;14:364–74. DOI: 10.4161/15384101.2014.987619.
 26. Su Z., Li G., Liu C. et al. Autophagy inhibition impairs the epithelial-mesenchymal transition and enhances cisplatin sensitivity in nasopharyngeal carcinoma. *Oncol Lett* 2017;13:4147–54. DOI: 10.3892/ol.2017.5963.
 27. Wang J.Y., Wu T., Ma W. et al. Expression and clinical significance of autophagic protein LC3B and EMT markers in gastric cancer. *Cancer Manag Res* 2018;10:1479–86. DOI: 10.2147/CMAR.S164842.
 28. Perera R.M., Di Malta C., Ballabio A. MiT/TFE family of transcription factors, lysosomes, and cancer. *Annu Rev Cancer Biol* 2019;3:203–22. DOI: 10.1146/annurev-cancerbio-030518-055835.
 29. Switon K., Kotulska K., Janusz-Kaminska A. et al. Molecular neurobiology of mTOR. *Neuroscience* 2017;341:112–53. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2016.11.017.
 30. Guo S., Liang X., Guo M. et al. Migration inhibition of water stress proteins from *Nostoc commune* Vauch. via activation of autophagy in DLD-1 cells. *Int J Biol Macromol* 2018;119:669–76. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.188.
 31. Fenouille N., Tichet M., Dufies M. et al. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) regulatory factor SLUG (SNAI2) is a downstream target of SPARC and AKT in promoting melanoma cell invasion. *PLoS One* 2012;7:e40378. DOI: 10.1371/journal.pone.0040378.
 32. Lamouille S., Connolly E., Smyth J.W. et al. TGF- β -induced activation of mTOR complex 2 drives epithelial-mesenchymal transition and cell invasion. *Development* 2012;125(Pt 5):1259–73. DOI: 10.1242/jcs.095299.
 33. Rogers G.W., Komar A.A., Merrick W.C. eIF4A: The godfather of the DEAD box helicases. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2002;72:307–31. DOI: 10.1016/s0079-6603(02)72073-4.
 34. Jordá A., Olmeda D., Vinyals A. et al. Upregulation of MMP-9 in MDCK epithelial cell line in response to expression of the Snail transcription factor. *J Cell Sci* 2005;118(Pt 5):3371–85. DOI: 10.1242/jcs.02465.
 35. Li L., Pan X.Y., Shu J. et al. Ribonuclease inhibitor up-regulation inhibits the growth and induces apoptosis in murine melanoma cells through repression of angiogenin and ILK/PI3K/AKT signaling pathway. *Biochimie* 2014;103:89–100. DOI: 10.1016/j.biochi.2014.04.007.
 36. Xu W., Yang Z., Lu N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition. *Cell Adhes Migr* 2015;9:317–24. DOI: 10.1080/19336918.2015.1016686.
 37. Maier H.J., Schmidt-Straßburger U., Huber M.A. et al. NF- κ B promotes epithelial-mesenchymal transition, migration and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Cancer Lett* 2010;295:214–28. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.03.003.
 38. O'Farrell F., Rusten T.E., Stenmark H. Phosphoinositide 3-kinases as accelerators and brakes of autophagy. *FEBS J* 2013;280(24):6322–37. DOI: 10.1111/febs.12486.
 39. Zong H., Yin B., Zhou H. et al. Inhibition of mTOR pathway attenuates migration and invasion of gallbladder cancer via EMT inhibition. *Mol Biol Rep* 2014;41:4507–12. DOI: 10.1007/s11033-014-3321-4.
 40. Han B., Cui H., Kang L. et al. Metformin inhibits thyroid cancer cell growth, migration, and EMT through the mTOR pathway. *Tumor Biol* 2015;36(8):6295–304. DOI: 10.1007/s13277-015-3315-4.
 41. Inoki K., Kim J., Guan K.L. AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2012;52:381–400. DOI: 10.1146/annurev-pharmtox-010611-134537.
 42. Wang P., Jiang L., Zhou N. et al. Resveratrol ameliorates autophagic flux to promote functional recovery in rats after spinal cord injury. *Oncotarget* 2018;9(9):8427–40. DOI: 10.18632/oncotarget.23877.
 43. Sun A., Li C., Chen R. et al. GSK-3 β controls autophagy by modulating LKB1-AMPK pathway in prostate cancer cells. *Prostate* 2016;76:172–83. DOI: 10.1002/pros.23106.
 44. Chang H.W., Lee Y.S., Nam H.Y. et al. Knockdown of β -catenin controls both apoptotic and autophagic cell death through LKB1/AMPK signaling in head and neck squamous cell carcinoma cell lines. *Cell Signal* 2013;25:839–47. DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.12.020.
 45. Jiao D., Wang J., Lu W. et al. Curcumin inhibited HGF-induced EMT and angiogenesis through regulating c-Met dependent PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in lung cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2016;3:16018. DOI: 10.1038/mto.2016.18.
 46. Chang L., Graham P.H., Hao J. et al. Acquisition of epithelial-mesenchymal transition and cancer stem cell phenotypes is associated with activation of the PI3K/Akt/mTOR pathway in prostate cancer radioresistance. *Cell Death Dis* 2013;4(10):e875. DOI: 10.1038/cddis.2013.407.
 47. Huang W., Yu L.F., Zhong J. et al. Stat3 is involved in angiotensin II-induced expression of MMP2 in gastric cancer cells. *Dig Dis Sci* 2009;54:2056–62. DOI: 10.1007/s10620-008-0617-z.
 48. Liu S.C., Huang C.M., Bamodu O.A. et al. Ovatodiolide suppresses nasopharyngeal cancer by targeting stem cell-like population, inducing apoptosis, inhibiting EMT and dysregulating JAK/STAT signaling pathway. *Phytomedicine* 2019;56:269–78. DOI: 10.1016/j.phymed.2018.05.007.
 49. Maycotte P., Jones K.L., Goodall M.L. et al. Autophagy supports breast cancer stem cell maintenance by regulating IL6 secretion. *Mol Cancer Res* 2015;13:651–8. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0487.
 50. Granato M., Rizzello C., Montani M.S.G. et al. Quercetin induces apoptosis and autophagy in primary effusion lymphoma cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and STAT3 signaling pathways. *J Nutr Biochem* 2017;41:124–36. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.12.011.

51. Ferraresi A., Phadngam S., Morani F. et al. Resveratrol inhibits IL-6-induced ovarian cancer cell migration through epigenetic up-regulation of autophagy. *Mol Carcinog* 2017;56:1164–81. DOI: 10.1002/mc.22582.
52. Su Z., Yang Z., Xu Y. et al. Apoptosis, autophagy, necroptosis, and cancer metastasis. *Mol Cancer* 2015;14:48. DOI: 10.1186/s12943-015-0321-5.
53. Zhou W.H., Tang F., Xu J. et al. Low expression of Beclin 1, associated with high Bcl-xL, predicts a malignant phenotype and poor prognosis of gastric cancer. *Autophagy* 2012;8:389–400. DOI: 10.4161/auto.18641.
54. Pattingre S., Tassa A., Qu X. et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell* 2005;122:927–39. DOI: 10.1016/j.cell.2005.07.002.
55. Li S., Zhang H.Y., Du Z.X. et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition (EMT) by Beclin 1 knockdown via posttranscriptional upregulation of ZEB1 in thyroid cancer cells. *Oncotarget* 2016;7(43):70364–77. DOI: 10.18632/oncotarget.12217.
56. Cicchini M., Chakrabarti R., Kongara S. et al. Autophagy regulator BECN1 suppresses mammary tumorigenesis driven by WNT1 activation and following parity. *Autophagy* 2014;10:2036–52. DOI: 10.4161/auto.34398.
57. Shen H., Yin L., Deng G. et al. Knockdown of Beclin-1 impairs epithelial-mesenchymal transition of colon cancer cells. *J Cell Biochem* 2018;119:7022–31. DOI: 10.1002/jcb.26912.
58. Ha J.H., Ward J.D., Radhakrishnan R. et al. Lysophosphatidic acid stimulates epithelial to mesenchymal transition marker Slug/Snail2 in ovarian cancer cells via Gai2, Src, and HIF1a signaling nexus. *Oncotarget* 2016;7:37664–79. DOI: 10.18632/oncotarget.9224.
59. Qiang L., He Y.Y. Autophagy deficiency stabilizes TWIST1 to promote epithelial-mesenchymal transition. *Autophagy* 2014;10:1864–5. DOI: 10.4161/auto.32171.
60. Clevers H., Nusse R. Wnt/ β -catenin signaling and disease. *Cell* 2012;149:1192–205. DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012.
61. Cheng M., Xue H., Cao W. et al. RACK1 promotes Dishevelled degradation via autophagy and antagonizes Wnt signaling. *J Biol Chem* 2016;291(24):12871–9. DOI: 10.1074/jbc.M115.708818.
62. Gugnoni M., Sancisi V., Gandolfi G. et al. Cadherin-6 promotes EMT and cancer metastasis by restraining autophagy. *Oncogene* 2017;36(5):667–77. DOI: 10.1038/onc.2016.237.
63. Huber M.A., Kraut N., Beug H. Molecular requirements for epithelial-mesenchymal transition during tumor progression. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:548–58. DOI: 10.1016/j.ccb.2005.08.001.
64. Nopparat C., Sinjanakhom P., Govitrapong P. Melatonin reverses H₂O₂–induced senescence in SH-SY5Y cells by enhancing autophagy via sirtuin 1 deacetylation of the RelA/p65 subunit of NF- κ B. *J Pineal Res* 2017;63:e12407. DOI: 10.1111/jpi.12407.
65. Sun X., Li L., Ma H. et al. Bisindolylmaleimide alkaloid BMA-155Cl induces autophagy and apoptosis in human hepatocarcinoma HepG-2 cells through the NF- κ B p65 pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2017;38:524–38. DOI: 10.1038/aps.2016.171.
66. Wu Y., Deng J., Rychahou P.G. et al. Stabilization of Snail by NF- κ B is required for inflammation-induced cell migration and invasion. *Cancer Cell* 2009;15(5):416–28. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.03.016.
67. Huang M., Xin W. Matrine inhibiting pancreatic cells epithelial-mesenchymal transition and invasion through ROS/NF- κ B/MMPs pathway. *Life Sci* 2018;192:55–61. DOI: 10.1016/j.lfs.2017.11.024.
68. Katsuno Y., Lamouille S., Derynck R. TGF- β signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression. *Curr Opin Oncol* 2013;25:76–84. DOI: 10.1097/CCO.0b013e32835b6371.
69. Saitoh M., Endo K., Furuya S. et al. STAT3 integrates cooperative Ras and TGF- β signals that induce Snail expression. *Oncogene* 2016;35:1049–57. DOI: 10.1038/onc.2015.161.
70. He Z.J., Zhu F.Y., Li S.S. et al. Inhibiting ROS-NF- κ B-dependent autophagy enhanced brazilin-induced apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma. *Food Chem Toxicol* 2017;101:55–66. DOI: 10.1016/j.fct.2017.01.002.
71. Shen J., Zhao D.S., Li M.Z. TGF- β 1 promotes human gastric carcinoma SGC7901 cells invasion by inducing autophagy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017;21(5):1013–9.
72. Zhang C., Zhang X., Xu R. et al. TGF- β 2 initiates autophagy via Smad and non-Smad pathway to promote glioma cells' invasion. *J Exp Clin Cancer Res* 2017;36:162. DOI: 10.1186/s13046-017-0628-8.
73. Hu S., Wang L., Zhang X. et al. Autophagy induces transforming growth factor- β -dependent epithelial-mesenchymal transition in hepatocarcinoma cells through cAMP response element binding signaling. *J Cell Mol Med* 2018;22:5518–32. DOI: 10.1111/jcmm.13825.
74. Sancisi V., Gandolfi G., Ragazzi M. et al. Cadherin 6 is a new RUNX2 target in TGF- β signalling pathway. *PLoS One* 2013;8:e75489. DOI: 10.1371/journal.pone.0075489.
75. Yang M., Liu E., Tang L. et al. Emerging roles and regulation of MiT/TFE transcriptional factors. *Cell Commun Signal* 2018;16:31. DOI: 10.1186/s12964-018-0242-1.
76. Möller K., Sigurbjornsdottir S., Arnthorsson A.O. et al. MITF has a central role in regulating starvation-induced autophagy in melanoma. *Sci Rep* 2019;9:1055. DOI: 10.1038/s41598-018-37522-6.
77. Xu Q., Krause M., Samoylenko A. et al. Wnt signaling in renal cell carcinoma. *Cancers (Basel)* 2016;8:57. DOI: 10.3390/cancers8060057.
78. Calcagni A., Kors L., Verschuren E. et al. Modelling TFE renal cell carcinoma in mice reveals a critical role of WNT signaling. *Elife* 2016;5:e17047. DOI: 10.7554/eLife.17047.
79. Levy C., Khaled M., Fisher D.E. MITF: master regulator of melanocyte development and melanoma oncogene. *Trends Mol Med* 2006;12:406–14. DOI: 10.1016/j.molmed.2006.07.008.
80. Vachtenheim J., Ondrušová L. Microphthalmia-associated transcription factor expression levels in melanoma cells contribute to cell invasion and proliferation. *Exp Dermatol* 2015;24:481–4. DOI: 10.1111/exd.12724.
81. Hartman M.L., Czyz M. MITF in melanoma: mechanisms behind its expression and activity. *Cell Mol Life Sci* 2015;72:1249–60. DOI: 10.1007/s00018-014-1791-0.
82. Eccles M.R., He S., Ahn A. et al. MITF and PAX3 play distinct roles in melanoma cell migration; outline of a “Genetic Switch” theory involving MITF and PAX3 in proliferative and invasive phenotypes of melanoma. *Front Oncol* 2013;3:229. DOI: 10.3389/fonc.2013.00229.
83. Bianchi-Smiraglia A., Bagati A., Fink E.E. et al. Microphthalmia-associated transcription factor suppresses invasion by reducing intracellular GTP pools. *Oncogene* 2017;36:84–96. DOI: 10.1038/onc.2016.178.
84. Sullivan R.J., Fisher D.E. Understanding the biology of melanoma and therapeutic implications. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014;28:437–53. DOI: 10.1016/j.hoc.2014.02.007.
85. Caramel J., Papadogeorgakis E., Hill L. et al. A switch in the expression of embryonic EMT-inducers drives the development of malignant melanoma. *Cancer Cell* 2013;24:466–80. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.08.018.
86. Whipple C.A., Brinckerhoff C.E. BRAF (V600E) melanoma cells secrete factors that activate stromal fibroblasts and enhance tumorigenicity. *Br J Cancer* 2014;111:1625–33. DOI: 10.1038/bjc.2014.452.
87. Salama A.K., Kim K.B. Trametinib (GSK1120212) in the treatment

- of melanoma. *Expert Opin Pharmacother* 2013;14:619–27.
DOI: 10.1517/14656566.2013.770475.
88. Ferguson J., Arozarena I., Ehrhardt M. et al. Combination of MEK and SRC inhibition suppresses melanoma cell growth and invasion. *Oncogene* 2013; 32:86–96. DOI: 10.1038/onc.2012.25.
89. Ma X.H., Piao S.F., Dey S. et al. Targeting ER stress-induced autophagy overcomes BRAF inhibitor resistance in melanoma. *J Clin Invest* 2014;124:1406–17.
DOI: 10.1172/JCI170454.
90. Kinsey C.G., Camolotto S.A., Boespflug A.M. et al. Protective autophagy elicited by RAF→MEK→ERK inhibition suggests a treatment strategy for RAS-driven cancers. *Nat Med* 2019;25(4):620–7.
DOI: 10.1038/s41591-019-0367-9.
91. Kim J., Kundu M., Viollet B., Guan K.L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of ULK1. *Nat Cell Biol* 2011;13(2):132–41.
DOI: 10.1038/ncb2152.
92. Wei S.C., Yang J. Forcing through tumor metastasis: the interplay between tissue rigidity and epithelial-mesenchymal transition. *Trends Cell Biol* 2016;26(2): 111–20. DOI: 10.1016/j.tcb.2015.09.009.
93. Tojkander S., Gateva G., Lappalainen P. Actin stress fibers – assembly, dynamics and biological roles. *J Cell Sci* 2012;125(Pt 8):1855–64.
DOI: 10.1242/jcs.098087.
94. Shankar J., Nabi I.R. Actin cytoskeleton regulation of epithelial mesenchymal transition in metastatic cancer cells. *PLoS One* 2015;10(3):e0119954.
DOI: 10.1371/journal.pone.0119954.
95. Liu C.Y., Lin H.H., Tang M.J. et al. Vimentin contributes to epithelial-mesenchymal transition cancer cell mechanics by mediating cytoskeletal organization and focal adhesion maturation. *Oncotarget* 2015;6(18):15966–83.
DOI: 10.18632/oncotarget.3862.
96. Anesti V., Scorrano L. The relationship between mitochondrial shape and function and the cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757(5–6):692–9.
DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.04.013.
97. Zhao J., Zhang J., Yu M. et al. Mitochondrial dynamics regulates migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene* 2013;32(40):4814–24.
DOI: 10.1038/onc.2012.494.
98. Kast D.J., Dominguez R. The Cytoskeleton-autophagy connection. *Curr Biol* 2017;27:R318–26.
DOI: 10.1016/j.cub.2017.02.061.
99. Kashatus J.A., Nascimento A., Myers L.J. et al. Erk2 phosphorylation of Drp1 Promotes mitochondrial fission and MAPK-driven tumor growth. *Mol Cell* 2015;57:537–51.
DOI: 10.1016/j.molcel.2015.01.002.
100. Xie Q., Wu Q., Horbinski C.M. et al. Mitochondrial control by DRP1 in brain tumor initiating cells. *Nat Neurosci* 2015;18:501–10.
DOI: 10.1038/nn.3960.
101. Ji W.K., Hatch A.L., Merrill R.A. et al. Actin filaments target the oligomeric maturation of the dynamin GTPase Drp1 to mitochondrial fission sites. *Elife* 2015;4:e11553.
DOI: 10.7554/eLife.11553.
102. Xu Y., Lu S. Transforming growth factor-β1-induced epithelial to mesenchymal transition increases mitochondrial content in the A549 non-small cell lung cancer cell line. *Mol Med Rep* 2015;11(1):417–21.
DOI: 10.3892/mmr.2014.2678.
103. Rambold A.S., Kostecky B., Elia N., Lippincott-Schwartz J. Tubular network formation protects mitochondria from autophagosomal degradation during nutrient starvation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(25):10190–5.
DOI: 10.1073/pnas.1107402108.
104. Gomes L.C., Benedetto G. Di, Scorrano L. During autophagy mitochondria elongate, are spared from degradation and sustain cell viability. *Nat Cell Biol* 2011;13(5):589–98.
DOI: 10.1038/ncb2220.

Вклад авторов

О.О. Рябая: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

А.А. Прокофьева: обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

О.О. Ryabaya: reviewing of publications of the article's theme, article writing;

А.А. Prokofieva: reviewing of publications of the article's theme.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.О. Рябая / О.О. Ryabaya: <https://orcid.org/0000-0001-6295-3497>

А.А. Прокофьева / А.А. Prokofieva: <https://orcid.org/0000-0002-5281-2559>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-015-00447).

Funding. This work was supported by Russian Foundation for Basic Research (grant No 19-015-00447).

Статья поступила: 29.04.2020. Принята к публикации: 02.07.2020.

Article submitted: 29.04.2020. Accepted for publication: 02.07.2020.