

НАВИГАЦИОННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В НЕРВНОЙ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМАХ

Обзор

© 2015 К.А. Рубина*, В.А. Ткачук

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины, 119192 Москва,
Ломоносовский пр., 31, корп. 5; факс: +7(495)932-9904,
электронная почта: rkseniya@mail.ru

Поступила в редакцию 01.06.15

После доработки 16.06.15

Кровеносные сосуды и нервные волокна растут параллельно, т.к. имеют одинаковые рецепторы для хемотактических веществ. Помимо таких молекул, как факторы роста, цитокины, хемокины, необходимых для формирования структур в нервной и сосудистой системах, в последнее время большое внимание уделяется изучению навигационных рецепторов и их лигандов. Эти навигационные молекулы определяют траекторию роста аксонов и сосудов. К навигационным молекулам относятся эфрины и их рецепторы, нейропиплины и плексины – рецепторы семафоринов, Robo-рецепторы слит-белков и UNC5B-рецепторы, связывающие нетрины. Помимо этих рецепторов и их лигандов к навигационным молекулам относят также урокиназу, ее рецептор (uPAR) и Т-кадгерин. Урокиназная система опосредует локальный протеолиз на лидирующем крае клетки, тем самым обеспечивая направленную миграцию. Т-кадгерин является молекулой «отталкивания», регулирующей направление роста аксонов и сосудов. Навигационные рецепторы играют также важную роль при развитии заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: навигационные рецепторы, ангиогенез, нейрогенез, урокиназная система, Т-кадгерин.

Несмотря на имеющиеся функциональные различия, кровеносная и нервная системы имеют большое структурное сходство. Обе системы представляют собой упорядоченные разветвленные сети, пронизывающие весь организм. Кровеносные сосуды и нервы колокализуются во взрослом организме, а в эмбриогенезе растут параллельно друг другу. Непосредственная анатомическая колокализация сосудов и нервов отражает взаимное влияние этих двух систем друг на друга и их согласованное функционирование [1]. В литературе описана роль одних и тех же факторов в стимуляции роста как нервов, так и сосудов (сосудисто-эндотелиальный фактор роста VEGF, нейротрофический фактор роста мозга BDNF, основной фактор роста фибробластов bFGF, инсулиноподобный фактор роста 1 IGF-1 и трансформирующий ростовой фактор TGF- α). В отличие от нервной системы, механизмы, определяющие направление роста и морфогенез сосудов, изучены существенно меньше.

Известно, что нейротрофины играют важную роль в нервной системе, поскольку регули-

руют выживание или гибель клеток нервной системы, их дифференцировку, высвобождение нейротрансмиттеров, функционирование синапсов и др. Семейство нейротрофинов включает NGF (фактор роста нервов, nerve growth factor), BDNF (нейротрофический фактор роста мозга, brain-derived neurotrophic factor) и нейропиплины NRP3 и NRP4. Нейротрофины связываются с Trk-рецепторами (neurotrophin-selective tropomyosin-receptor-kinase receptors) совместно с p75NTR-рецепторами (pan-neurotrophin-binding receptor) и вызывают активацию внутриклеточной сигнализации. В последнее время появились данные о том, что эти хорошо изученные нейротрофические факторы помимо своего основного действия в нервной системе оказывают выраженные ангиогенные эффекты. Например, эндотелиальные клетки в культуре экспрессируют оба рецептора NGF, Trk и p75NTR, а добавление NGF в среду культивирования эндотелиальных клеток стимулирует их пролиферацию и миграцию. *In vivo* введение экзогенного NGF стимулирует ангиогенез, что было показано на моделях роста сосудов хориоаллантоисной мембраны эмбрионов куропатки, куриных эмбрионов, а также на экспериментальной модели васкуляризации роговицы крысы [1]. Не вполне ясно, являются ли ангиоген-

Принятые сокращения: ЦНС – центральная нервная система, ГМК – гладкомышечные клетки, ММП – матриксные металлопротеиназы.

* Адресат для корреспонденции.

ные эффекты нейротрофических факторов прямыми (прямое действие NGF на эндотелиальные клетки) или опосредованными, например, через действие NGF на проангиогенные клетки и их активацию или через NGF-стимулированную индукцию секреции других ангиогенных факторов. Ангиогенная роль нейротрофина BDNF и его рецептора (TrkB) также была продемонстрирована на моделях *in vivo* и *in vitro*. Эндотелиальные клетки артерий, скелетной мускулатуры и миокарда экспрессируют и BDNF, и TrkB. У мышей нокаут по BDNF вызывает снижение выживаемости эндотелиальных клеток внутримиекардиальных артерий и капилляров, а у мышей, нокаутных по TrkB, наблюдается уменьшение количества внутримиекардиальных сосудов по сравнению с контролем [1].

На сегодняшний день очевидно, что регуляция процессов ангиогенеза и направленного роста и ветвления нейритов осуществляется с использованием сходных молекулярных механизмов [2]. «Концевые» эндотелиальные клетки растущего сосуда ведут себя подобно конусу роста аксона, тестируя микроокружение и выбирая направление миграции в зависимости от навигационных сигналов. VEGF стимулирует выживание и рост как сосудов, так и нервов. «Концевые» клетки используют те же навигационные молекулы, что и аксоны, включая эфрины (Ephrin) и их рецепторы (Eph), нейропилины (NRPs) и плексины (Plexin-D1), которые связывают семафорины (Semaphorins), Robo4, взаимодействующие со слит-белками (Slit), и UNC5B-рецепторы, связывающие нетрины (Netrins) (рис. 1, см. цветную вклейку).

Для всех этих белков продемонстрировано участие в прорастании аксонов в развивающейся нервной системе позвоночных и беспозвоночных, а для некоторых показана роль в формировании и remodelировании сосудистой системы. Кроме того, многие из этих белков экспрессируются и в других органах и тканях за пределами нервной системы и участвуют в развитии некоторых патологий, в частности в опухолевом росте и метастазировании [2–4].

ЭФРИНЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ

Система эфринов и рецепторов эфринов играет важную роль в эмбриогенезе при гастрюляции, формировании сомитов, морфогенезе скелетной, нервной и сердечно-сосудистой систем, опухолевом росте, неоангиогенезе и метастазировании [5]. Наиболее хорошо роль эфринов и их рецепторов изучена при формировании нервной системы в эмбриогенезе, основные результаты о

внутриклеточной сигнализации с участием эфринов и их рецепторов были получены на клетках нейрального происхождения. Опубликованы данные об их участии в регуляции траектории роста аксонов, формировании границ между органами и тканями, сегментации, топографическом картировании и формировании связей между нейронами в нервной системе [6]. Семейство эфриновых рецепторов представляет собой рецепторные тирозинкиназы, которые активируются за счет связывания с лигандами – эфринами. Существует два подкласса эфринов: эфрины В (эфрины В1–3) представляют собой трансмембранные белки, а эфрины А (эфрины А1–5) крепятся на цитоплазматической мембране при помощи гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря [7]. Рецепторы эфринов также делятся на подклассы Eph А- и Eph В-типа. Эфрины разных классов достаточно широко взаимодействуют с рецепторами без соблюдения строгой специфичности между подклассами. Для Ephrin-Eph-взаимодействия характерна активация внутриклеточной сигнализации как в клетке, экспрессирующей рецептор (forward signaling), так и в клетке, экспрессирующей лиганд (reverse signaling) (рис. 2, см. цветную вклейку). При активации сигнализации в клетках, экспрессирующих эфрины В (reverse signaling), происходит характерное фосфорилирование эфринов по нескольким высококонсервативным тирозиновым остаткам, расположенным в цитоплазматическом домене, а наличие С-терминального PDZ-домена в эфринах (Postsynaptic density protein/Discharge/Zona occludens) служит основой для сборки сигнальных белковых комплексов и их взаимодействия с другими PDZ-содержащими белками внутри клетки [5, 8]. Активация сигнализации от эфринов В внутри клетки может также приводить к дефосфорилированию ряда белков, активации киназ семейства Src и Rho ГТФаз, а также влиять на сигнальные пути, идущие от GPCR-белков (G-protein coupled receptors) [5–7]. Несмотря на отсутствие трансмембранной и цитоплазматической частей у эфринов А, они способны активировать внутриклеточную сигнализацию с участием белков семейства Src-киназ и фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), которые, в свою очередь, взаимодействуют с адапторными белками или корецепторами. Такими корецепторами являются, например, рецепторы нейротрофина Trk/В и p75, сигнализация которых усиливается при колокализации с эфринами А [8].

Активация внутриклеточной сигнализации от рецепторов эфринов (forward signaling) представляет собой еще более сложную цепь взаимодействий. Она приводит к фосфорилированию нескольких консервативных тирозиновых остатков в цитоплазматическом домене (рис. 2), что

создает сайты для взаимодействия с различными SH2-доменами (Src Homology 2), содержащими адапторные и scaffold-белки, а также Abelson-(Abl)киназой, белками семейства Src-киназ, белками-регуляторами активности Rho ГТФаз [5, 9]. Основной мишенью внутриклеточной сигнализации, которая активируется в результате Ephrin-Eph-взаимодействия (forward signaling), являются компоненты цитоскелета. Ключевыми при этом являются белки, регулирующие динамику актиновых филаментов и микротрубочек, компоненты адгезивных контактов (paxillin, FAK), белки, участвующие в клеточной подвижности (киназы – PI3K, Crk, Nck, Src, Fyn; Rho ГТФазы – Rho, Rac, Cdc42), и регулирующие их факторы, такие как RasGAP, Grb и др. [5]. Помимо того, что эфрины влияют на морфологию и миграцию клеток (а именно регулируют сигнальные пути, идущие от интегринов и FAK), Eph-рецепторы участвуют в «кросс-токе» сигнальных путей, регулирующих выживаемость клеток, пролиферацию и дифференцировку, таких как сигнальный каскад Ras/Erk/MAPK и Wnt. В отличие от многих рецепторных тирозиновых киназ, которые активируют сигнальный каскад MAPK (mitogen-activated protein kinase), активация рецепторов эфринов при связывании с соответствующими эфринами подавляет сигнализацию с участием MAPK (mitogen-activated protein kinases), что было продемонстрировано, например, для эфрина A2 и ряда других лигандов. Еще одной характерной особенностью эфриновой системы является «кросс-ток» между сигнализацией, активируемой с участием рецепторов эфринов, и Wnt-сигнализацией, который определяет положение и миграцию клеток в криптах кишечного эпителия во взрослом организме и важен для правильного формирования кишечной трубки в эмбриогенезе [5].

Известно, что взаимодействие эфринов с рецепторами может вызывать как адгезию (attraction), так и отталкивание (repulsion). Описаны различные механизмы, лежащие в основе выбора клеточного ответа. Взаимодействие эфринов с рецепторами приводит к отталкиванию клеток при высоком уровне экспрессии/кластеризации комплексов эфринов со своими рецепторами или в случае протеолитического расщепления эфринов с последующим эндоцитозом комплекса лиганда с рецептором внутрь клетки, экспрессирующей рецептор [6, 10]. Если процесс расщепления комплекса эфрина с рецептором или его последующего эндоцитоза в клетках оказывается заблокирован, результатом взаимодействия клеток будет адгезия. Так, существует сплайс-вариант эфрина A1b, рецепторсвязывающие характеристики которого отличаются от исходного варианта.

Экспрессия эфрина A1b в клетках блокирует протеолитическое расщепление эфрина A1a, что подавляет активацию внутриклеточной сигнализации от эфринового рецептора и приводит к адгезии вместо отталкивания [11]. Адгезия клеток также происходит при низком уровне экспрессии лиганда и/или рецептора или при низком уровне кластеризации лиганд-рецепторных комплексов. Как правило, взаимодействие эфринов с рецепторами эфринов происходит на поверхности клеток (*in trans*), однако в ряде последних исследований было обнаружено, что латеральное взаимодействие эфринов с рецепторами (*in cis*) также возможно. Так, эфрин A5 может латерально взаимодействовать с фибронектиновым доменом III типа эфринового рецептора Eph A3, что блокирует *in trans* взаимодействие эфринов с рецепторами между соседними клетками, ингибирует активацию внутриклеточной сигнализации (forward signaling) и приводит к адгезии [1].

В последние годы стало ясно, что клетки могут переключаться от одного на другой тип ответа; клеточный ответ – адгезия или отталкивание – лежит в основе организации клеток в органы и формирования границ между тканями. Так, было показано, что именно такое переключение ответа важно для пространственно-временной регуляции миграции клеток нервного гребня из нервной трубки [12]. На ранней стадии развития куриных эмбрионов клетки нервного гребня экспрессируют нейральные маркеры и мигрируют вентрально через ростральную часть сомитов (рис. 3, см. цветную вклейку), в то время как на более поздней стадии клетки нервного гребня имеют фенотип меланобластов и мигрируют по дорзо-латеральному направлению. Миграцию в первом случае регулируют рецепторы Eph B2/Eph B3: клетки нервного гребня, экспрессирующие эти рецепторы, избегают каудальной части сомитов и мезенхимы в дорзальной части эмбриона, где клетки экспрессируют эфрины B-типа [6]. Однако на более поздней стадии эти же эфрины B по-прежнему экспрессируются дорзо-латерально, но теперь служат аттрактивным сигналом для мигрирующих клеток нервного гребня [12]. Аналогичным образом активация Ephrin-Eph-системы в эндотелиальных клетках может приводить как к адгезии/инвазии, так и к деадгезии/отталкиванию. Например, активация Eph B4 (forward signaling) или эфрина B2 (reverse signaling) в эндотелии может как стимулировать, так и подавлять адгезию и миграцию клеток *in vitro* [6]. Выбор клеточного ответа в каждой конкретной ситуации определяется разными механизмами активации внутриклеточной сигнализации и последующим биохимическим каскадом реакций. Более того, для топографичес-

кого картирования аксонов в головном мозге и установления соответствующих связей между нейронами оказывается важен градиент экспрессии эфринов и их рецепторов. Так, в ряде исследований *in vivo* и *in vitro* было показано, что мигрирующие аксоны с высоким уровнем экспрессии эфриновых рецепторов более чувствительны к градиенту экспрессии эфринов А, чем аксоны с низким уровнем экспрессии рецепторов эфринов. Для прорастающих аксонов сетчатки было обнаружено, что существует некоторая пороговая концентрация эфринов А в окружающих тканях, при которой мигрирующие аксоны воспринимают этот сигнал как аттрактивный; при превышении пороговой концентрации эфринов происходит отталкивание [6].

Эфриновая система играет важную роль в позиционировании клеток за счет регуляции клеточной адгезии и/или ограничения миграции и инвазии путем формирования границ между тканями [6, 10]. При формировании границ между тканями эфриновая система может контролировать функцию кадгеринов. Так, у позвоночных при формировании границы между нотохордом и мезодермой, из которой в дальнейшем будут образовываться сомиты, формирование адгезивных кадгеринсодержащих комплексов блокируется в результате взаимодействия эфринов и их рецепторов на двух соседних типах клеток. Сигнализация от эфринов и Eph-рецепторов вдоль формирующейся границы вызывает локальное увеличение активности актомиозинового комплекса и сокращение клеток, что препятствует формированию стабильных кадгериновых контактов и прочной межклеточной адгезии [13].

Кроме того, эфриновая система участвует в «кросс-токе» различных сигнальных путей, регулирующих пролиферацию и дифференцировку. Нарушение экспрессии или сигнализации, идущей от эфринов или их рецепторов, определяющих клеточную дифференцировку, также может способствовать канцерогенезу. Так, в криптах кишечника в норме взаимодействие эфрина В1 с Eph В3 вызывает отталкивание, что определяет позицию стволовых и дифференцированных клеток, ограничивает их избыточную миграцию и пролиферацию. При аденоме кишечника и на начальной стадии рака конститутивная активация сигнального пути Wnt/ β -catenin/Tcf приводит к увеличению экспрессии рецепторов Eph В (Eph В2 и Eph В3), которые при этом играют роль опухолевых супрессоров и сдерживают опухолевый рост, опосредуя отталкивание. Как было продемонстрировано на экспериментальных моделях у мышей, у которых отсутствует экспрессия Eph В3 или эфрина В1, на более поздних стадиях рака клетки теряют

экспрессию белков эфриновой системы, что способствует их росту и инвазии без ограничений. По-видимому, в основе механизма, сдерживающего пролиферацию и миграцию клеток опухоли, экспрессирующих эфриновые рецепторы, лежит их взаимодействие с окружающими эпителиальными клетками, которые экспрессируют эфрины В и поддерживают прочные межклеточные E-кадгеринсодержащие контакты [7].

Эфрины и их рецепторы в сосудистой системе. Первые данные о роли эфринов и Eph-рецепторов в организации сосудистой системы были получены при изучении артериовенозной дифференцировки в эмбриогенезе. Сегодня ясно, что эндотелиальные клетки вен и артерий различаются как функционально, так и по экспрессии молекулярных маркеров. Эфрин В2 специфически экспрессируется в артериях, но не встречается в венах, а Eph В4 экспрессирован только в венах. Существует несколько механизмов, за счет которых эфрин В2 и его рецептор Eph В4 участвуют в морфогенезе кровеносной системы. Во-первых, в эмбриогенезе в процессе образования первичного сосудистого сплетения путем васкулогенеза происходит зонирование на территории, где клетки экспрессируют эфрин В2 и в дальнейшем будут дифференцироваться в клетки артерий, и клетки с венозной судьбой, экспрессирующие Eph В4. Взаимодействие эфрина В2 с рецептором Eph В4 приводит к отталкиванию и сегрегации эндотелиальных клеток венозной и артериальной систем, в результате чего эти две популяции клеток оказываются функционально и морфогенетически разделенными и не перемешиваются [14]. Во-вторых, эфрин В2 на ранних этапах ангиогенеза участвует в специализации эндотелиальных клеток, в результате чего формируются концевые клетки («tip cell») и веховые («stalk cells»). В-третьих, эфрин В2 важен для рекрутирования циркулирующих в крови эндотелиальных прогениторных клеток костномозгового происхождения, необходимых для роста сосудов путем васкулогенеза, а также участвует в процессах стабилизации сосудов за счет привлечения муральных клеток [14].

Экспрессия генов эфрина В2 и Eph В4 в эндотелиальных клетках начинается в эмбриогенезе у мыши задолго до начала собственно циркуляции крови; на дифференциальную экспрессию этих генов в эндотелиальных клетках влияют гемодинамические параметры и микроокружение. Таргетная инактивация генов, кодирующих эфрин В2 и Eph В4 у мышей, приводит к патологии сосудов, что свидетельствует о важной роли этих молекул в формировании нормальной артериовенозной сети [15]. У нокаутных мышей, гомозиготных по гену *Eph В4*, наблюдаются дефекты ар-

териовенозной сети в головном мозге и желточном мешке, а также патологии формирования трабекул сердца [1]. У мышей, нокаутных по эфрину В2, обнаруживается сходный фенотип, что позволяет предполагать, что эти белки функционируют как лиганд-рецепторная пара [16]. Эфрин В2 и Eph В4 также важны для формирования лимфатической системы в эмбриогенезе [15].

Помимо артериовенозной дифференцировки эндотелиальных клеток эфриновая система определяет направление роста и навигацию кровеносных сосудов подобно навигации аксонов нейронов, прорастающих к своим мишеням в эмбриогенезе. Так, в эмбриогенезе личинок шпорцевой лягушки эфрины В экспрессируются мезенхимными клетками сомитов, расположенными по направлению роста межсомитных сосудов. Инъекции РНК, кодирующей доминантно-негативные формы Eph В4 или эфринов В в форме, блокирующей сигнализацию от эфриновых рецепторов, вызывают нарушения нормальной траектории роста сосудов и связанные с этим дефекты их формирования в развивающихся эмбрионах. Авторы предположили, что взаимодействие Eph В4 с эфринами В-типа вызывает негативное регулирование миграции эндотелиальных клеток и обеспечивает навигационные сигналы, необходимые для правильного формирования сосудов в эмбриогенезе. Схожие результаты о роли эфриновой системы в регуляции направленного роста сосудов и формирования сомитов были получены в работах на рыбках *Danio (Zebrafish)* [1].

Во взрослом организме высокая экспрессия эфрина В2 наблюдается в зонах ангиогенеза при заживлении ран, созревании фолликулов и формировании желтого тела в яичнике, а также при опухолевом ангиогенезе. В целом в эмбриогенезе уровень экспрессии эфринов и их рецепторов существенно выше, чем во взрослом организме, однако при различных патологиях, в т.ч. при онкологических заболеваниях, таких как рак молочной железы, рак легкого, почечная карцинома, меланома, саркома, нейробластома, рак яичников и простаты человека, экспрессия эфринов может значительно увеличиваться [5, 7].

Помимо экспрессии непосредственно в опухолевых клетках эфрины и Eph-рецепторы экспрессируются в клетках кровеносных сосудов, прорастающих в опухоль, что важно для ее питания и диссеминации. Основную роль в опухолевом неоангиогенезе приписывают Eph А2 (forward signaling) и эфрину В2 (reverse signaling) [7, 10]. На нескольких мышинных моделях опухолевого роста было показано, что использование антител, блокирующих взаимодействия Eph А2 – эфрин А или Eph В – эфрин В2, подавляет опухолевый рост за счет блокирования опухолевого

неоангиогенеза [7]. В настоящее время некоторые препараты на основе антител, блокирующих взаимодействие эфринов с рецепторами, проходят доклинические и начальные этапы клинических исследований, однако этот подход вряд ли окажется перспективным для противоопухолевой терапии, поскольку блокирование взаимодействий Eph–эфрин влияет и на сами опухолевые клетки, способность которых к миграции и инвазии увеличивается при исчезновении ограничивающего фактора.

СЕМАФОРИНЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ

Семафорины (Sema) представляют собой большое семейство трансмембранных и секретуемых молекул, обладающих одним общим свойством – в своей структуре они имеют Sema-домен (рис. 1). Трансмембранные семафорины взаимодействуют с плексинами (Plexin), в то время как секретуемые семафорины III типа (Sema3A–Sema3G) связываются с нейропиллинами (NRP), которые не сигнализируют сами по себе, а функционируют как корецепторы плексинов в нервной системе или как корецепторы рецепторов VEGF (VEGFR) в сосудах [17]. Исключение составляет лишь Sema3E, который напрямую связывается с плексином D1, одним из девяти плексинов, экспрессированных в эндотелиальных клетках сосудов млекопитающих в эмбриогенезе.

Роль семафринов как навигационных молекул, негативных регуляторов роста аксонов при формировании нервной системы в эмбриогенезе, достаточно хорошо изучена [1]. Первый семафорин, трансмембранный Sema1A, был обнаружен и охарактеризован в нервной системе кузнечиков [18]. Следующим из эмбрионального мозга цыпленка был выделен Sema3A и назван коллапсином в связи с обнаруженной функцией подавления роста аксонов [19]. В основном связывание семафринов с рецепторами вызывает отталкивание, однако в ряде случаев было обнаружено, что семафорины могут функционировать как аттрактивные молекулы. Связывание трансмембранных семафринов вызывает активацию внутриклеточной сигнализации в клетках, экспрессирующих соответствующий рецептор (reverse signaling), однако, подобно трансмембранным эфринам, связывание семафринов может также активировать сигнализацию в клетках, экспрессирующих лиганд [1].

В нервной системе в эмбриогенезе рост новых аксонов происходит вдоль уже сформировавшихся аксонов, с которыми они объединяются в пучки (fasciculation). Nrp-рецепторы важ-

ны для правильной организации аксонов в пучки и навигации. Например, у мутантных мышей *Nrp1^{-/-}* наблюдаются дефекты формирования VII, IX и X черепных нервов, которые не обнаруживаются у мышей *Nrp2^{-/-}*. А у мышей *Nrp2^{-/-}*, наоборот, II и IV черепные нервы, у мышей *Nrp1^{-/-}* развивающиеся нормально, формируют проекции с нарушениями. Аналогичным образом аксоны нейронов симпатических ганглиев у мышей *Nrp2^{-/-}* не отвечают на навигационный стимул *Sema3F*, который является основным лигандом *Nrp2* при формировании целого ряда проекций, включая черепные нервы, лимбические структуры, аксоны спинальных мотонейронов и обонятельных нейронов, что проявляется в дефектах развития этих структур. Направление роста аксонов чувствительных нейронов спинальных ганглиев регулируется с участием *Sema3A*. Аксоны чувствительных нейронов, выделенные из спинальных ганглиев мышей *Nrp1^{-/-}*, не чувствительны к *Sema3A* и не способны отвечать изменением направления на добавление *Sema3A* в среду культивирования *in vitro*. Кроме того, дефекты развития черепных нервов, которые наблюдаются у мышей *Nrp1^{-/-}*, полностью совпадают с дефектами *Sema3a* мутантных мышей, что свидетельствует о том, что *Sema3A* является лигандом, необходимым для отталкивания и правильной навигации растущих аксонов черепных нервов, экспрессирующих *Nrp*. В некоторых работах было показано участие *Nrp-Sema*-системы в регуляции направленной миграции клеток нервного гребня, что свидетельствует о том, что нейропилины и их лиганды играют сложную и многоплановую роль в развитии периферической нервной системы в целом [17].

Роль семафоринов и их рецепторы в сосудистой системе. Помимо нервной системы семафоринины играют навигационную роль при формировании других органов и тканей. В эмбриогенезе цыпленка растущие кровеносные сосуды избегают сомитов, клетки которых экспрессируют *Sema3*, что указывает на навигационную функцию *Sema3* для мигрирующих эндотелиальных клеток [15]. Эти данные были подтверждены *in vitro*, *Sema3* подавляет выживание и миграцию NRP1-экспрессирующих эндотелиальных клеток в культуре и формирование капиллярноподобных трубочек на модели сосудистого колечка *ex vivo*. В то же время было обнаружено, что у мышей, нокаутных по *Sema3A* или экспрессирующих мутантный вариант NRP1, который не способен связывать *Sema3A*, формируется нормальная кровеносная система. Авторы высказали предположение о том, что семафоринины не являются необходимыми для нормального формирования сосудов в эмбриогенезе у мыши,

где основной контроль осуществляет VEGF, или что функция семафоринов дублируется другими белками [17]. В отличие от сосудистой системы, в нервной системе именно *Sema3A*, а не VEGF, необходим для выбора правильной траектории аксонов мотонейронов, растущих к своим мишеням в развивающихся конечностях у мыши [17].

Помимо NRP *Sema3* способны связываться с плексином D1 (рис. 1) на поверхности эндотелиальных клеток, что вызывает активацию внутриклеточной сигнализации, результатом которой является отталкивание [14, 15]. Так, в эмбриогенезе у мыши связывание *Sema3E* с плексином D1 и отталкивание определяют выбор правильной траектории роста межсомитных сосудов. У рыбок *Danio (Zebrafish)* мутации в гене *Plxnd*, вызывающие потерю функциональной активности этого белка, приводят к избыточному ангиогенезу и формированию aberrантных межсомитных сосудов [15]. Мутации по плексиному D1 у мышей летальны в силу дефектов формирования сердечно-сосудистой системы и скелета, мыши погибают сразу после рождения [15]. У нокаутных мышей по гену *Sema3e* выявляется похожий на *Plxnd1* дефектный паттерн формирования сосудов туловища, однако у мышей *Plxnd1^{-/-}* наблюдается более тяжелый фенотип по сравнению с мышами *Sema3e^{-/-}*, что может свидетельствовать о том, что помимо *Sema3E* плексин D1 взаимодействует с другими лигандами или формирует более сложный комплекс, включающий рецепторы NRP1 и NRP2 и несколько семафоринов (*Sema3A*, *Sema3C*, *Sema4A*) [15].

НЕЙРОПИЛИНЫ

Нейропилины NRP1 и NRP2 представляют собой трансмембранные белки с тремя внеклеточными доменами (два CUB-домена, ответственных за связывание с семафоринами, и домены, ответственные за димеризацию и взаимодействие с корецепторами) и цитоплазматическим доменом, имеющим сайт связывания с PDZ-белками (рис. 1) [15, 20]. Основной функцией NRP является регуляция миграции клеток как в нервной, так и в сосудистой системах. Свою навигационную функцию NRP реализуют при связывании с семафоринами и VEGF. В нервной системе это взаимодействие приводит, как правило, к отталкиванию, что опосредует коллапс конуса роста и изменение направления роста аксона, в то время как в сосудах взаимодействие NRP с различными представителями семейства VEGF вызывает, наоборот, аттракцию, миграцию «концевых» клеток и рост сосудов по градиенту VEGF. В эндотелиальных клетках

NRP формируют комплекс с VEGF-рецепторами, причем NRP1 является корецептором VEGFR-2, а NRP2 – корецептором VEGFR-2 и VEGFR-3 [17]. В эмбриогенезе NRP необходим для полноценного формирования сосудистой сети, поскольку полный нокаут по NRP1 приводит к дефектам артериальной дифференцировки. В отличие от NRP1, у NRP2-мутантов артериовенозная дифференцировка происходит нормально, однако у этих животных наблюдаются дефекты ветвления лимфатических сосудов [17].

NRP взаимодействуют со структурно непохожими друг на друга белками семафоринами III типа и VEGFs [20, 21]. В самых первых исследованиях было сделано предположение о том, что семафорины и VEGFs конкурируют за связывание с NRP. Однако рентгеноструктурный анализ фрагментов внеклеточных доменов NRP1 и NRP2 показал, что семафорины и VEGFs не являются прямыми конкурентами за связывание с NRP [22]. Более того, семафорины и VEGF вызывают внутри клеток разную сигнализацию; эндоцитоз рецепторов NRP в случае связывания VEGF с NRP идет по клатриновому пути, а в случае Sema3C с NRP – по кавеолиновому пути с участием липидных плотов [17]. Связывание NRP с разными лигандами обеспечивает избирательность активации эффекторных белков в клетке и специфичность клеточного ответа.

Единственный известный на сегодняшний день белок, способный связываться с внутриклеточным доменом NRP1, – это синектин (Synectin), содержащий PDZ-домен (post synaptic density protein). Синектин выполняет функцию адаптора, связывая неокаймленные везикулы (эндоцитические пузырьки) с моторным белком миозином VI, необходимым для транспорта и рециркулирования (recycling) эндоцитированных мембранных рецепторов. У мышей, нокаутных по синектину, и у рыбок *Danio (Zebrafish)* при подавлении экспрессии синектина с использованием олигонуклеотидов (нокдаун гена) наблюдаются дефекты формирования и ветвления артерий и подавление NRP1-зависимой миграции эндотелиальных клеток. В эндотелиальных клетках, у которых отсутствует экспрессия синектина, формирование комплекса NRP1 с рецептором VEGF (VEGFR-2) подавлено, что позволяет предположить, что синектин играет роль мостика, связывающего NRP1 и VEGFR-2 в общий сигнальный рецепторный комплекс [23].

В ряде работ было показано, что экспрессия NRP1 может усиливать ангиогенный сигнал, возникающий при связывании VEGF-рецепторов с изоформами VEGF A (VEGF_{164/165}), способными также связываться с NRP1 [24]. В этих работах было обнаружено, что экспрессия NRP1

необходима для VEGF-индуцированной активации p38 MAPK, а также что этот сигнальный путь важен для взаимодействия эндотелиальных клеток с перицитами, необходимыми для стабилизации сосудов. При этом одни и те же эндотелиальные клетки могут одновременно экспрессировать рецепторы NRP, VEGFR и плексин D1. Эти данные позволяют предполагать, что эндотелиальные клетки могут по-разному отвечать на связывание с лигандами (семафоринами и/или VEGF) в зависимости от того, с какими рецепторами (NRP, плексин D1 или VEGFR) взаимодействуют лиганды. Более того, было обнаружено, что в эндотелиальных клетках NRP1 и NRP2 могут функционировать как корецепторы других рецепторов и таким образом стимулировать ангиогенез. Так, NRP могут быть корецепторами c-met (рецептор фактора роста гепатоцитов HGF), рецептора фактора роста фибробластов (FGFR) и рецептора плацентарного фактора роста PlGF (VEGFR1) [1, 17].

Недавно были созданы антитела, блокирующие связывание семафоринов или белков семейства VEGF с NRP-рецепторами. Анти-NRP1A антитела специфически блокируют связывание семафоринов с NRP, а анти-NRP1B антитела – связывание белков семейства VEGF с NRP. Анти-NRP2B антитела ингибируют связывание VEGF₁₆₅ и VEGF-C с NRP2 и подавляют формирование комплекса NRP2 с VEGFR-2 и VEGFR-3. Данные биохимических экспериментов показали, что добавление анти-NRP1B антител или анти-NRP2B антител в среду культивирования эндотелиальных клеток, независимо от присутствия в ней VEGF, не оказывает прямого влияния на уровень фосфорилирования VEGFR или известных нисходящих сигнальных белков-посредников рецепторов VEGF, таких как киназы ERK-1/2 или АКТ [17]. Возможно, что NRP активировать какие-то дополнительные сигнальные пути или рекрутирует неизвестные сигнальные молекулы в комплекс лиганда VEGF с рецептором VEGFR.

In vitro добавление обоих антител в среду культивирования подавляет VEGF-индуцированный ангиогенез, причем анти-NRP1 антитела специфичны для эндотелиальных клеток из пупочной вены (HUVEC), а анти-NRP1B антитела – для эндотелиальных клеток лимфатических сосудов, предварительно стимулированных VEGF-C. Использование этих антител эффективно подавляет опухолевый неоангиогенез (NRP1) и лимфангиогенез (NRP2) на животных моделях *in vivo*, что позволяет рассматривать стратегию использования антител к NRP перспективным подходом для лечения онкологических заболеваний в клинике [17].

Известно, что некоторые семафорины, Sema3C и Sema4D, обладают способностью стимулировать опухолевый неангиогенез, в то время как другие, Sema3A, Sema3B, Sema3D, Sema3F, Sema4A, наоборот, его подавляют [14, 20]. Нейропилины экспрессируются в большом количестве на опухолевых клетках различного происхождения и в сосудах, прорастающих в опухоль. У человека высокий уровень экспрессии NRP1 и NRP2 коррелирует с опухолевым ростом и метастазированием рака простаты, толстого кишечника, рака легкого и астроцитомы [20]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было обнаружено, что связывание VEGF с NRPs защищает опухолевые клетки от апоптоза. Эти данные были получены *in vitro* на культурах клеток MDA-MB-231 рака молочной железы и клетках рака простаты, а также на экспериментальных моделях *in vivo*. Добавление Sema3 в среду культивирования блокирует этот эффект VEGF, подавляет миграцию и пролиферацию опухолевых клеток.

НЕТРИНЫ И ИХ РЕЦЕПТОРЫ

Нетрины (Netrins) представляют собой еще одно семейство белков, выполняющих навигационную функцию для растущих аксонов и мигрирующих клеток. Нетрины содержат VI ламининовый домен, EGF-подобные повторы (повторы, подобные эпидермальному фактору роста), домен, аналогичный V домену ламинина, и гепаринсвязывающий C-концевой домен (рис. 1) [1, 17]. Впервые нетрины были описаны у мутантов *C. elegans* при скрининге генов, ответственных за подвижность нематод [25]. Далее было обнаружено, что нетрины, выделенные из экстракта мозга позвоночных, стимулируют рост аксонов из эксплантов спинного мозга *ex vivo*. У млекопитающих известны нетрин 1, нетрин 3 и нетрин 4 [1]. Основные рецепторы нетринов у млекопитающих представлены семействами белков DCC/неогенин и UNC-5 (Uncordinated-5) (UNC-5A, UNC-5B, UNC-5C и UNC-5D). Нетрины являются бифункциональными навигационными молекулами, которые в нервной системе взаимодействуют с обоими типами рецепторов и могут опосредовать как отталкивание растущих аксонов, так и рост аксонов по градиенту хемоаттрактанта.

DCC-рецепторы состоят из внеклеточного домена, включающего шесть фибронектиноподобных повторов третьего типа (FNIII3) и четыре иммуноглобулиновых повтора (Ig), трансмембранного домена и цитоплазматического домена, состоящего из трех доменов (P1, P2 и P3) (рис. 1). Внутриклеточный (цитоплазматический)

домен DCC-рецептора содержит несколько сайтов фосфорилирования и сайты связывания с адапторными белками. Сайт связывания с нетринами содержится в одном из фибронектиноподобных повторов 3-го типа. UNC-5 представляют собой трансмембранные рецепторы, внеклеточная часть которых состоит из двух иммуноглобулиновых доменов (Ig) и двух тромбоспондиноподобных доменов (TSP1); цитоплазматическая часть включает домен, подобный белку zona occludens-1 (ZO5), DCC-связывающий и death-домены. У рецептора UNC-5 сайт связывания нетрина 1 расположен в области иммуноглобулиновых повторов [17].

Исследования, проведенные на мышах, нематодах и дрозофиле продемонстрировали, что связывание нетрина 1 с гомодимерами UNC-5 или гетеродимерами UNC-5/DCC вызывает отталкивание, а взаимодействие нетрина 1 с DCC (deleted in colorectal cancer) и DCC/неогенин (Neogenin) – наоборот, аттракцию. В эмбриогенезе в ЦНС у мышей клетки в вентрикулярной части средней линии секретируют нетрин 1, что привлекает комиссуральные аксоны, которые растут в этом направлении. Результаты генетических исследований показывают, что у мышей, нокаутных по генам *netrin-1* и *dcc*, рост комиссуральных аксонов останавливается, и аксоны не достигают средней линии. Для других аксонов нетрины служат негативным навигационным сигналом, например, для аксонов мотонейронов блокового нерва (IV пара черепно-мозговых нервов), иннервирующего верхнюю косую мышцу глаза [17]. Эктопическая экспрессия рецепторов UNC-5 в спинальных нейронах *Xenopus* вызывает трансформацию ответа и отталкивание вместо аттракции. Это происходит в силу того, что рецепторы UNC-5 и DCC после связывания с нетринами могут взаимодействовать между собой своими цитоплазматическими доменами, что вызывает трансформацию аттрактивного сигнала от DCC-рецептора в реакцию отталкивания [1]. Помимо описанных рецепторов DCC и UNC-5 недавно было обнаружено, что нетрины могут связываться с DSCAM-белками, которые относятся к семейству иммуноглобулинов. DSCAM (Down Syndrome Cell Adhesion Molecule) участвуют в регуляции поворота растущих аксонов по градиенту нетрина 1. Так, известно, что связывание нетрина 1 с DSCAM-белками и дальнейшее взаимодействие этого комплекса с DCC-рецепторами важно для своевременного поворота растущих комиссуральных аксонов, что было показано в модельных экспериментах на нейронах млекопитающих и *Xenopus* [17].

Нетрины и их рецепторы в сосудистой системе. Нетрины и их рецепторы участвуют в регуляции

морфогенетических процессов не только в нервной системе, но и в других органах и тканях и способны модулировать клеточную адгезию, подвижность, дифференцировку и выживание клеток. В сосудах нетрина могут играть двойную роль и быть как проангиогенными, так и антиангиогенными. Исследования, проведенные группой под руководством профессора Эйчман (Prof. A. Eichmann), на моделях подкожного введения Матригеля и опухолевого роста *in vivo*, на эксплантной модели аорты крысы *ex vivo* и трехмерной культуре эндотелиальных клеток продемонстрировали, что нетрин 1 в определенных условиях может подавлять ангиогенез [17]. Антиангиогенные эффекты нетрин 1 опосредует через связывание с рецептором UNC-5B. Нетрин 4 также способен ингибировать ангиогенез, скорее всего за счет связывания с UNC-5B, хотя в одном из исследований было показано, что нетрин 4 связывается с UNC-5B не напрямую, а опосредованно через неогенин [26]. Добавление нетрина 1 в среду культивирования эндотелиальных клеток, экспрессирующих UNC-5B, вызывает ретракцию филоподий *in vitro* [17].

Высокий уровень UNC-5B характерен как для эндотелиальных клеток формирующихся артерий в эмбриогенезе, так и для «концевых» клеток в зоне активного ангиогенеза во взрослом организме. Экспрессия UNC-5B на покоящихся эндотелиальных клетках (phalanx cells) во взрослом организме минимальна, однако она повышается в местах активного физиологического ангиогенеза или опухолевого роста, что позволяет рассматривать UNC-5B как маркер ангиогенеза или потенциальную мишень для блокирования избыточного или aberrантного роста сосудов при патологии [17]. Инактивация гена *unc5* приводит к нарушениям формирования филоподий «концевыми» клетками, избыточному ветвлению формирующихся сосудов и ошибке при выборе траектории роста. Гиперэкспрессия нетрина 1 с использованием ретровирусной конструкции в линейных опухолевых клетках человека с последующей ксенотрансплантацией этих клеток мышам приводит к снижению неоваскуляризации первичных опухолевых узлов по сравнению с контрольным вирусом. При этом было обнаружено, что гиперэкспрессия нетрина 1 блокирует начальные этапы ангиогенеза (миграцию «концевых» эндотелиальных клеток) и подавляет прорастание UNC-5B-экспрессирующих сосудов в опухолевые узлы, но не влияет на дальнейшую пролиферацию эндотелиальных клеток и удлинение сосудистых отростков.

Нетрин 4 может также оказывать антиангиогенное действие. При подавлении экспрессии нетрина 4 способность эндотелиальных клеток к

миграции и формированию капилляроподобных трубочек на Матригеле *in vitro* увеличивается. А подавление экспрессии одного из рецепторов, неогенина или UNC-5B, приводит к исчезновению *in vitro* эффектов нетрина 4, ингибирующих ангиогенез [1, 17].

Неясно, оказывают ли эндогенные нетрины ингибирующее действие *in vivo*, поскольку дефектов формирования сосудистой сети у мышей, дефицитных по нетрину 1, обнаружено не было, а данных по мышам, нокаутным по генам *netrin-3* и *netrin-4*, в литературе пока нет. Некоторые результаты, полученные на моделях *in vivo* и *in vitro*, свидетельствуют о том, что нетрины блокируют избыточный ангиогенез при длительной стимуляции ангиогенными факторами и тем самым участвуют в регуляции процессов роста сосудов по принципу обратной связи [26].

В то же время в литературе имеется достаточное количество данных, убедительно свидетельствующих о том, что нетрины и их рецепторы, а именно DCC и неогенин, могут играть проангиогенную роль [27–30]. В этих работах было показано, что нетрины могут стимулировать пролиферацию, адгезию и миграцию эндотелиальных и гладкомышечных сосудистых клеток *in vitro*, а также ангиогенез *in vivo* на модели хоридантоисной мембраны и экспериментальной модели васкуляризации роговицы. При этом именно рецептор DCC опосредует промиграторные эффекты нетринов на сосудистых клетках [29, 30]. Еще в одном исследовании было обнаружено, что нетрин 1 стимулирует ангиогенез за счет увеличения активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и продукции NO эндотелиальными клетками. Эти эффекты нетрина 1 исчезали при добавлении антител, блокирующих DCC, или siRNA для подавления экспрессии его мРНК, что свидетельствует о том, что стимулирующие ангиогенез эффекты нетрина 1 напрямую зависят от DCC-рецептора [1]. Имеются данные об участии сигнализации с участием MEK/ERK (mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases) в проангиогенных эффектах нетринов [1].

In vivo проангиогенные эффекты нетринов были обнаружены при экзогенном введении этих белков во взрослый мозг экспериментальных животных. Увеличение экспрессии эндогенного нетрина 4 также было отмечено в зоне инсульта, в то время как экспрессия DCC, но не UNC-5A и не UNC-5B, обнаруживалась на нейритах нейронов в периникулярной зоне. Интрацеребровентрикулярное введение нетрина 4 на модели экспериментального инсульта у мышей приводило к увеличению плотности кровеносных сосудов, стимулировало пролиферацию эн-

дотелиальных клеток и восстановление нормального поведенческого статуса уже спустя одну неделю после введения [31]. Инъекции плазмид, кодирующих гены нетрина 1 или нетрина 4, ускоряли ревазуляризацию ишемизированных мышц *in vivo* на модели ишемии задней конечности у мыши, происходило это за счет рекрутирования гладкомышечных клеток в зону ишемии [17, 27]. Однако экспрессии ни одного из известных рецепторов нетринов в клетках в зоне ишемии обнаружено не было.

В том, будет ли ответ на нетрины проангиогенным или антиангиогенным, важную роль может играть их локальная концентрация [30]. Так, было обнаружено, что нетрин 1 в низкой концентрации может стимулировать миграцию и пролиферацию HUVEC *in vitro*, а в высокой — ингибировать. Аналогичные эффекты различных концентраций нетрина 1 были получены на модели васкуляризации роговицы *in vivo*, причем эти эффекты были опосредованы связыванием нетрина 1 с UNC-5B, поскольку при подавлении экспрессии UNC-5B ингибирующие и частично стимулирующие эффекты нетрина 1 исчезали. Подобные механизмы концентрационной зависимости типа клеточного ответа уже были описаны для эфринов и их рецепторов: для растущих аксонов в развивающейся нервной системе градиент эфринов или их рецепторов в низкой концентрации служит аттрактивным сигналом, превышение некоторой пороговой концентрации вызывает отталкивание [6]. Возможно, это явление отражает некий общий механизм, присущий навигационным рецепторам, а тип клеточного ответа зависит от адапторных белков, взаимодействующих с рецепторами, и конкретных путей внутриклеточной сигнализации, которые при этом активируются.

ЛИГАНДЫ СЛИТ И Robo-РЕЦЕПТОРЫ

Лиганды слит (Slits) представляют собой секретруемые гликопротеиды, которые исходно были описаны как молекулы, вызывающие отталкивание в нервной системе в эмбриогенезе. В дальнейшем была продемонстрирована их роль в определении места закладки и формирования почек в эмбриогенезе, формировании кровеносных сосудов и регуляции миграции активированных хемокинами CXCR4⁺-лейкоцитов [1].

Структурно белки слит состоят из четырех повторов с высоким содержанием лейцина, от семи до девяти EGF-подобных повторов и LamG-домена (рис. 1).

Белки слит взаимодействуют с рецепторами из семейства Robo (Roundabout), кроме того,

они могут связываться с протеогликанами внеклеточного матрикса (гепарином и гепарансульфатом), что, возможно, стабилизирует лиганд-рецепторный комплекс Slit/Robo или может опосредовать его взаимодействие с другими рецепторами [15, 17]. У млекопитающих известны три белка слит (Slit1, Slit2, Slit3) и четыре рецептора Robo (Robo1, Robo2, Robo3/Rig-1, Robo4). Robo1, Robo2, Robo3 в основном экспрессируются в нервной системе и содержат пять иммуноглобулиновых повторов (Ig), три фибронектиноподобных повтора 3-го типа (FNIII3), трансмембранный домен и цитоплазматический домен, состоящий из четырех консервативных Robo-специфичных мотивов (CC0, CC1, CC2, CC3) (рис. 1). Рецепторы Roundabout (Robo) были так названы потому, что у *Drosophila* при их делеции был обнаружен фенотип, при котором в ЦНС ипсилатеральные аксоны, в норме избегающие пересечения средней линии, ее пересекают, а комиссуральные аксоны пересекают среднюю линию туда и обратно несколько раз. Связывание слит-лигандов с Robo-рецепторами вызывает отталкивание, что важно для выбора правильной траектории роста аксонов в зоне средней линии развивающегося эмбриона. Была высказана гипотеза о существовании «Robo-кода», согласно которой финальная латеральная позиция комиссуральных аксонов после пересечения средней линии определяется набором рецепторов Robo на каждом конкретном аксоне. Рецепторы Robo в свою очередь взаимодействуют со слит-белками, градиент экспрессии которых создает клетки средней линии, что является определенной картой роста.

Помимо хорошо изученной роли в регуляции траектории роста комиссуральных и ипсилатеральных аксонов белки Slit/Robo участвуют в формировании продольных трактов аксонов в ЦНС, проекций вомероназальных аксонов в добавочную обонятельную луковицу в переднем мозге, а также ветвлении центральных аксонов тройничного нерва [17]. Кроме описанных механизмов известно, что в нервной системе рецепторы Robo, активированные слит, могут взаимодействовать своими внутриклеточными доменами с DCC-рецепторами нетринов и подавлять аттрактивный сигнал нетринов [1], что предполагает дополнительные уровни взаимодействия между навигационными молекулами разных групп и регуляции клеточного ответа.

Лиганды слит и Robo-рецепторы в сосудистой системе. У млекопитающих данные об участии белков Slit/Robo в морфогенезе сердечно-сосудистой системы немногочисленны и достаточно противоречивы. А у *Drosophila* с использованием методов *in situ* гибридизации и генетического ана-

лиза было обнаружено, что «Robo-код» определяет миграцию и позиционирование отдельных популяций клеток формирующегося сердца (кардиобластов и перикардиоцитов) относительно друг друга и средней линии. Кардиобласты (Slit) и перикардиоциты (Robo) экспрессируют разный набор лигандов и рецепторов, что на ранних этапах обеспечивает сегрегацию этих двух популяций и определяет их взаимное расположение и миграцию. На более поздних этапах при слиянии кардиобластов и формировании полости сердца сигнализация, активируемая Slit/Robo, участвует в регуляции клеточной адгезии, что важно для мофогенетических процессов в сердце, формирования его правильной формы и размера [1].

Основным представителем рецепторов Robo в сосудистой системе является Robo4, он специфичен для эндотелиальных клеток. В отличие от остальных Robo-рецепторов, Robo4 содержит только два иммуноглобулиновых повтора, два фибронектиноподобных повтора 3-го типа и цитоплазматический домен, состоящий из двух консервативных Robo-специфичных мотивов (CC1 и CC2) [1]. У млекопитающих использование метода *in situ* гибридизации и рекомбинантных технологий позволило выявить экспрессию Robo4 в эндотелиальных клетках в развивающихся эмбрионах мыши, во взрослом организме на сосудах мелкого диаметра и капиллярах, а также в сосудах, прорастающих в опухоль, на ксенографтной модели опухолевого роста [17].

У *Zebrafish* гомолог Robo4 экспрессируется и в развивающейся нервной системе, и в формирующихся сосудах, включая дорзальную аорту и кардинальные вены, а также в «концевых» эндотелиальных клетках ветвящихся межсомитных сосудов. Подавление экспрессии Robo4 с использованием морфолиновых нуклеотидов или гиперэкспрессия Robo4 вызывают дефекты формирования межсомитных сосудов [1].

В отличие от результатов исследований на *Zebrafish*, у млекопитающих при таргетном нарушении экспрессии гена *Robo4* явной роли этого белка в эмбриональном развитии сосудистой системы выявить не удалось. Дефицитные по *Robo4*^{-/-} мыши являются жизнеспособными и не обладают выраженным фенотипом, однако при локальном введении VEGF у них наблюдается избыточная проницаемость сосудов сетчатки и ее гиперваскуляризация при O₂-индуцированной ретинопатии. Повышенная проницаемость эндотелия у мышей *Robo4*^{-/-} может быть снижена с использованием PP2, ингибитора Src-киназы, что свидетельствует о том, что Robo4, напрямую или косвенно, блокирует Src-опосредованные эффекты VEGF. Дальнейший анализ мышей фенотипа *Robo4*^{-/-} и экспери-

менты на культуре эндотелиальных клеток *in vitro* позволили предположить, что Robo4 действует по принципу обратной связи и нейтрализует ангиогенные эффекты VEGF, а именно миграцию эндотелиальных клеток, формирование капиллярноподобных трубочек и увеличение проницаемости эндотелия. Авторы высказали предположение, что тем самым Robo4 участвует в поддержании целостности сосудистой стенки [1, 15]. Кроме того, недавно было показано, что при связывании slit с Robo 4 цитоплазматический домен рецептора взаимодействует с адапторным белком паксиллином (paxillin). Взаимодействие Robo4/paxillin блокирует активацию Rac и Arf-6 (компоненты сигнального пути, активируемого VEGF). *In vivo* ингибирование активности Arf-6 имитирует эффекты Robo4 и так же, как и Robo4, подавляет гиперпроницаемость сосудов сетчатки, наблюдаемую при введении VEGF [32]. Это позволяет рассматривать Robo4 как потенциальную мишень при разработке лекарств для лечения заболеваний, связанных с избыточным ангиогенезом или гиперпроницаемостью сосудов.

Непосредственное связывание Slit 2 с Robo4 никогда не было доказано, даже с использованием высокочувствительных методов [33]. Кроме того, на основании рентгеноструктурного анализа некоторыми авторами было высказано сомнение в том, что Robo4 вообще является рецептором slit-белков [1, 17]. Некоторыми авторами было сделано предположение о том, что Robo4 взаимодействует с лигандами опосредованно через другие белки. Так, было обнаружено, что в эндотелиальных клетках помимо Robo4 экспрессируется Robo1. *In vitro* продемонстрировано, что Robo1 может формировать гетеродимеры с Robo4 в эндотелиальных клетках, а связывание Slit2 с Robo1 может активировать в них Robo4 и таким образом влияет на клеточную миграцию и ангиогенез [1, 17, 34, 35].

В одной работе было высказано предположение, что Robo4 в сосудах не является в собственном смысле слова навигационным рецептором, а его роль сводится к регуляции клеточной специализации – формированию фенотипов «tip cell» и «stalk cell» [36]. Экспрессия Robo4 была обнаружена в эндотелиальных «stalk»-клетках, в отличие от «tip»-клеток, а добавление рекомбинантного Slit2 подавляло миграцию, формирование капиллярноподобных трубочек и увеличение проницаемости, несмотря на добавление VEGF в среду культивирования.

Роль Robo1 в формировании сосудов в эмбриогенезе до сих пор не исследовалась [1, 17]. Однако в литературе имеются данные о роли Robo1 в опухолевом ангиогенезе. Экспрессия Robo 1 оказывает проангиогенный эффект и спо-

способствует опухолевому росту, что было показано на моделях *in vitro* и *in vivo*. Введение антител, нейтрализующих Robo1, подавляет формирование мелких сосудов и рост первичного опухолевого узла на ксенографтной модели злокачественной меланомы A375 у мышей [34]. Отсутствие выраженного фенотипа у мутантных по Robo- или Slit-белкам мышей на сегодняшний день не позволяет четко обозначить роль Slit-/Robo-системы в процессах морфогенеза сосудов.

УРОКИНАЗНАЯ СИСТЕМА

На сегодняшний день к навигационным рецепторам также относят урокиназную систему, включающую урокиназу, ее рецептор и ингибиторы. Урокиназа (uPA) или активатор плазминогена урокиназного типа представляет собой протеолитический фермент, превращающий плазминоген в плазмин [37]. Урокиназа синтезируется эндотелиальными и ГМК-клетками сосудов, эпителиальными клетками, фибробластами, моноцитами/макрофагами, а также клетками злокачественных опухолей различного происхождения [38–40]. В структуре урокиназы выделяют три домена: N-концевой домен, подобный эпидермальному фактору роста (GFD, ростовой домен), крингл-домен и C-концевой протеолитический домен (рис. 3). GFD-домен обеспечивает высокоаффинное связывание uPA с ее рецептором uPAR/CD87. Крингл-домен принимает участие в стабилизации комплекса урокиназы с uPAR и его взаимодействия с компонентами внеклеточного матрикса [41]. Крингл-домен также содержит участки связывания с ингибитором активаторов плазминогена PAI-1 и интегринами. Протеолитический домен содержит активный центр урокиназы HNS, именно он ответственен за активацию плазминогена, ряда факторов роста и матриксных металлопротеиназ (ММП).

Клетки секретируют урокиназу в виде одноцепочечного полипептида с молекулярной массой 54 кДа [39], который при взаимодействии с плазминогеном превращает его в плазмин. Плазмин является активатором uPA и превращает одноцепочечную uPA в двухцепочечную форму. Протеолитическая активность двухцепочечной uPA в 200 раз выше, чем у одноцепочечной формы [42]. uPAR состоит из трех гомологичных доменов и заякорен на плазматической мембране через GPI-якорь, что опосредует его высокую латеральную подвижность (рис. 3). uPAR локализуется в особых участках плазматической мембраны – кавеолах, которые содержат большое количество гликофинголипидов и холестерола, в этих участках также локализуется

большое количество сигнальных молекул, в т.ч. эфрины, T-кадгерин и G-белки [41, 43]. Плазмин действует на ММП [39, 44] и факторы роста [45–47], переводя их из латентного состояния в активное. В сосудистой стенке плазмин расщепляет фибрин, что способствует растворению тромба, а ММП расщепляют белки внеклеточного матрикса и компоненты базальной мембраны, а именно коллаген, фибронектин и ламинин [48].

Урокиназная система играет важную роль в регуляции направленного движения клеток. Высокая подвижность урокиназного рецептора обеспечивает возможность концентрации комплекса uPA/uPAR на лидирующем крае клетки, там, где необходима протеолитическая активность [41, 47]. Протеолитическая активность связанной с рецептором урокиназы на лидирующем крае клетки обеспечивает локальный протеолиз и тем самым опосредует направленное движение клеток. Локальный протеолиз белков внеклеточного матрикса и разрушение базальной мембраны необходимы для того, чтобы эндотелиальные клетки или их циркулирующие в крови предшественники могли мигрировать и формировать новые сосуды [49]. Урокиназа и плазмин могут активировать и/или высвободить латентные ММП, а также ангиогенные факторы роста VEGF, bFGF, HGF (Hepatocyte growth factor, фактор роста гепатоцитов), TGF- β и PDGF (Platelet-derived growth factor, тромбоцитарный фактор роста), которые в свою очередь способствуют пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, а также их инвазии [41]. Плазминзависимые эффекты урокиназы необходимы для репарации тканей после повреждения, например, для образования рубца в ишемизированном миокарде [50] и регенерации [41].

Однако роль урокиназы в ремоделировании тканей не ограничивается активацией плазмينا и протеолитической активностью, поскольку связывание урокиназы с рецептором активирует не только внеклеточный протеолиз, но и запускает внутриклеточные сигнальные каскады [51]. Урокиназа может стимулировать миграцию эндотелиальных, гладкомышечных (ГМК) и эпителиальных клеток и моноцитов [52–55] независимо от ее протеолитической активности. Связывание урокиназы с uPAR на ГМК и эндотелиальных клетках вызывает активацию сигнального пути Jak/Stat. Janus-киназы, Jak1 и Tyk2, образуют комплекс с uPA-uPAR на лидирующем крае клетки, что, в свою очередь, приводит к транслокации факторов транскрипции Stat1, Stat2 и Stat4 в ядро и активации транскрипции генов [56, 57]. Активация миграции клеток происходит в результате сигнального киназного пути Tyk2/PI3-K/RhoA/Rho, что приводит к изме-

нениям клеточного фенотипа и реорганизации цитоскелета [55, 57]. В нашей лаборатории было обнаружено, что крингл-домен урокиназы может опосредовать хемотаксические эффекты uPA на ГМК [41]. Так, крингл-домен uPA, а также рекомбинантная форма uPA, лишенная ростового домена и не способная связываться с «классическим» рецептором uPAR/CD87, вызывают активацию p38 и p42/44 MAP-киназ, ГТФазы Rho и миграцию клеток. Несколькими авторами была продемонстрирована активация серин-треониновых киназ под действием урокиназы, таких как киназы ERK/MAPK [55, 57, 58].

Поскольку uPAR является GPI-заякоренным белком, для активации внутриклеточной сигнализации с участием uPAR/CD87 необходимо образование комплекса uPAR с другими трансмембранными белками. В частности, связывание uPA может вызывать взаимодействие uPAR с интегринами, кавеолином, рецепторами, сопряженными с GPCR-белками, и другими белками [59]. Так, известно, что uPAR/CD87 взаимодействует с интегринами, такими как лейкоцитарный $\beta 2$ -интегрин Mac-1 (CD11b/CD18), $\beta 1$ - и $\beta 3$ -интегрины, и с рецептором витронектина $\alpha v\beta 5$ [60, 61].

Урокиназа может взаимодействовать не только с uPAR/CD87, но и с рецепторами семейства липопротеинов низкой плотности (LDLR): рецептором $\alpha 2$ -макроглобулина (LRP/ $\alpha 2$ -MR) и рецептором липопротеинов очень низкой плотности (VLDLR). Эти рецепторы обеспечивают интернализацию uPA с поверхности клетки через окаймленные клатрином ямки путем эндоцитоза [41]. Кроме того, были обнаружены дополнительные участки связывания урокиназы на клетках, один из которых взаимодействует с uPA через ее протеолитический домен [6]. Так, была обнаружена новая мишень связывания урокиназы на поверхности клеток – фибулин-5 [62]. uPA может непосредственно взаимодействовать с фибулином-5, интегринсвязывающим белком внеклеточного матрикса, а фибулин-5, связываясь с протеолитическим доменом, защищает uPA от действия физиологического ингибитора урокиназы PAI-1 и подавления ее активности [41].

Урокиназная система является мощным стимулятором ангиогенеза и артериогенеза. Экспрессия урокиназы при экспериментальной ишемии конечности и инфаркте миокарда стимулирует ангио-артериогенез и восстановление кровотока в той же степени, что и экспрессия VEGF [63]. Эндотелиальные клетки, гиперэкспрессирующие uPA, характеризуются повышенной инвазивностью *in vitro*, а добавление антител, блокирующих uPAR или протеолитическую активность uPA, подавляет миграцию эндотелиальных клеток и формирование ими капилляропо-

добных структур [41]. Экспрессия uPAR возрастает на мигрирующих «концевых» клетках растущих сосудов при ангиогенезе [64, 65]. Результаты наших исследований показывают, что uPA и uPAR экспрессируются на мигрирующих и пролиферирующих клетках сосудов при развитии экспериментального рестеноза и в атеросклеротических бляшках, а внесение урокиназы в стенку поврежденного сосуда стимулирует развитие неоинтимы и неоадвентиции, миграцию, пролиферацию и фенотипическую трансформацию клеток сосудов [66–69].

Урокиназная система играет важную роль в развитии опухолей, их васкуляризации и метастазировании [70]. В клинических исследованиях показано, что экспрессия uPAR характерна для наиболее «агрессивных» клеток опухолей и сосудов, что может являться маркером активного опухолевого ангиогенеза и метастазов [41].

Таким образом, урокиназная система обладает способностью активировать протеолитические и сигнальные каскады, она выполняет важную функцию в регуляции направленной миграции сосудистых клеток, дифференцировке и пролиферации клеток, как в норме, так и при патологии. Урокиназа и ее рецептор участвуют в процессах ремоделирования кровеносных сосудов и регуляции ангиогенеза. На сегодняшний день uPA является перспективной мишенью для создания лекарств, направленных на профилактику рестенозов, предотвращение негативного ремоделирования артерий, стимуляцию роста сосудов при ишемических заболеваниях и подавление ангиогенеза в онкологии.

Т-КАДГЕРИН

Т-кадгерин принадлежит к семейству «классических» кадгеринов. Внеклеточная часть Т-кадгерина, так же как и у «классических» кадгеринов, состоит из пяти внеклеточных доменов (EC1–EC5) [71, 72]. Однако в отличие от «классических» кадгеринов Т-кадгерин не имеет трансмембранного и цитоплазматического доменов и заякорен на мембране через гликозилфосфатидилинозитольный якорь. Как и многие другие GPI-заякоренные белки и сигнальные молекулы, Т-кадгерин локализован в определенных участках плазматической мембраны, в «липидных плотках» (рис. 4, см. цветную вклейку). Хотя Т-кадгерин способен опосредовать слабую Ca^{2+} -зависимую гомофильную адгезию клеток в суспензии *in vitro*, из-за отсутствия трансмембранного и цитоплазматического доменов Т-кадгерин вряд ли может обеспечивать стабильную межклеточную адгезию [73], поэто-

му принято считать Т-кадгерин сигнальной молекулой [43].

Т-кадгерин в нервной системе. Т-кадгерин был клонирован из эмбрионального мозга цыплят в начале 90-х гг. [74]. Было обнаружено, что Т-кадгерин экспрессируется в нервной системе в определенное время в ограниченном количестве клеток. Т-кадгерин экспрессируется в аксонах мотонейронов, прорастающих к своим мышечным мишеням. В мезенхиме, где проходит путь, по которому прорастают аксоны, Т-кадгерин экспрессируется в каудальной (задней) части склеротома и на поверхности формирующейся мышцы за исключением будущего синаптического соединения; прорастающие аксоны избегают контакта с этими зонами. Рекомбинантный Т-кадгерин в качестве субстрата ингибирует рост аксонов нейронов *in vitro*, что предполагает гомофильный механизм взаимодействия между молекулами Т-кадгерина [75]. Был сделан вывод о том, что Т-кадгерин функционирует как молекула-навигатор и вызывает «отталкивание», тем самым определяя путь прорастания аксонов и место формирования синаптического контакта [76]. Экспрессия Т-кадгерина в каудальной части склеротома также определяет траекторию миграции клеток нервного гребня [77, 78].

В нервной системе Т-кадгерин экспрессируется и во взрослом организме. С использованием методов нозерн-блота и иммуногистохимии экспрессия Т-кадгерина была обнаружена в ЦНС человека: в коре головного мозга, гипоталамусе, средних отделах мозга, продолговатом мозге, в таких клетках, как пирамидальные и непирамидальные нейроны, астроциты, клетки Пуркинью, корзинчатые клетки и др. [79, 80].

Данные об экспрессии Т-кадгерина у млекопитающих в эмбриогенезе в литературе отсутствовали. Мы предположили, что Т-кадгерин может играть роль в эмбриогенезе не только в развивающейся нервной системе, но и в сердечно-сосудистой. Используя методы *in situ* гибридизации и иммунофлуоресцентного окрашивания целых эмбрионов в сочетании с конфокальной микроскопией, мы проанализировали экспрессию Т-кадгерина на ранних стадиях развития у мыши. Экспрессия мРНК Т-кадгерина в развивающемся головном мозге была обнаружена, начиная со стадии E8.75, в сердце экспрессия Т-кадгерина была выявлена на стадии E11.5 [81]. Таким образом, в эмбриогенезе у мыши Т-кадгерин экспрессируется в головном мозге и сердечно-сосудистой системе на стадии активного формирования органных структур и их васкуляризации, причем морфологически паттерн его экспрессии соответствует формирующимся сосудам. Возможно, в сердечно-сосудистой сис-

теме Т-кадгерин функционирует как молекула «отталкивания», которая направляет рост сосудов в отделах формирующегося мозга и сердца так же, как это происходит при росте аксонов в развивающейся нервной системе.

Т-кадгерин в сосудистой системе. Для ответа на вопрос, действительно ли Т-кадгерин регулирует процессы роста кровеносных сосудов, мы использовали различные хорошо известные модели ангиогенеза *in vivo*, *in vitro* и *ex vivo*, которые позволяют анализировать пролиферацию и адгезию эндотелиальных клеток, миграцию клеток в камере Бойдена, формирование капилляроподобных структур эндотелиальными клетками на Матригеле и в эксплантной модели сосудистого колечка *ex vivo*, а также при подкожной имплантации *Nude* мышам Матригелей, содержащих клетки с разным уровнем экспрессии Т-кадгерина [82]. Полученные данные свидетельствуют о том, что Т-кадгерин ингибирует ангиогенез на уровне подавления миграции эндотелиальных клеток и формирования мелких сосудов и капилляров. В нашей работе влияния Т-кадгерина на пролиферацию, адгезию и апоптоз эндотелиальных клеток *in vitro* выявлено не было. *In vivo* подкожное введение мышам клеток, гиперэкспрессирующих Т-кадгерин, создает микроокружение с высоким содержанием Т-кадгерина для прорастающих в бляшку сосудов, что тормозит начальные этапы ангиогенеза, но не влияет на созревание сосудов [82]. Использование рекомбинантных доменов Т-кадгерина показало, что в основе антиангиогенных эффектов Т-кадгерина лежит гомофильное взаимодействие между молекулами Т-кадгерина на контактирующих клетках, что вызывает «отталкивание» и подавление роста сосудов. Подобный механизм гомофильного взаимодействия и контактного ингибирования был уже описан для Т-кадгерина в нервной системе ранее. Таким образом, полученные данные позволяют утверждать, что Т-кадгерин является еще одной молекулой с навигационной функцией, регулирующей направление роста не только нервов, но и сосудов через окружающие ткани к своим мишеням.

В норме во взрослом организме сосудистая система находится в состоянии равновесия, процессы роста или регрессии сосудов четко регулируются. Избыточный или недостаточный ангиогенез, как правило, сопутствует опухолевому росту, патологическому ремоделированию сосудов и различным гиперплазиям тканей. В норме в сердечно-сосудистой системе Т-кадгерин экспрессируется в кардиомиоцитах и во всех слоях сосудов: в эндотелиальных клетках, ГМК и перицитах. Существует корреляция между повышенной экспрессией Т-кадгерина в

клетках сосудов и прогрессированием сердечно-сосудистых заболеваний, таких как атеросклероз и рестеноз, для которых характерно ремоделирование сосудистой стенки [83, 84].

Поскольку рост опухолей связан с рекрутированием новых сосудов, подавление ангиогенеза считается перспективным подходом при терапии раковых заболеваний [85, 86]. Обнаруженная нами способность Т-кадгерина подавлять ангиогенез делает его привлекательной мишенью для противоопухолевой терапии. Данные о роли Т-кадгерина в опухолевом росте и метастазировании в литературе противоречивы [87]. Было высказано предположение, что Т-кадгерин функционирует как фактор опухолевой супрессии [79, 88, 89]; снижение его экспрессии в результате аллельной потери или гиперметилирования промотора гена может быть связано с ростом и метастазированием определенных видов опухолей [87, 90]. Так, подавление экспрессии Т-кадгерина коррелирует со злокачественностью фенотипа и онкогенностью рака молочной железы [91], легких [92] и желчного пузыря [93]. Однако при других типах опухолей, таких как рак яичников, эндометрия [94, 95], и при остеосаркоме [96] снижение экспрессии Т-кадгерина, наоборот, коррелирует с лучшей выживаемостью пациентов.

Проведенное нами исследование на биопсийном материале предраковых состояний кожи, рака кожи (базалиомы, плоскоклеточного и мататипического рака) и меланомы человека свидетельствуют о частичной или полной потере экспрессии Т-кадгерина в опухолевых клетках. Это означает, что отсутствие экспрессии Т-кадгерина в опухолевых клетках больше не является лимитирующим фактором для прорастающих в опухоль сосудов [97, 98]. Гипотеза о навигационной роли Т-кадгерина, гомофильном взаимодействии и контактном ингибировании роста сосудов объясняет, почему подавление экспрессии Т-кадгерина в строме или опухолевых клетках таких опухолей, как базалиома, немелкоклеточная карцинома легкого, рак яичников, рак поджелудочной железы, коррелирует с высоким уровнем их васкуляризации и негативным прогнозом [99–104].

Для установления не только корреляционной, но и возможной причинно-следственной связи между экспрессией Т-кадгерина и опухолевой прогрессией мы использовали модель роста агрессивной меланомы B16F10 у мышей, метастазирующей в легкие. В первичных опухолевых узлах, сформированных клетками меланомы, экспрессирующими Т-кадгерин, количество мелких и средних сосудов было достоверно ниже, чем в контроле. Полученные результаты подтверждают тот факт, что Т-кадгерин являет-

ся антиангиогенной молекулой и достоверно подавляет опухолевый неоангиогенез [98, 105]. Однако, согласно результатам наших исследований, Т-кадгерин не может считаться фактором опухолевой супрессии, поскольку клетки меланомы при гиперэкспрессии Т-кадгерина активируют компенсаторные механизмы: они «включают» гены, способствующие их большей выживаемости, миграции и инвазии, а также начинают секретировать хемокины, молекулы адгезии, протеазы и факторы роста, способствующие привлечению мезенхимных стромальных клеток, что способствует опухолевому росту и метастазированию [98]. Возможно, противоречивые данные, полученные при изучении роли экспрессии Т-кадгерина в опухолевой прогрессии на системах *in vitro* и *in vivo*, обусловлены сложностью и многоплановостью процессов опухолевого роста, включающих как нарушения регуляции пролиферации самих опухолевых клеток, так и взаимодействия между эндотелиальными и стромальными клетками внутри растущей опухоли. Т-кадгерин играет двойную роль: с одной стороны, он действительно обладает антиангиогенными свойствами и способен подавлять ангиогенез как на моделях физиологического ангиогенеза, так и на модели опухолевого роста; с другой, экспрессия Т-кадгерина увеличивает способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию.

Таким образом, основные положения об известных на сегодняшний день навигационных молекулах, определяющих процессы морфогенеза в нервной и сосудистой системе, сводятся к следующему (рис. 5, см. цветную вклейку):

1) навигационные молекулы, определяющие направление роста аксонов нейронов и миграцию нервных клеток в нервной системе, аналогичным образом регулируют миграцию эндотелиальных клеток и формирование сосудистых отростков в процессах ангиогенеза. Основные группы навигационных молекул и их рецепторов представляют собой эфрины и их рецепторы, нетрины и их рецепторы, семафорины и их рецепторы, слит-лиганды и Robo-рецепторы, урокиназную систему и Т-кадгерин;

2) эфрины и их рецепторы играют основную роль в артерио-венозной дифференцировке в процессе формирования сосудов в эмбриогенезе;

3) семафорины в сосудистой системе опосредуют негативный навигационный сигнал, регулирующий направление миграции эндотелиальных клеток и паттерн формирования сосудов. Нейропилины связываются с семафоринами в нервной системе и сосудах. Нейропилины являются корецепторами плексинов в нервной систе-

ме и корцепторами VEGFR2 в сосудах. Связывание семафоринов с нейропилинами может ингибировать VEGF-сигнализацию, идущую от VEGFR2, и тем самым блокировать стимулирующий сигнал VEGF. Семафорины в сосудах, как и в нервной системе, могут вызывать внутриклеточную сигнализацию через активацию плексиновых рецепторов, семафорины при этом могут вызывать сигнализацию независимо от нейропилинов. Плексины могут опосредовать как проангиогенные, так и антиангиогенные эффекты;

4) роль нетринов в процессах ангиогенеза противоречива. Как и в нервной системе, нетрины в сосудах могут играть двоякую роль и опосредовать как аттрактивные сигналы, так и сигналы «отталкивания» в зависимости от конкретного типа клеток и микроокружения;

5) еще меньше известно о функционировании слит-лигандов и Robo-рецепторов и их роли в сосудистой системе, что, возможно, связано с избыточностью в экспрессии Robo-рецепторов и различиями в выполняемых ими функ-

циях у разных типов биологических объектов;

6) урокиназа через рецептор урокиназы участвует в процессах ангиогенеза и ремоделирования кровеносных сосудов. Урокиназная система активирует протеолитические и сигнальные каскады, что важно для регуляции направленной миграции сосудистых клеток, их дифференцировки и пролиферации клеток;

7) Т-кадгерин является навигационной молекулой, осуществляющей негативное регулирование роста как аксонов, так и кровеносных сосудов. В основе эффектов Т-кадгерина лежит гомофильное взаимодействие между молекулами Т-кадгерина на контактирующих клетках и «отталкивание».

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-24-00086 – анализ механизмов функционирования урокиназной системы, Т-кадгерина и эфринов; грант 14-50-00029 – анализ механизмов остальных навигационных молекул).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Melani, M., and Weinstein, B. (2010) Common factors regulating patterning of the nervous and vascular systems, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **26**, 639–665.
- Carmeliet, P. (2003) Blood vessels and nerves: common signals, pathways and diseases, *Nat. Rev. Genet.*, **4**, 710–720.
- Eichmann, A., Le Noble, F., Autiero, M., and Carmeliet, P. (2005) Neural guidance molecules regulate vascular remodeling and vessel navigation, *Genes Dev.*, **19**, 1013–1021.
- Weinstein, B. (2005) Vessels and nerves: marching to the same tune, *Cell*, **120**, 299–302.
- Bradshaw, R., and Dennis, E. (2010) *Handbook of cell signaling*, Elsevier/Academic Press, Amsterdam, pp. 443–449.
- Poliakov, A., Cotrina, M., and Wilkinson, D. (2004) Diverse roles of Eph receptors and Ephrins in the regulation of cell migration and tissue assembly, *Dev. Cell*, **7**, 465–480.
- Pasquale, E. (2008) Eph-Ephrin bidirectional signaling in physiology and disease, *Cell*, **133**, 38–52.
- Pitulescu, M., and Adams, R. (2010) Eph/Ephrin molecules – a hub for signaling and endocytosis, *Genes Dev.*, **24**, 2480–2492.
- Kuijper, S., Turner, C., and Adams, R. (2007) Regulation of angiogenesis by Eph–Ephrin interactions, *Trends Cardiovasc. Med.*, **17**, 145–151.
- Palmer, A., and Klein, R. (2003) Multiple roles of ephrins in morphogenesis, neuronal networking, and brain function, *Genes Dev.*, **17**, 1429–1450.
- Finne, E., Munthe, E., and Aasheim, H. (2004) A new Ephrin-A1 isoform (Ephrin-A1b) with altered receptor binding properties abrogates the cleavage of Ephrin-A1a, *Biochem. J.*, **379**, 39.
- Santiago, A., and Erickson, C. (2002) Ephrin-B ligands play a dual role in the control of neural crest cell migration, *Development*, **129**, 3621–3632.
- Fagotto, F., Rohani, N., Touret, A., and Li, R. (2013) A molecular base for cell sorting at embryonic boundaries: contact inhibition of cadherin adhesion by Ephrin/Eph-dependent contractility, *Dev. Cell*, **27**, 72–87.
- Carmeliet, P., and Jain, R. (2011) Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis, *Nature*, **473**, 298–307.
- Adams, R., and Eichmann, A. (2010) Axon guidance molecules in vascular patterning, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **2**, a001875.
- Gerety, S., Wang, H., Chen, Z., and Anderson, D. (1999) Symmetrical mutant phenotypes of the receptor EphB4 and its specific transmembrane ligand Ephrin-B2 in cardiovascular development, *Mol. Cell*, **4**, 403–414.
- Larrivee, B., Freitas, C., Suchting, S., Brunet, I., and Eichmann, A. (2009) Guidance of vascular development: lessons from the nervous system, *Circ. Res.*, **104**, 428–441.
- Kolodkin, A., Matthes, D., O'Connor, T., Patel, N., Admon, A., Bentley, D., and Goodman, C. (1992) Fasciclin IV: sequence, expression, and function during growth cone guidance in the grasshopper embryo, *Neuron*, **9**, 831–845.
- Luo, Y., Raible, D., and Raper, J. (1993) Collapsin: a protein in brain that induces the collapse and paralysis of neuronal growth cones, *Cell*, **75**, 217–227.
- Ellis, L. (2006) The role of Neuropilins in cancer, *Mol. Cancer Ther.*, **5**, 1099–1107.
- Bagri, A., Tessier-Lavigne, M., and Watts, R. (2009) Neuropilins in tumor biology, *Clin. Cancer Res.*, **15**, 1860–1864.
- Appleton, B., Wu, P., Maloney, J., Yin, J., Liang, W., Stawicki, S., Mortara, K., Bowman, K., Elliott, J., Desmarais, W., Bazan, J., Bagri, A., Tessier-Lavigne, M., Koch, A., Wu, Y., Watts, R., and Wiesmann, C. (2007) Structural studies of Neuropilin/antibody complexes provide insights into Semaphorin and VEGF binding, *EMBO J.*, **26**, 4902–4912.
- Praht, C., Heroult, M., Lanahan, A., Uziel, N., Kessler, O., Shraga-Heled, N., Simons, M., Neufeld, G., and Augustin, H. (2008) Neuropilin-1-VEGFR-2 complexing requires the PDZ-binding domain of Neuropilin-1, *J. Biol. Chem.*, **283**, 25110–25114.

24. Parker, M., Xu, P., Guo, H., and Vander Kooi, C. (2012) Mechanism of selective VEGF-A binding by Neuropilin-1 reveals a basis for specific ligand inhibition, *PLoS One*, **7**, e49177.
25. Hedgecock, E., Culotti, J., and Hall, D. (1990) The *unc-5*, *unc-6*, and *unc-40* genes guide circumferential migrations of pioneer axons and mesodermal cells on the epidermis in *C. elegans*, *Neuron*, **4**, 61–85.
26. Leong, D., Hutmacher, D., Chew, F., and Lim, T. (2005) Viability and adipogenic potential of human adipose tissue processed cell population obtained from pump-assisted and syringe-assisted liposuction, *J. Dermatol. Sci.*, **37**, 169–176.
27. Wilson, B., Ii, M., Park, K.W., Suli, A., Sorensen, L.K., Larriue-Lahargue, F., Urness, L.D., Suh, W., Asai, J., Kock, G.A., Thorne, T., Silver, M., Thomas, K.R., Chien, C.B., Losordo, D.W., and Li, D.Y. (2006) Netrins promote developmental and therapeutic angiogenesis, *Science*, **313**, 640–644.
28. Nguyen, A., and Cai, H. (2006) Netrin-1 induces angiogenesis via a DCC-dependent ERK1/2-eNOS feed-forward mechanism, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 6530–6535.
29. Park, K., Crouse, D., Lee, M., Karnik, S., Sorensen, L., Murphy, K., Kuo, C., and Li, D. (2004) The axonal attractant Netrin-1 is an angiogenic factor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 16210–16215.
30. Yang, Y., Zou, L., Wan, Y., Xu, K., Zhang, J., and Zhang, J. (2007) Axon guidance cue Netrin-1 has dual function in angiogenesis, *Cancer Biol. Ther.*, **6**, 743–748.
31. Hoang, S., Liauw, J., Choi, M., Guzman, R., and Steinberg, G. (2008) Netrin-4 enhances angiogenesis and neurologic outcome after cerebral ischemia, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **29**, 385–397.
32. Jones, C., Nishiya, N., London, N., Zhu, W., Sorensen, L., Chan, A., Lim, C., Chen, H., Zhang, Q., Schultz, P., Hayallah, A., Thomas, K., Famulok, M., Zhang, K., Ginsberg, M., and Li, D. (2009) Slit2–Robo4 signalling promotes vascular stability by blocking Arf6 activity, *Nat. Cell Biol.*, **11**, 1325–1331.
33. Suchting, S., Heal, P., Tahtis, K., Stewart, L., and Bicknell, R. (2005) Soluble Robo4 receptor inhibits *in vivo* angiogenesis and endothelial cell migration, *FASEB J.*, **19**, 121–123.
34. Wang, B., Xiao, Y., Ding, B., Zhang, N., Yuan, X., Gui, L., Qian, K., Duan, S., Chen, Z., Rao, Y., and Geng, J. (2003) Induction of tumor angiogenesis by Slit-Robo signaling and inhibition of cancer growth by blocking Robo activity, *Cancer Cell*, **4**, 19–29.
35. Park, K., Morrison, C., Sorensen, L., Jones, C., Rao, Y., Chien, C., Wu, J., Urness, L., and Li, D. (2003) Robo4 is a vascular-specific receptor that inhibits endothelial migration, *Dev. Biol.*, **261**, 251–267.
36. Jones, B., and McTaggart, S. (2008) Immunosuppression by mesenchymal stromal cells: from culture to clinic, *Exp. Hematol.*, **36**, 733–741.
37. Collen, D. (1999) The plasminogen (fibrinolytic) system, *Thromb. Haemost.*, **82**, 259–270.
38. Clowes, A., Clowes, M., Au, Y., Reidy, M., and Belin, D. (1990) Smooth muscle cells express urokinase during mitogenesis and tissue-type plasminogen activator during migration in injured rat carotid artery, *Circ. Res.*, **67**, 61–67.
39. Tkachuk, V., Stepanova, V., Little, P., and Bobik, A. (1996) Regulation and role of urokinase plasminogen activator in vascular remodeling, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, **23**, 759–765.
40. Parfyonova, Y., Plekhanova, O., and Tkachuk, V. (2002) Plasminogen activators in vascular remodeling and angiogenesis, *Biochemistry (Moscow)*, **67**, 119–134.
41. Ткачук В.А., Плеханова О.С., Белоглазова И.Б., Парфенова Е.В. (2013) Роль мультидоменной структуры урокиназы в регуляции роста и ремоделирования сосудов, *Укр. биохим. журнал*, **85**, 18–45.
42. Lijnen, H., Van Hoef, B., Nelles, L., and Collen, D. (1990) Plasminogen activation with single-chain urokinase-type plasminogen activator (scu-PA). Studies with active site mutagenized plasminogen (Ser740----Ala) and plasmin-resistant scu-PA (Lys158----Glu), *J. Biol. Chem.*, **265**, 5232–5236.
43. Рубина К.А., Ткачук В.А. (2004) Т-кадгерин как антиадгезивная молекула и возможный рецептор липопротеидов низкой плотности в клетках кровеносных сосудов, *Russ. Physiol. J.*, **90**, 968–986.
44. Bobik, A., and Tkachuk, V. (2003) Metalloproteinases and plasminogen activators in vessel remodeling, *Curr. Hypertens. Rep.*, **5**, 466–472.
45. Naldini, L., Tamagnone, L., Vigna, E., Sachs, M., Hartmann, G., Birchmeier, W., Daikuhara, Y., Tsubouchi, H., Blasi, F., and Comoglio, P. (1992) Extracellular proteolytic cleavage by urokinase is required for activation of hepatocyte growth factor/scatter factor, *EMBO J.*, **11**, 4825–4833.
46. Plouet, J., Moro, F., Bertagnolli, S., Coldeboeuf, N., Mazarguil, H., Clamens, S., and Bayard, F. (1997) Extracellular cleavage of the vascular endothelial growth factor 189-amino acid form by urokinase is required for its mitogenic effect, *J. Biol. Chem.*, **272**, 13390–13396.
47. Sakela, O., and Rifkin, D.B. (1990) Release of basic fibroblast growth factor-heparan sulfate complexes from endothelial cells by plasminogen activator-mediated proteolytic activity, *J. Cell Biol.*, **110**, 767–775.
48. Kuzuya, M., and Iguchi, A. (2003) Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling, *J. Atheroscler. Thromb.*, **10**, 275–282.
49. Lamalice, L., Le Boeuf, F., and Huot, J. (2007) Endothelial cell migration during angiogenesis, *Circ. Res.*, **100**, 782–794.
50. Carmeliet, P., Heymans, S., Luttun, A., Nuyens, D., Theilmeier, G., Creemers, E., Moons, L., Dyspersin, G., Cleutjens, J., Shipley, M., Angellilo, A., Levi, M., Nube, O., Baker, A., Keshet, E., Lupu, F., Herbert, J., Smits, J., Shapiro, S., Baes, M., Borgers, M., Collen, D., and Daemen, M. (1999) Inhibition of plasminogen activators or matrix metalloproteinases prevents cardiac rupture but impairs therapeutic angiogenesis and causes cardiac failure, *Nat. Med.*, **5**, 1135–1142.
51. Noh, H., Hong, S., and Huang, S. (2013) Role of urokinase receptor in tumor progression and development, *Theranostics*, **3**, 487–495.
52. Odekon, L., Sato, Y., and Rifkin, D. (1992) Urokinase-type plasminogen activator mediates basic fibroblast growth factor-induced bovine endothelial cell migration independent of its proteolytic activity, *J. Cell. Physiol.*, **150**, 258–263.
53. Okada, S., Grobmyer, S., and Barnathan, E. (1996) Contrasting effects of plasminogen activators, urokinase receptor, and LDL receptor B related protein on smooth muscle cell migration and invasion, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, **16**, 1269–1276.
54. Busso, N., Masur, S., Lazega, D., Waxman, S., and Ossowski, L. (1994) Induction of cell migration by pro-urokinase binding to its receptor: possible mechanism for signal transduction in human epithelial cells, *J. Cell Biol.*, **126**, 259–270.
55. Resnati, M., Pallavicini, I., Wang, J., Oppenheim, J., Serhan, C., Romano, M., and Blasi, F. (2002) The fibrinolytic receptor for urokinase activates the G protein-coupled chemotactic receptor FPRL1/LXA4R, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 1359–1364.

56. Dumler, I., Stepanova, V., Jerke, U., Mayboroda, O., Vogel, F., Bouvet, P., Tkachuk, V., Haller, H., and Gulba, D. (1999) Urokinase-induced mitogenesis is mediated by casein kinase 2 and nucleolin, *Curr. Biol.*, **9**, 1468–1476.
57. Парфенова Е.В., Плеханова О.С., Меньшиков М.Ю., Степанова В.В., Ткачук В.А. (2009) Регуляция роста и ремоделирования кровеносных сосудов: уникальная роль урокиназы, *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, **95**, 442–464.
58. Bohuslav, J., Horejsi, V., Hansmann, C., Stockl, J., Weidle, U., Majdic, O., Bartke, I., Knapp, W., and Stockinger, H. (1995) Urokinase plasminogen activator receptor, β 2-integrins, and Src-kinases within a single receptor complex of human monocytes, *J. Exp. Med.*, **181**, 1381–1390.
59. Blasi, F., and Carmeliet, P. (2002) uPAR: a versatile signalling orchestrator, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **3**, 932–943.
60. Sitrin, R., Pan, P., Harper, H., Todd, R., Harsh, D., and Blackwood, R. (2000) Clustering of urokinase receptors (uPAR; CD87) induces proinflammatory signaling in human polymorphonuclear neutrophils, *J. Immunology*, **165**, 3341–3349.
61. Ghosh, S., Brown, R., Jones, J., Ellerbroek, S., and Stack, M. (2000) Urinary-type plasminogen activator (uPA) expression and uPA receptor localization are regulated by α 3 β 1 integrin in oral keratinocytes, *J. Biol. Chem.*, **275**, 23869–23876.
62. Kapustin, A., Stepanova, V., Aniol, N., Cines, D., Poliakov, A., Yarovoi, S., Lebedeva, T., Wait, R., Ryzhakov, G., Parfyonova, Y., Gursky, Y., Yanagisawa, H., Minashkin, M., Beabealashvili, R., Vortnikov, A., Bobik, A., and Tkachuk, V. (2012) Fibulin-5 binds urokinase-type plasminogen activator and mediates urokinase-stimulated β 1-integrin-dependent cell migration, *Biochem. J.*, **443**, 491–503.
63. Traktuev, D., Tsokolaeva, Z., Shevelev, A., Talitskiy, K., Stepanova, V., Johnstone, B., Rahmat-Zade, T., Kapustin, A., Tkachuk, V., March, K., and Parfyonova, Y. (2007) Urokinase gene transfer augments angiogenesis in ischemic skeletal and myocardial muscle, *Mol. Ther.*, **15**, 1939–1946.
64. Uhrin, P., and Breuss, J. (2013) uPAR: a modulator of VEGF-induced angiogenesis, *Cell Adh. Migr.*, **7**, 23–26.
65. Prager, G., Breuss, J., Steurer, S., Mihaly, J., and Binder, B. (2004) Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces rapid prourokinase (pro-uPA) activation on the surface of endothelial cells, *Blood*, **103**, 955–962.
66. Plekhanova, O., Parfyonova, Y., Bibilashvily, R., Stepanova, V., Erne, P., Bobik, A., and Tkachuk, V. (2000) Urokinase plasminogen activator enhances neointima growth and reduces lumen size in injured carotid arteries, *J. Hypertens.*, **18**, 1065–1069.
67. Plekhanova, O., Parfyonova, Y., Bibilashvily, R., Domogatskii, S., Stepanova, V., Gulba, D., Agrotis, A., Bobik, A., and Tkachuk, V. (2001) Urokinase plasminogen activator augments cell proliferation and neointima formation in injured arteries via proteolytic mechanisms, *Atherosclerosis*, **159**, 297–306.
68. Plekhanova, O., Berk, B., Bashtrykov, P., Brooks, A., Tkachuk, V., and Parfyonova, Y. (2009) Oligonucleotide microarrays reveal regulated genes related to inward arterial remodeling induced by urokinase plasminogen activator, *J. Vasc. Res.*, **46**, 177–187.
69. Parfyonova, Y., Plekhanova, O., Solomatina, M., Naumov, V., Bobik, A., Berk, B., and Tkachuk, V. (2004) Contrasting effects of urokinase and tissue-type plasminogen activators on neointima formation and vessel remodeling after arterial injury, *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, **41**, 268–276.
70. Mekki, A., Pourgholami, M., and Morris, D. (2014) Involvement of urokinase-type plasminogen activator system in cancer: an overview, *Med. Res. Rev.*, **34**, 918–956.
71. George, S., and Beeching, C. (2006) Cadherin:catenin complex: a novel regulator of vascular smooth muscle cell behavior, *Atherosclerosis*, **188**, 1–11.
72. Gumbiner, B. (2005) Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **6**, 622–634.
73. Vestal, D., and Ranscht, B. (1992) Glycosyl phosphatidylinositol-anchored T-cadherin mediates calcium-dependent, homophilic cell adhesion, *J. Cell Biol.*, **119**, 451–461.
74. Ranscht, B., and Dours-Zimmermann, M. (1991) T-cadherin, a novel cadherin cell adhesion molecule in the nervous system lacks the conserved cytoplasmic region, *Neuron*, **7**, 391–402.
75. Fredette, B., Miller, J., and Ranscht, B. (1996) Inhibition of motor axon growth by T-cadherin substrata, *Development*, **122**, 3163–3171.
76. Fredette, B., and Ranscht, B. (1994) T-cadherin expression delineates specific regions of the developing motor axon-hindlimb projection pathway, *J. Neurosci.*, **14**, 7331–7346.
77. Teillet, M., Kalcheim, C., and Le Douarin, N. (1987) Formation of the dorsal root ganglia in the avian embryo: segmental origin and migratory behavior of neural crest progenitor cells, *Dev. Biol.*, **120**, 329–347.
78. Ranscht, B., and Bronner-Fraser, M. (1991) T-cadherin expression alternates with migrating neural crest cells in the trunk of the avian embryo, *Development*, **111**, 15–22.
79. Takeuchi, T., Misaki, A., Liang, S., Tachibana, A., Hayashi, N., Sonobe, H., and Ohtsuki, Y. (2000) Expression of T-cadherin (CDH13, H-cadherin) in human brain and its characteristics as a negative growth regulator of epidermal growth factor in neuroblastoma cells, *J. Neurochem.*, **74**, 1489–1497.
80. Philippova, M., Joshi, M., Kyriakakis, E., Pfaff, D., Erne, P., and Resink, T. (2009) A guide and guard: the many faces of T-cadherin, *Cell. Signal.*, **21**, 1035–1044.
81. Рубина К.А., Смутова В.А., Семенова М.Л., Поляков А.А., Герети С., Уилкинсон Д., Суркова Е.И., Семина Е.В., Сысоева В.Ю., Ткачук В.А. (2015) Выявление экспрессии Т-кадгерина в эмбриогенезе у мыши, *Acta Naturae*, **7**, в печати.
82. Rubina, K., Kalinina, N., Potekhina, A., Efimenko, A., Semina, E., Poliakov, A., Wilkinson, D., Parfyonova, Y., and Tkachuk, V. (2007) T-cadherin suppresses angiogenesis *in vivo* by inhibiting migration of endothelial cells, *Angiogenesis*, **10**, 183–195.
83. Ivanov, D., Philippova, M., Antropova, J., Gubaeva, F., Iljinskaya, O., Tararak, E., Bochkov, V., Erne, P., Resink, T., and Tkachuk, V. (2001) Expression of cell adhesion molecule T-cadherin in the human vasculature, *Histochem. Cell Biol.*, **115**, 231–242.
84. Kudrjashova, E., Bashtrikov, P., Bochkov, V., Parfyonova, Y., Tkachuk, V., Antropova, J., Iljinskaya, O., Tararak, E., Erne, P., Ivanov, D., Philippova, M., and Resink, T. (2002) Expression of adhesion molecule T-cadherin is increased during neointima formation in experimental restenosis, *Histochem. Cell Biol.*, **118**, 281–290.
85. Folkman, J. (2008) *Tumor angiogenesis*, Springer, Berlin, pp. 3–28.
86. Cao, Y., Sun, Z., Liao, L., Meng, Y., Han, Q., and Zhao, R. (2005) Human adipose tissue-derived stem cells differentiate into endothelial cells *in vitro* and improve postnatal neovascularization *in vivo*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **332**, 370–379.
87. Andreeva, A., and Kutuzov, M. (2010) Cadherin 13 in cancer, *Genes Chromosomes Cancer*, **49**, 775–790.
88. Wyder, L., Vitaliti, A., Schneider, H., Hebbard, L.W., Moritz, D.R., Wittmer, M., Ajmo, M., and Klemenz, R. (2000) Increased expression of H/T-cadherin in tumor-penetrating blood vessels, *Cancer Res.*, **60**, 4682–4688.

89. Takeuchi, T., and Ohtsuki, Y. (2001) Recent progress in T-cadherin (CDH13, H-cadherin) research, *Histol. Histopathol.*, **16**, 1287–1293.
90. Takeuchi, T., Liang, S.B., and Ohtsuki, Y. (2002) Downregulation of expression of a novel cadherin molecule, T-cadherin, in basal cell carcinoma of the skin, *Mol. Carcinog.*, **35**, 173–179.
91. Riener, M., Nikolopoulos, E., Herr, A., Wild, P., Hausmann, M., Wiech, T., Orłowska-Völk, M., Lassmann, S., Walch, A., and Werner, M. (2008) Microarray comparative genomic hybridization analysis of tubular breast carcinoma shows recurrent loss of the CDH13 locus on 16q, *Hum. Pathol.*, **39**, 1621–1629.
92. Sato, M., Mori, Y., Sakurada, A., Fujimura, S., and Horii, A. (1998) The H-cadherin (CDH13) gene is inactivated in human lung cancer, *Hum. Genet.*, **103**, 96–101.
93. Maruyama, R., Toyooka, S., Toyooka, K., Harada, K., Virmani, A., Zochbauer-Muller, S., Farinas, A., Vákar-Lopez, F., Minna, J., Sagalowsky, A., Czerniak, B., and Gazdar, A. (2001) Aberrant promoter methylation profile of bladder cancer and its relationship to clinicopathological features, *Cancer Res.*, **61**, 8659–8663.
94. Widschwendner, M., Siegmund, K., Müller, H., Fiegel, H., Marth, C., Müller-Holzner, E., Jones, P., and Laird, P. (2004) Association of breast cancer DNA methylation profiles with hormone receptor status and response to tamoxifen, *Cancer Res.*, **64**, 3807–3813.
95. Suehiro, Y., Okada, T., Okada, T., Anno, K., Okayama, N., Ueno, K., Hiura, M., Nakamura, M., Kondo, T., Oga, A., Kawauchi, S., Hirabayashi, K., Numa, F., Ito, T., Saito, T., Sasaki, K., and Hinoda, Y. (2008) Aneuploidy predicts outcome in patients with endometrial carcinoma and is related to lack of CDH13 hypermethylation, *Clin. Cancer Res.*, **14**, 3354–3361.
96. Zucchini, C., Bianchini, M., Valvassori, L., Perdichizzi, S., Benini, S., Manara, M., Solmi, R., Strippoli, P., Picci, P., Carinci, P., and Scotlandi, K. (2004) Identification of candidate genes involved in the reversal of malignant phenotype of osteosarcoma cells transfected with the liver/kidney alkaline phosphatase gene, *Bone*, **34**, 672–679.
97. Rubina, K., Khlebnikova, A., Semina, E., Yurlova, E., Kalinina, N., Sysoeva, V., and Molochkov, V. (2012) Malignant transformation in skin is associated with the loss of T-cadherin expression in human keratinocytes and heterogeneity in T-cadherin expression in tumor vasculature, in *tumor angiogenesis*, InTech, Rijeka, pp. 135–166.
98. Rubina, K., Kalinina, N., Bochkov, V., Parfyonova, Y., and Tkachuk, V. (2005) T-cadherin as an antiadhesive and guidance molecule interacting with low density lipoproteins, *Ann. Eur. Acad. Sci.*, pp. 1–14.
99. Kawakami, M., Staub, J., Cliby, W., Hartmann, L., Smith, D., and Shridhar, V. (1999) Involvement of H-cadherin (CDH13) on 16q in the region of frequent deletion in ovarian cancer, *Int. J. Oncol.*, **15**, 715–720.
100. Takeuchi, T., Liang, S., Matsuyoshi, N., Zhou, S., Miyachi, Y., Sonobe, H., and Ohtsuki, Y. (2002) Loss of T-cadherin (CDH13, H-cadherin) expression in cutaneous squamous cell carcinoma, *Lab. Invest.*, **82**, 1023–1029.
101. Hibi, K., Nakayama, H., Kadera, Y., Ito, K., Akiyama, S., and Nakao, A. (2004) CDH13 promoter region is specifically methylated in poorly differentiated colorectal cancer, *Br. J. Cancer*, **90**, 1030–1033.
102. Sakai, M., Hibi, K., Koshikawa, K., Inoue, S., Takeda, S., Kaneko, T., and Nakao, A. (2004) Frequent promoter methylation and gene silencing of CDH13 in pancreatic cancer, *Cancer Sci.*, **95**, 588–591.
103. Kim, J.S., Han, J., Shim, Y.M., Park, J., and Kim, D.H. (2005) Aberrant methylation of H-cadherin (CDH13) promoter is associated with tumor progression in primary nonsmall cell lung carcinoma, *Cancer*, **104**, 1825–1833.
104. Mukoyama, Y., Zhou, S., Miyachi, Y., and Matsuyoshi, N. (2005) T-cadherin negatively regulates the proliferation of cutaneous squamous carcinoma cells, *J. Invest. Dermatol.*, **124**, 833–838.
105. Yurlova, E., Rubina, K., Sysoeva, V., Sharonov, G., Semina, E., Parfenova, E., and Tkachuk, V. (2010) T-cadherin suppresses the cell proliferation of mouse melanoma B16F10 and tumor angiogenesis in the model of chorioallantoic membrane, *Russ. J. Dev. Biol.*, **41**, 217–226.

NAVIGATION RECEPTORS IN THE NERVOUS AND CARDIOVASCULAR SYSTEMS

K. A. Rubina*, V. A. Tkachuk

M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosovskiy prosp. 31/5, Moscow 119192, Russia; fax: +7(495)932-9904, E-mail: rkseniya@mail.ru

Received June 1, 2015

Revision received June 16, 2015

It is known that blood vessels and nerves coil with each other and often grow in parallel. The same molecular mechanisms are implicated in controlling neurite outgrowth and blood vessel growth in embryogenesis and regeneration in the adult organism. In addition to growth factors, cytokines, and chemokines that play important roles in morphogenesis of the nervous and cardiovascular systems, navigation receptors and their ligands currently are being extensively studied. Navigation molecules guide the growing axons and blood vessels and determine the trajectory of their growth. Navigation molecules include ephrin and its receptors, semaphorins and their plexin and neuropilin (Nrp) receptors, netrins and their DCC/Neogenin and UNC-5 receptors, and Slit ligands and their Robo receptors. Apart from these molecules, navigation receptors comprise urokinase and its receptor (uPAR) and T-cadherin. The urokinase system mediates local proteolysis at the leading edge of the cell, thereby providing directed migration. T-cadherin is a molecule of repulsion guiding the direction of growth of axons and blood vessels. In addition to controlling the trajectory of the nerve, growth and vascular navigation receptors play an important role in disease.

Key words: navigation receptors, angiogenesis, neurogenesis, urokinase system, T-cadherin