

## Протеомные исследования, направленные на поиск маркеров рака молочной железы (обзор литературы)

М.А. Таипов, З.Н. Никифорова, В.Е. Шевченко

ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»; Россия, 115201, Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Марат Азатович Таипов [taipoff.m@yandex.ru](mailto:taipoff.m@yandex.ru)

Злокачественные новообразования молочной железы занимают лидирующее место в структуре онкологических заболеваний женщин в мире. Используемые в настоящее время методы инструментальной диагностики рака молочной железы (РМЖ) и связанные с ними диагностические процедуры не являются совершенными. Общим ограничением инструментальных методов является неоднозначность интерпретации результатов, связанная с многообразием индивидуальных особенностей строения и морфологией молочной железы. Необходимы поиски новых методов диагностики и онкомаркеров, обладающих высокой специфичностью, чувствительностью, низкой стоимостью и позволяющих выявлять ранние стадии развития опухолевого процесса. По нашему мнению, перспективным и актуальным направлением в онкологии представляется поиск биомаркеров РМЖ. Масс-спектрометрические методы используются для обнаружения и идентификации протеомных маркеров в крови, биологических жидкостях, опухолевой ткани, лизатах и секретах линий опухолевых клеток. Современное использование высокотехнологичных протеомных и масс-спектрометрических методов исследования ориентировано на анализ биологических жидкостей и крови в целях идентификации новых биомаркеров. Действительно, анализ крови на биомаркеры не требует материала, полученного непосредственно из опухолевой ткани, а значит, не зависит от локализации опухоли, подразумевает раннее выявление первичных опухолей или вторичных очагов, и востребован в современной клинической практике врача-онколога. Представленный обзор посвящен анализу современных методов диагностики и оценки эффективности проводимой терапии РМЖ с использованием протеомных маркеров и самых последних достижений клинической онкопротеомики.

**Ключевые слова:** проблемы диагностики, рак молочной железы, протеомика, масс-спектрометрия, биомаркеры, прогностические маркеры, метастазирование, онкология, клиническая онкопротеомика, скрининг

DOI: 10.17650/1994-4098-2015-11-2-8-18

### Proteomic studies searching for breast cancer markers: a review of literature

M.A. Taipov, Z.N. Nikiforova, V.E. Shevchenko

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115201, Russia

Breast malignancies hold the lead in the pattern of cancers among women worldwide. Currently used methods for the instrumental diagnosis of breast cancer (BC) and their related diagnostic procedures are not sophisticated. The common constraint of instrumental techniques is the ambiguity of results interpretation that is associated with a diversity of individual characteristics of the structure and morphology of the breast. There is a need to search for novel diagnostic methods and oncomarkers, which are highly specific, highly sensitive, and inexpensive and able to reveal early stages in tumor development. In our opinion, a search for BC biomarkers is a promising and relevant area in oncology. Mass spectrometric methods are used to detect and identify proteomic markers in blood, biological fluids, tumor tissue, lysates, and secretomes of cancer cell lines. State-of-the-art high tech proteomics and mass spectrometric studies are oriented to the analysis of biological fluids and blood in order to identify new biomarkers. It is really that a blood test does not require any material obtained directly from tumor tissue and hence it is independent of the site of a tumor, implies the early detection of primary tumors or secondary foci, and is required by a medical oncologist in current clinical practice. The given review deals with the analysis of current methods to diagnose BC and to evaluate the efficiency of its therapy, by applying proteomic markers and the latest advances in clinical oncoproteomics.

**Key words:** diagnostic problems, breast cancer, proteomics, mass spectrometry, biomarkers, prognostic markers, metastasis, oncology, clinical oncoproteomics, screening

#### Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно в мире выявляется более 1,38 млн новых случаев рака молочной железы (РМЖ) и 460 тыс. смертей от него [1]. В России РМЖ занимает 1-е место по показателям заболеваемости (20 %) и смертности (17,3 %) среди злокачественных новообразований у жен-

щин в возрасте 40–85 лет [2]. Заболеваемость РМЖ неуклонно растет, несмотря на снижение смертности от данной патологии благодаря оперативному лечению и системной химиотерапии. Это важнейшая медицинская и социальная проблема современного общества.

Актуальной задачей является поиск и идентификация высокочувствительных и специфичных биомар-

керов РМЖ для скрининга, диагностики доклинических форм заболевания, оценки эффективности проводимой терапии, уменьшения риска возникновения рецидивов и метастазов. Ни один из используемых в настоящее время в клинической практике биомаркеров РМЖ – рецепторы эстрогенов (ER), рецепторы прогестерона (PR), HER-2 [3], CA-15-3, Ki-67 – не является надежным маркером прогноза и мониторинга течения заболевания [4].

Наш обзор посвящен современным диагностическим методам исследования и проблемам поиска новых прогностических маркеров для оценки эффективности химиотерапии РМЖ.

### Современные методы и проблемы диагностики рака молочной железы

Основным методом диагностики РМЖ является маммография, позволяющая с достоверностью 80–96 % выявить новообразования размером более 10 мм в диаметре. Маммография проводится ежегодно в профилактических целях всем женщинам старше 40 лет. Чувствительность и специфичность маммографии увеличиваются с возрастом. Эти показатели выше у женщин в возрасте 50–59 лет (84 и 91 % соответственно) и 60–69 лет (85 и 92 % соответственно), чем у женщин в возрасте 40–49 лет (77 и 89 % соответственно) [5].

Однако, несмотря на высокую эффективность маммографии, метод не дает возможности дифференцировать кистозные и солидные образования, менее чувствителен для обнаружения рака *in situ*, инвазивных лобулярных карцином и диффузных опухолей [6].

К недостаткам рентгенологического метода можно отнести трудности диагностики пальпируемых злокачественных новообразований (до 40 % ложноотрицательных результатов) у молодых женщин, что объясняется большей плотностью молочной железы и, как следствие, меньшей вероятностью обнаружения мелких и плотных очагов роста новообразования.

В последнее время широкое распространение у молодых женщин в возрасте до 35 лет получил метод ультразвукового исследования (УЗИ), способный отличить более плотную ткань опухоли от окружающей нормальной ткани. Однако в процессе диагностики участки жировой инволюции могут быть ошибочно приняты за патологические структуры, что увеличивает риск получения ложноположительных результатов, которые в свою очередь могут быть связаны с тем, что не все формы РМЖ визуализируются этим методом.

С помощью УЗИ невозможно выявлять микрокальцинаты опухоли, которые могут встречаться при раке в 42–50 % случаев. По данным клинических исследований, чувствительность УЗИ в выявлении РМЖ составила 92 %, специфичность – 65 % [6]. По-

казано, что чувствительность метода была прямо пропорциональна размеру выявляемого очага и обратно пропорциональна количеству жировой ткани в молочной железе. Считается, что ложноотрицательные результаты ранних опухолей молочной железы при УЗИ могут достигать 60 % [7].

Широкое распространение в последнее время получил метод соноэластографии, который позволяет более успешно дифференцировать злокачественные и доброкачественные новообразования молочной железы (чувствительность 75 %, специфичность 81 %). Метод является достоверно более чувствительным по сравнению с маммографией при выявлении РМЖ на фоне кистозной формы мастопатии: 93 % против 40 % (при размере новообразования более 20 мм) [7].

Одним из новых методов обследования молочных желез является магнитно-резонансная томография, позволяющая дифференцировать доброкачественные и злокачественные опухоли с чувствительностью 94 % и специфичностью 65 %, оценить размер и локализацию любого патологического образования более 5 мм в диаметре [8]. Однако метод не подходит для диагностики метастатических поражений лимфатических узлов, что связано в первую очередь с отсутствием в массовой практике катушек, которые бы обеспечивали одновременно возможность естественной визуализации молочных желез в положении лежа на животе и в то же время – визуализацию структур подмышечных впадин и грудной клетки [9].

Использование в клинике низкопольной магнитно-резонансной томографии с контрастированием позволяет с большей (по сравнению с маммографией и ультразвуковым исследованием) чувствительностью (93 %) и специфичностью (89 %) дифференцировать доброкачественные и злокачественные поражения молочных желез. Данный метод помогает оценить размер и локализацию любого патологического образования более 7 мм в диаметре, а также достоверно выявить опухолевые поражения лимфатических узлов размером более 5 мм [10].

### Цитологическое исследование рака молочной железы

Недостаточная специфичность вышеописанных методов требует выполнения инвазивной диагностической процедуры – забора образца ткани и его исследования методами микроскопического анализа. Достоверность цитологического исследования образцов злокачественных новообразований молочной железы, полученных с помощью пункционной тонкоигольной аспирационной биопсии под пальцевым контролем, составляет 44 %, под контролем УЗИ – 72 % [10]. Отрицательные результаты цитологического исследования, несмотря на точное попадание иглы в новообразование, могут быть связаны с примесью форменных элементов крови в анализируемом образце; недостаточным количеством забранного материала (при вы-

сокой плотности узла или высоком удельном весе соединительной ткани в структуре опухоли); забором материала из зон некроза. Отрицательный результат тонкоигольной аспирационной биопсии и биопсии режущей иглой под УЗИ-контролем не говорит об отсутствии злокачественной опухоли и не может быть использован как показатель отрицательного прогноза.

### **Применение новых протеомных технологий и методов в онкологии**

Развитие клинической протеомики связано с внедрением в клиническую практику и использованием различных высокотехнологичных методов: иммуноферментный анализ (ELISA), двумерный гель-электрофорез (2DE), дифференциальный электрофорез в геле (DIGE), полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени (или количественная ПЦР), времяпролетная масс-спектрометрия (МС) с усиленной поверхностной 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) [11].

Метод МС позволяет идентифицировать атомы, входящие в состав молекулы, структуру их расположения и изотопный состав, а также массу молекулы. Различают несколько модификаций МС: мягкая матриксная ионизация (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI) позволяет анализировать такие биополимеры, как полисахара, пептиды и макромолекулы, без риска повредить их структуру. Ионизация производится лазерным пучком, а матрикс используется для защиты молекул от разрушающего действия лазера.

Тандемная МС проводится на приборе, который объединяет несколько анализаторов, позволяющих последовательно изолировать один пептид, стабилизировать составляющие его ионы и идентифицировать фрагменты. Используется в идентификации белковых пятен после 2DE [12].

Широкое применение получили методы, обладающие большей эффективностью, информативностью и чувствительностью, такие как микросеквенирование белков, высокоэффективная жидкостная хроматография, МС, а также использование белковых чипов с различными типами детекции, таких как SELDI protein chip.

### **Перспективные маркеры рака молочной железы**

Идентификация маркеров РМЖ является перспективным направлением в медицине, однако исследователи столкнулись с проблемой гетерогенности данного заболевания и вариабельностью белков в плазме крови человека. На основании экспрессии ER, PR, HER-2/neu и молекулярного профилирования РМЖ разделен на 4 подтипа: люминальный А, люминаль-

ный В, HER-2/neu-позитивный и базальноподобный, что создает дополнительные проблемы при идентификации маркеров. Используемые в клинической практике иммуногистохимические и биохимические маркеры имеют диагностическое значение при уже сформировавшейся опухоли, которая секретирует в кровь достаточное для измерения количество антигенов, основной областью применения этих маркеров является мониторинг онкологического заболевания и оценка эффективности противоопухолевой терапии. Недостатком иммуногистохимических и биохимических маркеров является то, что они встречаются в небольших количествах в норме и при неонкологических заболеваниях, что приводит к ложноположительным результатам и тем самым уменьшает их диагностическую ценность.

### **Особенности работы с биологическими образцами**

Биологические жидкости, такие как плазма крови, легко собираются практически неинвазивным способом, и поэтому широко используются в клинической практике. Однако широкий динамический диапазон концентраций белков и преобладание в плазме высокопредставленных белков создают трудности для анализа и идентификации низкопредставленных белков, к которым относятся маркеры РМЖ. В качестве альтернативы для поиска маркеров РМЖ используются образцы опухолевой ткани. Несмотря на относительно простой способ их получения, биомаркеры, найденные в ткани, в отличие от маркеров биологических жидкостей трудно использовать в качестве рутинного клинического теста. Кроме того, в протеомах тканей преобладают структурные клеточные белки, которые должны быть удалены еще до анализа. Необходимо учитывать то, что ткани молочной железы не однородны, а типы клеток в пределах одного образца очень вариабельны.

Таким образом, для успешного протеомного анализа тканей репродуктивных органов требуется тщательный выбор образца и стратегии фракционирования белков. При использовании биопсийного и операционного материалов в качестве источника биомаркеров необходимо учитывать их зависимость от стадии заболевания и гетерогенность опухолевой ткани, которая состоит из опухолевых клеток, компонентов стромы, воспалительных инфильтратов, участков некроза. В ряде исследований в последнее время все чаще используются модельные системы – культуры клеток человека, которые удобны тем, что позволяют получать и анализировать полные протеомы и секретомы опухолевых клеток.

Проанализировав большое количество источников литературы, мы выделили группу диагностических, прогностических маркеров, а также маркеров чувствительности и резистентности к терапии (табл. 1, 2).

## Маркеры, идентифицированные в крови

В настоящее время идентифицировано большое количество циркулирующих в крови перспективных протеомных маркеров РМЖ: гаптоглобин- $\alpha 1$ , трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ), интерлейкин-8 (IL-8), IL-6, компонент комплемента C3a, трансферрин, аполипопротеины AI и CI, богатый гистидином гликопротеин и др. (см. табл. 1). Интересно отметить, что большинство идентифицированных белков не являются продуктом опухолевых клеток, а относятся к неспецифическим белкам воспаления. Вопрос о том, насколько могут быть применимы такие белки для онкодиагностики, является предметом острой дискуссии.

Количество биомаркеров, используемых врачами в своей клинической практике и рекомендуемых международными организациями для диагностики и мониторинга, весьма ограничено.

Раковый эмбриональный антиген (РЭА) представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 175–200 кДа. В норме сывороточный уровень РЭА не превышает 3 нг/мл. Повышенная концентрация этого антигена в крови наблюдается у 30–50 % больных при карциномах молочной железы. Очень высокие начальные концентрации РЭА до оперативного лечения могут указывать на метастазирование в регионарные лимфатические узлы.

Раковый антиген 15-3 (CA-15-3) представляет собой муциноподобный гликопротеин с молекулярной массой 300 кДа. Этот маркер используется для обнаружения и мониторинга течения РМЖ, контроля над эффективностью противоопухолевой терапии, выявления рецидива (часто в комбинации с РЭА). Границы нормы: не выше 28 Ед/мл у здоровых небеременных женщин. Повышенные концентрации CA-15-3 обнаруживаются при карциноме молочной железы (10 % случаев при I стадии заболевания, 20 % – при II стадии, 40 % – при III стадии, 75 % – при IV стадии), в то время как при доброкачественных новообразованиях молочной железы его концентрация не увеличивается. В результате тестирования 535 пациентов с опухолями различных локализаций было показано, что наибольший процент повышенной концентрации данного маркера (74 %) выявлялся у больных с метастатическим РМЖ, в то время как при локализованном РМЖ – всего в 16 %.

Специфичность дифференциальной диагностики злокачественных опухолей с использованием обоих маркеров относительно доброкачественных заболеваний молочной железы составляет 95 %, однако это не приводит к повышению чувствительности, которая составляет 31 % для первичной диагностики и 71 % в случае диагностики метастазирующей карциномы молочной железы.

В ряде исследований, проведенных V. Ivanovi et al. [13], было показано, что уровни TGF- $\beta 1$  значительно

повышены ( $p < 0,05$ ) в плазме крови больных с III–IV стадиями РМЖ (среднее значение: 2,40 нг/мл, диапазон: 0,13–8,48 нг/мл,  $n = 44$ ) по сравнению со здоровыми донорами (среднее значение: 1,30 нг/мл, диапазон: 0,41–4,93 нг/мл,  $n = 36$ ). Было обнаружено, что уровень TGF- $\beta 1$  в плазме крови не зависит от массы опухоли, наличия отдаленных метастазов, гистологического типа, гормональных рецепторов, возраста больных РМЖ. Это говорит о том, что TGF- $\beta 1$  может быть перспективным прогностическим маркером для больных РМЖ на поздних стадиях [13].

Увеличить специфичность протеомных маркеров РМЖ позволит, по-видимому, исследование белкового спектра циркулирующих в крови экзосом опухолевого происхождения. В наиболее строгой формулировке термин «экзосома» относится к мембранным частицам эндоцитозного происхождения размером 30–100 нм, которые образуются в результате слияния мультивезикулярных тел с плазматической мембраной.

Состав белков экзосом во многом отражает их происхождение из эндосом и несколько различается в зависимости от типа клеток, из которых они происходят. По данным литературы, 1 мкл крови содержит около 3 млн экзосом, в каждую из которых входит около сотни белков, РНК (матричная РНК из приблизительно 1300 генов и около 100 различных микроРНК) и липиды, при этом белки экзосом составляют менее 0,01 % общего протеома плазмы. Знания о белковом составе экзосом постоянно пополняются и депонируются в базе данных ExoCarta ([www.exocarta.org](http://www.exocarta.org)), на сегодняшний день известно о существовании 4653 экзосомальных белков.

С помощью протеомного анализа культуральной среды клеток MDA-MB-231 (РМЖ) были идентифицированы 179 белков, 32 из которых выявлялись только в экзосомах. Авторы распределили эти белки на 7 функциональных групп: белки цитоскелета, регуляторы запрограммированной клеточной смерти, клеточного цикла, сигнальные белки, белки ответа на оксидативный стресс, адгезии и клеточного движения. Среди идентифицированных экзосомальных белков были выявлены 14-3-3-е и PDC61 – регуляторы пролиферации, клеточного цикла и запрограммированной смерти [14].

## Маркеры, идентифицированные в опухолевой ткани

Среди обнаруженных протеинов рассмотрим группу опухолевых тканевых маркеров – наиболее важных маркеров неблагоприятных прогностических факторов развития метастатических форм РМЖ (см. табл. 1).

Было выявлено, что высокие уровни экспрессии COX-2 в опухолевой ткани коррелируют с негативным прогнозом и метастазированием клеток РМЖ [15], а сигнальный каскад COX-2, по данным литературы, регулирует ангиогенез и лимфангиогенез в опухолевой ткани [16].

Есть сведения об идентификации некоторых белков, вовлеченных в процессы опухолевой прогрессии, инвазии и метастазирования РМЖ, среди них: белок теплового шока  $\beta$ -1 (участвует в стрессоустойчивости), prohibitin (участвует в пролиферации клеток), chromobox protein homolog 3 (участвует в регуляции транскрипции), катепсин D (участвует в протеолизе) и Hsp27 [17].

По данным ряда авторов, белки Hsp27, Hsp40, Hsp70 и Hsp90 являются потенциальными мишенями для биотерапии направленного действия [16–20]. Протеин Hsp27 является маркером опухолевого роста и метастазирования и перспективной мишенью для терапии направленного действия [18]. Белок Hsp27  $\beta$ -1 (HspB1) кодируется геном *HspB1*. Основная функция этого белка — поддержка выживаемости клеток в условиях стресса. Обнаружено, что уровень содержания белка Hsp27 повышается в плазме крови у больных РМЖ. Таким образом, Hsp27 может быть потенциальным диагностическим маркером РМЖ. Белок Hsp27 подавляет апоптоз и повышает выживаемость опухолевых клеток в условиях стресса, тем самым увеличивая их метастатический потенциал. Более специализированные функции Hsp27 многообразны и сложны. Протеин Hsp27 повышает активацию NF- $\kappa$ B-пути, который контролирует многие внутриклеточные процессы. Белок Hsp27 индуцирует экспрессию COX-2 и стимулирует образование PGE<sub>2</sub>, 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 доксорубину [19]. Высокие уровни экспрессии Hsp27, возможно, находятся в обратной связи с пролиферацией клеток, метастазированием и устойчивостью к химиотерапии. Hsp27 — перспективная мишень для противоопухолевой таргетной терапии РМЖ. Изучая уровни экспрессии Hsp27, можно оценивать эффективность проводимой химиотерапии.

Обнаружена роль комплекса Hsp90 в метастазировании РМЖ и развитии резистентности опухолевых клеток к химиотерапии [18]. Доказано, что p23 дифференциально регулирует гены-мишени *PMP22*, *ABCC3*, *AGR2*, *Sox3*, *TM4SF1* и *p8 (NUPR1)*, контролируемые процессы метастазирования и химиорезистентности опухолевых клеток [19]. Белок аденозинтрифосфатзависимый транспортер *ABCC3* связан с устойчивостью к химиотерапевтическим препаратам этопозиду и доксорубину в MCF-7 и клетках 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 PGE<sub>2</sub> из экзогенной и эндогенной арахидоновой кислоты.

Таким образом, функциональные связи между COX-1 и cPGES/p23 направлены на производство PGE<sub>2</sub>, который играет важную роль в поддержании тканевого гомеостаза опухолевых клеток [20]. Ген *PTGES3* дифференциально экспрессируется в опухолевых клетках молочной железы [21], а протеин p23 является потенциальным биомаркером РМЖ.

Протеин TRAP1 принадлежит к семейству Hsp90 и кодируется геном *TRAP1*, который дифференциально экспрессирован в опухолевых клетках молочной железы. Белок TRAP1 регулирует процессы клеточной дифференцировки и активации апоптоза, контролирует образование рецепторов к TNF- $\alpha$  и связан с регуляцией сигнального каскада COX-2 и метастазированием РМЖ. В работе S. Aust et al. показано, что TRAP1 регулирует апоптоз и индуцирует образование ER- $\alpha$  в опухолевых клетках при раке яичников (РЯ) и является новым потенциальным биомаркером РМЖ и РЯ [22].

Из группы белков теплового шока идентифицирован стресс-индуцируемый фосфопротеин 1 (STIP1), который представляет собой 62,6-кДа белок. Протеин STIP1 модулирует деятельность белков теплового шока, действуя в качестве адаптера, который направляет Hsp90 к Hsp70-мишеням белковых комплексов в цитоплазме. STIP1 участвует в РНК-сплайсинге, транскрипции, сворачивании белков, передаче сигнала и регуляции клеточного цикла. Протеин STIP1 идентифицирован как потенциальный биомаркер РЯ и РМЖ [23].

Особый интерес представляет также протеин STAT1, кодируемый геном *STAT1*, который дифференциально экспрессирован при РМЖ. Белок STAT1 связан с регуляцией каскада COX-2 и является маркером метастатической активности опухолевых клеток РМЖ. По данным G. Vonnucelli et al. [24], протеин STAT1 связан с регуляцией метастатической активности опухолевых клеток и является потенциальным биомаркером РМЖ.

По результатам различных исследователей обнаружено, что *FASN* является маркером опухолевого роста и метастазирования [25]. Подавление гена *FASN* приводило к значительному снижению экспрессии HER-2 в клетках РМЖ. Снижение экспрессии *FASN* усиливало положительный эффект трастузумаба в экспериментальных моделях с гиперэкспрессией HER-2 [26]. Особый интерес представляет ферментный комплекс FAS (fatty acid synthase), кодируемый геном *FASN*. Обнаружена корреляция повышенной экспрессии гена *FASN* с активацией сигнального пути COX-2 в клетке. Повышение уровня экспрессии *FASN* в сочетании с высоким пролиферативным индексом Ki-67 (> 17 %) в опухолевых клетках коррелирует с неблагоприятным прогнозом и развитием метастатических форм РМЖ [27].

Из группы потенциальных мишеней для терапии РМЖ определенный интерес представляют белки се-

мейства 14-3-3 (изоформы  $\gamma$ ,  $\zeta$ , d) – регуляторы апоптоза, клеточного цикла и сигнальной трансдукции [28]. Протеин 14-3-3 $\zeta$  регулирует различные сигнальные пути в клетке и опосредованно стимулирует экспрессию COX-2 [29]. Протеин 14-3-3 $\zeta$  регулирует механизмы клеточной адгезии, блокирует апоптоз [30] неопластических клеток и связан с регуляцией эпителиально-мезенхимального перехода [31]. Обнаружено, что уровень экспрессии этого белка возрастает при РМЖ [32]. Гиперэкспрессия 14-3-3 $\zeta$  связана с высоким риском рецидива заболевания у оперированных больных РМЖ, а также является важным узлом в сети митогенных сигналов и способствует росту злокачественной опухоли [33].

Экспериментально доказано, что уровень экспрессии белка 14-3-3 $\gamma$  достоверно возрастает при РМЖ, являясь негативным регулятором p53 [34]. По мнению ряда авторов, протеин 14-3-3 $\gamma$  можно рассматривать в качестве потенциальной мишени для будущей терапии рака [34].

Протеин 14-3-3 $\beta$  является компонентом Wnt-сигнального пути, который играет ключевую роль в развитии РМЖ. Путь Wnt/ $\beta$ -катенин инициируется Wnt-лигандами, что приводит к накоплению цитозольного  $\beta$ -катенина, который перемещается в ядро и активирует транскрипцию генов-мишеней Wnt. Белок 14-3-3 $\beta$  функционирует в ядре, где он взаимодействует с c-Jun,  $\beta$ -катенином и регулирует Wnt-транскрипцию генамишени. Изменение экспрессии белка 14-3-3 $\beta$  часто обнаруживается в клетках опухоли. Протеин 14-3-3 $\beta$  избыточно экспрессируется при раке предстательной железы, немелкоклеточном раке легкого, мезотелиоме плевры, РМЖ, что коррелирует с активацией сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенин [35]. Белки 14-3-3 $\beta$  и 14-3-3 $\theta$  способны модулировать различные биологические процессы через белок-белковые взаимодействия; 14-3-3 $\beta$ ,  $\zeta$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$  связываются с  $\beta$ -катенином и могут позитивно или негативно регулировать Wnt-путь в клетке.

Протеин 14-3-3 $\epsilon$  является антиапоптотическим белком, так как индуцирует биосинтез PGI<sub>2</sub> в неопластических клетках. Ингибиторы COX-2 подавляют экспрессию 14-3-3 $\epsilon$ . Снижение экспрессии белка 14-3-3 $\epsilon$  приводит к индукции апоптоза и повышает чувствительность опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам [36].

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 $\alpha$ , а также снижает активность протеаз в клетках. Белки S100A6 и S100A4 связаны с метастазированием РМЖ [37]. Белок S100A7 выполняет функции фактора хемо-

таксиса для опухолевых клеток и повышает потенциал клеток РМЖ к метастазированию [38]. Белки S100A8 и S100A9 [39] связаны с регуляцией воспаления и являются важными провоспалительными медиаторами, взаимодействуют с IL-1, фактором некроза опухоли- $\alpha$ , индуцируют метаболизм арахидоновой кислоты и простагландинов [40]. Протеины S100A10 и S100A11 связаны с канцерогенезом, метастазированием и инвазией РМЖ [41]. По данным X.G. Liu et al., протеин S100A11 является новым диагностическим маркером РМЖ [42]. На наш взгляд, для группы белков S100 существует несколько сигнальных путей, посредством которых они реализуют свой онкогенный потенциал [43].

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; SOD3 – это внеклеточная (экстраклеточная) форма. Супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, поэтому SOD играет ключевую роль в антиоксидантной защите организма. Изменение уровня O<sup>-2</sup>• и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 [44].

Инсулиноподобный ростовой фактор I (IGF-I) и IGF, связывающий белок-3 (IGFBP-3), ассоциированы с риском развития РМЖ у женщин в молодом возрасте [45]. Протеин CRABP1 связан с канцерогенезом, метастазированием и прогнозом РЯ и РМЖ [46].

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 [47].

Гиперэкспрессия протеина MIF – фактора, ингибирующего миграцию макрофагов, наблюдается при РМЖ, но его причинная роль в развитии РМЖ не ясна [48]. Есть данные, указывающие на его связь с метастазированием, инвазией и пролиферацией клеток РМЖ.

Аннексин A7 (ANXA7) – белок семейства кальций- и фосфолипидсвязывающих белков. Он имеет широкий спектр клеточных функций, которые вклю-

Таблица 1. Новые протеомные маркеры – неблагоприятные прогностические факторы, экспрессия которых возрастает при прогрессировании РМЖ

Индекс гена	Название белка	Материал для анализа	Диагностический маркер	Прогностический маркер метастазирования	Маркер ответа на терапию
<i>HSP27</i>	HSP27	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [16]	(+) Маркер резистентности к доксорубину, ресвератролу (resveratrol (3,4',5-trans-trihydroxystilbene)) [16]
<i>HSP40, 70, 90</i>	HSP40, 70, 90	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [17–20]	(+) Маркеры резистентности к доксорубину [17–20]
<i>FASN</i>	FASN	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [21–23]	(+) Маркер резистентности к трастузумабу [22]
<i>TRAP1</i>	TNFR, TRAP1	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [24]	–
<i>PGES3</i>	cPGES	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [26]	–
<i>EFP</i>	Efr	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [27]	–
<i>YWHAQ</i>	14-3-3	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [28]	–
<i>S100A11</i>	S100A11	Ткань, кровь	(+) Уровень возрастает при РМЖ [29]	–	–
<i>S100A7</i>	S100A7	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [30]	–
<i>ABL2</i>	c-ABL oncogene 2 non-receptor tyrosine kinase	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [31]	(+) Маркер резистентности к тамоксифену [31]
<i>BAX</i>	BCL2-associated X protein	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [32]	–
<i>ANXA3</i>	Annexin A3	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [33]	–
<i>CALR</i>	CALR	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [34]	Маркер резистентности к доксорубину [34]
<i>BCAR1</i>	BCAR1	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [35]	Маркер резистентности к тамоксифену [35]
<i>BCAR3</i>	BCAR3	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [36]	Маркер резистентности к тамоксифену [36]
<i>BCAR4</i>	BCAR4 (non-protein coding)	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [37]	Маркер резистентности к тамоксифену [37]
<i>KRT19</i>	KRT19	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [38]	(+) Маркер чувствительности к доксорубину [38]
<i>COX-2</i>	COX-2	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [39]	(+) Маркер чувствительности к ингибиторам COX-2 [39]
<i>STAT1</i>	STAT1	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [40]	Маркер резистентности к гормонотерапии антиэстрогенами [40]
<i>CD24</i>	CD24 molecule	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [41]	Маркер резистентности к доксорубину [41]
<i>CDH11</i>	CDH11	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [42]	–
<i>PTGER4</i>	PTGER4	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [43]	Потенциальная мишень для таргетной терапии РМЖ [43]. (+) Маркер чувствительности к ингибиторам COX-2 [43]
<i>TWIST1</i>	TWIST1	Ткань	–	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [44]	(+) Маркер эпителиально-мезенхимального перехода РМЖ [44]

Окончание табл. 1

Индекс гена	Название белка	Материал для анализа	Диагностический маркер	Прогностический маркер метастазирования	Маркер ответа на терапию
<i>FOXC2</i>	FOXC2	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [45]	(+) Маркер эпителиально-мезенхимального перехода РМЖ [45]
<i>ARF</i>	ARF	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [46]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [46]
<i>TBX2/3</i>	TBOX2/3	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [47]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [47]
<i>CD44</i>	CD44	Кровь, ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [48]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [48]
<i>CX3CL1</i>	CX3CL1	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [38]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [38]
<i>GH1</i>	GH1	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [49]	—
<i>PRL</i>	PRL	Кровь	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [14]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [14]
<i>SCGB2A2</i>	SCGB2A2	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [50]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [50]
<i>TYRO3</i>	TYRO3	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [51]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [51]
<i>ANXA5</i>	ANXA5	Кровь, ткань	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [52]	—	—
<i>DCN</i>	DCN	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [53]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [53]
<i>APOA4</i>	APOA4	Кровь	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [54]	—	—
<i>ERBB3</i>	ERBB3	Ткань	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [55]	—	—
<i>HSP90B1</i>	HSP90B1	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [56]	—
<i>HSPB3</i>	HSPB3	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [57]	—
<i>KNG1</i>	KNG1	Кровь	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [58]	—	—
<i>LGALS1</i>	LGALS1	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [59]	—
<i>PDIA3</i>	PDIA3	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [60]	—
<i>PDPN</i>	PDPN	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [60]	—
<i>PR</i>	PR	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [61]	—
<i>SERPINB5</i>	SERPINB5	Ткань	—	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [62]	(+) Уровень возрастает, неблагоприятный прогноз [62]



Таблица 2. Новые протеомные маркеры РМЖ – супрессоры опухолевого роста

Индекс гена	Название белка	Диагностический маркер	Прогностический маркер метастазирования	Маркер ответа на лекарственную терапию
<i>AHNAK</i>	AHNAK nucleoprotein	–	(+) Уровень возрастает, благоприятный прогноз [11]	(+) Маркер чувствительности к доксорубину [11]
<i>KRT18</i>	KRT18	–	(+) Уровень возрастает, благоприятный прогноз [63]	(+) Маркер чувствительности к доксорубину [63]
<i>PPIB</i>	PPIB	–	(+) Уровень возрастает, благоприятный прогноз [64]	(+) Маркер чувствительности к доксорубину [64]
<i>SLC1A5</i>	SLC1A5	–	(+) Уровень возрастает, благоприятный прогноз [65]	(+) Маркер чувствительности к доксорубину [65]
<i>15-PGDH</i>	15-PGDH	–	(+) Уровень возрастает, благоприятный прогноз [66]	(+) Маркер чувствительности к химиотерапии [66]

чают деление и рост клеток, апоптоз, регуляцию кальциевой сигнализации. Многие исследования показали, что экспрессия гена аннексина изменяется в опухолевой ткани [38]. Обнаружено, что ген *ANX7* функционально связан с РМЖ, регулирует гормональный рецепторный статус опухоли и ассоциирован с плохим прогнозом РМЖ.

Определение ER является важной стратегией в терапии РМЖ. Тем не менее, хотя тактика ингибирования функции ER приводит к эффективному результату у больных РМЖ, актуальной проблемой остается исследование формирования приобретенной резистентности к тамоксифену у группы больных РМЖ.

В исследовании, проведенном M. Wang et al., показано, что протеин c-ABL онкоген-2 нерецепторной тирозинкиназы (c-ABL oncogene 2 non-receptor tyrosine kinase) является функциональным партнером ER, так как c-ABL является транскрипционным активатором ER. Обнаружено, что c-ABL взаимодействует с ER в клетках РМЖ, и его экспрессия значительно увеличивается в них. В эстроген-позитивных формах РМЖ экспрессия белка c-ABL достоверно коррелирует с прогрессированием заболевания и метастазированием. Это исследование показывает, что c-ABL регулирует клеточный ответ на терапию тамоксифеном через функциональное взаимодействие с ER, что свидетельствует о том, что c-ABL является потенциальной терапевтической мишенью и прогностическим маркером РМЖ [49].

### Протеомные маркеры – благоприятные прогностические факторы

Особый интерес, по нашему мнению, представляют белки-супрессоры опухолевого роста, которые мы рассматриваем в качестве новых протеомных маркеров РМЖ (см. табл. 2). По данным исследователей, протеин AHNAK является регулятором сигнального

пути TGF-β, посредством которого он негативно регулирует рост клеток. В работе показано, что Smad3 взаимодействует с AHNAK через домен MH2 и AHNAK переносит Smad3 в ядро, что приводит к потенцированию TGF-β-индуцированной транскрипционной активности R-Smad. Избыточная экспрессия AHNAK приводит к замедлению роста и блокированию клеточного цикла путем подавления c-Myc и циклина D1/D2. На примере исследования образцов опухолевой ткани, полученной от больных РМЖ, авторами показано, что экспрессия AHNAK в опухолевой ткани ниже, чем в контрольных образцах, на 50 %. Данные показывают, что AHNAK опосредует негативное регулирование роста клеток и действует как супрессор опухолевого роста путем потенцирования сигналов TGF-β [53].

По данным группы исследователей, белки AHNAK, PPIB, SLC1A5 и 15-PGDH являются маркерами ответа на химиотерапию РМЖ препаратом доксорубин [54]. Эти новые потенциальные биомаркеры могут иметь клиническое применение для оценки ответа на лечение и могут обеспечить понимание новых терапевтических мишеней для РМЖ.

### Заключение

Проблема своевременного выявления и лечения РМЖ заключается не только в бессимптомном развитии заболевания, но и в отсутствии надежных прогностических маркеров метастазирования. С развитием протеомных технологий открылись совершенно новые перспективы по выявлению более чувствительных и специфичных опухолевых белковых маркеров в крови. Применяемый в последнее десятилетие протеомный анализ индивидуальных белковых профилей (спектров) с использованием МС уже привел к открытию маркеров отдельных заболеваний. Различными МС-методами идентифицированы протеины, вовле-

ценные в процессы опухолевой прогрессии, инвазии и метастазирования РМЖ.

По нашему мнению, исследование каскада белковых сигнальных путей, ассоциированных с метастазированием и резистентностью к химиотерапии, является перспективным направлением в онкологии. Бурно развивающиеся протеомные исследования позволят увеличить набор прогностических маркеров и выявить их комбинации, наиболее ценные с диагностической точки зрения. В настоящее время протеомные исследования приобретают направленный характер, изучается

не просто протеом опухолевой клетки, а конкретные сигнальные пути, ассоциированные с метастазированием, чувствительностью и резистентностью к химиотерапии РМЖ. Выполнение протеомного картирования биологических образцов от отдельных пациентов с помощью МС-методов открывает перспективу для использования персонализированной терапии РМЖ в будущем. Развитие протеомных технологий позволит идентифицировать новые потенциальные мишени, прогностические и диагностические маркеры, сформировать новый подход к биотерапии РМЖ.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 году. Под ред. М.И. Давыдова, Е.М. Аксель. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2010;(21):52–86. [The incidence of malignant neoplasms of the people of Russia and CIS countries in 2008. Ed. by M.I. Davydova, A.M. Axel. Vestnik RONC im. N.N. Blokhina RAMN = Bulletin of N.N. Blokhin RCRC of RAMS 2010;(21):52–86. (In Russ.)].
2. Greenlee R.T., Murray T., Bolden S., Wingo P.A. Cancer statistics, 2000. CA Cancer J Clin 2000;50(1):7–33.
3. Matsuda T., Saika K. Worldwide burden of cancer incidence in 2002 extrapolated from cancer incidence in five continents. Vol. IX. Jpn J Clin Oncol 2012;42(11):1111–2.
4. World cancer report 2008. International agency for research on cancer. Lyon, 2008. P. 64.
5. Пак Д.Д., Сарибекян Э.К. Опухоли молочной железы. Руководство по онкологии. Под ред. С.Л. Дарьяловой. М., 2008. С. 342–408. [Pak D.D., Saribekyan E.K. Mammary tumors. Oncology guideline. Ed. by S.L. Daryalova. Moscow, 2008. Pp. 342–408. (In Russ.)].
6. Тамкович С.Н., Войцкий В.Е., Лактионов П.П. Современные методы диагностики рака молочной железы. Биомедицинская химия 2014;60(2):141–60. [Tamkovich S.N., Voitsitsky V.E., Laktionov P.P. Modern methods of breast cancer diagnostics. Biomeditsinskaya khimiya = Biomedical Chemistry 2014;60(2):141–60. (In Russ.)].
7. Popiel M., Mroz-Klimas D., Kasprzak R., Furmanek M. Mammary carcinoma – current diagnostic methods and symptomatology in imaging studies. Pol J Radiol 2012;77(4):35–44.
8. Бухарин Д.Г., Величко С.А., Фролова И.Г., Лунева С.В. Ультрасонография и рентгеновская маммография в диагностике рака молочной железы, развившегося на фоне мастопатии. Сибирский онкологический журнал 2012;27(1):99–102. [Bukharin D.G., Velichko S.A., Frolova I.G., Luneva S.V. Ultrasonography and x-ray mammography in the diagnosis of breast cancer, developed on the background of mastitis. Sibirskiy onkologicheskij zhurnal = Siberian Journal of Oncology 2012;27(1):99–102. (In Russ.)].
9. Серебрякова С.В., Труфанов Г.Е., Юхно Е.А. Магнитно-резонансная семиотика. Опухоли женской репродуктивной системы 2009;(3–4):20–5. [Serebryakova S.V., Trufanov G.E., Yukhno E.A. Magnetic resonance semiotics breast cancer. Opuholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of Woman's Reproductive System 2009;(3–4):20–5. (In Russ.)].
10. Popiel T.J., Kibil W., Herman-Sucharska I., Urbanik A. The use of magnetic resonance mammography in women at increased risk for developing breast cancer. Wideochir Inne Tech Maloinwazyjne 2013;8(1):55–62.
11. Lee I.H., Sohn M., Lim H.J. et al. Ahnak functions as a tumor suppressor via modulation of TGFβ/Smad signaling pathway. Oncogene 2014;33(38):4675–84.
12. Leong S., Nunez A.C., Lin M.Z. et al. iTRAQ-based proteomic profiling of breast cancer cell response to doxorubicin and TRAIL. J Proteome Res 2012;11(7):3561–72.
13. Ivanović V., Todorović-Raković N., Demajo M. et al. Elevated plasma levels of transforming growth factor-beta1 (TGF-β1) in patients with advanced breast cancer: association with disease progression. Eur J Cancer 2003;39(4):454–61.
14. Zeng C., Ke Z., Song Y. et al. Annexin A3 is associated with a poor prognosis in breast cancer and participates in the modulation of apoptosis *in vitro* by affecting the Bcl-2/Bax balance. Exp Mol Pathol 2013;95(1):23–31.
15. Dhakal H.P., Naume B., Synnestvedt M. et al. Expression of cyclooxygenase-2 in invasive breast carcinomas and its prognostic impact. Histol Histopathol 2012;27(10):1315–25.
16. 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 H<sub>22</sub> murine hepatocarcinoma model. Oncol Rep 2014;31(5):2252–60.
17. Díaz-Chávez J., Fonseca-Sánchez M.A., Arechaga-Ocampo E. et al. Proteomic profiling reveals that resveratrol inhibits HSP27 expression and sensitizes breast cancer cells to doxorubicin therapy. PLoS One 2013;8(5):e64378.
18. Acunzo J., Andrieu C., Baylot V. et al. Hsp27 as a therapeutic target in cancers. Curr Drug Targets 2014;15(4):423–31.
19. McConnell J.R., McAlpine S.R. Heat shock proteins 27, 40, and 70 as combinational and dual therapeutic cancer targets. Bioorg Med Chem Lett 2013;23(7):1923–8.
20. Wang X., Chen M., Zhou J., Zhang X. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy (Review). Int J Oncol 2014;45(1):18–30.
21. 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.
22. 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):592–04.
23. Tsai C.L., Tsai C.N., Lin C.Y. et al. Secreted stress-induced phosphoprotein 1 activates the ALK2-SMAD signaling pathways and promotes cell proliferation of ovarian cancer cells original research article. Cell Rep 2012;2(2):283–93.
24. Bonuccelli G., Castello-Cros R., Capozza F. et al. The milk protein-casein functions as a tumor suppressor via activation of STAT1 signaling, effectively preventing breast cancer tumor growth and metastasis. Cell Cycle 2012;11(21):3972–82.

25. Jin Q., Yuan L.X., Boulbes D. et al. Fatty acid synthase phosphorylation: a novel therapeutic target in HER2-overexpressing breast cancer cells. *Breast Cancer Res* 2010;12(6):R96.
26. 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.
27. Li J.Q., Xue H., Zhou L. et al. Mechanism of fatty acid synthase in drug tolerance related to epithelial-mesenchymal transition of breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(18):7617–23.
28. Niemantsverdriet M., Wagner 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.
29. Lu J., Guo H., Treekitkarnmongkol W. et al. 14-3-3 zeta 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.
30. 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.
31. Neal C.L., Xu J., Li P. et al. Overexpression of 14-3-3 $\zeta$  in cancer cells activates PI3K via binding the p85 regulatory subunit. *Oncogene* 2012;31(7):897–906.
32. Qi W. Overexpression of 14-3-3 $\gamma$  causes polyploidization in H322 lung cancer cells. *Mol Carcinog* 2007;46(10):847–56.
33. 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.
34. Radhakrishnan V.M., Martinez J.D. 14-3-3 $\gamma$  induces oncogenic transformation by stimulating MAP kinase and PI3K signaling. *PLoS One* 2010;5(7):11433.
35. 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.
36. Chen H., Liu L., Ma B. Protein kinase A-mediated 14-3-3 association impedes human dapper1 to promote dishevelled degradation. *J Biol Chem* 2011;286(17):14870–80.
37. Kartiki V. Desai, S100A6 as a biomarker in human breast cancer. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 2005;46:448.
38. Al-Haddad S., Zhang Z., Leygue E. et al. Psoriasin (S100A7) expression and invasive breast cancer. *Am J Pathol* 1999;155(6):2057–66.
39. 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.
40. 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.
41. 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.
42. McKiernan E., McDermott E.W., Evoy D. et al. The role of S100 genes in breast cancer progression. *Tumour Biol* 2011;32(3):441–50.
43. Soiland H., Skaland I., Janssen E.A. et al. Comparison of apolipoprotein D determination methods in breast cancer. *Anticancer Res* 2008;28(2B):1151–60.
44. 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.
45. Rinaldi S., Peeters P.H., Berrino F. 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.
46. Suzuki T., Urano T., Tsukui T. et al. Estrogen-responsive finger protein as a new potential biomarker for breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11(17):6148–54.
47. Ko S., Kim J.Y., Jeong J. et al. The role and regulatory mechanism of 14-3-3 sigma in human breast cancer. *J Breast Cancer* 2014;17(3):207–18.
48. Liu X.G., Wang X.P., Li W.F. et al. Ca<sup>2+</sup>-binding protein S100A11: a novel diagnostic marker for breast carcinoma. *Oncol Rep* 2010;23(5):1301–8.
49. Zhao H., Ou-Yang F., Chen I.F. et al. Enhanced resistance to tamoxifen by the c-ABL proto-oncogene in breast cancer. *Neoplasia* 2010;12(3):214–23.
50. Chen S.T., Pan T.L., Tsai Y.C., Huang C.M. Proteomics reveals protein profile changes in doxorubicin – treated MCF-7 human breast cancer cells. *Cancer Lett* 2002;181(1):95–107.
51. Kumbrink J., Kirsch K.H. Regulation of p130Cas/BCAR1 expression in tamoxifen-sensitive and tamoxifen-resistant breast cancer cells by EGR1 and NAB2. *Neoplasia* 2012;14(2):108–20.
52. Leong S., McKay M.J., Christopherson R.I., Baxter R.C. Biomarkers of breast cancer apoptosis induced by chemotherapy and TRAIL. *J Proteome Res* 2012;11(2):1240–50.
53. Kabir N.N., Ronnstrand L., Kazi J.U. Keratin 19 expression correlates with poor prognosis in breast cancer. *Mol Biol Rep* 2014;41(12):7729–35.
54. Singh B., Cook K.R., Vincent L. et al. Role of COX-2 in tumorspheres derived from a breast cancer cell line. *J Surg Res* 2011;168(1):39–49.
55. Tymoszuk P., Charoentong P., Hackl H. et al. High STAT1 mRNA levels but not its tyrosine phosphorylation are associated with macrophage infiltration and bad prognosis in breast cancer. *BMC Cancer* 2014;14:257.
56. Huang R., Faratian D., Sims A.H. et al. Increased STAT1 signaling in endocrine-resistant breast cancer. *PLoS One* 2014;9(4):e94226.
57. Wang M., Wang Y., Zhong J. Side population cells and drug resistance in breast cancer. *Mol Med Rep* 2015;11(6):4297–302.
58. Bensimon J., Biard D., Paget V. et al. Forced extinction of CD24 stem-like breast cancer marker alone promotes radiation resistance through the control of oxidative stress. *Mol Carcinog* 2015.
59. Koziel J.E., Herbert B.S. The telomerase inhibitor imetelstat alone, and in combination with trastuzumab, decreases the cancer stem cell population and self-renewal of HER2<sup>+</sup> breast cancer cells. *Breast Cancer Res Treat* 2015;149(3):607–18.
60. Lamb R., Ozsvari B., Lisanti C.L. et al. Antibiotics that target mitochondria effectively eradicate cancer stem cells, across multiple tumor types: treating cancer like an infectious disease. *Oncotarget* 2015;6(7):4569–84.
61. Assefnia S., Dakshanamurthy S., Guidry Auvil J.M. et al. Cadherin-11 in poor prognosis malignancies and rheumatoid arthritis: common target, common therapies. *Oncotarget* 2014;5(6):1458–74.
62. Lim J.C., Koh V.C., Tan J.S. et al. Prognostic significance of epithelial-mesenchymal transition proteins Twist and Foxc2 in phyllodes tumours of the breast. *Breast Cancer Res Treat* 2015;150(1):19–29.
63. 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.
64. Kumar R., Kumar A.N., Srivastava A. Breast cancer tumor markers. *J Sol Tum* 2012;2(1):43–6.
65. Shaheed S.U., Rustogi N., Scally A. et al. Identification of stage-specific breast markers using quantitative proteomics. *J Proteome Res* 2013;12(12):5696–708.
66. Zhang B., Ma X., Li Z. et al. Celecoxib enhances the efficacy of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase gene therapy in treating murine breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013;139(5):797–807.