

Особенности экспрессии клаудинов в новообразованиях толстой кишки

Н.А. ОЛЕЙНИКОВА¹, О.А. ХАРЛОВА¹, П.Г. МАЛЬКОВ^{1,2}, Н.В. ДАНИЛОВА^{1,2}

¹ФГБОУВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва, Россия; ²Российская медицинская академия последиипломного образования, Москва, Россия

Цель исследования — оценка особенностей экспрессии клаудина типов 1, 3 и 4 в раке и полипах толстой кишки. **Материал и методы.** В исследование включены 32 аденокарциномы толстой кишки и 86 полипов. Проведено иммуногистохимическое исследование с антителами к клаудину типов 1, 3 и 4. **Результаты.** В 84/118, 64/118, 52/118 реакция с клаудином 1, 3 и 4 соответственно в раке и полипах толстой кишки имела мембранную локализацию. В 33 (27,9%) наблюдениях выявлена парадоксальная реакция клаудина-1, в 50 (42,4%) — клаудина-3, в 66 (55,9%) — клаудина-4. Среди парадоксальной реакции клаудинов сравнительно редко наблюдалась ядерная локализация маркера: клаудина-3 в 2,5% случаев рака толстой кишки; клаудина-4 в 8,5% полипов толстой кишки. **Заключение.** Нами впервые показана ядерная реакция клаудина-3 в раке толстой кишки и ядерная реакция клаудина-4 в доброкачественных полипах толстой кишки. Обсуждаются причины парадоксальной экспрессии и приводится обзор литературы, освещающий эти вопросы.

Ключевые слова: полипы толстой кишки, колоректальный рак, клаудины, ядро, белки плотных контактов.

The colon tumors' claudins' expression's features

N.A. OLEYNIKOVA¹, O.A. KHARLOVA¹, P.G. MALKOV^{1,2}, N.V. DANILOVA^{1,2}

¹Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; ²Russian Medical Academy of Postgraduate Education Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Objective: the evaluation of localization claudin-1, -3 and -4 types of cancer and colon polyps. **Material and methods.** The study included 32 colon adenocarcinoma and 86 polyps. Antibody claudin-1; -3 and -4 were used as immunohistochemical markers in this study. **Results.** 84/118, 64/118, 52/118 reaction with claudin-1, claudin-3 and claudin-4 in cancer and colon polyps had a membrane localization, respectively. In 33 (27.9%) cases was found paradoxical reaction claudin-1; in 50 (42.4%) — a paradoxical reaction claudin-3 in 66 (55.9%) — a paradoxical reaction claudin-4. Among the paradoxical claudin reaction nuclear localization of marker was observed relatively rarely: claudin-3 in 2.5% cases of colon cancer; claudin-4 in 8.5% of colon polyps. **Conclusion.** Mislocalization claudin-3 to nucleus in colon cancer and mislocalization claudin-4 to nucleus in adenomas of the colon were detected for the first time. The potential reasons for the paradoxical expression are discussed and a review of the literature, related all the alleged mechanisms of this mislocalization is provided.

Keywords: polyps of colon, colorectal cancer, claudins, nucleus, tight junctions.

Клаудины — семейство трансмембранных белков с мол. массой 20—27 кДа, являющихся составляющей плотных контактов, которые играют ключевую роль в неопластических процессах, поскольку участвуют в формировании единого сигнального пути между внеклеточным матриксом и внутриклеточным цитоскелетом [1]. В плотных контактах злокачественных клеток часто наблюдаются структурные и функциональные аномалии, проявляющиеся в изменении уровня экспрессии различных типов клаудинов [2]. Ключевую роль в инициации и прогрессии опухоли может играть так называемая «поломка эпителиального барьера», которая включает три взаимосвязанных элемента: 1) вследствие клеточной полярности в норме функциональные рецепторы факторов роста располагаются на базолатеральной поверхности клетки, контактируя с внутриклеточной жидкостью и кровотоком; 2) факторы роста (лиганды к этим рецепторам) чаще всего накапливаются в больших концентрациях в люминальной

жидкости эпителиальных тканей (с противоположной стороны); 3) нарушения в плотных контактах приводят к транспорту большого количества этих факторов через эпителиальный барьер, который в норме предотвращают плотные контакты. Данный феномен называется «lesional leak» (патологическая утечка) [3]. Таким образом, функция плотных контактов заключается в сохранении клеточной полярности за счет контроля диффузии молекул сквозь эпителиальный барьер и обеспечении адгезии клеток [4].

Семь типов клаудинов, включая клаудины 1, 3 и 4, вовлечены в туморогенез [5]. Для некоторых типов рака, например рака предстательной железы, поджелудочной железы и яичника, характерно увеличение экспрессии белков клаудин-3 и клаудин-4 [6]. Для гепатоцеллюлярной карциномы и почечной карциномы, напротив, характерно снижение уровня клаудина-4 и клаудина-5 [7, 8]. Ти-

Таблица 1. Локализация клаудинов (клау 1, 3, 4) в исследуемых группах

Локализация	Аденокарциномы			Классические аденомы			Зубчатые образования			Итого		
	клау 1	клау 3	клау 4	клау 1	клау 3	клау 4	клау 1	клау 3	клау 4	клау 1	клау 3	клау 4
Мембрана	24	12	9	36	29	23	24	23	20	84	64	52
Мембрана, цитоплазма	8	16	23	18	24	26	7	7	7	33	47	56
Ядра	0	2	0	0	1	5	0	0	5	0	3	10
Отрицательная реакция	0	2	0	0	0	0	1	2	0	1	4	0
Всего	32	32	32	54	54	54	32	32	32	118	118	118

пичной иммуногистохимической локализацией клаудинов является мембранная, однако в литературе имеются данные о цитоплазматической и даже ядерной локализации клаудинов разных типов в злокачественных опухолях. Помимо оценки выраженности реакции клаудинов 1, 3 и 4 в полипах и раке толстой кишки, цель настоящего исследования — оценить локализацию данных белков.

Материал и методы

В работе использован операционный и биопсийный материал от 118 пациентов с новообразованиями толстой кишки. В исследование не входил материал от больных, получавших в предоперационном периоде лучевую или химиотерапию. Возраст пациентов варьировал от 30 до 86 лет (средний возраст 61,1 года).

В исследуемую выборку включены 32 случая аденокарциномы, 54 — аденомы и 32 — «зубчатых образований», согласно классификации ВОЗ 2010.

Имуногистохимическое исследование (ИГХ) проводилось с поликлональными мышинными антителами к клаудинам 1, 3, 4 (RTU, «Thermo», Англия). Депарафинирование, регидратацию и демаскировку антигенов проводили при помощи буфера Dewax and HIER Buffer L («Thermo», Великобритания) при температуре 95—98 °С, рН 6,0 в течение 20 мин в модуле предобработки (PT-Module). ИГХ-реакции проводили в автоматизированном режиме с помощью автостейнера Thermo Scientific Lab Vision Autostainer 480S. Время инкубации составило 30 мин. Согласно рекомендации производителя, в качестве положительного контроля использовали рак молочной железы, тонкой кишки и рак яичника соответственно.

Из нескольких описанных систем оценки экспрессии клаудинов 1, 3 и 4 [9—11] использовали методику G. Sheehan и соавт., поскольку она является наиболее полной [12].

Интенсивность (слабая — 1 балл, умеренная — 2 балла, выраженная — 3 балла) · количество прореагировавших клеток (менее 25% — 1 балл, 25—50% — 2 балла, более 51% — 3 балла) = итоговый балл (ИБ) (0—3 — слабая, 4—6 — умеренная, 7—9 — выраженная)

Дополнительно оценивали локализацию маркера.

Результаты и обсуждение

В большинстве случаев реакция с клаудином-1 (84/118), клаудином-3 (64/118) и клаудином-4 (52/118) в раке и полипах толстой кишки имела мембранную локализацию (рис. 1, г, рис. 2, в). Однако в 33 (27,9%) наблюдениях выявлена парадоксальная реакция клаудина-1, в 50 (42,4%) — клаудина-3, в 66 (55,9%) — клаудина-4. Среди

парадоксальной реакции клаудинов сравнительно редко наблюдалась ядерная локализация маркера: в 2,5% клаудина-3 и в 8,5% клаудина-4 (табл. 1).

Ядерная реакция клаудинов выявлена в аденокарциномах, в классических аденомах и в «зубчатых образованиях» толстой кишки, однако в последней группе наблюдалась лишь в зубчатых аденомах на широком основании, но не в гиперпластических полипах. Характер реакции клаудина-3 и клаудина-4 отличался в разных группах.

Парадоксальная реакция клаудина-3 выявлена в 3 случаях. В аденокарциномах на фоне отрицательной типичной реакции клаудинов в двух случаях наблюдалась парадоксальная ядерная реакция (см. рис. 1, а, б). В одном случае парадоксальная реакция выявилась в аденокарциноме низкой степени дифференцировки (см. рис. 1, а), и ни цитоплазматическая, ни типичная мембранная локализация маркера не была представлена в разрозненных опухолевых клетках. В другом случае ядерная реакция наблюдалась в аденокарциноме высокой степени дифференцировки (см. рис. 1, б). Цитоплазматическая локализация маркера не наблюдалась, а типичная мембранная была более выражена по сравнению с первым случаем (см. рис. 1, а) и выглядела как едва заметная, неполная, крайне слабая реакция. Парадоксальная реакция клаудина-3 оказалась тотальной на всем препарате.

Отчетливая парадоксальная ядерная реакция также обнаружена в одной ворсинчатой аденоме (см. рис. 1, в) на фоне умеренной мембранной и слабой цитоплазматической реакции.

Парадоксальная ядерная реакция клаудина-4 выявлена в 10 случаях: в 5 классических аденомах и 5 «зубчатых образованиях». Отличительной особенностью данной реакции от клаудина-3 являлось ее наличие на фоне выраженной мембранной и цитоплазматической реакции клаудина-4 во всех наблюдениях. Также особенностью клаудина-4 оказалась очаговая реакция в ядрах: ни в одном препарате не было реакции клаудина-4 в каждом ядре опухолевой клетки. Во всех случаях с описанной ядерной реакцией на большей площади полипа ядра оказались интактными и только в одном или нескольких фокусах, помимо мембранной и цитоплазматической локализации маркера, наблюдалось отчетливое прокрашивание ядер. Очаговость ядерной реакции наблюдалась преимущественно в верхних отделах тубулярных структур, обращенных к просвету. На рис. 2, а отмечаются выраженная мембранная и цитоплазматическая реакция клаудина-4, наличие ядерной реакции по центру и в нижней части микрофото и отсутствие таковой в верхней части в том же поле зрения. Также обращаем внимание на интактные гематоксилиновые ядра при выраженной мембранной и цитоплазматической реакции на рис. 2, в (см. рис. 2, а). Выявленная реакция сохраняла мембранный характер в

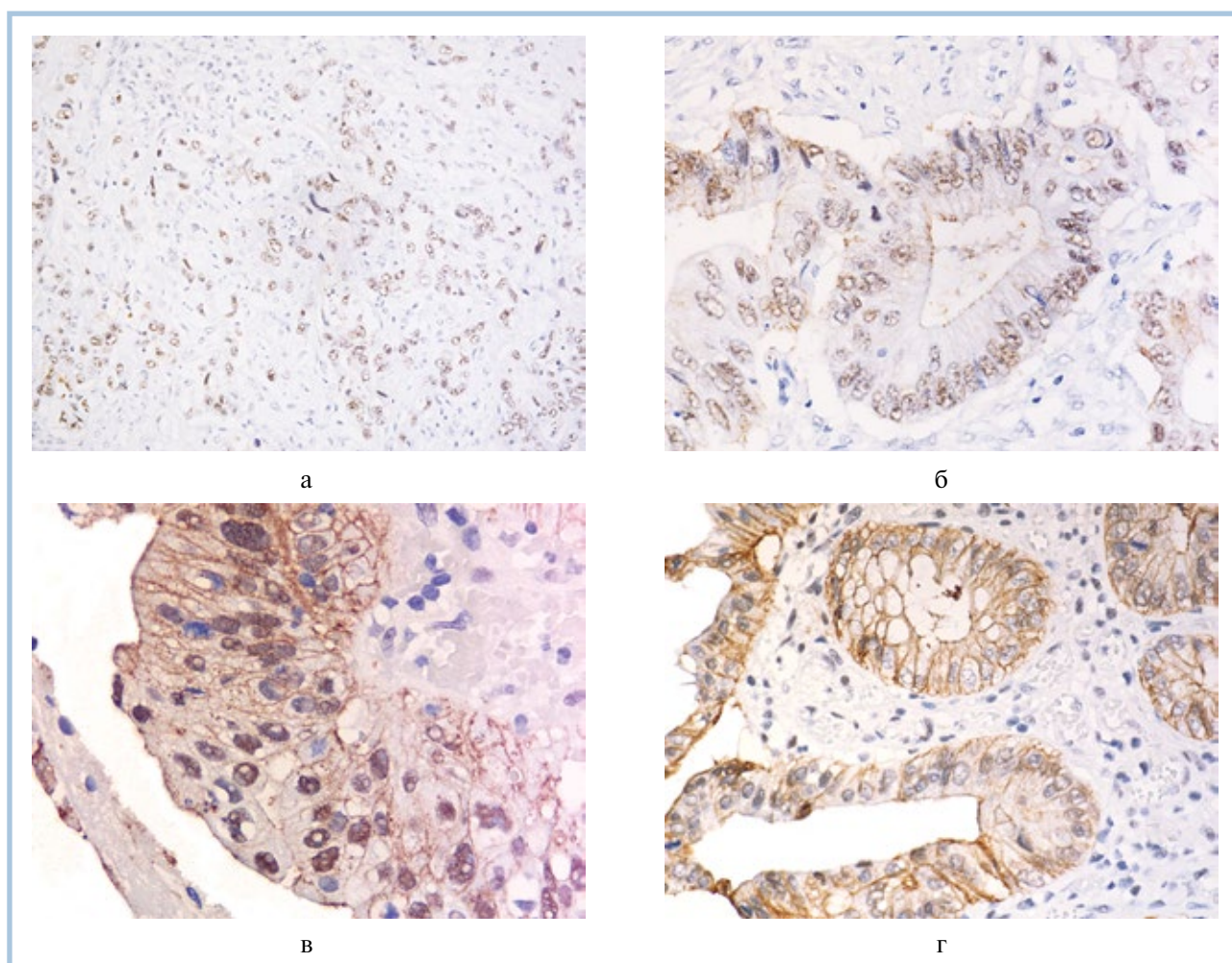


Рис. 1. Парадоксальная реакция клаудина-3, иммуногистохимическая реакция.

а — парадоксальная ядерная реакция клаудина-3 в аденокарциноме, G3. Типичная мембранная реакция отсутствует, $\times 20$; б — парадоксальная ядерная экспрессия клаудина-3 на фоне минимальной, едва заметной, неполной мембранной реакции клаудина-3 в аденокарциноме, G1, $\times 40$; в — реакция клаудина-3 в ворсинчатой аденоме. Мозаичная реакция в ядрах: в части клеток присутствует, в части — отсутствует. Во всех клетках мембранная реакция, $\times 63$; г — мембранная реакция клаудина-3 в аденокарциноме, $\times 40$.

лимфоидной ткани, которая является внутренним контролем клаудина-4: при этом все ядра оставались интактными.

Технические ошибки при проведении ИГХ-исследования возможны, однако они максимально были исключены: реакции с препаратами, где появилась парадоксальная ядерная экспрессия, переставлены повторно с обязательным наличием контроля и других полипов из тех же групп в загрузке. Объяснить данный результат повреждением материала и префиксационными изменениями также затруднительно, поскольку все реакции со всеми антителами по каждому случаю проводились с одного блока, ввиду чего при повреждении материала и парадоксальной реакции клаудинов велика вероятность каких-либо нарушений в других реакциях не менее чувствительных маркеров. Также очаговость реакции клаудина-4 не может соответствовать очаговому дефекту материала, но может быть связана с генетическими нарушениями, происходящими в конкретном кластере опухолевых клеток, вследствие че-

го считаем необходимым обратить внимание на данный феномен.

Плотные контакты (tight junction) — межклеточные эпителиальные контакты, расположенные преимущественно на апикальной поверхности клеток и осуществляющие барьерную функцию, регулируя поток молекул и ионов из межклеточного вещества через цитоплазматическую мембрану. Нарушения в плотных контактах наблюдаются при многих патологических состояниях, таких как заболевания почек, воспалительная болезнь толстого кишечника, отек легких, диарея, желтуха [3]. Также имеются данные о роли плотных контактов в регуляции дифференцировки и пролиферации клеток [13].

В комплекс плотных контактов входят три группы белков: интегральные (трансмембранные), каркасные (scaffolding proteins) и сигнальные (табл. 2). Группа трансмембранных белков, экстрацеллюлярный домен которых достигает парацеллюлярного пространства, представлена двумя типами в зависимости от количества внутримем-

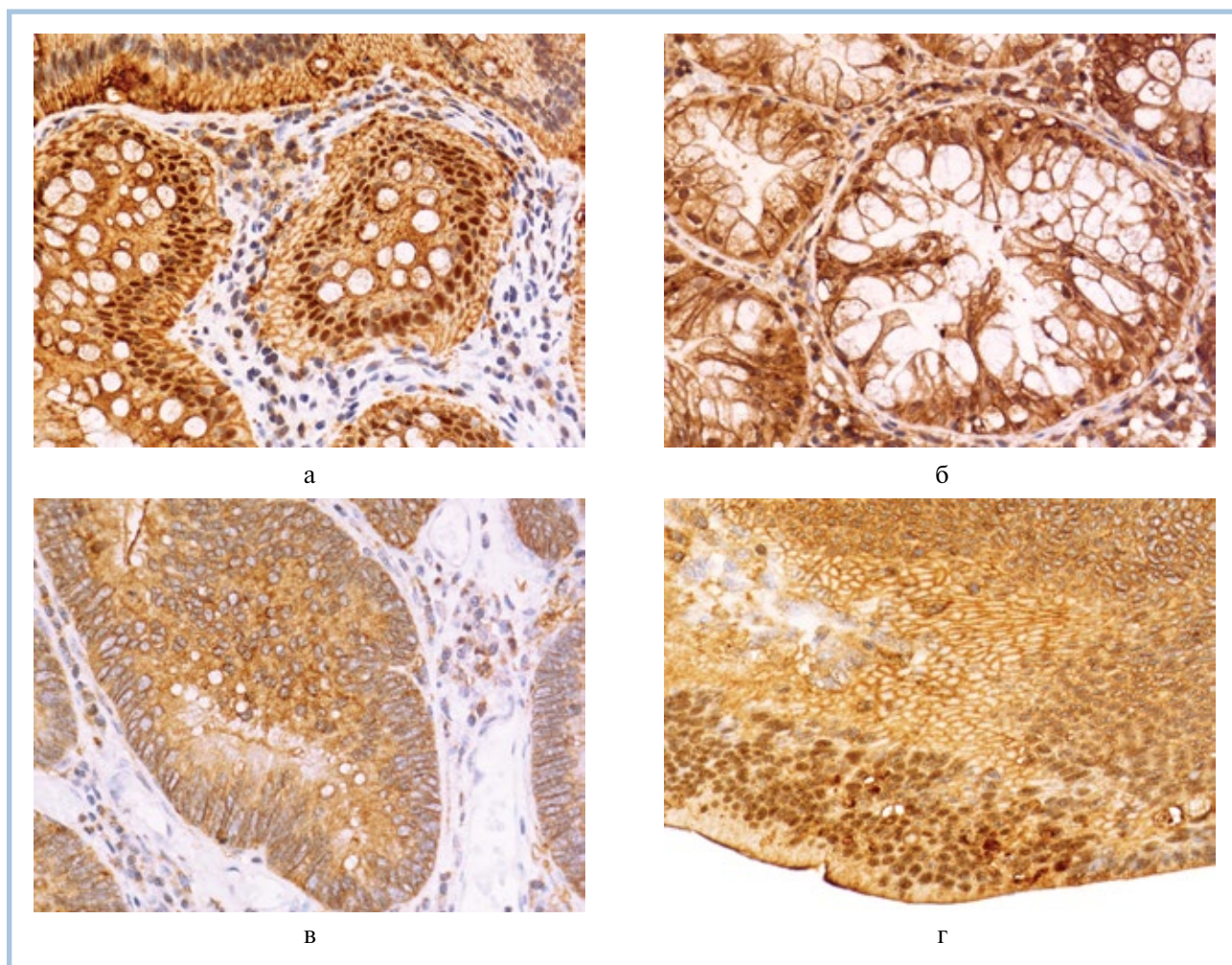


Рис. 2. Парадоксальная реакция клаудина-4, иммуногистохимическая реакция.

а — выраженная мембранная, цитоплазматическая и очаговая ядерная реакция клаудина-4 в тубуловорсинчатой аденоме. Сверху в тубулярных структурах реакция в мембранах и цитоплазме опухолевых клеток, ядра интактны (докрашены гематоксилином). Слева и по центру — реакция в мембранах, цитоплазме и ядрах, $\times 40$; б — выраженная мембранная, цитоплазматическая и ядерная реакция клаудина-4 в зубчатой аденоме на широком основании. Реакция также в клетках лимфоидного инфильтрата, $\times 40$; в — выраженная мембранная и цитоплазматическая реакция клаудина-4 в тубуловорсинчатой аденоме. Ядра интактны (докрашены гематоксилином), $\times 40$; г — выраженная мембранная и цитоплазматическая реакция клаудина-4 в аденоме толстой кишки. Полная выраженная мембранная реакция, наличие реакции в цитоплазме, интактные ядра (сверху и по центру), фокус ядерной реакции (снизу), $\times 40$.

бранных петель [14]. К белкам, содержащим четыре петли, относятся клаудины, окклюдины, трицеллюлин. К белкам, содержащим одну петлю, — межклеточные молекулы адгезии (JAM) и Коксаки аденовирус-ассоциированный рецептор (CAR).

Каркасные белки представляют собой бляшку из сети периферических белков, соединяющих интегральные протеины с сигнальными белками, и подлежащим актиновым цитоскелетом. Самым распространенным примером является запирающая зона (zona occludens, ZO) — ZO-1, ZO-2, ZO-3. относящимся к мембраноассоциированным гуанилаткиназоподобным гомологам [15]. Каркасные белки со стороны N-конца взаимодействуют с трансмембранными белками через PDZ-домен, со стороны C-конца — с сигнальными белками (транскрипционными факторами, киназами и фосфатазами) и актиновым цитоскелетом [16]. Каркасные белки, такие как ZO-1, ингибируют клеточную пролиферацию путем связывания

Таблица 2. Классификация белков, входящих в плотные контакты

Группа	Примеры белков
Трансмембранные	
четырепетельные	Клаудины Окклюдины Трицеллюлин
однопетельные	Межклеточные молекулы адгезии (JAM) Коксаки аденовирус-ассоциированный рецептор (CAR)
Каркасные (scaffolding proteins)	ZO-1 ZO-2 ZO-3 MAGI-1 Cingulin MUPP1
Сигнальные	Транскрипционные факторы Киназы Фосфатазы

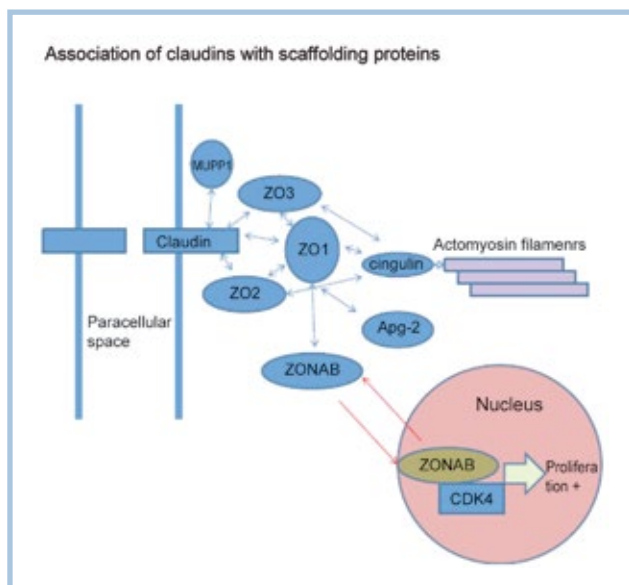


Рис. 3. Взаимодействие клаудинов с поддерживающими и сигнальными белками. Приводится по Y. Soini, 2015 [19].

белка ZONAB (ZO-1 associated nucleic acid binding protein), тем самым предотвращая его движение в ядро (рис. 3) [13].

Клаудины — семейство трансмембранных белков, которые четыре раза пронизывают мембрану и формируют две экстрацеллюлярные петли, одну внутрицеллюлярную петлю, С- и N-концевые цитоплазматические домены [17]. Экстрацеллюлярные петли регулируют парацеллюлярную проницаемость и участвуют в формировании плотных контактов, которые играют важную роль в поддержании целостности эпителиального пласта. За исключением клаудина-12, все члены семейства имеют цитоплазматический С-конец с дипептидной последовательностью YV. Эта последовательность позволяет связываться с другими белками, содержащими PDZ-домены (ZO-1, ZO-2, ZO-3 и MUPP1) (см. рис. 3) [18].

Наиболее изученным среди клаудинов, в том числе и в отношении транслокации в цитоплазму и ядро, является клаудин-1. Наличие клаудина-1 в ядре описано в литературе в раке толстой кишки, остеосаркоме, меланоме и доброкачественных невусах, однако публикации немногочисленны (табл. 3).

В единственной публикации М. Todd и соавт., посвященной ядерной экспрессии клаудина-3 в клеточных линиях рака молочной железы, сообщается, что мембранная и ядерные фракции клаудина-3 имели одинаковую молекулярную массу 23 кДа, а цитоплазматическая содержала

еще дополнительный «урезанный» вариант данного маркера [25]. Публикаций относительно ядерной экспрессии клаудина 3 и 4 значительно меньше, чем клаудина-1, однако, поскольку механизмы данной транслокации остаются не ясны, а причины ядерной реакции клаудина-1 и клаудинов других типов могут быть общими или схожими, принимаем во внимание рассуждения других авторов по всем типам клаудинов. Также обращаем внимание, что в литературе имеются данные о ядерной локализации клаудинов не только в злокачественных опухолях, но и в доброкачественных невусах [24], что позволяет сравнивать эти данные с нашими не только для рака толстой кишки, но и для полипов.

По данным авторов, транслокация клаудинов в цитоплазму и особенно в ядро происходит при увеличении подвижности опухолевых клеток и повышается при отсутствии K8/18-цитоскелета [21]. Выдвинута гипотеза о том, что PDZ-связывающий компонент С-конца клаудинов является структурным компонентом, обуславливающим их корректную локализацию [26]. Однако было показано, что клаудин-1 с мутацией в PDZ-домене по-прежнему встроен в апикальную поверхность плотных контактов [27]. Тем не менее полное удаление С-хвоста клаудина привело к его транслокации в цитоплазму, доказывая, что именно цитоплазматический ближайший к мембране регион, но не PDZ-связывающий домен является необходимой структурой для правильной локализации клаудина-1 в плотных контактах [27]. Более того, позже обнаружено, что карбоксильный конец содержит большое количество мест фосфорилирования, которые и могут обуславливать описанное явление (рис. 4) [28, 29]. Мутация в сайте фосфорилирования протеинкиназы А или «имитирование» длительного фосфорилирования вышеописанных сайтов вызывает транслокацию клаудина-1 в ядро в клетках меланомы [22]. Для установления связи между ядерной локализацией клаудина-1 и способностью к инвазии в клетки меланомы был встроен вектор, имеющий последовательность сигнала внутриядерной локализации (NLS) [22]. Однако после трансфекции наблюдалась не только ядерная, но и цитоплазматическая локализация маркера.

Основным способом транспорта белков в ядро является наличие последовательности NLS в его последовательности. Известно, что клаудин-1, равно как и клаудин-3 и клаудин-4, не имеет клеточного NLS, в связи с чем формально в ядро попасть не может. Хотя последовательности NLS и являются основными типами элементов импорта в ядро, другие последовательности, такие как PDZ-домены, также необходимы для ориентации белка в ядро. PDZ-домены в клаудинах отсутствуют, однако все члены семейства, за исключением клаудина-12, имеют внутриклеточный С-конец с дипептидной последовательностью YV, которая позволяет связываться с другими бел-

Таблица 3. Публикации о наличии белка плотных контактов клаудина в ядре

Автор	Год	Локализация	Тип клаудина	Ссылка
М. Cuevas	2015	Рак эндометрия	Клаудин-4	[20]
Р. Dwahan	2005	Колоректальный рак	Клаудин-1	[18]
А.-М. Fortier	2013	Культура клеток эпителиальных карцином	Клаудин-1	[21]
А. French	2009	Меланома	Клаудин-1	[22]
Y. Jian	2015	Остеосаркома	Клаудин-1	[23]
Р. Leotlela	2007	Невус меланоцитарный	Клаудин-1	[24]
М. Todd	2015	Рак молочной железы	Клаудин-3	[25]

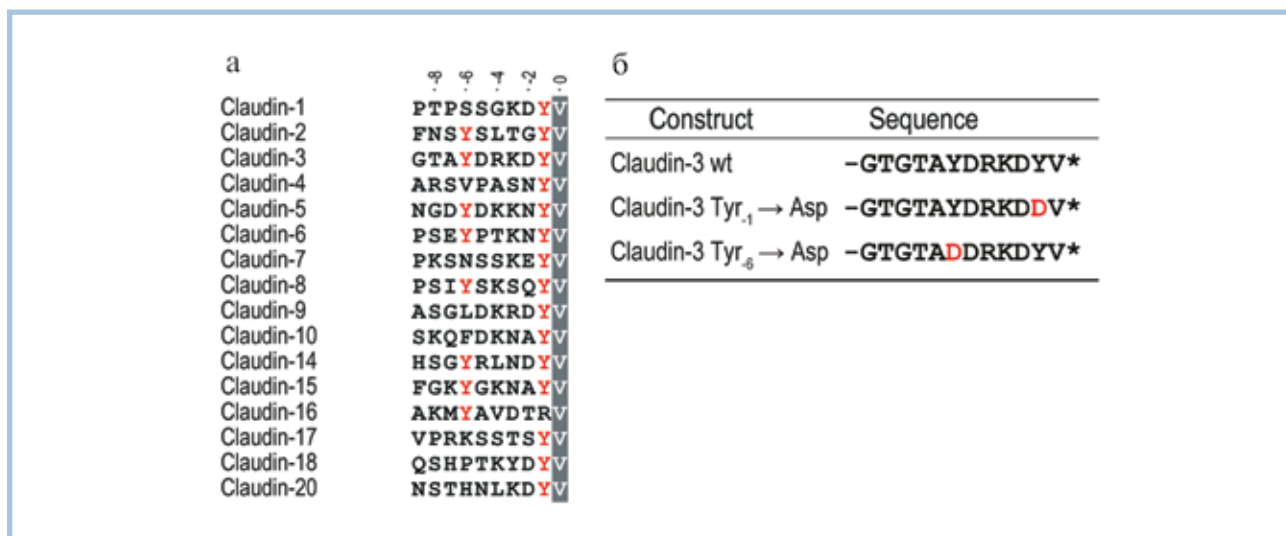


Рис. 4. Места потенциального фосфорилирования клаудинов разных типов. Приводится с изменениями по J. Merino-Gracia, 2016 [29].

а — аминокислотные последовательности С-конца разных клаудинов: у большинства на конце аминокислоты YV (тирозин-валин). Красным обозначены аминокислоты Y — места потенциального фосфорилирования; б — аминокислотная последовательность клаудина-3 в норме и после фосфорилирования.

ками, содержащими PDZ-домены на N-конце [18]. К таким белкам относят ZO-1, ZO-2, ZO-3 и мульти-PDZ-домен протеин 1 (MUPP1) — мембраноассоциированные гуанилаткиназоподобные гомологи, имеющие, помимо PDZ-домена на N-конце, SH3-домен и взаимодействующие С-концом с актином цитоскелета [15]. Ингибирование этого домена не влияет на локализацию клаудина в плотных контактах, однако приводит к нарушению взаимодействия с белками ZO-1, ZO-2 и ZO-3 [30]. Поэтому один из потенциальных механизмов, посредством которого клаудин-1 может перемещаться в ядро, — взаимодействие с ZO-1 или ZO-2, аналогично с Armadillo-repeat gene deleted in Velo-cardio-facial syndrome (ARVCF), членом семейства p120. Взаимодействие ARVCF с ZO-2 посредством связывания с PDZ-доменом приводит к транслокации ARVCF в ядро [31]. Другими примерами транслокации белков в ядро независимо от NLS являются опухолевые супрессоры, такие как APC и BRCA1 [32]. Еще один потенциальный механизм, с помощью которого клаудин-1 может попадать в ядро, — использование шаперонов или других вспомогательных белков, таких как импортин-β [33].

Известно, что ядерная локализация некоторых белков клеточных контактов (β-катенин, ZO-1, ZO-2) коррелирует с онкогенной трансформацией и пролиферацией клеток. β-Катенин — компонент адгезивных контактов — имеет двойную роль: является молекулой клеточной адгезии, локализованной на мембране, и молекулой сигнальной трансдукции, приводя к эпителиально-мезенхимальной трансформации при локализации в цитоплазме или ядре [18]. Белок плотных контактов ZO-1 локализуется на цитоплазматической стороне плотных контактов, но не в самой клеточной мембране, в дифференцированных полярных эпителиальных клетках и транслоцируется в цитоплазму или ядро в пролиферирующих или дедифференцированных клетках [3, 34]. Мутация в ZO-1 также приво-

дит к его транслокации и индукции эпителиально-мезенхимальной трансформации в клетках I почки собаки Madin-Darby [35].

Активация Ras- или Ras-опосредованного сигнального пути — один из инициирующих этапов туморогенеза, связанный с неопластической трансформацией. В клеточных культурах с повышенной экспрессией Ras-белки плотных контактов клаудин-1, окклюдин и ZO-1 отсутствовали в контактах клетка—клетка, зато наблюдались в цитоплазме [3].

Предлагаем две версии, объясняющие наличие ядерной реакции клаудина 3 и 4.

1. Несмотря на отсутствие в этих белках последовательности NLS, в них есть последовательности, напоминающие NLS с некоторыми поправками. Возможно, мутация или последовательность мутаций приводит к приобретению последовательности NLS, позволяющей белкам проникать в ядро.

2. Существуют онкогенные вирусы, содержащие последовательности NLS, которые, возможно, встраиваются в клетки толстой кишки, вызывая развитие опухоли (полипа). Благодаря появлению этой последовательности нарушаются функционирование белков плотных контактов и их транслокация сначала в цитоплазму, а затем в ядро.

В пользу последней свидетельствуют факты, касающиеся роли белков плотных контактов, в том числе клаудинов, в захвате различных вирусов в клетку [36]. Так, клаудин-1 ответствен за внедрение вируса гепатита С в клетку, несмотря на то что не связывается с ним. Мутации в первой экстрацеллюлярной петле клаудина-1, приводящие к разъединению контакта клетка-клетка, позволяют проникать вирусу внутрь. Есть данные о роли белка клаудина-1 и ZO-1 в проникновении вируса Денге, ротавируса и многих вирусов, вызывающих острые респираторные вирусные инфекции [36].

Заключение

О цитоплазматической и ядерной локализации клаудинов разных типов сообщается в немногочисленных зарубежных работах. Причины данной транслокации остаются неизвестными, однако данный феномен вряд ли является артефициальным. Нами впервые показана ядерная реакция клаудина-3 в раке толстой кишки и ядерная реакция клаудина-4 в доброкачественных полипах толстой кишки.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Н.А.О.
Сбор и обработка материала: Н.А.О., О.А.Х.
Статистическая обработка: О.А.Х.
Написание текста: Н.А.О.
Редактирование: П.Г.М., Н.В.Д.
Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

- Balda MS, Matter K. The tight junction protein ZO-1 and an interacting transcription factor regulate ErbB-2 expression. *EMBO J*. 2000;19(9):2024-2033. doi:10.1093/emboj/19.9.2024
- Soler AP, Miller RD, Laughlin KV, Carp NZ, Klurfeld DM, Mullin JM. Increased tight junctional permeability is associated with the development of colon cancer. *Carcinogenesis*. 1999;20(8):1425-1431.
- Singh AB, Sharma A, Dhawan P. Claudin family of proteins and cancer: an overview. *J Oncol*. 2010;2010:541957. doi:10.1155/2010/541957
- Huo Q, Kinugasa T, Wang L, Huang J, Zhao J, Shibaguchi H, et al. Claudin-1 protein is a major factor involved in the tumorigenesis of colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2009;29(3):851-857.
- Lal-Nag M, Morin PJ. The claudins. *Genome Biol*. 2009;10(8):235. doi:10.1186/gb-2009-10-8-235
- Long H, Crean CD, Lee WH, Cummings OW, Gabig TG. Expression of Clostridium perfringens enterotoxin receptors claudin-3 and claudin-4 in prostate cancer epithelium. *Cancer Res*. 2001;61(21):7878-7881.
- Michl P, Barth C, Buchholz M, Lerch MM, Rolke M, Holzmann KH, et al. Claudin-4 expression decreases invasiveness and metastatic potential of pancreatic cancer. *Cancer Res*. 2003;63(19):6265-6271.
- Rangel LB, Agarwal R, D'Souza T, Pizer ES, Alò PL, Lancaster WD, et al. Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas. *Clin Cancer Res*. 2003;9(7):2567-2575.
- Lu S, Singh K, Mangray S, Tavares R, Noble L, Resnick MB, Yakirevich E. Claudin expression in high-grade invasive ductal carcinoma of the breast: correlation with the molecular subtype. *Mod Pathol*. 2013;26(4):485-495. doi:10.1038/modpathol.2012.187
- Shibutani M, Noda E, Maeda K, Nagahara H, Ohtani H, Hirakawa K. Low expression of claudin-1 and presence of poorly differentiated tumor clusters correlate with poor prognosis in colorectal cancer. *Anticancer Res*. 2013;33(8):3301-3306.
- Süren D, Yıldırım M, Kaya V, Alikanoğlu AS, Bülbüller N, Yıldız M, Sezer C. Loss of tight junction proteins (Claudin 1, 4, and 7) correlates with aggressive behavior in colorectal carcinoma. *Med Sci Monit*. 2014;20:1255-1262. doi:10.12659/msm.890598
- Sheehan GM, Kallakury BV, Sheehan CE, Fisher HA, Kaufman RP Jr, Ross JS. Loss of claudins-1 and -7 and expression of claudins-3 and -4 correlate with prognostic variables in prostatic adenocarcinomas. *Hum Pathol*. 2007;38(4):564-569. doi:10.1016/j.humpath.2006.11.007
- Matter K, Balda MS. Epithelial tight junctions, gene expression and nucleo-junctional interplay. *J Cell Sci*. 2007;120(9):1505-1511. doi:10.1242/jcs.005975
- Steed E, Balda MS, Matter K. Dynamics and functions of tight junctions. *Trends Cell Biol*. 2010;20(3):142-149. doi:10.1016/j.tcb.2009.12.002
- Niessen CM. Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol*. 2007;127(11):2525-2532. doi:10.1038/sj.jid.5700865
- Angelow S, Ahlstrom R, Yu AS. Biology of claudins. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2008;295(4):F867-F876. doi:10.1152/ajprenal.90264.2008
- Gröne J, Weber B, Staub E, Heinze M, Klaman I, Pilarsky C, et al. Differential expression of genes encoding tight junction proteins in colorectal cancer: frequent dysregulation of claudin-1, -8 and -12. *Int J Colorectal Dis*. 2007;22(6):651-659. doi:10.1007/s00384-006-0197-3
- Dhawan P, Singh AB, Deane NG, No Y, Shiou SR, Schmidt C, et al. Claudin-1 regulates cellular transformation and metastatic behavior in colon cancer. *J Clin Invest*. 2005;115(7):1765-1776. doi:10.1172/jci24543
- Soini Y. Claudins in lung diseases. *Respir Res*. 2011;12:70. doi:10.1186/1465-9921-12-70
- Cuevas ME, Gaska JM, Gist AC, King JM, Sheller RA, Todd MC. Estrogen-dependent expression and subcellular localization of the tight junction protein claudin-4 in HEC-1A endometrial cancer cells. *Int J Oncol*. 2015;47(2):650-656. doi:10.3892/ijo.2015.3030
- Fortier AM, Asselin E, Cadrin M. Keratin 8 and 18 loss in epithelial cancer cells increases collective cell migration and cisplatin sensitivity through claudin1 up-regulation. *J Biol Chem*. 2013;288(16):11555-11571. doi:10.1074/jbc.M112.428920
- French AD, Fiori JL, Camilli TC, Leotlela PD, O'Connell MP, Frank BP, et al. PKC and PKA phosphorylation affect the subcellular localization of claudin-1 in melanoma cells. *Int J Med Sci*. 2009;6(2):93-101.
- Jian Y, Chen C, Li B, Tian X. Delocalized Claudin-1 promotes metastasis of human osteosarcoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;466(3):356-361. doi:10.1016/j.bbrc.2015.09.028
- Leotlela PD, Wade MS, Duray PH, Rhode MJ, Brown HF, Rosenthal DT, et al. Claudin-1 overexpression in melanoma is regulated by PKC and contributes to melanoma cell motility. *Oncogene*. 2007;26(26):3846-3856. doi:10.1038/sj.onc.1210155
- Todd MC, Petty HM, King JM, Piana Marshall BN, Sheller RA, Cuevas ME. Overexpression and delocalization of claudin-3 protein in MCF-7 and MDA-MB-415 breast cancer cell lines. *Oncol Lett*. 2015;10(1):156-162. doi:10.3892/ol.2015.3160

26. Zhou B, Moodie A, Blanchard AA, Leygue E, Myal Y. Claudin 1 in breast cancer: new insights. *J Clin Med*. 2015;4(12):1960-1976. doi:10.3390/jcm4121952
27. Ruffer C, Gerke V. The C-terminal cytoplasmic tail of claudins 1 and 5 but not its PDZ-binding motif is required for apical localization at epithelial and endothelial tight junctions. *Eur J Cell Biol*. 2004;83(4):135-144. doi:10.1078/0171-9335-00366
28. Kwon MJ. Emerging roles of claudins in human cancer. *Int J Mol Sci*. 2013;14(9):18148-18180. doi:10.3390/ijms140918148
29. Merino-Gracia J, Costas-Insua C, Canales MÁ, Rodríguez-Crespo I. Insights into the c-terminal peptide binding specificity of the pdz domain of neuronal nitric-oxide synthase: Characterization of the interaction with the tight junction protein claudin-3. *J Biol Chem*. 2016;291(22):11581-11595. doi:10.1074/jbc.M116.724427
30. Hartsock A, Nelson WJ. Adherens and tight junctions: structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1778(3):660-669. doi:10.1016/j.bbame.2007.07.012
31. Kausalya PJ, Phua DC, Hunziker W. Association of ARVCF with zonula occludens (ZO)-1 and ZO-2: binding to PDZ-domain proteins and cell-cell adhesion regulate plasma membrane and nuclear localization of ARVCF. *Mol Biol Cell*. 2004;15(12):5503-5515. doi:10.1091/mbc.E04-04-0350
32. Fabbro M, Rodriguez JA, Baer R, Henderson BR. BARD1 induces BRCA1 intranuclear foci formation by increasing RING-dependent BRCA1 nuclear import and inhibiting BRCA1 nuclear export. *J Biol Chem*. 2002;277(24):21315-21324. doi:10.1074/jbc.M200769200
33. Reilly JF, Maher PA. Importin beta-mediated nuclear import of fibroblast growth factor receptor: role in cell proliferation. *J Cell Biol*. 2001;152(6):1307-1312.
34. Balda MS, Garrett MD, Matter K. The ZO-1-associated Y-box factor ZONAB regulates epithelial cell proliferation and cell density. *J Cell Biol*. 2003;160(3):423-432. doi:10.1083/jcb.200210020
35. Reichert M, Müller T, Hunziker W. The PDZ domains of zonula occludens-1 induce an epithelial to mesenchymal transition of Madin-Darby canine kidney I cells. Evidence for a role of beta-catenin/Tcf/Lef signaling. *J Biol Chem*. 2000;275(13):9492-9500.
36. Torres-Flores JM, Arias CF. Tight Junctions Go Viral! *Viruses*. 2015;7(9):5145-5154. doi:10.3390/v7092865

Поступила 08.09.2016