

Новые потенциальные биомаркеры рака молочной железы (обзор литературы)

М.А. Таипов, Н.Е. Левченко, К.П. Лактионов, В.Е. Шевченко

ФБГУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Контакты: Марат Азатович Таипов taipoff.m@yandex.ru

Идентификация маркеров, которые позволят выявить заболевание на ранней, доклинической стадии, является важной задачей протеомных исследований. Диагностические маркеры должны обладать высокой чувствительностью и специфичностью, быть легкодоступными для анализа в тканях или жидкостях организма, и прежде всего определяться в сыворотке/плазме крови. Раннее выявление маркеров рака молочной железы (РМЖ) в крови — это перспективное направление в науке, однако является технически сложной задачей из-за гетерогенности заболевания, широкого диапазона концентраций и вариабельности белков плазмы крови. Наш обзор посвящен теоретическим предпосылкам и практическим результатам поиска новых протеомных маркеров РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, протеомика, масс-спектрометрия, сигнальный путь COX-2, маркеры метастазирования рака молочной железы, мишени для таргетной терапии

New potential biomarkers for breast cancer (review of literature)

M.A. Taipov, N.Ye. Levchenko, K.P. Laktionov, V.Ye. Shevchenko

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Identification of markers that will identify the disease at an early preclinical stage, is the main goal of our research. Diagnostic marker should have the following characteristics: high sensitivity and specificity, be readily accessible for the analysis of tissues and body fluids, and above all, be determined in blood plasma. Early detection of breast cancer markers in the blood — a promising trend in science, however, is technically challenging because of the heterogeneity of the disease and the variability of blood plasma proteins. Our review is devoted to theoretical assumptions and practical results of the search of new proteomic markers of breast cancer.

Key words: breast cancer, proteomics, mass spectrometry, COX-2 signaling pathway, markers of metastatic breast cancer, the target for targeted therapy

Введение

До настоящего времени рак молочной железы (РМЖ) остается наиболее частой причиной смерти от онкологических заболеваний среди женщин во всем мире. Частота впервые выявленного РМЖ IV стадии в России составляет 10 % [1], в США — 4 %, в странах Европейского Союза — около 6 %. С учетом масштабов распространения заболевания эта проблема имеет высокую социальную и клиническую значимость.

Большое число фундаментальных исследований сфокусировано на поиске новых потенциальных маркеров метастатической активности опухолевых клеток и рациональных подходов к противоопухолевой терапии РМЖ. Понимание молекулярных механизмов, ответственных за митогенную активность трансформированных клеток, открывает новые пути контроля за опухолевым ростом. Для поиска потенциальных биомаркеров и мишеней направленной терапии РМЖ в практику широко внедряются новые протеомные технологии.

Клиническая онкопротеомика

Развитие клинической протеомики связано с использованием высокотехнологичных методов, позво-

ляющих определить количество того или иного белка в биообразце, идентифицировать его первичную структуру и посттрансляционные модификации. В исследованиях РМЖ чаще всего используются такие протеомные технологии, как иммуноферментный анализ (ELISA), двумерный гель-электрофорез (2DE), дифференциальный электрофорез в геле (DIGE), времяпролетная масс-спектрометрия (МС) с усиленной поверхностью лазерной десорбцией/ионизацией (SELDI-TOF-MS), времяпролетная МС с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF-MS), многомерная жидкостная хроматография — тандемная МС (LC-MS/MS). Эти технологии применялись для идентификации белков при сравнении образцов случая и контроля (например, образцов сыворотки крови больных РМЖ и контрольной группы) или для изучения молекулярных механизмов, вовлеченных в онкогенез РМЖ. До недавнего времени большая часть протеомных исследований выполнялась с использованием метода МС и двумерного электрофореза в полиакриламидном геле (2D-PAGE).

Метод МС используется для обнаружения и идентификации протеомных маркеров в биологических

жидкостях, опухолевой ткани, лизатах и секретах линий опухолевых клеток. В исследованиях все чаще используются модельные системы — культуры опухолевых клеток человека, которые удобны тем, что позволяют получать и анализировать протеом и секретом. Использование протеомных методов позволяет идентифицировать белки, которые могут являться потенциальными маркерами РМЖ. Современные МС-методы позволяют проводить секвенирование белков, анализировать их посттрансляционные модификации, изучать их взаимодействия и другие фундаментальные аспекты онкогенеза.

Идентификация маркеров РМЖ является перспективным направлением в медицине, однако исследователи столкнулись с проблемой гетерогенности данного заболевания. На основании экспрессии рецепторов эстрогенов (ER), прогестерона (PR), HER-2/neu и молекулярного профилирования РМЖ делится на 4 подтипа: люминальный А, люминальный В, HER-2/neu-позитивный и базальноподобный, что создает дополнительные трудности при идентификации маркеров. Картирование протеома плазмы крови здорового человека еще не завершено, поэтому поиск маркеров РМЖ в плазме крови является технически сложной задачей. Трудности связаны с необходимостью анализировать большое количество белков, присутствующих в широком диапазоне концентраций. Для поиска и идентификации маркеров опухолевого роста и метастазирования необходимы системный биоинформационный анализ и внедрение специальных критериев отбора.

Потенциальные биомаркеры рака молочной железы

Наш обзор посвящен теоретическим предпосылкам и практическим результатам поиска новых протеомных маркеров РМЖ. С использованием метода МС авторами проведено картирование протеома опухолевых клеток. После применения различных биоинформационных ресурсов (Swiss-Prot, Gene Ontology, Plasma Proteome Database, G2SBC Database) был предложен ряд новых потенциальных биомаркеров РМЖ [2–4]. Мы проанализировали большое количество статей и данных литературы, посвященных вопросам поиска, идентификации биомаркеров, и выделили отдельную группу белков — наиболее вероятных маркеров РМЖ.

Было обнаружено, что высокие уровни экспрессии COX-2 в опухолевой ткани коррелируют с негативным прогнозом и метастазированием клеток РМЖ [5], а сигнальный каскад COX-2, по данным литературы, регулирует ангиогенез и лимфангиогенез в опухолевой ткани [6].

Есть сведения об идентификации некоторых белков, вовлеченных в процессы опухолевой прогрессии, инвазии и метастазирования РМЖ, среди них белок

теплого шока (БТШ) бета-1 (участвует в механизмах стрессоустойчивости), *prohibition* (участвует в пролиферации клеток), *chromobox protein homolog 3* (участвует в регуляции транскрипции) и катепсин D (участвует в протеолизе) [7]. Среди идентифицированных потенциальных маркеров особый интерес представляет ферментный комплекс FASN (*fatty acid synthase*), кодируемый геном *FASN*. Ген *FASN* дифференциально экспрессирован в опухолевой ткани молочной железы человека. Повышение уровня экспрессии данного гена в сочетании с высоким пролиферативным индексом (> 17 %) в опухолевых клетках коррелирует с неблагоприятным прогнозом для больных РМЖ [8]. Протеин FASN определяется в плазме крови и опухолевой ткани молочной железы, а также является биомаркером и потенциальной мишенью для направленной терапии пациенток с данной патологией [9]. Обнаружена корреляция повышенной экспрессии гена *FASN* с активацией сигнального пути COX-2 в клетке [10]. Показано, что при гиперэкспрессии HER-2 увеличивается экспрессия FASN, а сверхэкспрессия FASN заметно повышает HER-2-сигнализацию, что приводит к усилению роста опухолевых клеток. Лапатиниб представляет собой низкомолекулярный ингибитор тирозинкиназы, который блокирует фосфорилирование рецептора эпидермального фактора роста и HER-2 в клетках РМЖ, что в результате способствует апоптозу опухолевых клеток. Q. Jin et al. в своей работе предположили, что FASN непосредственно фосфорилируются HER-2, что приводит к заметному прогрессированию РМЖ [9]. Однако молекулярные механизмы и пути регулирования взаимодействия HER-2 и FASN до сих пор четко не определены.

Особый интерес представляет также протеин STAT1 (*signal transducer and activator of transcription 1*), кодируемый геном *STAT1*. Ген *STAT1* дифференциально экспрессирован при РМЖ [11]. Белок STAT1 связан с регуляцией каскада COX-2 и является маркером метастатической активности опухолевых клеток РМЖ.

Протеин TRAP1 (*tumor necrosis factor receptor associated protein 1*) принадлежит к семейству Hsp90 и кодируется геном *TRAP1*. Ген *TRAP1* дифференциально экспрессирован в опухолевых клетках молочной железы, идентифицируется базой G2SBC как биомаркер РМЖ. Белок TRAP1 регулирует процессы клеточной дифференцировки и активации апоптоза, контролирует образование рецепторов к фактору некроза опухоли- α (ФНО- α) и связан с регуляцией экспрессии COX-2 [12]. В работах S. Aust et al. показано, что TRAP1 регулирует апоптоз и индуцирует образование ER α в опухолевых клетках при раке яичников (РЯ) и является новым потенциальным биомаркером РМЖ и РЯ [13].

Белок cPGES (*cytosolic prostaglandin E synthase; telomerase-binding protein p23, p23, Hsp90 co-chaperone*) кодируется геном *PGES3*. Белок p23 является кошапе-

роном Hsp90, а также частью рецепторного комплекса прогестерона; регулирует работу рецепторов стероидных гормонов, активирует каталитическую активность ряда киназ и участвует в канцерогенезе. БТШ семейства шаперонов кодируются генами *HSP90*, *HSP90AA1*, *HSP90AB1*, *HSP90B1* и функционально связаны с сигнальным механизмом cPGES/p23. Обнаружена роль комплекса Hsp90 в метастазировании РМЖ и развитии резистентности опухолевых клеток к химиотерапии [14]. Доказано, что p23 дифференциально регулирует гены-мишени *PMP22*, *ABCC3*, *AGR2*, *Sox3*, *TM4SF1* и *p8 (NUPR1)*, контролирующие процессы метастазирования и химиорезистентности опухолевых клеток [15]. Аденозинтрифосфат-зависимый транспортный белок ABCC3 связан с устойчивостью к химиотерапевтическим препаратам этопозиду и доксорубину в клетках MCF-7 и p23. Для больных РМЖ поздняя стадия опухолевого процесса в сочетании с повышенной экспрессией цитоплазматического p23 является неблагоприятным прогностическим фактором. Сигнальный путь cPGES/p23 функционально связан с COX-1, индукцией COX-2 и направлен на увеличение выработки в клетке PGE₂ из экзогенной и эндогенной арахидоновой кислоты. Таким образом, функциональные связи между COX-1 и cPGES/p23 направлены на производство PGE₂, который играет важную роль в поддержании тканевого гомеостаза опухолевых клеток [16]. Ген *PTGES3* дифференциально экспрессируется в опухолевых клетках молочной железы [17], а протеин p23 является потенциальным биомаркером РМЖ.

Из группы БТШ идентифицирован стресс-индуцируемый фосфопротеин 1 (STIP1), который представляет собой белок молекулярной массой 62,6 кДа. Протеин STIP1 модулирует деятельность БТШ, действуя в качестве адаптера, который направляет Hsp90 к мишеням белковых комплексов в цитоплазме Hsp70. STIP1 участвует в РНК-сплайсинге, транскрипции, сворачивании белков, передаче сигнала и регуляции клеточного цикла. Протеин STIP1 идентифицирован как потенциальный биомаркер РЯ, РМЖ [18].

БТШ-β1 – HspB1 (Hsp27) кодируется у человека геном *HSPB1* [19]. Основная функция этого белка – поддержание выживаемости клеток в условиях стресса. Протеин Hsp27 участвует в регуляции апоптоза и дифференцировки клеток [20]. Белок Hsp27 активирует протеосомы и повышает активацию NF-κB-пути, который контролирует многие процессы, такие как рост клеток, воспалительные и ответные реакции на стресс. Цитопротекторные свойства Hsp27 связаны с его способностью модулировать активные формы кислорода и повышать уровень глутатиона. Высокие уровни экспрессии, возможно, находятся в обратной связи с пролиферацией клеток, метастазированием и устойчивостью к химиотерапии [21]. Обнаружено, что уровень

содержания белка Hsp27 повышается в плазме крови у больных РМЖ [22]. Таким образом, Hsp27 может быть потенциальным диагностическим маркером РМЖ. Основная функция Hsp27 – сохранение термотолерантности, цитопротекция и стабилизация клеток в условиях стресса. Более специализированные функции Hsp27 многообразны и сложны. Протеин Hsp27 является антиапоптотическим белком и участвует в регуляции апоптотических сигнальных путей. Протеин Hsp27 повышает активацию NF-κB-пути, который контролирует многие внутриклеточные процессы. Белок Hsp27 индуцирует экспрессию COX-2 и стимулирует образование PGE₂, оказывает цитопротекторное действие, модулирует активные формы кислорода и повышает уровень глутатиона, участвует в процессе дифференцировки клеток и регуляции роста. Протеин Hsp27 связан с метастазированием и является фактором лекарственной резистентности к химиопрепаратам при РМЖ [23]. Белок Hsp27 подавляет апоптоз и повышает выживаемость опухолевых клеток в условиях стресса, тем самым увеличивая их метастатический потенциал. Hsp27 является перспективной мишенью для противоопухолевой таргетной терапии РМЖ.

Из группы потенциальных мишеней для терапии РМЖ определенный интерес представляют белки семейства 14-3-3 (изоформы γ, ζ, d) – регуляторы апоптоза, клеточного цикла и сигнальной трансдукции [24]. Протеин 14-3-3ζ регулирует различные сигнальные пути в клетке и опосредованно стимулирует экспрессию COX-2 [25]; регулирует механизмы клеточной адгезии, блокирует апоптоз [26] неопластических клеток и связан с регуляцией эпителиально-мезенхимального перехода [27]. Обнаружено, что уровень экспрессии этого белка возрастает при РМЖ [28]. Гиперэкспрессия 14-3-3ζ связана с высоким риском рецидива рака у оперированных больных РМЖ, а также является важным узлом в сети митогенных сигналов и способствует росту злокачественной опухоли [29, 30].

Экспериментально доказано, что уровень экспрессии белка 14-3-3γ достоверно возрастает при РМЖ, являясь негативным регулятором p53 [31]. По мнению ряда авторов, протеин 14-3-3γ можно рассматривать в качестве потенциальной мишени для будущей терапии рака [31–36].

Протеин 14-3-3β является компонентом сигнального пути Wnt, который играет ключевую роль в развитии РМЖ. Путь Wnt/β-катенин инициируется Wnt-лигандами, что приводит к накоплению цитозольного β-катенина, который перемещается в ядро и активирует транскрипцию генов-мишеней Wnt. Белок 14-3-3β функционирует в ядре, где он взаимодействует с c-Jun, β-катенином и регулирует Wnt-транскрипцию гена-мишени. Изменение экспрессии белка 14-3-3β часто обнаруживается в клетках опухоли. Протеин 14-3-3β

избыточно экспрессируется при раке предстательной железы, немелкоклеточном раке легкого, мезотелиоме плевры, РМЖ, что коррелирует с активацией сигнального пути Wnt/ β -катенин [37]. Протеины 14-3-3 β , θ способны модулировать различные биологические процессы через белок — белковые взаимодействия. Протеины 14-3-3 β , ζ , ϵ , θ связываются с β -катенином и могут позитивно или негативно регулировать Wnt-сигнализацию в клетке.

Протеин 14-3-3 ϵ является антиапоптотическим белком, так как индуцирует биосинтез PGI₂ в неопластических клетках. Ингибиторы COX-2 подавляют экспрессию 14-3-3 ϵ . Снижение экспрессии белка 14-3-3 ϵ приводит к индукции апоптоза и повышает чувствительность опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам [38].

Среди идентифицированных маркеров интерес представляют белки семейства S100 (A6, A7, A8, A9, A10, A11) — маркеры и индукторы инвазивности опухолевых клеток, однако механизм влияния данных белков на канцерогенез РМЖ до конца не известен. Есть данные, что S100A6 регулирует экспрессию ER, E-кадгерина и индуцируемого фактора гипоксии 1 α , а также снижает активность протеаз в клетках. Белки S100A6 и S100A4 связаны с метастазированием РМЖ [39, 40]. Белок S100A7 выполняет функции фактора хемотаксиса для опухолевых клеток и повышает потенциал клеток РМЖ к метастазированию [41]. Белки S100A8 и S100A9 [42] связаны с регуляцией воспаления и являются важными провоспалительными медиаторами, взаимодействуют с интерлейкином-1, ФНО- α , индуцируют метаболизм арахидоновой кислоты и простагландинов [43]. Протеины S100A10 и S100A11 связаны с канцерогенезом, метастазированием и инвазией РМЖ [44]. На наш взгляд, для группы белков S100 существует несколько сигнальных путей, посредством которых они реализуют свой онкогенный потенциал. Из идентифицированных белков аполипротеины APOA1 и APOD рассматриваются как потенциальные маркеры РМЖ [45, 46].

Из белков, гиперэкспрессированных в высокометастатических линиях РМЖ, интерес представляют белки-супероксиддисмутазы (SOD1, SOD2, SOD3) — ферменты, регулирующие баланс активных форм кислорода и перекисных радикалов в клетке. В организме человека существует 3 типа SOD: протеин SOD1 находится в цитоплазме, SOD2 — в митохондриях, а SOD3 — это внеклеточная (экстраклеточная) форма. Супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, поэтому SOD играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма. Роль этого фермента была показана экспериментально: мыши, у которых отсутствует митохондриальная SOD, выживают лишь в течение нескольких дней после рождения, так как у них развивается сильный оксидативный стресс.

Изменение уровня O²⁻ • и H₂O₂ в митохондриях модулирует молекулярные механизмы апоптоза, клеточной адгезии и пролиферации клеток и, следовательно, играет ключевую роль в развитии рака. Обнаружено, что нарушение функции генов *SOD2* и *SOD3* связано с высоким риском развития РМЖ, РЯ и других опухолевых заболеваний [47].

Инсулиноподобный фактор роста I (IGF-I) и IGF, связывающий белок IGFBP-3, ассоциированы с риском развития РМЖ у женщин в молодом возрасте [48]. Протеин CRABP1 связан с канцерогенезом, метастазированием и прогнозом РЯ, РМЖ [49].

Протеин DJ-1/PARK7 необходим для адаптации клеток к стрессу, вызванному гипоксией. Протеин DJ-1/PARK7 активирует функции HIF-1 в раковых клетках. Установлено, что онкогенный потенциал DJ-1/PARK7 является результатом его способности повышать резистентность клеток к гипоксическому стрессу посредством регуляторных эффектов DJ-1/PARK7 на mTOR и AMPK. Открытие этих функций DJ-1/PARK7 усиливает необходимость развития терапии, нацеленной на активность DJ-1/PARK7 в клетках РМЖ [50].

Гиперэкспрессия протеина MIF — фактора, ингибирующего миграцию макрофагов, наблюдается при РМЖ, но его причинная роль в развитии РМЖ не ясна [51]. Есть данные, указывающие на его связь с метастазированием, инвазией, пролиферацией клеток РМЖ.

Аннексин A7 (ANX7) — белок семейства кальций- и фосфолипидсвязывающих белков. Он имеет широкий спектр клеточных функций, которые включают деление и рост клеток, апоптоз, регуляцию кальциевой сигнализации. Многие исследования показали, что экспрессия гена *ANX7* изменяется в опухолевой ткани [52]. Обнаружено, что ген *ANX7* функционально связан с РМЖ, регулирует гормональный рецепторный статус опухоли и ассоциирован с плохим прогнозом РМЖ.

Среди потенциальных мишеней для направленной терапии интерес представляют белки-цитокератины KRT8/KRT18, которые дифференциально экспрессированы в опухолевой ткани молочной железы человека [53]. В ряде исследований обнаружено, что высокий уровень экспрессии *KRT18* в опухолевых клетках коррелирует со снижением инвазивности и отсутствием туморогенности опухолевых клеток в экспериментах на животных [54, 55]. Экспрессия гена *KRT18* стимулирует и запускает процесс редифференцировки злокачественных опухолевых клеток, возвращая их в функциональное исходное состояние эпителия молочной железы, что сопровождается заметным снижением метастатической активности опухолевых клеток [56].

Первым шагом в метастазировании является отделение клетки от когерентного эпителиального

слоя, После чего клетка должна достигнуть стенки сосуда и вторгнуться в сосудистую систему, чтобы успешно метастазировать. Это происходит только в случае, если архитектура цитоскелета является гибкой и пластически деформируемой. Промежуточные филаменты вносят решающий вклад в механическую прочность клетки. Если они состоят из виментина, клетка приобретает гибкость, мезенхимальный фенотип и становится фибробластоподобной. Кератины, с другой стороны, делают клеточный каркас жестким в соответствии с их функцией в эпителии. Замена виментина на кератин через KRT18-трансфекцию препятствует подвижности клетки и ее способности проникать через эндотелий сосудов [57]. Основываясь на результатах предыдущих авторов и данных собственного исследования, можно сделать вывод, что экспрессия KRT18 приводит к редифференцировке опухолевых клеток, возвращая их к исходному фенотипу эпителия молочной железы.

В перспективе регулирование KRT18 с помощью биологических модуляций или подходов генной терапии может быть использовано в качестве новой стратегии лечения РМЖ [58]. На сегодняшний день такие разработки ведутся и апробируются в экспериментальных условиях.

Заключение

В настоящее время протеомные исследования приобретают направленный характер, изучается не просто протеом опухолевой клетки, а конкретные сигнальные пути, ассоциированные с метастазированием РМЖ. По нашему мнению, исследование каскада белковых сигнальных путей, ассоциированных с метастазированием, является перспективным направлением в онкологии. Оно позволит идентифицировать новые потенциальные мишени и диагностические маркеры РМЖ для использования персонализированной терапии в будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. Вестн РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2011;22(3):172.
2. Шевченко В.Е., Таипов М.А., Ковалев С.В. и др. Картирование протеома лизата линии опухолевых клеток MCF-7 для идентификации потенциальных маркеров рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2012;(2):4–11.
3. Шевченко В.Е., Хасуева М., Поддубная И.В. и др. Масс-спектрометрическое профилирование низкомолекулярного протеома плазмы крови для обнаружения потенциальных маркеров рака молочной железы. Вестн РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2011;22(3):27–33.
4. Шевченко В.Е., Таипов М.А., Ковалев С.В. и др., Анализ белков, ассоциированных с экспрессией циклооксигеназы-2 и биосинтезом PGE2 в клетках рака молочной железы с разным метастатическим потенциалом. Опухоли женской репродуктивной системы 2012;(3–4):19–29.
5. Dhakal H.P., Naume B., Synnestevedt M. et al. Expression of cyclooxygenase-2 in invasive breast carcinomas and its prognostic impact. *Histol Histopathol* 2012;27(10):1315–25.
6. Sui W., Zhang Y., Wang Z. et al. Antitumor effect of a selective COX-2 inhibitor, celecoxib, may be attributed to angiogenesis inhibition through modulating the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 pathway in an H22 murine hepatocarcinoma model. *Oncol Rep* 2014;31(5):2252–60.
7. Aka J.A., Lin S.X. Comparison of Functional Proteomic Analyses of Human Breast Cancer Cell Lines T47D and MCF7. *PLoS One* 2012;7(2):e31532.
8. Alo P.L., Visca P., Trombetta G. Fatty acid synthase (FAS) predictive strength in poorly differentiated early breast carcinomas. *Tumori* 1999;85(1):35–40.
9. Quanri J., Yuan L.X., Boulbes D. et al. Fatty acid synthase phosphorylation: a novel therapeutic target in HER-2-overexpressing breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2010;12(6):R96.
10. Ishimura N., Amano Y., Sanchez-Siles A.A. et al. Fatty acid synthase expression in Barrett's esophagus: implications for carcinogenesis. *J Clin Gastroenterol* 2011;45(8):665–72.
11. Hix L.M., Karavitis J., Khan M.W. et al. Tumor STAT1 transcription factor activity enhances breast tumor growth and immune suppression mediated by myeloid-derived suppressor cells. *J Biol Chem* 2013;288(17):11676–88.
12. Amoroso M.R., Matassa D.S., Laudiero G. et al. TRAP1 and the proteasome regulatory particle TBP7/Rpt3 interact in the endoplasmic reticulum and control cellular ubiquitination of specific mitochondrial proteins. *Cell Death Differ* 2012;19(4):592–604.
13. Aust S., Bachmayr-Heyda A., Pateisky P. et al. Role of TRAP1 and estrogen receptor alpha in patients with ovarian cancer – a study of the OVCAD consortium. *Mol Cancer* 2012;11:69.
14. Frasar J., Weaver A.E., Pradhan M., Mehta K. Synergistic up-regulation of prostaglandin E synthase expression in breast cancer cells by 17 beta-estradiol and proinflammatory cytokines. *Endocrinology* 2008;149(12):6272–9.
15. Lee J.J., Natsuizaka M., Ohashi S. et al. Hypoxia activates the cyclooxygenase-2–prostaglandin E synthase axis. *Carcinogenesis* 2010;31(3):427–34.
16. Simpson N.E., Lambert W.M., Watkins R. et al. High levels of Hsp90 cochaperone p23 promote tumor progression and poor prognosis in breast cancer by increasing lymph node metastases and drug resistance. *Cancer Res* 2010;70(21):8446–56.
17. Tanioka T., Nakatani Y., Semmyo N. et al. Molecular identification of cytosolic prostaglandin E2 synthase that is functionally coupled with cyclooxygenase-1 in immediate prostaglandin E2 biosynthesis. *J Biol Chem* 2000;275(42):32775–82.
18. Wang T.H., Chao A., Tsai C.L. et al. Stress-induced phosphoprotein 1 as a secreted biomarker for human ovarian cancer promotes cancer cell proliferation. *Mol Cell Proteomics* 2010;9(9):1873–84.
19. Carper S.W., Rocheleau T.A., Storm F.K. cDNA sequence of a human heat shock protein HSP27. *Nucleic Acids Res* 1990;18(21):6457.
20. Kang S.H., Kang K.W., Kim K.H. et al. Upregulated HSP27 in human breast cancer cells reduces Herceptin susceptibility by increasing Her-2 protein stability. *BMC Cancer* 2008;8:286.
21. Grzegorzolka J., Kurnol K., Piotrow P. et al. Hsp-27 expression in invasive ductal breast carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2012;50(4):527–33.
22. Cayado-Gutiérrez N., Moncalero V.L., Rosales E.M. et al. Downregulation of Hsp27 (HSPB1) in MCF-7 human breast cancer cells induces upregulation of PTEN. *Cell Stress Chaperones* 2013;18(2):243–9.

23. Sims J.T., Ganguly S.S., Bennett H. et al. Imatinib reverses doxorubicin resistance by affecting activation of STAT3-dependent NF- κ B and HSP27/p38/AKT pathways and by inhibiting ABCB1. *PLoS One* 2013;8(1):e55509.
24. Niemantsverdriet M., Wagner K., Visser M., Backendorf C. Cellular functions of 14-3-3 zeta in apoptosis and cell adhesion emphasize its oncogenic character. *Oncogene* 2008;27(9):1315–9.
25. Lu J., Guo H., Treekitkarnmongkol W. et al. 14-3-3zeta Cooperates with ErbB2 to promote ductal carcinoma in situ progression to invasive breast cancer by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell* 2009;16(3):195–207.
26. Neal C.L., Yao J., Yang W. et al. 14-3-3zeta overexpression defines high risk for breast cancer recurrence and promotes cancer cell survival. *Cancer Res* 2009;69(8):3425–32.
27. Neal C.L., Xu J., Li P. Overexpression of 14-3-3zeta in cancer cells activates PI3K via binding the p85 regulatory subunit. *Oncogene* 2012;31(7):897–906.
28. Keum Y.S., Kim H.G., Bode A.M. et al. UVB-induced COX-2 expression requires histone H3 phosphorylation at Ser10 and Ser28. *Oncogene* 2013;32(4):444–52.
29. Qi W., Liu X., Chen W. et al. Overexpression of 14-3-3gamma causes polyploidization in H322 lung cancer cells. *Mol Carcinog* 2007;46(10):847–56.
30. Jin Y.H., Kim Y.J., Kim D.W. et al. Sirt2 interacts with 14-3-3 beta/gamma and down-regulates the activity of p53. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;368(3):690–5.
31. Radhakrishnan V.M., Martinez J.D. 14-3-3gamma induces oncogenic transformation by stimulating MAP kinase and PI3K signaling. *PLoS One* 2010;5(7):e11433.
32. Li Y., Inoki K., Yeung R. Guan K.L. Regulation of TSC2 by 14-3-3 binding. *J Biol Chem* 2002;277(47):44593–6.
33. Chen H., Liu L., Ma B. et al. Protein kinase A-mediated 14-3-3 association impedes human dapper1 to promote dishevelled degradation. *J of Biol Chem* 2011;286(17):14870–80.
34. Zhang H., Cicchetti G., Onda H. et al. Loss of Tsc1/Tsc2 activates mTOR and disrupts PI3K-Akt signaling through downregulation of PDGFR. *J Clin Invest* 2003;112(8):1223–33.
35. Inoki K., Li Y., Zhu T. et al. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002;4:648–57.
36. Wu K.K., Liou J.Y. Cyclooxygenase inhibitors induce colon cancer cell apoptosis via PPARdelta – > 14-3-3epsilon pathway. *Methods Mol Biol* 2009;512:295–307.
37. Moreira J.M., Shen T., Ohlsson G. et al. A combined proteome and ultrastructural localization analysis of 14-3-3 proteins in transformed human amnion (AMA) cells: definition of a framework to study isoform-specific differences. *Mol Cell Proteomics* 2008;7(7):1225–40.
38. Hodgkinson V.C., Agarwal V., ELFadl D. et al. Pilot and feasibility study: comparative proteomic analysis by 2-DE MALDI TOF/TOF MS reveals 14-3-3 proteins as putative biomarkers of response to neoadjuvant chemotherapy in ER-positive breast cancer. *J Proteomics* 2012;75(9):2745–52.
39. Desai K.V. S100A6 as a biomarker in human breast cancer. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2005;46:448.
40. Al-Haddad S., Zhang Z., Leygue E. et al. Psoriasis (S100A7) expression and invasive breast cancer. *Am J Pathol* 1999;155(6):2057–66.
41. Moon A., Yong H.Y., Song J.I. et al. Global gene expression profiling unveils, S100A8/A9 as candidate markers in H-ras-mediated human breast epithelial cell invasion. *Mol Cancer Res* 2008;6(10):1544–53.
42. Li C., Chen H., Ding F. et al. A novel p53 target gene, S100A9, induces p53-dependent cellular apoptosis and mediates the p53 apoptosis pathway. *Biochem J* 2009;422(2):363–72.
43. Zhang J., Guo B., Zhang Y. et al. Silencing of the annexin II gene down-regulates the levels of S100A10, c-Myc, and plasmin and inhibits breast cancer cell proliferation and invasion. *Saudi Med J* 2010;31(4):374–81.
44. Mc Kiernan E., McDermott E.W., Evoy D. et al. The role of S100 genes in breast cancer progression. *Tumour Biol* 2011;32(3):441–50.
45. Han C., Zhang H.T., Du L. et al. Serum levels of leptin, insulin, and lipids in relation to breast cancer in china. *Endocrine* 2005;26(1):19–24.
46. Søiland H., Skaland I., Janssen E.A. et al. Comparison of apolipoprotein D determination methods in breast cancer. *Anticancer Res* 2008;28(2B):1151–60.
47. Zelco I.N., Mariani T.J., Folz R.J. Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution and expression. *Free Radic Biol Med* 2002;33(3):337–49.
48. Rinaldi S., Peeters P.H., Berrino F. et al. IGF-I, IGFBP-3 and breast cancer risk in women: The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Endocr Relat Cancer* 2006;13(2):593–605.
49. Osborne J.R., Port E., Gonen M. et al. 18F-FDG PET of locally invasive breast cancer and association of estrogen receptor status with standardized uptake value: microarray and immunohistochemical analysis. *J Nucl Med* 2010;51(4):543–9.
50. Vasseur S., Afzal S., Tardivel-Lacombe J. DJ-1/PARK7 is an important mediator of hypoxia-induced cellular responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(4):1111–6.
51. Verjans E., Noetzel E., Bektas N. et al. Dual role of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human breast cancer. *BMC Cancer* 2009;9:230.
52. Leighton X., Srikantan V., Pollard H.B. et al. Significant allelic loss of ANX7 region (10q21) in hormone receptor negative breast carcinomas. *Cancer Lett* 2004;210(2):239–44.
53. Walker L.C., Harris G.C., Holloway A.J. Cytokeratin KRT8/18 expression differentiates distinct subtypes of grade 3 invasive ductal carcinoma of the breast. *Cancer Genet Cytogenet* 2007;178(2):94–103.
54. Bühler H., Schaller G. Transfection of keratin 18 gene in human breast cancer cells causes induction of adhesion proteins and dramatic regression of malignancy in vitro and in vivo. *Mol Cancer Res* 2005;3(7):365–71.
55. Schaller G., Fuchs I., Pritze W. et al. Elevated keratin 18 protein expression indicates a favorable prognosis in patients with breast cancer. *Clin Cancer Res* 1996;2:1879–85.
56. Mulligan A.M., Pinnaduwa D., Bane A.L. et al. CK8/18 expression, the basal phenotype, and family history in identifying BRCA1-associated breast cancer in the Ontario site of the breast cancer family registry. *Cancer* 2011;117(7):1350–9.
57. Ha S.A., Lee Y.S., Kim H.K. et al. The prognostic potential of keratin 18 in breast cancer associated with tumor dedifferentiation, and the loss of estrogen and progesterone receptors. *Cancer Biomark* 2011;10(5):219–31.
58. Meng Y., Wu Z., Yin X. et al. Keratin 18 attenuates estrogen receptor alpha-mediated signaling by sequestering LRP16 in cytoplasm. *BMC Cell Biol* 2009;(10):96.