

Міністерство освіти і науки України
Сумський державний університет

Молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену (CEACAMs)

Монографія

*За загальною редакцією
доктора медичних наук, професора А. М. Романюка*

Рекомендовано вченою радою Сумського державного університету



Суми
Сумський державний університет
2020

УДК 616-006.2-018-07:576.52

М75

Авторський колектив:

М. С. Линдін, кандидат медичних наук, доцент;

А. М. Романюк, доктор медичних наук, професор;

В. В. Сікора, кандидат медичних наук;

Б. Б. Зінгер, доктор філософії, доктор природничих наук

Рецензенти:

І. Д. Дужий – доктор медичних наук, професор, академік Академії наук вищої школи України, заслужений лікар України, завідувач кафедри хірургії, травматології, ортопедії та фтизіатрії Медичного інституту Сумського державного університету;

І. І. Старченко – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії з секційним курсом Української медичної стоматологічної академії (м. Полтава)

Рекомендовано до видання

вченою радою Сумського державного університету

(протокол № 13 від 26 червня 2020 року)

Молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену М75 (SEACAMs) : монографія / М. С. Линдін, А. М. Романюк, В. В. Сікора, Б. Б. Зінгер ; за заг. ред. д-ра мед. наук, проф. А. М. Романюка. – Суми : Сумський державний університет, 2020. – 219 с.

ISBN 978-966-657-821-4

Монографію присвячено узагальненню даних щодо участі молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену у функціонуванні клітин у нормі та за умов їх неопластичної трансформації. Особливу увагу приділено прогностичному значенню цих білків у розвитку та прогресуванні різного типу карцином, а також перспективності їх використання в діагностичних і терапевтичних цілях.

Рекомендована для лікарів усіх спеціальностей, особливо фахівців у патолого-анатомічній та онкологічній галузях медицини.

УДК 616-006.2-018-07:576.52

© Линдін М. С., Романюк А. М.,

Сікора В. В., Зінгер Б. Б., 2020

ISBN 978-966-657-821-4

© Сумський державний університет, 2020

Зміст

	С.
Передмова.....	6
Варіанти назв молекул SEACAM.....	9
Перелік умовних позначень і скорочень.....	10
Розділ 1	
Загальна характеристика білків сімейства SEA та їх регуляції.....	12
1.1 Відомості про білки сімейства SEA	12
1.2 Регуляція активності SEACAM.....	21
Розділ 2	
SEACAM1.....	26
2.1 Молекулярна характеристика та експресія SEACAM1 у нормі.....	26
2.2 Функції SEACAM1.....	32
2.2.1 Взаємодія SEACAM1 із патогенами.....	33
2.2.2 SEACAM1 та утворення просвіту органів....	36
2.2.3 SEACAM1 та судинний гомеостаз.....	36
2.2.4 Участь SEACAM1 у кліренсі інсуліну.....	47
2.2.5 SEACAM1 та імунна відповідь.....	50
2.2.6 Участь SEACAM1 у регуляції проліферації клітин.....	61
2.2.7 Регуляція апоптозу за участі SEACAM1.....	65
2.2.8 SEACAM1 та геном.....	67
2.2.9 Участь SEACAM1 в адгезії, міграції, інвазії та метастазуванні клітин.....	69
2.3 Розчинний SEACAM1.....	73
2.4 Використання SEACAM1 в імунотерапії та діагностиці.....	76
Розділ 3	
Експресія SEACAM1 у пухлинах.....	80
3.1 Пухлини органів репродуктивної системи.....	82
3.1.1 Молочна залоза.....	82
3.1.2 Матка.....	88

3.1.3 Яєчники.....	91
3.1.4 Яєчка.....	92
3.1.5 Передміхурова залоза.....	93
3.2 Органи травлення.....	96
3.2.1 Ротова порожнина.....	96
3.2.2 Стравохід.....	97
3.2.3 Шлунок.....	98
3.2.4 Кишківник.....	99
3.2.5 Печінка.....	101
3.2.6 Підшлункова залоза.....	103
3.3 Сечовидільна система.....	104
3.3.1 Нирки.....	104
3.3.2 Сечовий міхур.....	105
3.4 Щитоподібна залоза.....	106
3.5 Легені.....	107
3.6 Шкіра.....	109
3.7 Очі.....	113
3.8 Нервова система.....	113
Розділ 4	
СЕАСАМ5.....	116
4.1 Молекулярна характеристика та експресія СЕАСАМ5 у нормі.....	116
4.2 Експресія СЕАСАМ5 у пухлинах.....	119
4.3 Участь СЕАСАМ5 у протипухлинній імунній відповіді.....	125
4.4 СЕАСАМ5 як маркер метастазування.....	126
Розділ 5	
СЕАСАМ6.....	129
5.1 Молекулярна характеристика та експресія СЕАСАМ6 у нормі.....	129
5.2 Експресія СЕАСАМ6 у пухлинах.....	132
5.2.1 Стравохід.....	134
5.2.2 Шлунок.....	134
5.2.3 Товстий кишківник.....	135

5.2.4 Печінка.....	137
5.2.5 Підшлункова залоза.....	137
5.2.6 Молочна залоза.....	138
5.2.7 Яєчка.....	141
5.2.8 Голова та шия.....	141
5.2.9 Легені.....	142
5.2.10 Гемопоетична тканина.....	142
5.3 Використання SEACAM6 у таргетній терапії та діагностиці пухлин.....	146
Розділ 6	
Інші представники SEACAMs.....	149
6.1 SEACAM3.....	149
6.2 SEACAM7.....	149
6.3 SEACAM4, 8, 16, 20.....	151
Висновки.....	154
Список літератури.....	160

Передмова

Ідея для написання цієї монографії виникла після ознайомлення з величезною кількістю першоджерел, присвячених опису білків сімейства раково-ембріонального антигену, в яких висвітлено різні, іноді навіть протилежні, результати їх функціональної активності. У кожному конкретному дослідженні вчені пов'язують це зі специфічністю їх експресії в різних органах та особливостями маніфестації за різних типів злоякісних процесів.

Ми спробували об'єднати більшість даних, одержаних упродовж більше ніж 50 років, із метою створення одного вітчизняного першоджерела, де систематично узагальнені результати численних високоінформативних закордонних досліджень. Це сприятиме більш швидкому та ґрунтовному ознайомленню лікарів і науковців із сучасними досягненнями з вивчення білків сімейства раково-ембріонального антигену. Необхідно зазначити, що істотна увага приділена впливу цих молекул на особливості онкогенезу в живих організмах, хоча й доволі ґрунтовно згадується їх участь в інших патологічних станах (запальних, дистрофічних тощо).

На підставі глибокого аналізу одержаних результатів зроблено спробу показати особливості варіабельності цих білків при пухлинній трансформації клітин на генетичному, білковому та рецепторному рівнях. Ми систематизували дані про особливості експресії молекул раково-ембріонального антигену в більшості органів людини з установленням специфічності імунофенотипу неопластичних клітин. Значна увага приділена їх коекспресії з іншими прогностично-важливими білками в клітинах, які можуть впливати на особливості ініціювання та прогресування неопластичного процесу.

Підсумками висвітлення функціональної активності білків раково-ембріонального антигену є ознайомлення читачів із перспективністю їх використання в діагностичних і терапевтичних цілях. Показано спроби широкомасштабного їх залучення до встановлення онкологічного діагнозу, моніторингу перебігу та лікування, а також рецидивування пухлин. «Червоною лінією» в монографії проходить інформація про особливості поведінки неопластичних клітин у разі блокування та активації експресії цих білків, що гіпотетично можна використовувати в терапевтичних цілях. Більше того, штучне інгібування та активування експресії раково-ембріональних антигенів на тваринах показало дуже переконливі позитивні результати.

Написання цієї монографії було б неможливим без тісної наукової кооперації між Медичним інститутом Сумського державного університету та Інститутом анатомії університету Дуйсбург-Ессен (Німеччина). Саме завдяки довготривалій спільній роботі представників української сторони (А. М. Романюк, М. С. Линдін та В. В. Сікора), які більше ніж 10 років досліджують молекулярно-генетичні особливості канцерогенезу, та висококваліфікованого вченого з Німеччини (Б. Б. Зінгер), який є одним із засновників дослідження раково-ембріональних антигенів у світі, стало можливим написання цього рукопису. Висловлюємо великі сподівання, що вона буде корисною для лікарів усіх спеціальностей у зв'язку з тим, що ці білки задіяні в значній кількості фізіологічних та патологічних процесів у людському організмі.

Монографія «Молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену (CEACAMs)» написана в рамках виконання наукових досліджень у Медичному інституті Сумського державного університету, будучи частиною планової наукової теми кафедри патологічної анатомії № 0119U100887 «Сучасні погляди на морфогенез загаль-

нопатологічних процесів» і держбюджетних тем № 62.12.01-01.17/20.3П «Розробка методу діагностики пухлин органів репродуктивної системи з використанням молекул клітинної адгезії раково-ембріонального антигену» та № 62.14-01.18/20.3П «Ефективність «liquid biopsy» та тканинної біопсії у діагностиці та лікуванні злоякісних пухлин».

Наостанок висловлюємо найщиріші слова подяки всьому колективу кафедри патологічної анатомії Медичного інституту Сумського державного університету (Україна) та кафедри анатомії Інституту анатомії університету Дуйсбург-Ессен (Німеччина) за підтримку у виконанні цього проекту та можливість проводити дослідження щодо вивчення особливостей експресії раково-ембріональних антигенів у різних типах пухлин, результати яких будуть обов'язково висвітлені в наших наступних сумісних публікаціях.

Варіанти назв молекул CEACAM

CEACAM1 – BGP, CD66a, NCA-160, C-CAM,
cellCAM-105.

CEACAM3 – CGM1, CD66d.

CEACAM4 – CGM7.

CEACAM5 – CEA, CD66e.

CEACAM6 – NCA, NCA-50/90, CD66c.

CEACAM7 – CGM2.

CEACAM8 – CD66b, CGM6, NCA-95.

Перелік умовних позначень і скорочень

Скорочення	Українська назва	Англійська назва
ГЦР	Гепатоцелюлярний рак	Hepatocellular carcinoma
ДК	Дендритні клітини	Dendritic cells
ІГХ	Імуногістохімія	Immunohistochemistry
КРР	Колоректальний рак	Colorectal cancer
ММ	Множинна мієлома	Multiple myeloma
ММР	Матриксна металопротеїназа 9	Matrix metalloproteinase
МСЦ	Мікросудинна щільність	Microvascular density
НДКРЛ	Недрібноклітинний рак легень	Non-small-cell lung carcinoma
ПКМ	Позаклітинний матрикс	Extracellular matrix
РМЗ	Рак молочної залози	Breast cancer
РПЗ	Рак передміхурової залози	Prostate cancer
Співвідношення СЕАСАМ1-L/S	Співвідношення між СЕАСАМ1-L та СЕАСАМ1-S	Ratio of CEACAM1-L (long) to CEACAM1-S (short)
BGP	Білярний глікопротеїд	Biliary glycoprotein
CEA	Раково-ембріональний антиген	Carcinoembryonic antigen
CEACAM/s	Молекула/и клітинної адгезії раково-ембріонального антигену	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule/s
sCEACAM1	Секреторна форма СЕАСАМ1	Secreted form of CEACAM1
CD	Кластер диференціювання	Cluster of differentiation
CTL	Цитотоксичні Т-клітини	Cytotoxic T-lymphocyte
EGFR	Рецептори епітеліального фактора росту	Epidermal growth factor receptor
ER	Рецептори до естрогену	Estrogen receptors
Erk1/2	Позаклітинна сигнал-регульована кінза 1/2	Extracellular signal-regulated kinase 1/2
GIN	Шлункова інтраепітеліальна неоплазія	Gastric intraepithelial neoplasia
GPI-зв'язок	Глікозилфосфатидилінозитольний зв'язок	Glycosylphosphatidylinositol anchor

Her2/neu	Рецептори другого типу людського епідермального фактора росту	Human epidermal growth factor receptor-2
Id-1	Інгібітори диференціювання 1	Inhibitors of differentiation 1
Ig	Імуноглобулін	Immunoglobulin
IL	Інтерлейкін 1	Interleukin
IR	Інсулінові рецептори	Insulin receptors
IRK	Кіназа IR	IR kinase
ITIM/ITAM/ ITSM	Імунорецепторний мотив інгібування/активації/перемикання на основі тирозину	Immunoreceptor tyrosine-based inhibition/activation/ switch motif
mAb/mAbs	Моноклональне антитіло/a	Monoclonal antibody/ies
MAPK	Мітоген-активована протеїнкіназа	Mitogen-activated protein kinase
NCA	Неспецифічний перехресно-реагуювальний антиген	Nonspecific cross-reacting antigen
NK	Природні кілери	Natural killers
NO	Оксид азоту	Nitric oxide
NOS	NO-синтаза	NO synthase
PanIN	Панкреотична інтраепітеліальна неоплазія	Pancreatic intraepithelial neoplasia
PI3K	Фосфотидилінозитид-3-кіназа	Phosphatidylinositide 3-kinase
PIN	Простатична інтраепітеліальна неоплазія	Prostate intraepithelial neoplasia
PKC	Протеїнкіназа C	Protein kinase C
PR	Рецептори до прогестерону	Progesterone receptors
PSG	Специфічні для вагітності глікопротеїди	Pregnancy-specific glycoproteins
SH2	Гомології-2 src	Src homology 2
SHP	SH2-вмісна тирозинфосфатаза	SH2 containing tyrosine phosphatase
TAN	Пухлиноасоційовані нейтрофіли	Tumor-associated neutrophils
TCR/BCR	T/B-клітинний рецептор	T/B-cell receptor
TIL	Пухлино-інфільтруючі лімфоцити	Tumor-infiltrating lymphocytes
VEGF	Судинний ендотеліальний фактор росту	Vascular endothelial growth factor

Розділ 1

Загальна характеристика білків сімейства СЕА та їх регуляції

1.1 Відомості про білки сімейства СЕА

Минуло вже понад 55 років, як учені Р. Gold та S. Freedman опублікували дані щодо специфічних пухлинних антигенів у тканині колоректального раку (КРР). Використовуючи ряд імунологічних методик, вони виявили, що екстракти як первинної, так і метастатичної пухлини гальмують активність преципітину, що утворюється між пухлинним екстрактом й антитілами, синтезованими до них. Окрім карцином, активність преципітину також виявлялася в тканинах кишківника, печінки та підшлункової залози плодів людини на 6-му місяці вагітності. Враховуючи це, дослідники дали назву цьому маркеру «раково-ембріональний антиген» (*carcinoembryonic antigen – СЕА*) [1]. Вони вважали, що СЕА експресується виключно клітинами упродовж фетального періоду, відсутній у здорових тканинах дорослих осіб та реекспресується в карциномах. Згодом цій дослідницькій групі вдалося визначити рівень СЕА в сироватці крові осіб із КРР та іншими злоякісними пухлинами, використовуючи радіоімунологічні методи дослідження [2]. Кров від здорових осіб та пацієнтів з іншими захворюваннями зазвичай містила менший рівень СЕА. Це становило значний інтерес до цього маркера з боку клініцистів, які почали широко використовувати його визначення в крові хворих під час діагностики, стадіювання, моніторингу та прогнозування перебігу злоякісних пухлин [3].

У подальшому основними напрямками досліджень стали очищення та характеризування цих білків. Оскільки вони є складними високоглікозильованими макромолекулами, це було непростим завданням. Кілька груп учених зробили вагомий внесок у цьому напрямку, і СЕА було ви-

значено як глюкопротеїд, що містить приблизно 50 % вуглеводів із молекулярною масою близько 200 кДа [4, 5]. Наступним не менш важливим питанням було встановлення крос-реактивності СЕА з іншими білками в нормальних тканинах людини, включаючи кров. Очевидно, що наявність такої їх хибної властивості на той час могла сприяти одержанню хибних результатів у клінічній практиці.

Очищення пухлинних екстрактів, виконане одночасно двома незалежними групами дослідників J. P. Mach та ін. і S. Kleist та ін., свідчило про наявність іншого антигену в більшості випадків злоякісних пухлин кишківника, що не виявляв ані пухлинної, ані органної специфічності. Його позначали як «неспецифічний перехресно-реактивний антиген» (*nonspecific cross-reacting antigen – NCA або CD66c*) [6, 7]. Наявність цього глюкопротеїду в сироватці крові у 85 % осіб із КРР подавала надії скринінгового обстеження великої кількості пацієнтів за допомогою радіоімунологічних досліджень [8]. Упродовж наступних років було виявлено значну кількість перехресно-реактивних антигенів у інших пухлинах, що мали підвищену СЕА-подібну активність. Це поставило під сумнів можливість використання радіоімунологічних досліджень у клінічній практичній діяльності.

Незважаючи на наявні перешкоди в специфічності антитіл та варіабельності СЕА в разі виникнення злоякісних пухлин у кишківнику, незабаром було виявлено, що ступінчасте підвищення його рівня після хірургічного лікування хворих із КРР свідчить про рецидивування пухлин та/або віддалене метастатичне їх поширення [9]. Це стало стандартною практикою в післяопераційному спостереженні хворих із цією патологією.

Наступним представником СЕА-подібних білків, який був ідентифікований групою вчених під керівництвом Т. Svenberg у жовчі хворих на обструктивну жовтяницю,

був біліарний глікопротеїн (*biliary glycoprotein – BGP*) [10, 11].

Однак відсутність специфічних моноклональних анти-тіл (*monoclonal antibodies – mAbs*) на той час не дозволяла відокремити їх від СЕА та NCA за рахунок вираженої крос-реактивності. Насправді ж перші mAbs, які могли ідентифікувати виключно BGP, були винайдені групою вчених під керівництвом С. Wagener [12, 13]. Клонування кДНК BGP дозволило виявити більше ніж 80 % гомологій на нуклеотидному рівні з відповідними доменами в СЕА та NCA. Лише BGP-специфічний домен А2 має 56 % гомологій із доменами інших членів сімейства СЕА [14]. За допомогою імунофлуоресцентних досліджень встановлено, що джерелом BGP у печінці є жовчні капіляри, клітини жовчних проток та слизова оболонка жовчного міхура [15]. Патерни експресії цих білків у людини також були виявлені (підтверджені) в гризунів [16, 17].

Наступні десятиліття були присвячені характеристиці СЕА-подібних білків та синтезу різноманітних mAbs до них [18]. Це стало підґрунтям до клонування кДНК СЕА та їх бібліографії, отриманих із клітин КРР [19, 20]. Набутий досвід найближчим часом сприяв клонуванню ряду інших членів сімейства СЕА, таких як NCA [21] та BGP [22], із різних форм лейкоцитів.

Кінець 70-х років та початок 80-х років ХХ ст. запам'яталися широкомасштабними дослідженнями СЕА, NCA та BGP у різних типах пухлин, пізніше перейменованих на молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену 5 (*carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule – CEACAM*), CEACAM6 та CEACAM1 відповідно. Важливий внесок у цьому напрямку зробили D. M. Goldenberg, J. P. Mach та R. H. Begent, які визначили ці білки як надійний маркер у виявленні первинного й метастатичного КРР та інших злоякісних пухлин і спробува-

ли їх використати в імунотерапії (за допомогою анти-СЕА-антитіл) цих новоутворень [23–25].

Велике сімейство СЕА закодоване у 29 окремих генах/псевдогенах, розміщених на довгому плечі хромосоми 19q13.1–13.2 людини, сьомій хромосомі в мишей та першій хромосомі в щурів [26]. Вони розділені між трьома підгрупами генів: Сеасам (12 незалежних генів – Сеасам1, 3–8, 16, 18–21), специфічних для вагітності глікопротеїдів (*pregnancy-specific glycoproteins* – *Psg*) – 11 генів та третьою підгрупою генів Сgm (*CEA gene family member*), яка кодує 6 представників СЕА-подібних білків. Серед 12 генів Сеасам, експресуються лише 7 (Сеасам1, 3–8), тоді як 5 інших є псевдогенами. У підгрупі *Psg* усі гени є експресованими, тоді як у третій підгрупі всі представники є псевдогенами [27–30]. Гени *Psg* та третьої підгрупи розміщені більш теломерально до генів підгрупи Сеасам. Усі вони організовані двома кластерами по 250 і 850 kb, розділені ділянкою приблизно 700 kb, що містять кілька неспорідних генів [31]. Сеасам3–6 та 7 тісно кластеризовані в проксимальному кластері, тоді як Сеасам1, 8 та *Psg*/Сgm кластеризовані в дистальному кластері [26].

Окрім людини, різні представники СЕАСАМ були виявлені у 27 інших ссавців, серед яких вони найкраще описані в мишей, щурів, великої рогатої худоби, собак, качкодзьобів та опосумів [26].

Усі білки СЕАСАМ належать до сімейства СЕА, підгрупи СЕА, суперсімейства імуноглобулінів (*immunoglobulin* – *Ig*). Вони є високоглікозильованими і зазвичай мають один варіабельний (V)-подібний домен, позначений як N-домен (за винятком СЕАСАМ16, який містить два N-домени), що складається із 108 амінокислот (рис. 1). За N-доменом розміщених від одного до шести константних С2-подібних доменів. Вони можуть бути типів А та В, що містять по 85 та 93 амінокислоти відповід-

но. Молекули CEACAM та PSG відрізняються саме С-термінальними кінцями [32].

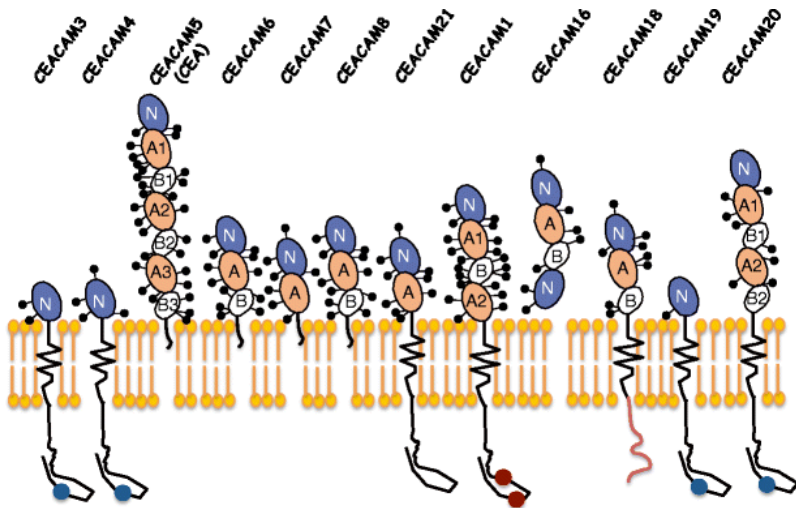


Рисунок 1 – Представники CEACAM у людини [32]:
N – варіабельний домен; A, B – константні домени

Необхідно зазначити, що CEACAM3, 4 та 19 не мають константних доменів [33]. Ці позаклітинні структури необхідні для функціонування CEACAM як гомофільних та гетерофільних молекул міжклітинної адгезії [34], а також як рецепторів до збудників у людини і гризунів [35].

Підгрупа PSG охоплює здебільшого CEA-подібні білки в живих організмів із гемохоріальною плацентациєю [26]. Вони беруть участь у розпізнаванні плода материнським організмом та регулюванні імунної відповіді в разі його імплантації й існування (імунологічної толерантності) [27,36]. Основним місцем їх утворення є плацента, особливо упродовж першого триместру вагітності – рівень PSG у крові жінок у цей термін найвищий. Синтез цих білків лімітований синцитіотрофобластом [37]. Крім того, їх утворення виявлено не лише в плаценті – клони кДНК-білків

PSG були ізольовані з фетальної печінки, слинних залоз, яєчок та мієлоїдних клітин [38]. Швидше за все, рівень PSG у цих органах низький для виявлення їх імуногістохімічними методами. Крім того, зростання рівня PSG у крові встановлено при міхуровому заносі та хоріонепітеліомі [39].

У людини вісім з одинадцяти PSG містять амінокислотну послідовність аргінін-гліцин-аспарагінову кислоту (АГА) на збереженому та відкритому сайті N-домену. Ці трипептидні послідовності є місцем розпізнавання під час взаємодії позаклітинного матриксу (ПКМ) та деякими інтегринами. Припускають, що PSG діють як інгібітори клітинно-матричних взаємодій. Однак дослідження щодо клонування кДНК молекул PSG від бабуїнів демонструють, що в них є майже стільки ж PSG, як і в людей, але лише один із них містить послідовності АГА в N-доміні [27]. Ураховуючи це, видається малоімовірним, що ця послідовність має безпосереднє значення для функціонування молекул PSG у приматів.

Фіксація до мембрани є відмінною особливістю білків CEACAM. CEACAM5, 6, 7 та 8 зв'язані з мембраною клітин через глікозилфосфатидилінозитольний (*glycosylphosphatidylinositol* – GPI) зв'язок – напівпроникний мембранний зв'язок. Висловлюється припущення, що GPI-зв'язок молекул CEACAM5 виник у результаті мутації гена CEACAM1 у його екзоні, що відповідає за трансмембранне прикріплення цих білків [40]. Важливо зазначити, що мутація є нещодавньою еволюційною подією в цьому сімействі генів, оскільки жоден із представників GPI-зв'язаних білків CEACAM не трапляється в геномі мишей [26].

Шість представників CEACAM (CEACAM1, 3, 4, 18–21) прикріплені до клітинної мембрани через надійні трансмембранні домени. CEACAM16 представлений виключно

секреторною формою. Необхідно зазначити, що СЕАСАМ1, 5, 6 та 8 можуть трапляються також у розчинній формі. Трансмембранний СЕАСАМ17, а також розчинні (не фіксовані з мембраною клітин) СЕАСАМ9-15 існують лише в щурів та мишей, у людей їх не виявлено. СЕАСАМ2 досліджено виключно в мишей [32]. Варіації експресії різних молекул СЕАСАМ у людей, щурів та мишей зображено на рисунку 2.

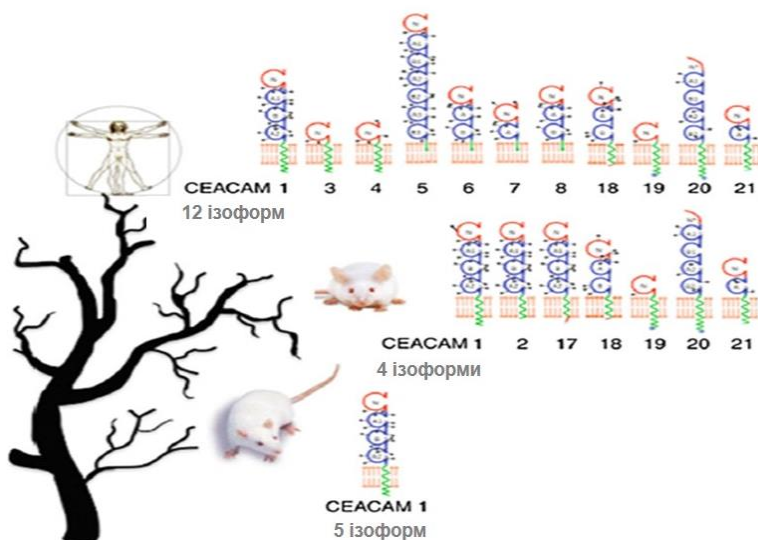


Рисунок 2 – Мембранозв’язані представники сімейства СЕА, що експресуються в людей, мишей та щурів [41]

Первинна структура СЕАСАМ1 підлягає альтернативному сплайсингу, генеруючи 12 різних ізоформ цього білка в людини (рис. 3).

За винятком дуже подібних N-доменів, особливості прикріплення до мембрани та кількість сайтів глікозилювання різні в усіх членів сімейства СЕА. А3/В3-домени молекул СЕАСАМ5 з’єднуються з протилежним N-доменом іншої молекули СЕАСАМ5, беручи участь у

міжклітинній адгезії [42]. Тоді як С2-подібні домени СЕАСАМ1, 5 та 6 опосередковують асоціацію з іншими клітинними рецепторами, які беруть участь у фосфоїнозитид-3-кіназній (*a phosphatidylinositide 3-kinase – PI3K*) взаємодії з бактеріями [43]. Це передбачає низку можливих *cis*- (у межах однієї клітини) або *trans*-спрямованих (міжклітинних) взаємодій клітин посередництвом позаклітинних доменів різних видів СЕАСАМ, що може сприяти різноманітності виконуваних ними функцій [32].

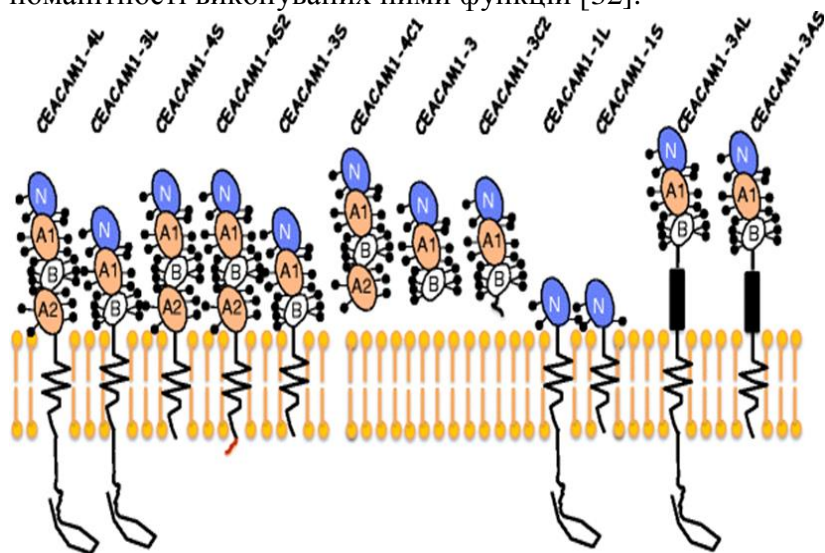


Рисунок 3 – Ізоформи СЕАСАМ1 у людини [44]

Хоча члени сімейства СЕА були виявлені більше ніж пів століття тому, і багато специфічних mAbs були синтезовані до цих білків, їх дуже подібні структурні особливості до недавнього часу перешкоджали належному визначенню їх експресії як у нормальній, так і в пухлинній тканинах. Наявність клітин ссавців, трансфектованих більшістю представників СЕАСАМ, і генерування мутантних білків

сприяли детальному визначенню їх відповідних функцій [45].

Білки CEACAM, у формі як гомо- (взаємодія між CEACAM одного виду) та гетеродимерів (взаємодія між різними представниками CEACAM), так і олігомерів, можуть взаємодіяти з іншими рецепторами (білками) на мембранах клітин та брати участь у модулюванні важливих функцій.

Дослідження, проведені S. Hammarstrom та ін., демонструють виключно апікальну експресію CEACAM1, 5 та 6 в епітелії зрілих ентероцитів [27]. Більше того, використовуючи високочутливі методи дослідження, виявлено виникнення мікровезикул на апікальній поверхні клітин, що утворюються внаслідок від'єднання дистальної частини мікроворсин або ж появи між ними. Необхідно зазначити, що везикуляція мікроворсинок – це звичайна реакція ентероцитів на зовнішні стимули, яка, можливо, є швидким механізмом виведення шкідливих агентів, які, ймовірно, фіксуються до люмінальної поверхні клітин кишківника [27]. Висновок про вивільнення CEACAM5 у нормальній товстій кишці через покриті ними мікровезикули збігається з результатами групи дослідників під керівництвом Y. Matsuoka [46]. Вони продемонстрували, що понад 90 % від загальної кількості CEACAM5 у калі існує в мембранозв'язаній формі та може бути виділена з цих мембран за допомогою фосфатидилінозитол-специфічної фосфоліпази C. Тотожні результати були одержані під час дослідження сироватки крові, у якій поряд із розчинними формами молекул були виявлені CEACAM1, 5 та 6 у складі мікровезикул, які, ймовірно, надходили до судин із пухлинної тканини [39].

На жаль, на сьогодні наявно дуже мало даних про поліморфізм та мутації в генах, які кодують молекули

СЕАСАМ, хоча це може відбиватися на виконуваних ними функціях [47, 48].

1.2 Регуляція активності СЕАСАМ

Trans-олігомеризація в результаті гомофільних взаємодій між екстрацелюлярними N-доменами СЕАСАМ на сусідніх епітеліальних клітинах є основою СЕАСАМ-опосередкованої міжклітинної адгезії [42, 49]. Однак стало зрозуміло, що цей гомофільний (СЕАСАМ-СЕАСАМ) тип сигналізації додатково підтримується наявністю С-доменів [42, 50]. Більше того, нещодавні дослідження розчинних та мембранозв'язаних ектодоменів СЕАСАМ1 не лише підтвердили критичну роль N-домену для *trans*-олігомеризації, а й засвідчили додаткові *cis*-взаємодії в позаклітинній частині СЕАСАМ1. Позаклітинний досить гнучкий ланцюг СЕАСАМ1 може бути стабілізований шляхом *cis*-взаємодії між N- та С-доменами паралельних молекул СЕАСАМ1 [51].

СЕАСАМs є багатофункціональними білками адгезії, що мають плейотропний ефект в епітелії, ендотелії та гемопоетичних клітинах. СЕАСАМ1 та деякі інші представники сімейства СЕАСАМ (СЕАСАМ3, 4, 18–21), які мають трансмембранні домени, можуть передавати сигнали безпосередньо через свої цитоплазматичні домени в цитоплазму. Для цього СЕАСАМ1 утворює гомодимери в *cis*-конфігурації [34]. СЕАСАМ5–8, що мають GPI-зв'язок із клітинами, володіють більш високою бічною рухливістю в плазматичній мембрані. Але для трансдукції своїх сигналів вони повинні використовувати інші трансмембранні партнерські молекули, наприклад, такі як СЕАСАМ1. З іншого боку, білки СЕАСАМ, які мають GPI-зв'язки з клітинами, можуть порушувати контакт-інгібувальні ефекти СЕАСАМ1 [52].

Зв'язування СЕАСАМ із патогенами також опосередковується взаємодією їх із N-кінцевими (варіабельними)

доменами [34]. Це індукує низку каскадних сигналів, починаючи з фосфорилування залишків тирозину в цитоплазматичному хвості трансмембранного домену CEACAM1.

У людини CEACAM1 містить у своєму цитоплазматичному домені два імунорецепторні мотиви інгібування на основі тирозину (*immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif* – ITIM), тоді як у гризунів він лише один, другий замінюється імунорецепторним мотивом перемикання на основі тирозину (*immunoreceptor tyrosine-based switch motif* – ITSM) [26]. Людський CEACAM3 і, ймовірно, CEACAM4, 19 та 20 несуть імунорецепторний мотив активації на основі тирозину (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif* – ITAM) у своїх цитоплазматичних хвостах. Загальноприйнятою є думка, що фосфорилування залишків тирозину в ITIM являє собою ініціативний етап передавання сигналів, опосередкованих CEACAM1. CEACAM1-L може фосфорилуватися за участі білкових тирозинкіназ родини Src, кіназою інсулінових рецепторів (*insulin receptor kinase* – IRK) та при стимуляції рецепторів епітеліального фактора росту (*epidermal growth factor receptor* – EGFR) [52,53]. Після фосфорилування CEACAM1-L може зв'язувати й активувати як білкові тирозинкінази, такі як c-src, lyn, hck, так і білкові тирозинфосфатази, такі як SHP-1 та SHP-2 [53].

Окрім CEACAM1-L, CEACAM1-S також має можливість безпосередньо індукувати передавання сигналів. Протеїнкіназа C (*protein kinase C* – PKC) може фосфорилувати залишки серину та треоніну як у CEACAM1-S, так і в CEACAM1-L [53]. Крім того, обидва варіанти сплайсінгу взаємодіють із ДНК-полімеразою білка Poldip 38 [54], а також з актином, таліном, паксиліном та філаміном А (рис. 4) [53]. PKC-опосередковане фосфорилування CEACAM1 індукує зв'язування кальмодуліну з цитоплазматичним доменом CEACAM1 і, як результат, регулює його

го *cis*-димеризацію [51]. CEACAM1 може асоціюватися в *cis*-конфігурації з інтегрином $\alpha\beta 3$, ймовірно, для сприяння клітинної інвазії [53].

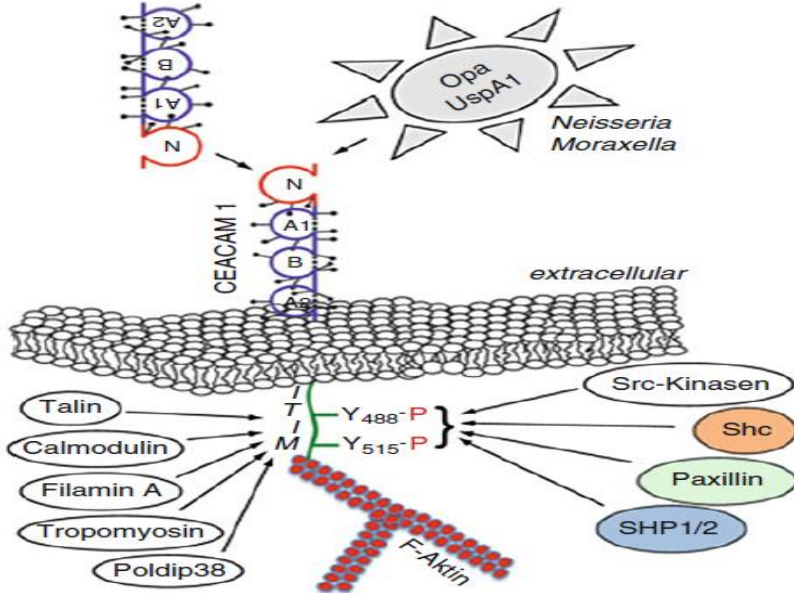


Рисунок 4 – Схема позаклітинних лігандів та партнерів внутрішньоклітинної взаємодії CEACAM1-L [41]

Для CEACAM1 позаклітинно існує лише декілька зв'язувальних партнерів. Натомість внутрішньоклітинно наявна значна кількість різних молекул, що можуть взаємодіяти із CEACAM1. Таким чином, стимуляція позаклітинних доменів CEACAM1 повинна бути менш вираженою, ніж вплив на цитоплазматичні її хвости

Після зв'язування з бактеріями CEACAM3 фосфорилується в ділянці ITAM домену Src-кіназою, зокрема Hck та Fgr [35], після цього патогени фагоцитуються й елімінуються. Крім того, як повідомлялося раніше, представники сімейства CEACAM, що кріпляться до мембрани клітин GPI-зв'язком, також здатні індукувати передавання сигналу. Взаємодія CEACAM8 із лігандами призводить до активації позаклітинної сигнал-регульованої кінази 1/2

(*extracellular signal-regulated kinase 1/2 – Erk1/2*), а надекспресія SEACAM6 спричиняє підвищення активності тирозинкінази c-Src та серин/треонін-кінази akt-1 [55, 56].

Крім того, SEACAM1, 3, 6 і 8 можуть ініціювати адгезію нейтрофілів до ендотеліальних клітин, швидше за все, шляхом активації інтегринів [53].

GPI-зв'язані SEACAMs можуть використовуватися SEACAM1 або іншими трансмембранними молекулами для ініціювання внутрішньоклітинних каскадів реакцій, хоча остаточно це явище до цього часу залишається не з'ясованим.

Упродовж останніх десятиліть декілька груп учених продемонстрували, що SEACAM1 діє як корецептор до численних клітинних рецепторів. У лімфоендотеліальних клітинах мембранозв'язаний SEACAM1 опосередковує їх проангіогенні властивості, взаємодіючи з рецепторами до судинного ендотеліального фактора росту 3 (*vascular endothelial growth factor – VEGF*) [53]. Це підтверджено SHP-1- та Src-залежним фосфорилуванням ITIM у цитоплазматичному домені SEACAM1-L при додаванні VEGF. SEACAM1 також є основним корецептором до рецепторів VEGF-2, регулюючи проникність судинної стінки та ангіогенез, за рахунок активації VEGFR2-Akt-eNOS ферментативного каскаду (див. далі) [57]. Крім того, за певних обставин інсулінові рецептори (*insulin receptor – IR*) та EGFR здатні фосфорилувати Tyl⁴⁸⁸ в ITIM молекул SEACAM1-L.

SEACAM1 ініціює зв'язування формених елементів крові з ендотелієм за участі E-селектину [58].

У гепатоцитах експресія SEACAM1 регулюється ядерним фактором гепатоцитів 4α (*hepatocyte nuclear factor 4α – HNF4α*) та специфічним для печінки фактором транскрипції [59, 60]. HNF4α координує експресію білків клітинної адгезії в печінці мишей [4]. Його втрата спричиняє виражене зниження SEACAM1 і повністю нівелює експресію

Е-кадгерину та клаудину-1 в ембріонів [61]. У дорослих мишей при зникненні експресії HNF4 α спостерігається гіперпроліферація гепатоцитів і порушений ліпідний гомеостаз у них [59, 62, 63]. Крім того, характеристика промотору SEASAM1 у щурів виявила місця зв'язування з іншими гепатоцит-специфічними факторами, такими як гепатонуклеарний фактор 5 та 1, білками активаторами 1 і 2 [60]. Крім того, SEASAM1 був описаний як «трансформаційно-чутливий білок», втрата якого свідчить про клітинну трансформацію або дедиференціювання гепатоцитів [40].

Розділ 2

СЕАСАМ1

2.1 Молекулярна характеристика та експресія СЕАСАМ1 у нормі

Представники СЕАСАМ1 мають від одного до трьох С2-подібних доменів, які є продовженням термінального N-домену. Окрім позаклітинних доменів частина ізоформ має два види цитоплазматичних доменів – довгі (long – L, 71–73 амінокислоти) та короткі (short – S, 10 амінокислот) хвости, існування яких контролюється активацією та деактивацією екзона 7 відповідно. Наявність цих хвостів є регульованою подією в нормальних тканинах, що залежить як від функціонування інтронів та екзонів, так і від експресії білків hnRNP A1 і L, а також hnRNP M [64]. СЕАСАМ1 є сильно N-глікозилітованим білком, у якому більше ніж 60 % маси становлять вуглеводні, позитивно впливаючи на стабільність білка та період напіввиведення. Відповідно до стандартизованої номенклатури, число після СЕАСАМ1 свідчить про кількість позаклітинних Ig-подібних доменів, тоді як літера, що йде за цим номером, засвідчує наявність довгого (L) або короткого (S) цитоплазматичного хвоста чи унікального кінця (C). Експресія L- та S-хвостів стає нерегульованою за деяких злоякісних пухлин: КРР, раку молочної залози (РМЗ) та недрібноклітинного раку легені (НДКРЛ) [65–67]. Найбільш вивченими ізоформами СЕАСАМ1 є СЕАСАМ1-3S, СЕАСАМ1-4S, СЕАСАМ1-3L і СЕАСАМ1-4L.

Електронна томографія засвідчила, що ектодоменні структури СЕАСАМ1 є дуже «гнучкими». Вони можуть утворювати як антипаралельні міжмембранні *trans*-димери (між двома клітинами), так і *cis*-димери (в межах однієї клітини), демонструючи міцне паралельне з'єднання всіх

чотирьох константних доменів і навіть варіабельного домену [51].

СЕАСАМ1-Л найбільш відомий своїми двома цитозольними залишками фосфотирозину та ІТІМ, залученими до передавання інгібувальних сигналів під час взаємодії з лігандами та корецепторами (рис. 5). Фосфорилування тирозину (Тур⁴⁸⁸ і Тур⁵¹⁵) в ІТІМ СЕАСАМ1-Л сприяє приєднанню та активації домену гомології-2 src (*Src homology 2* – *SH2*), які входять до складу Src-кіназ та SH2-вмісних тирозинфосфатаз 1 та 2 (*SH2 containing tyrosine phosphatases* – *SHP*) [26, 68].

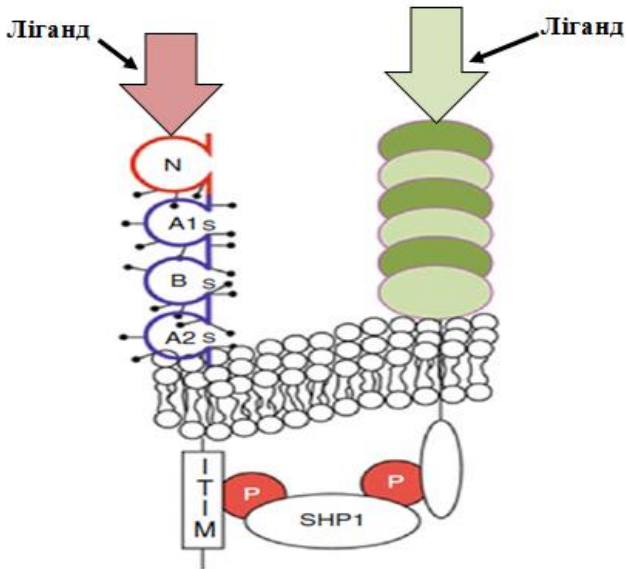


Рисунок 5 – Початкові стадії передавання сигналів, опосередкованих СЕАСАМ1-Л [41]. Зв'язування СЕАСАМ1-Л із лігандом викликає фосфорилування тирозину в межах його цитоплазматичного домену ІТІМ та залучення SHP-1. Згодом СЕАСАМ1 може взаємодіяти через SHP-1 з іншими молекулами і модулювати їх сигнальну здатність, впливати на функціонування клітин

У стані мономеризації та гомодимеризації ферменти мають різну спорідненість до ITIM інтрацитоплазматичного «хвоста» CEACAM1-L. У стані мономера ITIM приєднує та активує SHP-1, SHP-2 та Src-кінази [69]. Гомодимеризація CEACAM1-L відображається на спорідненостях зв'язування SHP-2 та Src-кіназ – посиленні зв'язування/активації SHP-2 та інертності чи зниженні зв'язування/активації Src-кіназ. Водночас SHP-1 є недоступним для зв'язування з димерним CEACAM1-L (рис. 6) [69, 70].

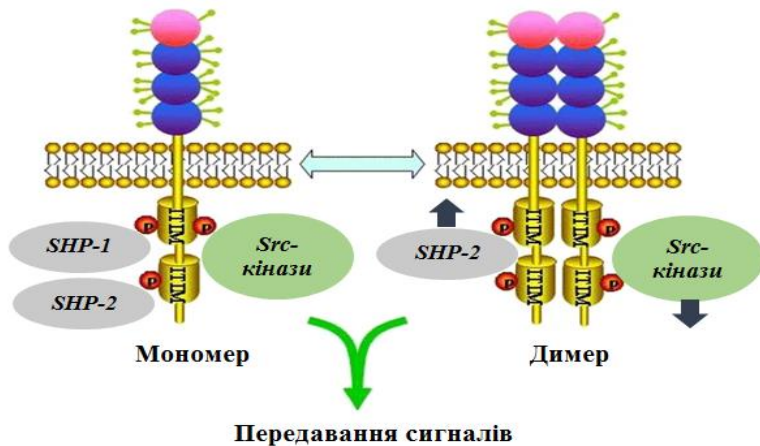


Рисунок 6 – Особливості трансдукції сигналів через CEACAM1-L у стані мономера та гомодимеру [70]

SACAM1-S може втручатися у функціонування CEACAM1-L, швидше за все, через *cis*-димеризацію (утворення CEACAM1-L-S-димерів) [34]. Той факт, що CEACAM1 може димеризуватися в *cis*-формі (L/L, L/S і S/S), робить ці білки ще більш складними для вивчення та встановлення їх функціональних ефектів [51, 69].

Група вчених під керівництвом В. Obrink показала, що *trans*-гомофільне зв'язування, опосередковане N-доменом, індукує *cis*-димеризацію CEACAM1. *Cis*-гомодимеризація

СЕАСАМ1-L (L/L) зв'язує його цитоплазматичні домени, тим самим змінюючи відносну афінність їх до SHP-1/2 та c-Src. Це супроводжується посиленням зв'язування та активації SHP-1/2. СЕАСАМ1-S може перешкоджати цьому процесу, утворюючи гетеродимери із СЕАСАМ1-L, тим самим знижуючи рівень конфігурації цитоплазматичного димеру СЕАСАМ1-L [52, 71]. Отже, співвідношення між СЕАСАМ1-L та СЕАСАМ1-S (співвідношення СЕАСАМ1-L/S) та їх коекспресія з іншими представниками сімейства СЕАСАМ можуть бути визначальними компонентами функціональної активності клітин, опосередкованих СЕАСАМ1 [52].

СЕАСАМ1-S може зв'язуватися фосфорильованим залишком серину з кальмодуліном, тропоміозином, глобулярним актином, анексином II та білком PDIP38 (*DNA polymerase delta interacting protein*), а також бути фосфорильованим різними протеїнкіназами для регулювання цитоскелетної динаміки [72, 73].

З 12 різних ізоформ СЕАСАМ1 три (СЕАСАМ1-4С1, -3, -3С2) є секреторними (розчинними) формами, відіграючи значну роль у пригніченні міжклітинної адгезії, особливо у пацієнтів із дефіцитом TAP2 та обтураційною жовтяницею, які мають велику кількість секреторних СЕАСАМ1 (secreted СЕАСАМ1 – sСЕАСАМ1) у сироватці крові [74, 75]. У нормі його рівень у плазмі крові становить у середньому 48,5 нг/мл зі зниженням цього показника під час вагітності [76]. Важливо зазначити, що варіабельність sСЕАСАМ1 є маркером розвитку багатьох злоякісних пухлин [77–79].

Тканини людського організму відрізняються не лише наявністю або відсутністю цих білків у їх складі, а й співвідношенням СЕАСАМ1-L/S [55, 65, 80, 81]. Дві ізоформи СЕАСАМ1 зазвичай співіснують у багатьох нормальних тканинах, причому довша ізоформа зазвичай наявна в

менших кількостях, ніж коротша. Наприклад, у колоноци-
тах SEACAM1-L становить лише 15–20 % від загальної
кількості SEACAM1. Установлено, що в нормі тканини
кишківника, печінки, легень та простати коекспресують
SEACAM1-L та SEACAM1-S. Водночас печінка і простата
експресують більше SEACAM1-S, а легені – SEACAM1-L.
На противагу цьому тканини мозку, серця та нирок експе-
сують майже виключно SEACAM1-L [66]. SEACAM1-L
демонструє інгібуючий фенотип щодо пухлинного росту за
його експресії у фізіологічних концентраціях та у відпові-
дному співвідношенні щодо SEACAM1-S. Однак надекс-
пресія SEACAM1-S або порушення нормального співвід-
ношення SEACAM1-L/S нівелюють гальмівний потенціал
SEACAM1-L. Відповідно відносний рівень експресії різ-
них ізоформ визначає результат клітинної сигналізації
[80, 81]. Наявність SEACAM1-S та SEACAM1-L є інди-
катором різних функціональних ефектів цих білків (як моно-
мерів) та їх гомо- і гетеродимерних комплексів у *cis*- та
trans-конфігураціях [33, 51, 65, 82].

SEACAM1 – це найбільше поширений представник
сімейства SEA, описаний у різних епітеліальних клітинах,
в ендотеліальних клітинах дрібних новоутворених судин
[53], а також у лімфоїдних та мієлоїдних клітинах [16, 27].
У нормальному епітелії експресія SEACAM1-L спостеріга-
ється на апікальній та бічній поверхнях клітин. Локалізація
SEACAM1-L на бічній поверхні епітелію вимагає експресії
Tug⁵¹⁵ у межах його цитоплазматичного домену, а фосфо-
рилювання Tug спричиняє його швидке PI3K-залежне пе-
реміщення до ендосом/лізосом [83]. SEACAM1-S наявний
лише на апікальному полюсі клітин [84].

За допомогою досліджень печінки плодів у щурів до-
ведено, що експресія SEACAM1 виникає у гепатоцитах на
16-й день після гестації [85]. У мишей SEACAM1 виявля-
ється в кишківнику вже на 10,5-й день після гестації [86] і

постійно зростає до 3-го тижня після народження, досягаючи рівня його експресії в печінці [85]. Необхідно зазначити, що експресія обох ізоформ CEACAM1 (CEACAM1-S та -L) у гепатоцитах також збільшується після народження, що свідчить про їх участь у диференціюванні клітин. Ця гіпотеза підтверджується результатами вивчення регенеруючої печінки після часткової гепатектомії в щурів – зниження експресії CEACAM1 на поверхні гепатоцитів на піку проліферації клітин та відновлення рівня їх експресії після завершення регенерації на 15-й день після гепатектомії [85, 87, 88]. Ця модель є індикатором не лише участі CEACAM1 у диференціюванні гепатоцитів, а й демонструє їх залежність (або залежність проліферації від CEACAM1) від проліферативної активності клітин.

Експресію CEACAM1 виявлено в епітеліальних клітинах стравоходу (слизові залози), шлунка (клітини слизової оболонки пілоричного відділу), 12-палої кишки (брунерові залози та епітеліальні клітини), порожньої і клубової кишки (епітеліальні клітини), товстої кишки (циліндричний епітелій та келихоподібні клітини), підшлункової залози (епітеліальні клітини великих і малих проток), печінки (на повернутій до жовчних капілярів поверхні гепатоцитів та жовчних протоках), жовчного міхура (епітеліальні клітини), нирок (епітелій проксимальних каналців), сечового міхура (перехідний епітелій), передміхурової залози (залозистий епітелій), шийки матки (багатошаровий плоский епітелій), тіла матки (епітелій ендометрія та ендоцервіксу), молочної залози (епітелій проток), клітин потових і сальних залоз шкіри [42,89]. Експресія CEACAM1 наявна в клітинах трофобласта та кісткового мозку (попередники гранулоцитопоезу та моноцитопоезу) [16]. Натомість CEACAM1 не виявлено в міоцитах, хондроцитах та адипоцитах [90].

Експресія CEACAM1 ендотеліальними клітинами є індикатором їх участі як у васкулогенезі в ембріональному періоді, так і в ангиогенезі й функціонуванні судин за умов існування організму та різних патологічних станів [91]. У нормі CEACAM1 експресується ендотелієм артерій, вен та капілярів плаценти, капілярів клубочків і прямих артеріол нирок, синусоїдів надниркових залоз, малих судин ендометрія, панкреатичних ендокринних островців, простати та активних ділянок щитоподібної залози [16]. Відзначено, що ангиогенно-активовані ендотеліальні клітини малих кровоносних судин мають значно нижчі рівні експресії CEACAM1 порівняно з ангиогенно-активованими лімфоендотеліальними клітинами [53].

Вони опосередковують міжклітинну адгезію шляхом гомофільних (CEACAM1-CEACAM1) та гетерофільних (CEACAM1-CEACAM5, CEACAM1-CEACAM6 і CEACAM1-CEACAM8) взаємодій [49, 58, 92, 93].

Серед лейкоцитів надекспресію CEACAM1 виявлено в активованих гранулоцитах, В- і Т-лімфоцитах. Крім того, в людини CEACAM1 представлені різним (специфічним для кожної типу клітин) рівнем глікозилування варіабельних та константних доменів, що впливає на їх молекулярну масу приблизно від 120 кДа до 160 кДа в епітеліальних клітинах і гранулоцитах відповідно [53].

Один із «функціональних принципів» CEACAM1 полягає в тому, що вони рідко самостійно виконують якусь із функцій. Здебільшого ці білки впливають на активність інших молекул.

2.1 Функції CEACAM1

CEACAM1 має низку функціональних тригерних механізмів впливу, беручи участь у різних фізіологічних та патофізіологічних процесах і регулюючи клітинну контакт-залежну трансдукцію сигналів (рис. 7).

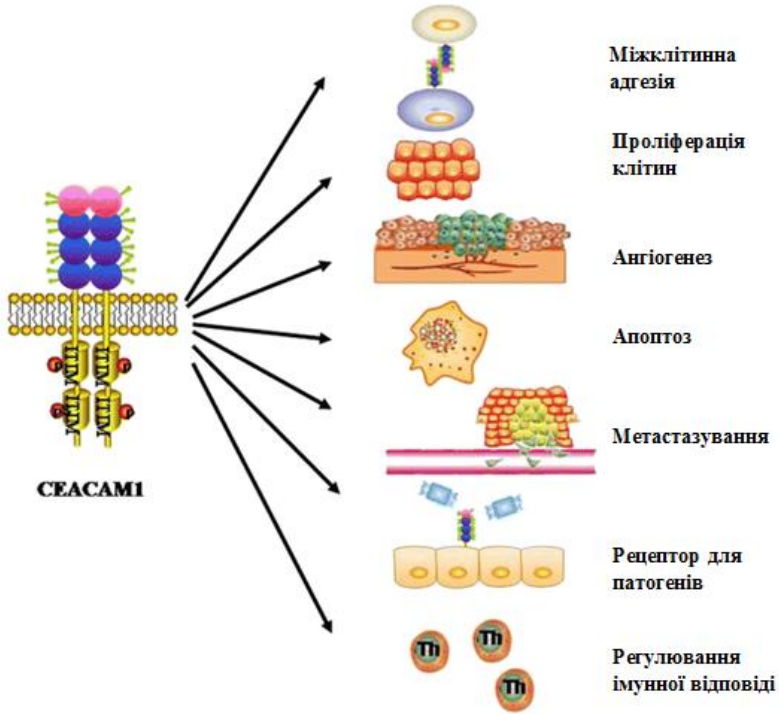


Рисунок 7 – Процеси, в яких CEACAM1 бере участь [70]

2.2.1 Взаємодія CEACAM1 із патогенами

N-домен CEACAM1 може бути рецептором до різних патогенів. CEACAM1 може взаємодіяти з кількома грамнегативними коменсальними та патогенними мікроорганізмами (*N. gonorrhoeae*, *N. lactamica*, *N. meningitidis*, *N. subflava*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *Salmonellae* spp., *Candida albicans*, *H. pylori* та *E. coli*), що виявляються в різних порожнинах організму (носоглотці, шлунково-кишковому та сечостатевому трактах) [94–101]. Крім того, мишиний аналог CEACAM1 (C-SAM) діє як рецептор до вірусу гепатиту миші та підвищує сприйнятливість до нього [102]. Установлено, що взаємодія клітина – збудник за-

безпечується низкою посередників, таких як білок Opa (Neisseria), молекула UspA1 (Moraxella), HopQ (H. pylori) та інші (рис. 4) [41, 53, 81, 103, 104]. Вони специфічно взаємодіють з афінним N-доменом CEACAM1 та іншими CEACAMs (CEACAM3, 5 та 6) людини. На відміну від низькоспорідненої (менш міцної) взаємодії CEACAM-CEACAM зв'язування білків Opa/UspA1/HopQ із CEACAM опосередковується високим афінитетом, що призводить до незворотного їх приєднання до клітин.

Взаємодія цих мікроорганізмів із CEACAM не лише призводить до тісної асоціації між бактерією та клітинною поверхнею, а й стимулює трансцелюлярний трансцитоз мікроорганізмів, активацію ендогенних кіназ, посилення адгезії клітин, стимуляцію малих G-білків, цитоскелетну перебудову, пригнічення активності імунних клітин, зменшення запальних реакцій і стимуляцію експресії генів, ініційованих CEACAM [103–105]. Приєднання патогенів до клітин, що експресують CEACAM, специфічно активує експресію лімітованого набору генів в організмі, підвищує експресію CD105 (представника сімейства рецепторів TGFb1), необхідних для посилення адгезії інфікованих клітин до матриці. Необхідно зазначити, що підвищена адгезивність протидіє ексфоціації контамінованого епітелію, попереджаючи їх відокремлення та загибель [95]. Зв'язування CEACAM1 із білками Opa N. gonorrhoeae може інгібувати активацію та проліферацію CD4⁺ Т-лімфоцитів, білки A1 M. catarrhalis та Opa N. meningitidis інгібують TLR2/NF-кВ/PI3K/Akt імунний клінінг мікроорганізмів [103,106]. Тому взаємодія патоген – клітина за участі CEACAM1 є індикатором специфічної адаптації мікроорганізмів, яку вони використовують для полегшення колонізації слизової оболонки людини та пригнічення адаптивної імунної відповіді, що може призводити до серйозних наслідків.

Деякі патогени можуть пригнічувати імунну відповідь, зв'язуючись із CEACAM1 на CD4⁺ Т-лімфоцитах, а також з епітеліальними клітинами легень за допомогою патогенетичних взаємодій, опосередкованих CEACAM1-L (ITIM) [103, 107].

Зовсім іншими напрямками впливу CEACAM щодо екзогенних патогенів є твердження S. Hammarström та ін. [27]. Вони висловили припущення, що CEACAM5 та 6 відіграють роль у природженому імунному захисті при мікробній контамінації в органах з апікальною їх експресією на поверхні клітин (шлунково-кишкового тракту, сечового міхура та потових залоз). Для товстої кишки, в якій мікробне навантаження є одним із найбільших, участь CEACAM у природженому імунітеті можна аргументувати таким чином: 1) молекули розміщені в найбільш стратегічному положенні – на апікальній поверхні клітин (глікокаліксі), оберненій до мікробного середовища; 2) CEACAM5 та 6 утворюються також у келихоподібних клітинах та вивільняються разом із слизом – вони наявні в складі слизу безпосередньо поверх апікального глікокаліксу; 3) обидва типи CEACAM (CEA та NCA) є сильно глікозилітованими білками, здатними взаємодіяти з численними патогенами; 4) експресія та ймовірне вивільнення CEACAMs можуть регулюватися запальними цитокінами. Таким чином, у людини CEACAM5 та 6, ймовірно, беруть участь у зв'язуванні/абсорбції мікроорганізмів, не даючи їм можливості потрапити до мікрроворсинок та проникнути в епітеліальні клітини. Динамічне оновлення глікокаліксу на апікальній поверхні зрілих ентероцитів призводить до видалення «старого» глікокаліксу зі зв'язаними з ним мікроорганізмами. Більше того, цей процес може бути пришвидшений за допомогою CEACAM1, оскільки він може асоціюватися із CEACAM5 та 6 за допомогою екзодомених взаємодій, а також передавати сигнали за допомогою фос-

форилювання його цитоплазматичного домену. Таким чином, якщо бактерія контактує на поверхні клітини з будь-якою з цих трьох молекул (СЕАСАМ1, 5 чи 6), клітини це «відчують».

2.2.2 СЕАСАМ1 та утворення просвіту органів

СЕАСАМ1 бере участь у поляризації клітин під час формування органів [108-110]. Як молекули адгезії між клітинами вони мають вирішальне значення для утворення просвіту в них. Це було яскраво продемонстровано в тривимірних моделях формування молочних залоз [111, 112]. Значною мірою цей ефект опосередковується СЕАСАМ1-4S, яка індукує апоптоз в епітеліальних клітинах молочної залози та повертає клітини РМЗ до нормального морфогенетичного фенотипу. Це може пояснити переважну апікальну експресію СЕАСАМ1 у багатьох типах епітелію, який вистилає (обмежує) просвіт органів, таких як кишківник, слинні залози, простата, молочні залози та сечовий міхур.

СЕАСАМ1 має важливе значення для утворення просвіту судин. Повідомлялося, що ендотеліальний та sСЕАСАМ1 у людей і мишей має проангіогенні властивості та функціонує як ефектор до VEGF *in vitro* й *in vivo* при екзогенному їх застосуванні [113, 114]. Крім того, було показано, що СЕАСАМ1 впливає не лише на формування ендотеліальної трубки, а й на морфогенез судин, підтримуючи інтеграцію навколоендотеліальних клітин у стінку новоутворених судин [115].

2.2.3 СЕАСАМ1 та судинний гомеостаз

Н. Sawa у 1994 році вперше продемонстрував експресію СЕАСАМ1 у кровоносних судинах головного мозку щурів [116]. Пізніше повідомлялося, що СЕАСАМ1 експресується в незрілих малих кровоносних судинах різних типів пухлин та новоутворених судинах нормальних орга-

нів (під час загоєння ран, у проліферувальному ендометрії, у формуванні центральної нервової системи), але він не виявляється в зрілих кровоносних судинах нормальних тканин [113, 117, 118].

Упродовж останніх років вивчали участь SEACAM1 у фізіології та патофізіології судинної системи – не лише її роль у формуванні судин, й вплив на бар'єрні властивості ендотелію, реконструкцію та стабілізацію судин.

У 2009 році група науковців під керівництвом А. Gu виявили експресію SEACAM1 в острівцях кровотворної тканини мишачого ембріона, демонструючи їх участь у процесі новоутворення кровоносних судин із недиференційованих мезодермальних попередників (васкулогенезі). Крім того, додавання анти-SEACAM1 mAbs інгібувало утворення судинної трубки в стовбурових клітинах ембріональних тілець миші, індукованих VEGF [119]. Процес васкулогенезу може відбуватися й в організмі дорослих за рахунок активації клітин, які є ендотеліальними попередниками стінки судин. Після їх активації SEACAM1 стрімко індукується та експресується [120]. На протигагу цьому дослідження SEACAM1^{-/-} мишей (із генетично запрограмованою відсутністю SEACAM1 у тканинах) не виявило морфологічних відмінностей у судинній мережі тварин, хоча й спостерігалася підвищена їх проникність [57]. Із цієї точки зору функціонування SEACAM1 подібне до білків CD31 – додавання анти-CD31 mAbs *in vitro* може порушувати васкулогенез, натомість у CD31^{-/-} мишей не виявлено явних вад розвитку судин [121, 122].

Упродовж останніх років учені так і не дійшли чіткого консенсусу щодо ролі SEACAM1 в ангиогенезі (неоваскуляризації) пухлин та нормальних тканин, що супроводжується відокремленням та проростанням новоутворених судин із попередніх кровоносних колекторів [116, 121–123]. Цей процес суворо регулюється ендогенними його актива-

торами (VEGF, фактор росту фібробластів-2, ангіопетини) та інгібіторами (ендостатини та ангіостатин) [124]. SEACAM1 бере участь в утворенні ендотеліальної трубки та інтеграції перицитів і/або гладком'язових клітин у стінку новоутворених судин (рис. 8), що призводить до їх стабілізації та дозрівання [57, 113, 114, 125].

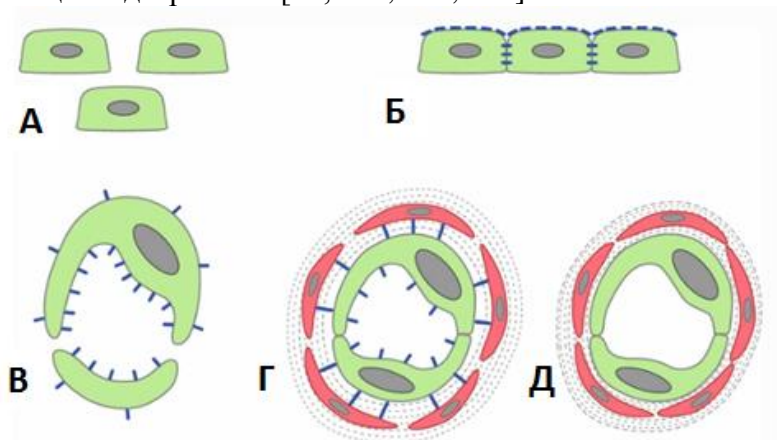


Рисунок 8 – Схема участі SEACAM1 в ангіогенезі [91].

Неактивовані ендотеліальні клітини-попередники (гемангіобласти) є SEACAM1-негативними (А). Поляризовані клітини ендотелію (зелений колір) експресують SEACAM1 (синій колір) (Б). На початковій стадії утворення капілярів SEACAM1 експресується на люмінальній та базальній поверхнях ендотелію (В). Після інтеграції перицитів (червоний колір) у стінку судин, SEACAM1 все ще виявляється між перицитами та ендотеліальними клітинами (Г). Зрілі судини позбавлені експресії SEACAM1 в ендотеліальних клітинах (Д)

Використовуючи очищені sSEACAM1 із гранулоцитів людини, було показано *in vitro* та *in vivo*, що SEACAM1 має проангіогенні властивості, посилюючи міграцію й утворення ендотеліальної трубки, а також збільшує щільність судин у хоріон-алантоїсній мембрані [113, 114]. У комплексній взаємодії з VEGF SEACAM1 є морфогенетичним ефектором VEGF-індукованого новоутворення судин

[113]. Додавання анти-SEACAM1 mAbs призводить до блокування VEGF-залежного утворення ендотеліальної трубки. Пізніше було показано, що й мембрано-зв'язаний SEACAM1 індукує проангіогенні властивості ендотеліальних клітин, посилюючи експресію потужних ангіогенних факторів, таких як VEGF, ангіопоетин-1 та ангіопоетин-2 [117].

Використовуючи мишачу модель канцерогенезу в молочній залозі, D. Gerstel довів, що ендотеліальна експресія SEACAM1 пов'язана з посиленням васкуляризації пухлини та структуруванням судин [115]. Було встановлено, що SEACAM1 експресується виключно в пухлино-асоційованих ендотеліальних клітинах дрібних судин, але не у великих та зрілих (спокійних) судинах [117, 126]. На противагу цьому відсутність SEACAM1 сприяє зменшенню васкуляризації новоутворень, розширенню та фенеструванню кровоносних судин, що могло бути передумовою для метастазування пухлин у легені. Ці дані підтверджуються й іншими дослідженнями, що демонструють посилену ендотеліальну експресію SEACAM1 у судинах, які перебувають у тісному контакті з карциномами [118, 127]. Додатковим механізмом впливу SEACAM1 на проангіогенні властивості ендотеліальних судин є їх коекспресія з CD105 (ендогліл), який також є необхідною складовою в ангіогенезі [95].

Останнім часом одержано дані про зв'язок між експресією SEACAM1 зрілими й незрілими мієлоїдними клітинами та розвитком раку та його метастатичного поширення через індукцію ангіогенезу. CD11b⁺-мієлоїдні клітини експресують високий рівень SEACAM1, що корелює з функціональним ангіогенезом [128]. У SEACAM1^{-/-} мишей виявлено зменшення субпопуляції попередників CD11b, що може виявлятися моноцитарно-залежним порушенням ангіогенезу. Імплантація кісткового мозку від тварин дико-

го типу (SEACAM1-позитивні) була достатньою для індукції ангіогенної відповіді у тварин.

SEACAM1 регулює Vb8-залежний шлях активації ангіогенезу [129]. CD11b+Gr1+-незрілі міелоїдні клітини (супресорні клітини міелоїдного походження, *myeloid-derived suppressor cells* – MDSC) відповідають за синтез Vb8. Інфільтрація пухлин MDSC-клітинами супроводжується посиленням їх росту та інтенсифікацією ангіогенезу. Залучення MDSC-клітин, проангіогенного фактора Vb8 та SEACAM1 до цих процесів було підтверджено специфічним блокуванням цих білків за допомогою mAbs, які нівелювали вищезгадані ефекти. Встановлено, що SEACAM1 бере участь у негативному регулюванні G-CSFR-Vb8-сигналізації та відповідно рості пухлин та ангіогенезі в них.

SEACAM1 дають пухлиноасоційованим макрофагам можливість пригнічувати утворення цитокінів (гранулоцитарних колонієстимулювальних факторів), тим самим впливаючи на ступінь запальної реакції в пухлинному мікрооточенні, запобігаючи прогресуванню карцином молочної залози та ангіогенезу в них [130, 131].

Посилення ангіогенезу, мікросудинної щільності (МСЩ) та лімфоангіогенезу потенціюють метастазування злоякісних новоутворень. SEACAM1 відіграють важливу роль у пухлинному ангіогенезі та лімфоангіогенезі різних видів раку, але способи регулювання цих процесів відрізняються [118, 132–134]. З одного боку, експресія SEACAM1 в ендотеліальних клітинах стимулює ангіогенез у пухлинах [117], з іншого – зниження рівня SEACAM1 в епітеліальних пухлинних клітинах простати та сечового міхура сприяє синтезу VEGF-A, -C, -D та ангіопетину 1, які стимулюють ангіогенез навколо первинних пухлин [118, 134]. Надекспресія SEACAM1 у клітинах НДКРЛ та аденокарциноми шлунка кишкового типу посилюється, результатом цього є збільшення МСЩ навколо пухлин.

Водночас ці новоутворені судини не експресують SEACAM1 [135,136]. Дерегуляція SEACAM1 у пухлинних клітинах при раку нирок супроводжується частковим зниженням експресії SEACAM1 у пухлиноасоційованих мікросудинах, їх надекспресією в перехідній зоні та неваріабельністю в разі аденоматозного ураження органа [137]. Неопластична трансформація герміногенних клітин яєчок призводить до появи SEACAM1-позитивних судин у солідних неопластичних вогнищах [138]. Плоскоклітинний рак ротової порожнини супроводжується SEACAM1-залежною варіабельністю МСЦ пухлини. Частина кровоносних та лімфатичних судин у цьому разі є SEACAM1-позитивною. Спостерігається збільшення МСЦ та кількості рецептор-позитивних судин при цитоплазматичній (на противагу мембранній) локалізації білків у неопластичних клітинах плоскоклітинного раку [134]. Натомість під час деяких досліджень аденокарцином шлунка виявлено зворотну динаміку – мембранна експресія цих білків інгібує ангіогенез (низька МСЦ), а цитоплазматична експресія індукує васкуляризацію пухлин [139].

SEACAM1 може діяти як лімфоангіогенний перемикач у неопластичних тканинах, перепрограмовуючи кровоносні мікросудинні ендотеліальні клітини на лімфатичні ендотеліальні клітини [134, 140].

Досліджуючи ангіогенез в аденокарциномах молочної залози мишей, встановлено, що SEACAM1-позитивна неопластична тканина має підвищену судинну щільність із більш інтенсивним покриттям періцитами за рахунок посилення ангіогенезу в пухлині [115]. Водночас експресію SEACAM1 в ендотелії виявлено лише в перитуморальних судинах при РМЗ. Висловлюють припущення, що ендотеліальна експресія SEACAM1 у судинах перипухлинного простору є важливим компонентом проангіогенного мікро-

середовища, що підтримує стабілізацію пухлинних судин РМЗ [115].

SEACAM1 бере участь у формуванні колатералей у гіпоксично-змінених тканинах. Як відомо, гіпоксія активує транскрипцію індукованого гіпоксією фактора 1- α (*hypoxia-inducible factor-1 α* – *HIF-1 α*), який стимулює експресію VEGF [141, 142]. VEGF також індукує експресію SEACAM1 [113, 123, 143]. З іншого боку SEACAM1 є найважливішим ефектором VEGF, оскільки індукований за допомогою VEGF ангіогенез значно пригнічується *in vitro* в ендотеліальних клітинах після блокування siRNA SEACAM1 та *in vivo* – в SEACAM1^{-/-}-мишей [117, 119]. Іншим напрямком активації SEACAM1 є його поетапна індукція TNF- α і транскрипційного фактора NF κ B [144, 145]. Це було також підтверджено А. К. Horst, який показав порушення ремоделювання колатералей після перер'язування стегнової артерії та ішемії задніх кінцівок у SEACAM1^{-/-}-мишей [114].

Посилення експресії SEACAM1 у кардіоміоцитах у разі гіпоксично-запальних реакцій при інфаркті міокарда демонструє захисну роль SEACAM1 за рахунок утворення колатералей. Однак ці позитивні судинні ефекти можуть накладатися на вплив SEACAM1 безпосередньо на кардіоміоцити. Було встановлено, що після інфаркту міокарда в кардіоміоцитах індукується експресія SEACAM1. З іншого боку, після інфаркту міокарда в мишей дикого типу (з власним SEACAM1) виявлялися більш виражена серцева недостатність, явища кардіосклерозу та збільшення апоптозу кардіоміоцитів, що призводили до летальних наслідків порівняно з SEACAM1^{-/-}-мишами [146]. Це доводить їх негативний ефект на перебіг інфаркту міокарда.

Дослідження судин у SEACAM1^{-/-}-мишей продемонстрували участь SEACAM1 в ендотелій-залежній вазорелаксації шляхом стимулювання утворення оксиду азоту

(*nitric oxide* – NO), підтримання антиадгезивних властивостей внутрішньої поверхні судин із розвитком небажаного прилипання елементів крові до неї, а також участі в проникності судинної стінки [91]. Ендотелій-залежна вазорелаксація та подальше посилення кровотоку в тканинах значно порушені в SEACAM1^{-/-}-мишей у зв'язку зі зменшенням судинної експресії та активності NO-синтази S3 (*NO synthase* – NOS3) [125]. Кіназа глікоген-синтази-3β (*glycogen synthase kinase-3β* – GSK3β) може частково знижувати експресію NOS3. Унаслідок цього β-катенін, що є мішенню до GSK3β, стає менш фосфорильованим і не зазнає протеолітичної деградації. Натомість він переміщується в ядро, де може взаємодіяти з факторами транскрипції та модулює їх експресію [147]. Було показано, що β-катенін може зв'язуватися та активувати фактори транскрипції FoxO, особливо в умовах оксидативного стресу [148]. Це було виявлено в аортах SEACAM1^{-/-}-мишей, які мали значно вищі показники активності факторів транскрипції FoxO [125]. Крім того, як показали дослідження М. Potente, активований FoxO також пригнічує експресію та активність NOS3 [149]. Фосфорилування протеїнкіназою Akt є основним механізмом активації NOS3-залежного утворення NO [150]. Тобто зниження активності Akt, що також було вираженим в аортах SEACAM1^{-/-}-мишей, може бути причиною порушення активності NOS3 та подальшої компенсаторної релаксації судин [125].

Пригнічення утворення NO може посилюватися додатковим зменшенням її біодоступності при ескалації утворення реактивних форм кисню за рахунок активації нікотинамід-аденіндинуклеотидфосфат (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* – NADPH) оксидази. Зокрема, супероксид, утворюваний під впливом NADPH-оксидази, безпосередньо реагує з NO, утворюючи пероксинітрит [151]. Як виявилось, експресія та активність NADPH-

оксидаз також підвищена в аортах SEACAM1^{-/-}-мишей [125]. Отже, всі ферментативні каскади реакцій, що виникають за відсутності SEACAM1, протидіють як варіабельності об'єму судин, так і кровотоку. У результаті цього виникає низка негативних ефектів, що підсилюються циклічністю каталітичних реакцій.

У фізіологічних умовах внутрішня поверхня судин має антиадгезивні властивості до формених елементів крові. В аортах SEACAM1^{-/-}-мишей ця ендотеліальна функція порушена за рахунок зростання експресії судинних молекул клітинної адгезії 1 (*vascular cell adhesion molecule-1* – VCAM1), опосередкованої активацією фактора транскрипції NFκB, що призводить до посилення адгезії нейтрофілів до ендотелію. Ця гіпотеза підтверджена активацією VCAM1 у клітинній культурі ендотелію аорти великої рогатої худоби, штучно позбавленої SEACAM1 [125]. Крім того, низка додаткових механізмів, що активуються в SEACAM1^{-/-}-мишей, можуть спричиняти індукцію VCAM1 і відповідно посилити адгезивні властивості ендотелію: зростання кількості NADPH [125], активація рецепторів тромбоксану A2 продуктами окиснення арахідонової кислоти [152], NFκB- та MAPK-залежна активація ренін-ангіотензинової системи [153, 154], підвищення чутливості TNF-α-рецепторів [155].

Ендотелій бере активну участь у регулюванні проникності судинної стінки. SEACAM1 є специфічним індуктором цього процесу. В ендотеліальних клітинах легень та нирках SEACAM1^{-/-}-мишей спостерігається підвищена активність NOS3, індукована сигнальним шляхом PI3K/АКТ [156]. Це призводить до підвищеного утворення NO і, як наслідок, – проникності ендотеліальних клітин [157, 157]. На противагу цьому в аорті NOS3-залежне утворення NO пригнічується внаслідок зменшення активності сигнального шляху PI3K/АКТ [125]. Ця невідповідність може бути

наслідком складності функціонування SEACAM в ендотеліальних клітинах. SEACAM1 частіше за все наявний у формі мономера. Однак він також може утворювати димери, що складаються або з двох молекул SEACAM1-L (гомодимер), або з однієї молекули SEACAM1-L та однієї молекули SEACAM1-S (гетеродимер). Залежно від молекулярного статусу SEACAM1 активовані ним каскади реакцій можуть відрізнятись [91]. Після активації SEACAM1 може зв'язувати сигнальні молекули, що містять домен SH2, такі як тирозинфосфатази SHP-1 та SHP-2 або кіназа c-Src, шляхом взаємодії з мотивом ITIM, наявного в її довгому цитоплазматичному хвості [68, 69]. Як схематично показано на рисунку 9, тирозинфосфатази SHP-1 і SHP-2 в ендотеліальних клітинах можуть переважно зв'язуватися з гомодимерами SEACAM1. Навпаки, c-Src зв'язується з аналогічною спорідненістю як із мономерними, так і з гомо- та гетеродимерними SEACAM1 [69].

Таким чином, SEACAM1-L/S-співвідношення, а також статус його димеризації сильно впливають на зв'язування сигнальних молекул і подальшу активацію внутрішньоклітинних ферментативних реакцій в ендотелії. Цілком ймовірно, що в разі активації SHP-залежного шляху сигналізації відбувається зниження фосфорилування рецепторів та подальших внутрішньоклітинних ферментативних каскадів реакцій. Проте зв'язування c-Src із SEACAM1 посилює рецепторну функцію клітин [125, 158].

SEACAM1 може спричиняти структурні зміни в міжэндотеліальних з'єднаннях, які також впливають на проникність судин. Кадгерин ендотеліальних клітин (*vascular-endothelial cadherin* – *VE-кадгерин*) та β -катенін є основними компонентами цих з'єднань.

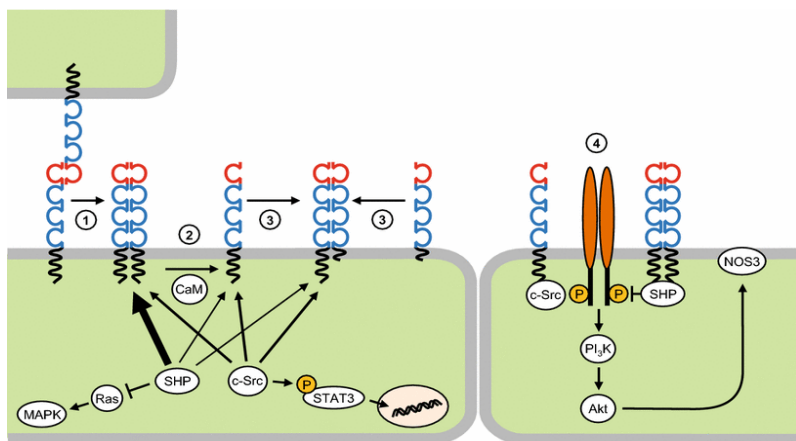


Рисунок 9 – Схема трансдукції сигналів через мономери та димери SEACAM1 в ендотеліальних клітинах [91].

Гомофільна *trans*-взаємодія індукує *cis*-димеризацію (гомодимеризацію) SEACAM1 (1). Гомодимери SEACAM1 розчиняються активацією Ca^{2+} -CaM (2). Експресія довгих і коротких форм SEACAM1 сприяє утворенню гетеродимерів (3). Мономери та димери SEACAM1 можуть бути корецепторами для рецепторів тирозинкінази (наприклад, VEGFR-2) (4). SHP переважно зв'язується з гомодимерами SEACAM1-L. c-Src не виявляє гомо- чи димеразної залежності

У дослідженнях виявлено, що ступінь фосфорилування VE-кадгерину та β -катеніну, який залежить від наявності чи відсутності SEACAM1 в ендотеліальних клітинах, може впливати на цілісність і проникність інтими судин [159]. Це саме було підтверджено й у SEACAM1^{-/-}-мишей, коли спостерігалось порушення імунологічного сигналу VE-кадгерину (розмитість контурів, дислокація в перинуклеарні простори) в міжендотеліальних з'єднаннях в аорті [125]. Тому висловлюються припущення, що дефосфорилування VE-кадгерину та β -катеніну може сприяти стабілізації міжклітинних контактів, а їх фосфорилування – наростанню проникності судин [160]. Інший механізм, що може реалізувати SEACAM1 у функціонуванні ендотеліального бар'єра, пов'язаний із матриксною металопротеїна-

зою 9 (*matrix metalloproteinase 9 – MMP*) [161]. На моделі інсультів встановлено, що системна наявність SEASAM1 гальмує дестабілізацію гематоенцефалічного бар'єра шляхом пригнічення вивільнення MMP-9 із нейтрофілів. Нейтрофіли з дефіцитом SEASAM1 вивільнювали значно більшу кількість MMP-9, а це також призводило до пошкодження гематоенцефалічного бар'єра, і, як наслідок, сприяло посиленню набряку мозку та ушкодженню тканин [161].

Ендотеліальна дисфункція, пов'язана з дефіцитом SEASAM1, також вважається вихідною точкою розвитку атеросклерозу. У SEASAM1^{-/-}-мишей спостерігається утворення невеликих атеросклеротичних уражень в аорті на 6-му місяці життя [125]. У цьому процесі можуть брати участь не лише локальні судинні механізми ендотеліальної дисфункції, а й системні зміни у вигляді активації ренін-ангіотензинової системи або периферичної резистентності до інсуліну [125].

Отже, SEASAM1 має вирішальне значення у формуванні та ранньому морфогенезі новоутворених судин як під час васкулогенезу, так і в ангиогенезі. Вплив цих білків нівелюється в зрілих судинах до того часу, поки вони залишаються в спокої. Зміни рівня SEASAM1 в ендотелії під час пухлинного росту та метастазування, запаленні, гіпоксії та атеросклерозі переконливо свідчать про роль SEASAM1 у реконструкції та відновленні ендотеліальної бар'єрної функції.

2.2.4 Участь SEASAM1 у кліренсі інсуліну

SEASAM1, також відомий як pp120/HA4/екто-АТФаза, є субстратом до тирозинкінази IR у печінці, але не в інших інсулін-чутливих тканинах, таких як скелетні м'язи та жирова тканина [162, 163]. Реконбінантний SEASAM1 фосфорилується IR-тирозинкіназою в стабіль-

но трансфектованих клітинах, інкубованих із солюбілізованими IR [162]. На відміну від інших субстратів до IR SEACAM1 не фосфорилується за участі рецепторів інсуліноподібного фактора росту 1 – IGF-1R (*insulin-like growth factor receptor*) при зв'язуванні з інсуліноподібним фактором росту 1 – IGF-1 (*insulin-like growth factor*). Це є індикатором того, що SEACAM1 знижує мітогенну активність саме інсуліну, а не IGF-1 [164].

SEACAM1 зазвичай фосфорилується на збереженому Tyr⁴⁸⁸, що потребує наявності інтактного залишку Ser⁵⁰³ у цитозольному хвості [165]. Крім того, це фосфорилування регулюється Tyr¹³¹⁶ у С-кінцевому домені β-субодиниці IR [164, 166]. Фосфорилування SEACAM1 також регулюється фосфатазами SHP-1 та SHP-2, які зв'язуються з фосфорильованим Tyr⁴⁸⁸ [167, 168]. Зв'язування SEACAM1 із SHP-2 секвеструє його, протидіючи взаємодії з субстратом IR-1 – IRS-1 (*insulin receptor substrate-1*), що призводить до стійкого фосфорилування та продовження сигналу, ініційованого інсуліном, IRS-1/Akt-сигнальним шляхом [125]. Загальна схема залучення SEACAM1 до кліренсу інсуліну і трансдукції інсулінозалежних імпульсів має такий вигляд (рис. 10) [90]: 1) зв'язування інсуліну з IR індукує його аутофосфорилування та фосфорилування нижче від розміщених субстратів, таких як IRS-1 і SEACAM1-L. Фосфорилування SEACAM1-L на Tyr⁴⁸⁸ за наявності інтактного Ser⁵⁰³ опосередковує його непряму асоціацію з IR, що супроводжується підвищенням швидкості ендцитозу комплексу «інсулін – IR» у клатринові ями/везикули гепатоцитів, сприяючи подальшій деградації та кліренсу інсуліну; 2) фосфорильований SEACAM1 може зв'язуватися із SHP-2 для секвестрування фосфатази і потім опосередковувати більш стійке фосфорилування IRS-1/PI3K/AKT-залежного сигнального шляху, що трансдукує метаболічні ефекти інсуліну, такі як інгібування гліюконеогенезу за допомогою

білка Foxo1 [169, 170]; 3) – SEACAM1-L-опосередкована інтерналізація IR через клатринові ями посилює взаємодію тирозинкінази IR із його ендogenous субстратами (IRS-1), підтримуючи стійку IRS-1/PI3K/АКТ-опосередковану сигналізацію до того часу, поки інсулін повністю не буде деградований у клітині.

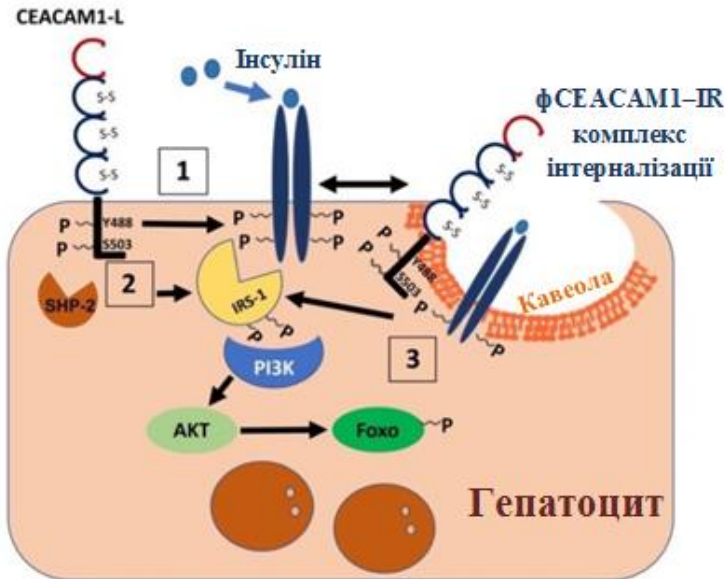


Рисунок 10 – Схема залучення SEACAM1 до кліренсу інсуліну і трансдукції інсулінозалежних імпульсів [90]. Односпрямовані чорні стрілки вказують на фосфорилювання/дефосфорилювання IR-тирозинкіназами, Ser/Thr-кіназами (PI3K/АКТ) та фосфатазою SHP-2. Подвійноспрямовані чорні стрілки позначають непряму взаємодію між фосфорильованим SEACAM1-L та IR для стабілізації ендцитозу комплексу IR та збільшення його поглинання в складі везикули

SEACAM1-L взаємодіє з гомологічними послідовностями амінокислот адаптинів, що приєднують білки в ямах, укритих клатрином [166]. Установлено, що SEACAM1-L асоціюється з високоафінною ізоформою А рецептора ін-

суліну, яка сприяє IR-опосередкованому ендоцитозу інсуліну та його деградації в гепатоцитах [168, 171]. Миші з повною делецією SHP-1 демонструють посилений кліренс інсуліну, що є результатом гіперфосфорилування SEASAM1 та його конститутивної активації [172]. У сукупності це доводить ключову роль SEASAM1 у регулюванні чутливості клітин до інсуліну шляхом модулювання його кліренсу.

2.2.5 SEASAM1 та імунна відповідь

SEASAM1 експресується в Т-, В-, НК-клітинах та дендритних клітинах, а також у гранулоцитах, моноцитах та макрофагах [16, 173–181]. У «наївних» лімфоцитах SEASAM1 експресується на низькому рівні, але зазнає швидкої надрегуляції після клітинної активації. Навпаки, в гранулоцитах SEASAM1 є антигеном диференціації, який контролює гранулоцитопоез і затримує апоптоз нейтрофілів [55, 182]. SEASAM1 зазвичай асоціюється із блокуванням гіперзапальної реакції [182–184].

У регуляції імунних клітин за допомогою SEASAM1 ключову роль відіграють його ліганд-зв'язувальні властивості як мономера та гомо- чи гетеродимеру. Окрім гомофільних взаємодій, SEASAM1 може гетерофільно взаємодіяти з іншими представниками сімейства SEA (SEASAM1, 5, 6 або 8). Відносна щільність експресії *cis* гомо- та гетеродимерів із довгими або короткими цитоплазматичними доменами визначає результат сигналізації за участі SEASAM1 та забезпечує молекулярну основу для складної інтеграції сигналів. SEASAM1-опосередкований вплив на активацію клітин, їх проліферацію та синтез цитокінів контролюється декількома факторами, а саме: загальним рівнем їх експресії та субклітинною локалізацією, просторовою орієнтацією та експресією різних ізоформ SEASAM1 на різних типах імунних клітин, відносним

співвідношенням між основними ізоформами (L та S) SEACAM1, здатністю до різного типу димеризації та ін. [185, 186].

SEACAM1 регулює природне інгібування натуральних кілерів, дозрівання дендритних клітин, виживання гранулоцитів, а також проліферацію та активацію T- і B-лімфоцитів [81]. Крім того, SEACAM1 бере участь у процесах міжклітинної комунікації різних підтипів лейкоцитів один з одним та з SEACAM1-позитивними епітеліальними та ендотеліальними клітинами. SEACAM1-модульовані каскади сигналів часто призводять до зміни функціональної активності імунних клітин [103].

T-лімфоцити. SEACAM1 – єдиний представник сімейства SEA, який експресується на активованих CD4⁺- і CD8⁺-T-лімфоцитах, де він швидко надрегулюється під час стимуляції T-клітинного рецептора (*T-cell receptor – TCR*) [175, 177, 187]. У «наївних» CD4⁺ T-лімфоцитах SEACAM1 експресується на дуже низькому рівні і зберігається внутрішньоклітинно в ендосомальних компартментах [187]. В активованих клітинах SEACAM1 демонструє кінетику перекриття з маркером активації CD69 і передуює експресії цитотоксичного білка 4, асоційованого з T-лімфоцитами (*cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 – CTLA-4*) [187,188]. Це свідчить про те, що інгібіторна форма SEACAM1-L може перешкоджати активації T-клітин ще до початку активації CTLA-4 і бути незалежним регулятором імунних контрольних точок (чекпоінтів).

T-лімфоцити людини зазвичай експресують ITIM-вмісні SEACAM1-L-ізоформи (SEACAM1-3L та SEACAM1-4L), кількість яких значно зростає на клітинній поверхні у відповідь на стимуляцію інтерлейкіну-2 (Interleukin – IL) [55, 175]. SEACAM1-3S- та SEACAM1-4S-ізоформи продукуються значно меншою мірою [55].

Взаємодія CEACAM1 із філаміном А регулює міграцію клітин і є необхідною складовою під час формування ефективного імунологічного синапсу в Т-клітинах [189, 190]. Ці висновки узгоджуються з даними щодо взаємодії CEACAM1 із Т-клітинним імуноглобуліновим доменом і муциновим доменом-3 (*T-cell immunoglobulin domain and mucin domain-3 – TIM-3, також відомий як HAVCR2*). TIM-3 за певних умов має стимулювальний та інгібуючий ефект на Т-клітини, водночас демонструючи можливість участі CEACAM1 в їх коінгібіції та коінгібіції. Спільна локалізація цих білків відбувається завдяки формуванню імунологічного синапсу в Т-лімфоцитах [189, 191, 192]. Однак детальні механізми, коли і як CEACAM1 і TIM-3 модулюють активацію та інгібування Т-клітин, залишаються ще не до кінця з'ясованими.

Антиапоптотичний ефект CEACAM1 був виявлений у CD8⁺-лімфоцитах, запобігаючи їх виснаженню та спричиняючи посилену проліферацію Т-клітин [193]. У CD4⁺-Т-лімфоцитах CEACAM1 збільшує продукцію IL-2 та фосфорилування STAT5, що призводить до підвищення індукції й стабільності Treg і, як наслідок, – до захисту печінки від Т-клітинно-опосередкованого руйнування [175].

На відміну від інгібіторних властивостей CEACAM1-3L (див. нижче) CEACAM1-3S у Т-лімфоцитах призводить до підвищення активності промотору IL-2, сигнального шляху мітоген-активованої протеїнкінази (*mitogen-activated protein kinase – MAPK*) та синтезу цитокінів [194]. Реконституція одних і тих самих клітин обома ізоформами CEACAM1 (CEACAM1-3L та CEACAM1-3S) демонструє пригнічення ефектів CEACAM1-3S (їх модулюючий ефект).

CEACAM1-S протидіє формуванню гомодимерів CEACAM1-L та їх внутрішньоклітинному передаванні сигналів за участі SHP1/SHP2 і c-Src [69]. Ці дані свідчать

про залежність Т-клітинної відповіді від співвідношення CEACAM1-L/S [65]. CEACAM1-4S може активувати Т-клітини також незалежно від CEACAM1-4L [195]. Це відбувається шляхом регулювання NFAT-залежних сигнальних шляхів (зокрема, CD40L). Фенотипічними наслідками надмірної експресії CEACAM1-4S були більші розміри пейєрових бляшок у кишківнику, незначне посилення секреції сироваткового IgA В-лімфоцитами та зміна коменсальної мікрофлори клітин клубової кишки з посиленою функціональною активністю Т-лімфоцитів [196].

Хоча більшість праць свідчить про CEACAM1-опосередковані антиапоптотичні та костимуляторні ефекти у Т- і В-лімфоцитах шляхом залучення TCR/BCR, у деяких дослідженнях виявлено пригнічувальний та протизапальний ефект CEACAM1 [81]. В активованих CD4⁺-Т-лімфоцитах CEACAM1 є інгібіторним корецептором для комплексу TCR/CD3. Фосфорилування CEACAM1-L (ITIM) та подальша асоціація з SHP-1 були ідентифіковані як ініціюючі етапи трансдукції сигналів. Посередництвом SHP1 білки CEACAM1 взаємодіють із комплексом TCR/CD3, що призводить до зменшення сигналів від CD3-zeta, ZAP-70 та IL2-R [107,181].

Експресія CEACAM1-L на поверхні Т-лімфоцитів (внутрішньоепітеліальні лімфоцити тонкого кишківника) опосередковує їх адгезію до інших лімфоцитів або пухлинних клітин, а також їх цитолітичну активність [197].

Анти-CEACAM1 специфічні mAbs ефективно пригнічують функції Т-клітин. Перед активацією ізоформи CEACAM1 зберігаються внутрішньоклітинно, а не-Тур-фосфорильований CEACAM1-L (ТурХХН) у цитоплазматичному домені асоціюється безпосередньо з AP47 [187]. Після активації AP47 дисоціює, а CEACAM1-L фосфорилується за участі кіназ Fyn або Lck Тур [185]. Це провокує його асоціацію безпосередньо з ланцюгом CD3ε [198]. Фо-

сфорилування Туг у цитоплазматичному домені CEACAM1-L змінює свою асоціацію з димеру на мономер, що сприяє зв'язуванню з кальмодуліном. Це призводить до його безпосереднього з'єднання з Туг-фосфатазою SHP-1 (з подальшим її дефосфорилуванням), TCR-асоційованими CD3 ζ і тирозинкіназою ZAP70. Наслідком цього є гальмування найбільш ініціативних мішеней у сигналізації TCR [198, 199]. Фізіологічними наслідками інгібування активації Т-клітин, спричинених CEACAM1-L, є пригнічення сигналізації через сигнальний шлях MAPK та зниження секреції цитокінів (інтерферону- γ , IL-4 та IL-2) [194, 198]. *In vivo* встановлено, що трансгенні миші, які надмірно експресують CEACAM1-L у Т-клітинах порівняно з Т-клітинами в нокаутованих мишей (CEACAM1-негативні), демонструють порушення проліферації, алогенної реактивності, синтезу цитокінів, гіперчутливості уповільненого типу та запальні захворювання кишківника [158].

Усі суперечності щодо участі CEACAM1 у функціонуванні імуніцитів можуть бути нівельовані даними R. Kammerer, який показав одночасно імунологічну гетерогенність CEACAM1 (костимулювальний і коінгібуючий ефекти), обумовлені різними співвідношеннями CEACAM1-L/S, статусом активації або диференціюванням Т-клітин [175]. Установлено, що різні анти-CEACAM1 mAbs можуть як посилювати, так і пригнічувати активацію Т-лімфоцитів у відповідь на взаємодію з Т-клітинними рецепторами [53].

Спрощені схеми участі CEACAM1 у регуляції активації Т-лімфоцитів зображено на рисунках 11 та 12.

В-лімфоцити. Експресія CEACAM1 у В-лімфоцитах також має суперечливі ефекти, виявляючи інгібуючі [184] та активуючі властивості [200]. Це залежить від взаємодій із лігандами до CEACAM1 (подібні до анти-CEACAM1

антитіл), які є стимуляторами або інгібіторами гомофільної адгезії [69].

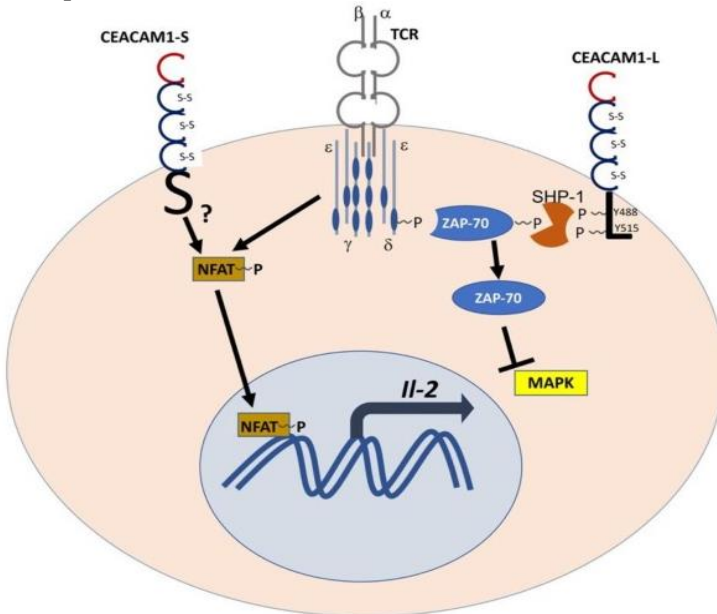


Рисунок 11 – Участь CEACAM1-L та CEACAM1-S в активації Т-лімфоцитів [201]. CEACAM1-L із двома цитоплазматичними моти-вами ITIM фосфорилується кіназами сімейства Src і згодом приєднує SHP-1, який дефосфорилує ZAP-70 і, таким чином, блокує TCR-опосередковану активацію MAPK-залежної сигналізації Т-лімфоцитів

Поглиблене дослідження *in vitro* клітинних ліній лімфоми Беркіта (В-клітинної лімфоми) засвідчило, що CEACAM1-L регулює анти-sIgM-індукований апоптоз, функціонуючи як інгібуючий комодулятор до В-клітинних рецепторів (*B cell receptor* – *BCR*) людини, ймовірно, завдяки залученню SHP-1 та інгібуванню PI3K-Akt-кінази [200]. Не дивним виявився і той факт, що 86 % випадків множинної мієломи (ММ) експресували значну кількість

СЕАСАМ1, що корелювало зі звичайними маркерами цього захворювання: РСА-1, CD38 та CD56 [202].

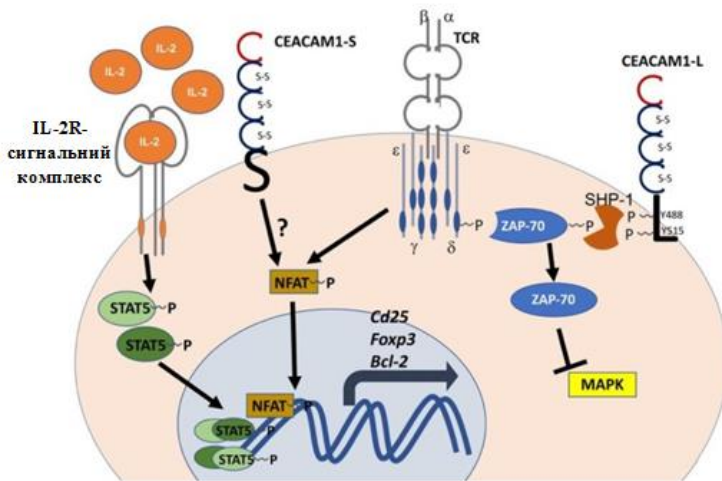


Рисунок 12 – Участь СЕАСАМ1-S в активації Т-лімфоцитів [201].

Синтез IL-2, індукованого СЕАСАМ1-S і TCR, та активація IL-2R-сигнального комплексу індукує фосфорилування STAT5, який транслокується в ядро і діє як фактор транскрипції в гетеродимерному або гетеротетрамерному комплексі. Фосфорильований STAT5 (pSTAT5) контролює транскрипцію ключових функціональних Treg-генів, таких як CD25, Foxp3 та Bcl-2 [203]

На відміну від цих досліджень було встановлено, що певні специфічні mAbs до СЕАСАМ1 або гомофільні взаємодії СЕАСАМ1-СЕАСАМ1 сильно порушували проліферацію В-клітин мишей під час взаємодії BCR [173]. Крім того, СЕАСАМ1 є вирішальним регулятором виживаності В-лімфоцитів, впливаючи як на їх кількість, так і на захисні антивірусні антитільні реакції [183, 189]. СЕАСАМ1 також діє як ко-інгібуючий рецептор до Toll-подібного рецептора 2 (*Toll-like receptor 2 – TLR2*). Фосфорилування тирозину СЕАСАМ1-L (ITIM) та залучення SHP-1 негативно регулюють TLR2-залежну активацію шляху РІЗК та ініціювання запальних реакцій, що залежать від NF-каппа В

[103]. Це супроводжується зниженням утворення і вивільнення прозапальних цитокінів, таких як GM-CSF та IL-8 [204].

Природні кілери. CEACAM1, розміщені на поверхні пухлинних клітин, безпосередньо взаємодіє із CEACAM1 на природних кілерах, НК-клітинах (*Natural killer – NK*) та пухлино-інфільтруючих лімфоцитах (*tumor-infiltrating lymphocytes – TIL*), що призводить до функціонального пригнічення їх активності [92, 176, 205, 206]. Активація CD16-негативних НК клітин, що експресують CEACAM1, протидіє лізису CEACAM1-позитивних пухлинних клітин за їх участі [176, 207]. Важливо зазначити, що на відміну від свіжоізолюваних Т- та В-лімфоцитів, які експресують дуже низькі рівні CEACAM1, свіжо-ізолювані НК-клітини були CEACAM1-негативними [177]. Установлено, що експресія CEACAM1 на НК-клітинах (і Т-лімфоцитах) залежить від стадії їх диференціювання і може бути індукована IL-2, IL-12 та IL-18. Це призводить до зміни функціональних регуляторних механізмів субпопуляцій НК-клітин (рис. 13) [208, 209].

Гомофільна взаємодія між CEACAM1-позитивними НК-клітинами та CEACAM1-позитивними пухлинними клітинами інгібує знешкодження неопластичних клітин за рахунок пригнічення NKG2Ds-опосередкованого цитолізу [176, 210, 211]. Виявлено, що розчинні NKG2D-ліганди, отримані з ракових клітин шляхом альтернативного сплайсингу, можуть погіршити цитотоксичність, опосередковану NKG2D [212]. Взаємодія NKG2D і CEACAM1 призводить до їх молекулярної асоціації з подальшим Src-залежним гальмуванням сигналів, що є критичними в ініціації цитолізу [179]. Пухлинні клітини, які експресують CEACAM1, викликають внутрішньоклітинну затримку різних лігандів NKG2D. На противагу цьому CEACAM1-негативні неопластичні клітини мають більше поверхневих

лігандів NKG2D і виявляють більшу чутливість до цитолізу, опосередкованого НК-клітинами [179, 180]. NKG2D відіграє ключову роль в імунних реакціях, опосередкованих НК-клітинами і Т-лімфоцитами, проти ракових захворювань, інфекцій та аутоімунних процесів, беручи участь у цитолітичній деструкції клітин, які мають ліганди до них [213].

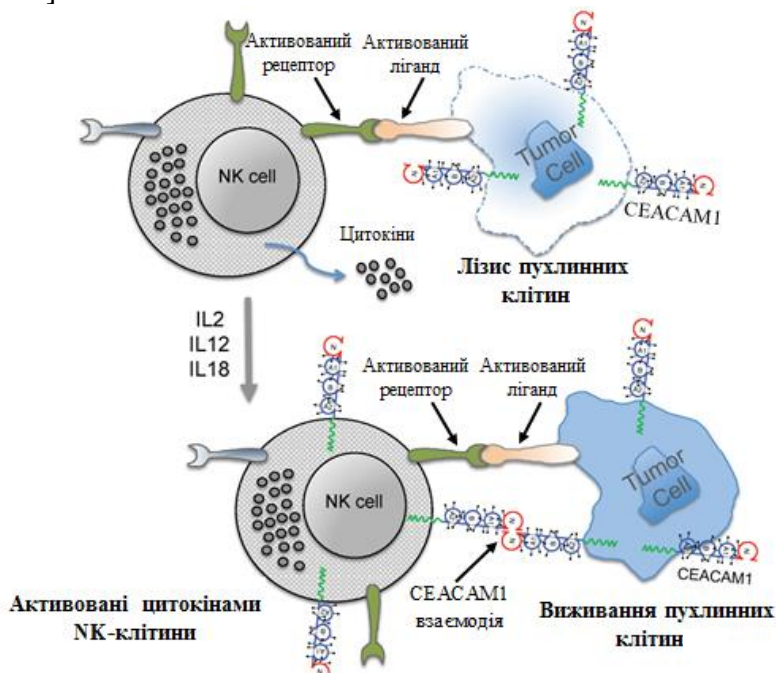


Рисунок 13 – Механізм активації НК-клітин, модульований SEASAM1 [214]. Взаємодія НК-клітин із лігандами на пухлинних клітинах полегшує цитотоксичну активність НК-клітин і лізис неопластичних клітин (верхня панель). SEASAM1-SEASAM1-взаємодія між активованими цитокінами НК-клітинами та пухлинними клітинами інгібує цитолітичний ефект НК-клітин (нижня панель)

SEASAM1-залежне інгібування клітинного цитолізу клітин меланоми відбувається незалежно від розпізнавання головного комплексу гістосумісності I (*major*

histocompatibility complex I – MHC I) [176]. Таким чином, CEACAM1 може бути новим інгібіторним рецептором на активованих НК-клітинах із несприятливими наслідками для антипухлинної імунної відповіді. Крім того, гетерофільні взаємодії CEACAM5 із CEACAM1 також інгібують опосередкований НК-клітинами кілінг ракових клітин [92]. Крім того, CEACAM1-CEACAM1-взаємодія може бути важливим моментом у деяких випадках метастатичного поширення меланом, оскільки їх надекспресія спостерігалася на НК-клітинах від хворих із вторинними вогнищами пухлини порівняно з НК-клітинами здорових донорів [176].

CEACAM1 запобігає аутореактивності НК-клітин у пацієнтів із дефіцитом TAP2 (з низьким рівнем молекул HLA I) та в умовах, що потребують суворого контролю ефektorів імунної системи, наприклад під час вагітності [67, 205]. CEACAM1 також знижує активність MICA/B та ULBP1 на поверхні пухлинних клітин, впливаючи тим самим на їх імуногенність [215].

Необхідно зазначити, що ефекти, реалізовані CEACAM1, залежать від ізоформ цього білка. Більше того, функціональні ефекти, викликані різними варіантами сплайсингу CEACAM1, можуть бути відмінними у різних пухлинах. Z. Chen та ін. показали зниження експресії лігандів NKG2D за участі експресії CEACAM1-3S та -3L у клітинах раку товстої кишки [180]. У клітинах меланоми ізоформи CEACAM1 діють по-іншому. Пацієнти з меланоною, клітини якої експресують CEACAM1-3S, мають надекспресію лігандів NKG2D MICA, ULBP2 та DNAM-1-ліганду CD155 на поверхні клітин, тим самим маркуючи їх для НК-опосередкованого цитолізу [210]. Натомість CEACAM1-4L діє в антагоністичному режимі – його експресія на поверхні клітин меланоми зменшує експресію

MICA, ULBP2, CD155 та CD112 через MMP, що призводить до ухиляння клітин від НК-клітинного кілінгу [210].

Гранулоцити. SEASAM1 давно відомий як активаційно-індукований антиген на нейтрофілах, надекспресія якого стимулюється хемотаксичним пептидом FMLP, кальцієм-іонофором A23187, TPA та ретиноевою кислотою [181, 216]. Вони швидко фосфорилуються після стимуляції нейтрофілів спорідненими кіназами, такими як pp60c-Src, Lyn та Hck [217]. SEASAM1 також є коінгібіторною рецепторною молекулою для рецепторів колоніє-стимулювальних факторів гранулоцитів (*granulocyte colony-stimulating factor receptor – G-CSFR*), регулюючи гранулоцитопоез шляхом фосфорилування ITIM та взаємодії з SHP-1, що призводить до деактивації STAT3 [182]. SEASAM1^{-/-}-миші були дуже чутливими до інфекцій (*L. monocytogenes*) через більш високий рівень IL-1 β та посилену активність STAT3 [182]. Однією з основних функцій SEASAM1-L на поверхні гранулоцитів є підвищення їх виживаності [218] – додавання різних анти-SEASAM1 mAbs або навіть розчинних SEASAM1 спричиняє затримку спонтанного або Fas-індукованого апоптозу, що вимагає активації Erk1/2 та каспази-3. Подібні дані в моноцитах показали, що виживаність у цьому типі клітин в основному опосередковується через PI3K- та AKT-залежні сигнали, але не через Erk1/2-залежні сигнали росту [174].

Дендритні клітини. Мишачі дендритні клітини (ДК), що експресують основні ізоформи SEASAM1, секретують різні хемокіни, такі як макрофагальний запальний білок 1 α та 2 і моноцитарний хемоатрактант 1, які провокують міграцію гранулоцитів, моноцитів, Т-клітин і незрілих ДК. Також індукується ряд костимулювальних молекул, що доводить участь SEASAM1 у регуляції дозрівання та активації ДК з подальшою поляризацією CD4⁺-Т-лімфоцитів [178]. Крім того, дозрівання ДК залежить від SEASAM1

епітопів Льюїса, наявних на нейтрофілах, які зв'язуються із CD209-рецепторами на поверхні ДК [219, 220]. Клітини KPP, що містять глікани Льюїса, зв'язуються з ДК, впливаючи, таким чином, на їх функції та диференціювання. Це може призвести до порушення протипухлинних реакцій організму [220].

Підсумовуючи вищезазначене, можна стверджувати, що експресія CEACAM1 в імунних клітинах має вирішальне значення для розвитку та прогресування різних типів раку за рахунок посилення або інгібування протипухлинної імунної відповіді.

2.2.6 Участь CEACAM1 у регуляції проліферації клітин

Спокійні (непроліферувальні) клітини зазвичай мають апікальну експресію CEACAM1 на мембрані клітин з її поширенням по всій поверхні при деполаризації клітин та посиленні їх проліферативної активності. Зменшення співвідношення CEACAM1-L/S призводить до пригнічення контактного інгібування поділу клітин і посилення їх проліферативної активності [71].

Пригнічення пухлинної активності за участі CEACAM1 можна частково пояснити тим, що в CEACAM1-дефіцитних тварин знижена експресія інгібіторів клітинного циклу (Cdk-інгібітори p21Cip1 і p27Kip1) у тканинах товстої кишки. Крім того, виявлено зниження швидкості апоптозу в клітинах товстої кишки в CEACAM1^{-/-}-мишей. Це свідчить про те, що CEACAM1 діє *in vivo* як супресор клітинної проліферації та промотор апоптозу [221].

Крім того, саме залишок Ser⁵⁰³ молекули CEACAM1-L має вирішальне значення для пригнічення поділу клітин [51]. Виключно CEACAM1-L, але не CEACAM1-S негати-

вно регулює проліферативну активність клітин через свій домен ITIM [81].

Важливо, що міжклітинна адгезія, опосередкована N-доменом, впливає на проліферацію шляхом контактного інгібування епітеліальних клітин, які постійно зазнають впливу факторів росту [222]. Цей ефект опосередковується через кіназний шлях MAPK Erk1/2, експресію циклін-залежного інгібітора кінази p27 Kip1 та активацію SHP-2 у цитоплазматичному домені CEACAM1-L [51, 222]. Порушення сигналізації CEACAM1-L під впливом CEACAM1-4S, CEACAM6 або 5 призводить до недиференційованого росту клітин і злоякісної їх трансформації [52].

Фосфорилування CEACAM1, супроводжуване активацією SHP-1/SHP-2 та тирозинкіназ сімейства Src, посилює проліферативну активність клітин. Натомість CEACAM1-опосередкована активація внутрішньоклітинних тирозинфосфатаз підтримує контактне інгібування поділу клітин [52, 164, 217]. Висловлюють припущення, що активація чи то кіназ, чи то фосфатаз залежить від статусу димеризації CEACAM1 – мономери CEACAM1-L активують фосфатази, тим самим пригнічуючи проліферацію клітин, димери CEACAM1-L – кінази, активуючи поділ клітин [71]. Статус димеризації залежить від рівня CEACAM1, його співвідношення 1-L/S, а також міжклітинної взаємодії посередництвом CEACAM1 [34]. Саме тому CEACAM1 у слабоконфлюентних клітинах, які характеризуються незначною кількістю міжклітинних контактів, переважно активує тирозинкінази та дозволяє проліферацію клітин, тоді як CEACAM1 у висококонфлюентних клітинах зі значною кількістю інтерцелюлярних контактів більшою мірою активує тирозинфосфатази та інгібує проліферацію клітин [71].

Іншим варіантом участі CEACAM1 у поділі клітин є його спільне функціонування з білком p53 в разі ушко-

дження ДНК, результатом цього є блокування проліферації клітин за запуску механізмів їх старіння [223].

IR-сигналізація має вирішальне значення в регуляції поділу клітин, активуючи низку ферментативних реакцій (субстратами до IR є також PI3K та AKT) [224]. Під дією тирозинкінази інсулінових рецепторів, що активуються через IR інсуліном, Tyr⁴⁸⁸ у структурі CEACAM1-L стає фосфорильованим. Це супроводжується активацією та посиленням взаємодії цитоплазматичних «хвостів» CEACAM1-L із SH2-доменами Shc із подальшим секвеструванням комплексів Grb2/SOS і Grb2/Gab від IR та пригніченням MAPK- та PI3K/AKT-залежних сигнальних шляхів, що регулюють ріст та проліферацію клітин (рис. 14) [225].

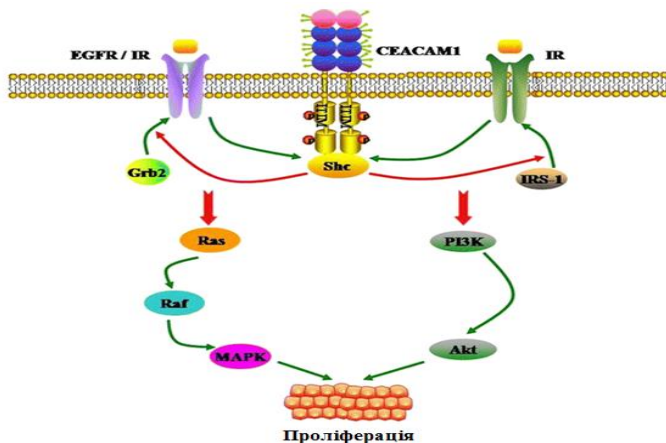


Рисунок 14 – Регуляція проліферації клітин через IR та EGFR [70]. IR та EGFR є рецепторними тирозинкіназами. CEACAM1 – це субстрат двох цих рецепторів, що фосфорильовують Tyr⁴⁸⁸ у його цитоплазматичному домені. CEACAM1 секвеструє Grb2 від IR/EGFR шляхом зв'язування з Shc і тим самим пригнічує Ras/MAPK-опосередковану проліферацію клітин та їх виживаність. Крім того, зв'язування CEACAM1 із Shc підвищує його здатність конкурувати з IRS-1 за фосфорильовання за участі IR, що призводить до зниження зв'язування IRS-1 до фосфоїнозитиду PI3K та деактивації шляху PI3K/Akt, який посилює поділ клітин

EGFR-опосередкована сигналізація забезпечує ще один напрямок участі CEACAM1-L у проліферативній активності клітин та їх метаболізмі. Стимуляція EGF у клітинах раку товстої кишки (HT29) та РМЗ (MDA-MB468) індукує фосфорилування Tug⁴⁸⁸ CEACAM1-L. CEACAM1-залежний ефект на EGF-опосередковану проліферативну активність клітин реалізується за рахунок зв'язування та секвестрування Shc, від'єднання сигналів від EGFR до Ras/MAPK-трансдукції стимулів [139]. Це супроводжується вираженою затримкою росту клітин. Натомість CEACAM1-негативні клітини демонструють посилену активацію мітогенезу, спричиненого активацією EGFR (рис. 14) [139].

Вимушена експресія CEACAM1 може призвести до зупинення клітинного циклу в G₀/G₁-фазах за допомогою циклінозалежних інгібіторів кіназ, надрегуляції p21 або зменшення фосфорилування Rb [226].

Зниження експресії CEACAM1 на ранніх стадіях при багатьох злоякісних пухлинах може бути пов'язане з посиленням активності FAS, який є метаболічним онкогеном, що посилює ріст пухлини та виживаність неопластичних клітин [227].

У тканині РМЗ виявлено пряму асоціацію між CEACAM1 та пухлинними супресорами клітинного циклу Rb, Rb2 і p27 [228], які можуть бути фосфорильованими та активованими SH2-вмісними кіназами за надекспресії CEACAM1 [229, 230]. Установлено зв'язок між транслокацією CEACAM1 у пухлинних клітинах РМЗ та експресією інгібіторів диференціювання 1 (*inhibitor of differentiation 1* – *Id-1*), що мають модулюючий вплив на прогресування злоякісних пухлин та проліферативну активність клітин [231–233].

Дерегуляція CEACAM1 у клітинах КРР супроводжується мутаціями (дефектами) APC генів (*denomatous*

polyposis coli) [234, 235] та внутрішньоклітинним (у цитоплазмі) накопиченням β -катеніну [234]. Результатом цього є транслокація β -катеніну в ядро і сприяння підвищенню проліферативної активності клітин та блокуванню апоптозу, регулюючи транскрипцію генів *c-myc* та циклін D1 [147, 148, 236, 237].

Під час регенерації печінки в щурів спостерігаються дерегуляція експресії SEASAM1 при вираженій проліферативній активності гепатоцитів та відновлення їх рівня в разі завершення регенерації [85, 87, 88].

Установлена участь SEASAM1 у проліферативній активності імуніцитів – посилення поділу T-лімфоцитів у разі гіперекспресії цих білків [193].

Під час ІГХ-дослідження виявлено, що неопластична тканина з надекспресією SEASAM1 має нижчу інтенсивність поділу клітин у печінці [59, 62, 63], товстій кишці [147, 221], щитоподібній залозі [226], легенях [52] та інших органах.

Незважаючи на вищезазначене, в ряді досліджень не виявлено впливу SEASAM1 на інтенсивність поділу клітин. Так, проліферативний потенціал злоякісних новоутворень печінки [238], молочної залози [228, 239–241], простати [242], підшлункової залози [243], кишківника [234] та інших органів не залежав від рівня експресії SEASAM1 та його ізоформ.

2.2.7 Регуляція апоптозу за участі SEASAM1

Вплив SEASAM1 на апоптоз залежить від типу клітин і регуляторних механізмів. Було виявлено, що наявність та відсутність експресії SEASAM1 у гіперпластичних пухлинах товстої кишки корелює з нормальним або зменшеним апоптозом клітин відповідно [234]. Апоптоз може бути штучно відновлений за допомогою індукції експресії SEASAM1 у ракових клітинах людини. SEASAM1 спри-

чиняє затримку спонтанного та Fas-індукованого апоптозу в гранулоцитах щурів [218] і нормальних активованих кератиноцитах людини [244]. Фосфорилування тирозину SEACAM1-L, його асоціація із SHP-1 або вторинна активація сигнального шляху MAPK залучені до цих антиапоптотичних SEACAM1-опосередкованих механізмів.

SEACAM1 також інгібує мітохондріальний шлях апоптозу в моноцитах, опосередкований через сигнальний шлях PI3K/Akt [174]. Надекспресія SEACAM1 призводить до повторного розподілу β -катеніну по цитоскелету актину в Т-лімфоцитах, інгібування фосфорилування тирозину β -катеніном та його деградації після стимуляції Fas, а також зменшення Fas-опосередкованого апоптозу [245].

Незважаючи на це, SEACAM1 сприяє апоптозу В-лімфоцитів, про що свідчить пригнічення IgM- та PI3K-залежних шляхів активації апоптозу за відсутності SEACAM1 [200]. Виявлено вплив цих білків на виживаність і моноцитів у людини [174].

Повідомлялося, що довга ізоформа SEACAM1 є субстратом для каспази-3 в апоптотичних мишачих епітеліальних клітинах кишківника, що свідчить про потенційну роль SEACAM1 в апоптозі [246].

SEACAM1 може впливати на апоптоз епітеліальних клітин. Він індукує апоптоз зрілих колоноцитів [234] та епітеліальних клітин молочної залози [111], що є частиною морфогенетичного процесу утворення просвіту їх залоз. Блокування SEACAM1 гальмує утворення просвіту в клітинній культурі молочної залози людини [110]. SEACAM1-залежна індукція апоптозу також пов'язана з активацією кальпаїну-9 та розщепленням РКС- δ [247].

Серед двох ізоформ SEACAM1 лише надекспресія SEACAM1-L сприяє пригніченню апоптозу в клітинній лінії гепатоцелюлярного раку (ГЦР) HLF та PLC/PRF/5

[238]. Отже, важливим моментом є не лише наявність SEACAM1 у клітинах, а й співвідношення SEACAM1-L/S.

2.2.8 SEACAM1 та геном

Ампліфікація генів є найважливішим механізмом мутагенезу, яка разом із порушеннями механізмів контролю, структурними альтераціями, транслокаціями хромосом та активацією онкогенів ініціює пухлинний процес та супроводжує його прогресування [248, 249]. При деяких злоякісних пухлинах виявлено ампліфікацію генів у тих локусах хромосом, у яких закодовані різні представники SEACAM – ампліфікація ділянки 19q13.2–13.32 (охоплює 3,25 МВ) при ГЦР, 19q13 – при фолікулярній лімфомі, 19q13 – при мантийно-клітинній лімфомі, 19q13.1 – при дрібноклітинному раку легень, 19qcen-q13.3 – при НДКРЛ, 19q13.1-qter – при РМЗ, 19q13.2 – при хондросаркомі [250]. Делеція в деяких цих локусах іноді спостерігається при пухлинах товстої кишки [251]. Отже, дослідження ділянок хромосомних ампліконів може мати прогностичну і терапевтичну цінність в онкології.

Дуже обмежені дані про роль SEACAM1 у підтриманні стабільності геному, за винятком його участі в старінні клітин та асоціації з білком РDIP38. Пухлино-супресивний вплив SEACAM1 на геномному рівні також недостатньо описаний. Однак клітини епітелію молочної залози людини зі стійкими мутаціями білка атаксії телеангієктазії (супроводжується зниженням їх функцій) та клітини з індукованими дволанцюжковими розривами ДНК мають виражену експресію SEACAM1 [223]. Активація SEACAM1 є необхідною умовою для старіння клітин, що опосередковується білком р53 у відповідь на пошкодження ДНК. З іншого боку, мутація білка р53 не супроводжується надекспресією SEACAM1 у пухлинних кератоцитах та клітинах РМЗ людини [252, 253]. Іноді навіть спостерігається їх

зниження за наявності мутантного білка p53 у неопластичних клітинах РМЗ [254, 255]. P53-опосередкована індукція синтезу SEACAM1 є необхідною умовою блокування проліферації клітин [223].

Іншою знахідкою є асоціація SEACAM1-L та SEACAM1-S із білком PDIP38 [256]. Цей білок може бути трансфером між цитоплазмою та ядром, де він взаємодіє з ядерним антигеном проліферувальних клітин (*proliferating cell nuclear antigen – PCNA*). Це може бути індикатором участі PDIP38 у модифікаціях ДНК та проліферації клітин. Втрата білком PDIP38 своїх функцій спричиняє зриви в організації веретена поділу з аберантною сегрегацією хромосом і генерацією багатоядерних клітин. У разі проліферації клітин NBT-II пертурбація SEACAM1 специфічними антитілами призводить до тісної асоціації PDIP38 із SEACAM1 та розміщення цього комплексу біля клітинної мембрани. Натомість у спокійних (непроліферувальних) клітинах те саме оброблення mAbs провокує переміщення PDIP38 до ядра, що свідчить про участь SEACAM1 у регуляції функціонування цього білка і, як наслідок, вплив на модифікацію ДНК [54].

Було висловлено припущення, що мутації в генах, які кодують SEACAM1, можуть сприяти синтезу аномальних його аналогів із порушенням їх дистрибуції в пухлинних клітинах. За цих обставин вони можуть симулювати свою наявність у клітинах, або проявляючи функціональну інертність, або сприяючи прогресуванню новоутворень [223].

Клітини KPP у 3,3 % випадків характеризуються одонуклеотидними замінами (місенс-мутаціями) в генах SEACAM1. У 75 % цих мутацій виявлено заміну нуклеотидів у ДНК, що відповідає за будову позаклітинного домену (заміна С на Т у 36-му (СТС → ТТС), 312-му (АСА → АТА) та 445-му (GCA → GTA) кодонах), та у 25 % – за будову трансмембранного домену (заміна G на A

у 398-му (GTC → FTC) кодоні). При цьому відсутність експресії CEACAM1 виявлено лише при ураженні 445-го домену. Жодного клінічного впливу ці мутації не мали на пухлини та їх морфологічні характеристики [47].

2.2.9 Участь CEACAM1 в адгезії, міграції, інвазії та метастазуванні клітин

Описано п'ять основних груп молекул клітинної адгезії: суперсімейство імуноглобуліну (CEACAM), інтегрини, селектини, CD44 та кадгерини [257].

Дослідження, проведені *in vitro* з використанням пухлинних клітинних ліній, переконливо засвідчили, що деякі представники сімейства CEACAM (CEACAM1, 5 та 6) можуть діяти як молекули гомофільної та гетерофільної клітинної адгезії під час їх експресії на поверхні пухлинних клітин [108]. Також отримана міжклітинна адгезія в клітинах, що містять гомолог CEACAM1 щурів (C-CAM). Установлено, що саме варіабельний N-домен безпосередньо бере участь у цьому процесі [258]. Необхідно зазначити, що наявність або відсутність довгого чи короткого цитоплазматичного домену в C-CAM та наявність ITAM/ITIM не впливали на цю властивість [259].

Незважаючи на це, відомості про адгезивні властивості молекул CEACAM мають певні розбіжності. Згідно результатами S. Hammarstrom у тканині KPP CEACAM1, 5 та 6 експресуються на апікальній поверхні пухлинних клітин, що обмежують просвіт пухлинних залоз. Водночас вони не виявлені в ділянках клітинних мембран між сусідніми пухлинними клітинами, що щільно прилягають. Ця тенденція зберігається в клітинних лініях *in vitro* (HT-29) під час формування внутрішньоклітинних просвітів. Тому було зроблено припущення, що у фізіологічних умовах SEA, NSA або BGP (CEACAM5, 6 та 1 відповідно) не беруть участі в міжклітинній адгезії, враховуючи їх апікальну локалізацію

на поляризованих клітинах [27]. Хоча існують деякі винятки – в шурів С-СМ виявлено в міжклітинних контактах багатошарового плоского епітелію [260]. На сьогодні відсутні докази участі молекул СЕАСМ у міжклітинній адгезії гранулоцитів.

Установлено, що інтегрини та кадгерини опосередковують високу афінну адгезію клітин, відіграючи роль «клею» між клітинами, а також клітинами і ПКМ. Натомість СЕАСМ мають значно менший адгезивний афінитет у міжклітинній взаємодії, опосередковуючи більшою мірою дотик між клітинами і трансдукцію сигналів, а не «клеякі» властивості [214].

СЕАСМ1, 5 та 6 можуть функціонально взаємодіяти з інтегрином $\beta 3$, утворюючи спільні корецепторні комплекси [261–263]. Спільне функціонування молекул СЕАСМ та інтегринів відображається на функціонуванні клітин – їх адгезивних властивостях та виживаності, за відсутності приєднання до ПКМ [263, 264]. Однак на сьогодні бракує біохімічних доказів тісної фізичної взаємодії між молекулами СЕАСМ та інтегринами. Крім того, представники СЕАСМ локалізуються в основному на апікальній поверхні поляризованих клітин, тоді як інтегрини кластеруються в місцях адгезії базальної клітини до ПКМ [104].

Було показано, що, регулюючи експресію N-кадгерину, СЕАСМ1 інгібує клітинно-матричну адгезію, сприяючи тим самим міграції клітин [265].

У гепатоцитах СЕАСМ1-L опосередковує пряму гомофільну клітинну адгезію клітин, тоді як СЕАСМ1-S відповідає за тонку регуляцію адгезійних властивостей L-форми [266]. Крім того, локалізація СЕАСМ1 у контактах між епітеліальними клітинами супроводжується наявністю довгого цитоплазматичного хвоста, тоді як на апікальній поверхні розміщені СЕАСМ1 із короткими цитоплазматичними хвостами [83, 84].

SEACAM1 бере участь в епітеліально-мезенхімальній трансформації, важливому етапі інвазивного росту та метастазуванні пухлинних клітин шляхом Wnt-залежної специфічної регуляції β -катеніну [267]. Дані індивідуального впливу ізоформ SEACAM1 на функціональну поведінку клітин меланоми, отримані під час аналізу 3D-колоній, довели участь SEACAM1-4L у сприянні колонієутворенню. Навпаки, експресія індукованого SEACAM1-4S призводила до «затухання» колоній [268].

Ураховуючи участь HB-EGF та EGFR у формуванні інвадоподій (випинання клітинної мембрани) під час гіпоксії, ймовірно, що SEACAM1-L, взаємодіючи з EGFR, може брати участь в інвазії та метастазуванні пухлин [269].

SEACAM1-L сприяє набуттю клітинами мігруючих властивостей (здатності до поширення) шляхом прямого зв'язку з цитоскелетними структурами. Мігруючі клітини потребують дуже пластичної деконфігурації, яка зазвичай модулюється контактом з актиновим цитоскелетом. SEACAM1-L і SEACAM1-S безпосередньо асоційовані з актином та тропоміозином. Туг-фосфорильований SEACAM1-L, зв'язаний з актином, виявляється в міжклітинних контактах. Обидві ізоформи SEACAM1 зв'язуються безпосередньо з глобулярним G-актином та тропоміозином, тоді як SEACAM1-S зв'язується переважно з фібрилярним F-актином [73, 270, 271]. Активовані малі Rho-подібні GTPази сприяють адгезивному механізму клітин та локалізації SEACAM1 на поверхні клітин [270]. Білок паксилін також виявляється в імунокомплексах із Туг-фосфорильованим SEACAM1-L на плазматичних мембранах епітеліальних і ендотеліальних клітин, гранулоцитах та в клітинах HT29 КРР людини [272].

SEACAM1-L може зв'язуватися з філаміном А. Як філамін А, так і SEACAM1-L є білками, що сприяють міграції клітин. Однак у разі тісного контакту вони різко змен-

шують міграцію клітин меланоми і запобігають взаємодії філаміну А з іншою невеликою Ras-подібною GTPазою, RalA [190]. Використовуючи ендотеліальні клітини головного мозку щурів, з'ясувалося, що їх зв'язування з матригелем або ламініном-1 є фазою активації ангиогенезу. Клітини, що експресують SEACAM1-L, мають протрузії та ламелоподії, зменшують утворення стресових волокон та локальне фосфорилування, а також протидіють адгезії, що виявляється підвищеною рухливістю клітин [177]. Після зв'язування з ламініном-1 SEACAM1-L асоціюється з таліном, основним регулятором інтегрину. Фосфорильований цитоплазматичний домен SEACAM1-L безпосередньо зв'язується з інтегрином $\beta 3$ гранулоцитів, клітин KPP (HT29) людини та меланомами [261]. Експресія SEACAM1-L у клітинах меланоми посилює їх міграційну та інвазивну спроможність, яку можна блокувати за допомогою анти-SEACAM1 mAbs [273]. У матці та плаценті SEACAM1-L та інтегрин $\beta 3$ взаємодіють з остеопонтином ПКМ, який, як відомо, опосередковує клітинну міграцію та інвазію [274]. SEACAM1-L та остеопонтин були сильно виражені в тканині раку ендометрія в ділянках інвазії пухлин.

Експресія SEACAM1 корелює з метастатичною поведінкою клітин раку щитоподібної залози. Блокування рецепторів виявляється зменшенням прогресування клітинного циклу, експресії p21, посиленням фосфорилування Rb та адгезії, блокуванням міграції та інвазії клітин тиреоїдного раку [226].

Подібні дані були одержані при KPP [275]. Інтенсивність експресії SEACAM1 є більш вираженою на межі з оточуючими тканинами (в інвазивному фронті пухлини) при злоякісних пухлинах товстої кишки [276]. Надекспресія SEACAM1-L може бути незалежним фактором ризику метастазування пухлин у лімфатичні вузли, гематогенного

поширення новоутворень та виживаності пацієнтів, а також важливим обмежувальним фактором інвазії та міграції ракових клітин.

СЕАСАМ1 сприяє інвазії та міграції в клітинній культурі раку шийки матки і меланоми людини [273, 277]. Він відіграє важливу роль у розвитку «метастатичного середовища», оскільки ракові клітини метастазують набагато слабше в СЕАСАМ1-негативному середовищі [131]. Це може бути пов'язано зі зменшенням рекрутингу клітин кісткового мозку, якісним складом імунного інфільтрату, синтезом хемокинів або наявністю $Tu\gamma^{488}$ у структурі СЕАСАМ1-L.

2.3 Розчинний СЕАСАМ1

Окрім мембранозв'язаних ізоформ, існує щонайменше три (СЕАСАМ1-4С1, СЕАСАМ1-3, СЕАСАМ1-3С2) секреторні ізоформи СЕАСАМ1 (sСЕАСАМ1) (рис. 3). У нормі їх кількість у сироватці крові коливається від 41,6 нг/мл до 70,8 нг/мл (у середньому 48,5 нг/мл) [76].

Необхідно зазначити, що вони секретуються виключно СЕАСАМ1-позитивними клітинами, хоча *in vitro* встановлено, що їх кількість не залежить від інтенсивності експресії на поверхні клітин [211]. Крім того, не всі СЕАСАМ1-позитивні клітини здатні синтезувати sСЕАСАМ1 – СЕАСАМ1-позитивні лімфоцити не секретують їх. Утворення sСЕАСАМ1 залежить від активного синтезу білка та неушкодженості внутрішньоклітинного везикулярного транспорту. Воно не пов'язане з розщепленням білка та співвідношенням СЕАСАМ1-L/S [77].

Більшість із них утворюються шляхом альтернативного сплайсингу первинного транскрипту СЕАСАМ1. Наприклад, приєднання екзона 3, що відповідає за домен В1, до екзона 5, що кодує трансмембранний домен, призводить

до утворення стоп-кодона, таким чином, утворюючи sCEACAM1 у кишківнику [196].

Під час вагітності рівень CEACAM1 у крові знижується і становить у середньому 5,8 нг/мл (від 1,4 нг/мл до 36,16 нг/мл). Водночас найвищий його рівень виявлено в 3-му триместрі вагітності (в середньому 7,28 нг/мл), а найнижчий – у 2-му триместрі (в середньому 4,16 нг/мл). У післяпологовому періоді їх рівень незначно знижується (в середньому 5,81 нг/мл), хоча й залишається вищим за його рівні у 1-му та 2-му триместрах [76]. Ці особливості коливання sCEACAM1 у крові пов'язані з розвитком імунологічної толерантності в організмі жінок стосовно ембріонів та плодів, оскільки, як відомо, CEACAM1 має виражений вплив на імунну відповідь.

Ці секреторні білки вагою 115 кДа, виявлені як у разі онкологічних захворювань (меланоми, пухлин підшлункової залози та сечового міхура) [77–79], так і в біологічних рідинах (сироватці крові, жовчі, слині, спермі та грудному молоці) здорових осіб [74, 75, 278]. Їх кількість значно зростає при механічній жовтяниці [75].

Функції sCEACAM1 залишаються не до кінця з'ясованими. Установлено, що вони можуть інгібувати міжклітинну гомофільну адгезію [74] і брати участь у формуванні просвітів залоз та проток у молочній і передміхуровій залозах [109, 110]. Щодо молочної залози, то висловлюється припущення про її участь в адгезії ліпидовмісних везикул, які є CEACAM1-позитивними, до ентероцитів дітей, які перебувають на грудному вигодовуванні [278].

У хворих на меланому рівень sCEACAM1 у сироватці крові значно більший щодо нормальних показників – його зростання є негативним критерієм перебігу захворювання та виживаності пацієнтів [77]. Подібні дані одержані при захворюваннях підшлункової залози. Збільшення sCEACAM1 у сироватці крові може бути маркером адено-

карциноми підшлункової залози, панкреатичної інтраепітеліальної неоплазії 3 (*Pancreatic intraepithelial neoplasia – PanIN*) та хронічного панкреатиту [78, 243, 279, 280]. Висловлюють припущення про їх більш високу чутливість та специфічність, порівнюючи із СА19-9, СА242 і СЕА [78, 299]. Нижчі рівні sCEACAM1 супроводжувалися довшою виживаністю пацієнтів із пухлинами підшлункової залози [243]. Крім того, підвищення sCEACAM1 у сечі спостерігається в пацієнтів з уротеліальними карциномами сечового міхура, іноді є індикатором їх інвазії у м'язовий шар [79]. Виявлене стрімке зростання кількості sCEACAM1 у плазмі крові при НДКРЛ [281] та РМЗ [240].

Значне підвищення sCEACAM1 спостерігається у разі хронічних запальних, дегенеративних та онкологічних захворювань печінки (хронічний гепатит, алкогольний цироз, первинний біліарний цироз) [90, 282]. При холестазі їх рівень у п'ятдесят разів перевищує показники здорових осіб і сильно корелює з одночасним підвищенням рівня гамма-глутамілтрансферазою. При первинному біліарному цирозі рівень CEACAM1 у крові корелює з показниками лужної фосфатази [282]. На відміну від CEACAM5, що переважно наявний у сироватці крові хворих на холангіому та холангіокарциноми, CEACAM1 можна виявити в усіх зразках жовчі незалежно від наявності чи відсутності злоякісного процесу [283].

Необхідно зазначити, що варіабельність рівня sCEACAM1 у крові часто не залежить від особливостей їх експресії в неопластичних тканинах [243].

Отже, CEACAM1 бере участь у регулюванні значної кількості функцій клітин та прогресуванні злоякісних пухлин шляхом взаємодії з низкою внутрішньоклітинних посередників:

SHP1/2 [26]	Кальмодулін [198, 199]
Scr [68]	Тропоміозин [73]
PI3K [43]	Актин [73]
CD105 [95]	Анексин II [72]
VEGF [113, 118]	PDIP38 [54, 256]
Bv8 [129]	p21 [226]
VEGF-A,-C,-D [118, 134]	Rb/Rb2 [228]
Ангіопоетин 1 [118]	p27 [228]
TNF- α [144]	Id [231]
NF κ B [145]	Кальпаїн-9 [247]
NO [91]	p53 [223, 254]
β -катенін [234]	Е-кадгерин [241]
NADPH [125]	N-кадгерин [241]
NOS3 [125]	Інтегрин β 3 [261, 262]
VCAM1 [125]	Остеопонтин [274, 36, 284]
VE-кадгерин [105]	ФАК [273]
MMP2 [241]	Плаксилін [272]
MMP9 [161]	Вах [111]
IRS-1 [125]	TIMP2 [241]
Філамін А [189, 190]	Notch 1 [285]
CD40L [196]	SMAD3 [238]
Kip1 [51, 222]	MITF [286, 287]

Потрібно наголосити, що навіть це не весь перелік білків, з якими взаємодіють CEACAM1.

2.4 Використання CEACAM1 в імунотерапії та діагностиці

Дослідження *in vitro* та *in vivo* на ксенотрансплантатах меланоми засвідчують, що анти-CEACAM1 (мишачі IgG1-моноклональні антитіла проти людини) mAbs, таргетні до позаклітинного домену CEACAM1, блокують N-домени CEACAM1 у неопластичних клітинах, полегшуючи елімінацію меланомних клітин Т-лімфоцитами та не впливаючи на швидкість їх проліферації. Терапія антиті-

лами MRG1 не впливає на нормальні епітеліальні клітини, що експресують CEACAM1 та не призводить до ініціювання автоімунних реакцій за рахунок активованих Т-лімфоцитів [48]. Вважається, що цілеспрямоване блокування рецепторів CEACAM1 із використанням адаптованих транспортерів може покращити лікування CEACAM1-позитивних пухлин [206]. Нові специфічні mAbs при імунотерапії меланоми, що базуються на функціональному блокуванні CEACAM1, навіть тепер є доступними [288, 289]. Випробування першої фази (NCT02346955) триває у двох медичних центрах США та одному центрі Ізраїлю [290]. За рахунок пригнічення CEACAM1-рецепторів очікується активація НК-клітин і Т-лімфоцитів із посиленням їх протипухлинного ефекту.

CEACAM1 має спільні механізми сигналізації за участі CTLA-4 та рецепторів запрограмованої загибелі клітин 1 (*programmed death 1 – PD-1*), виявляючи інгібіторні ко-рецепторні властивості стосовно до Т-лімфоцитів [291,292]. Зважаючи на те, що CEACAM1 інгібує проліферацію й цитотоксичну активність Т- та НК-клітин, а також ураховуючи імуносупресивний ефект експресії CEACAM1 на клітини меланоми, дуже актуальним напрямом сучасної імунотерапії є використання високоафінних антитіл до N-домену CEACAM1 (MRG1). Це робить пухлинні клітини більш уразливими до імунних атак Т-клітинами, посилюючи протипухлинний кілінг інших ефекторних лімфоцитів [288].

Окрім меланоми, інші пухлини, що експресують CEACAM1 (KPP), також можуть бути мішенню до анти-CEACAM1-специфічної терапії, посилюючи антитілозалежну клітинно-опосередковану та комплемент-залежну цитотоксичність [293]. Миші, в яких змодельовано CEACAM1-позитивний KPP із метастазами в легені, були більш чутливими до анти-CEACAM1-терапії mAbs (WL5),

ніж до лікування адриаміцином. У них не виявлено метастазів порівняно з тими, яким вводили хіміотерапевтичний препарат [293]. Інше анти-СЕАСАМ5 антитіло (СС4) взаємодіє між СЕАСАМ5 на поверхні епітеліальних клітин КРР та НК-специфічними СЕАСАМ1, посилюючи тим самим цитотоксичність НК-клітин щодо пухлини [294].

Антитіла, що стимулюють СЕАСАМ1, індують зміни форми білків-інтегринів, тоді як СЕАСАМ1-інгібіторні антитіла зменшують зв'язування з лігандами [69, 295]. Такі анти-СЕАСАМ1 mAbs можуть бути потужним інструментом у регулюванні функцій, залежних від СЕАСАМ1.

Окремим перспективним напрямком терапії є використання екзогенного СЕАСАМ1, що доставляється до органів, де його експресія була пригнічена за патологічних умов [296, 297]. Так, при виразковому коліті відбувається виражене пригнічення СЕАСАМ1 порівняно з інтактним кишківником, яке нівелюється доставленням екзогенного СЕАСАМ1 до уражених відділів кишківника. Більше того, це супроводжується зменшенням клінічної симптоматики захворювання, а також зменшенням запальної відповіді, Т-лімфоцитарної інфільтрації та апоптозу колоноцитів [297].

Попередні дослідження успішно продемонстрували перспективність використання СЕАСАМ1 mAb, з'єднаних з флуоресцентною міткою, в мишей для візуалізації пухлин підшлункової залози та КРР [299, 300], а також їх мікрометастазів [301]. Удосконалення цієї методики було проведено шляхом використання 6G5j-антитіл, що містять коктейль анти-СЕАСАМ-антитіл (проти людських СЕАСАМ1, 3, 5, 6 та 8) [298]. Це дозволяє візуалізувати не лише СЕАСАМ1-позитивні неопластичні клітини, а й ті, які експресують інші рецептори (СЕАСАМ5 або 6) при СЕАСАМ1-негативному їх профілі. Висловлюються великі сподівання на можливість використання детекції пухлин-

них клітин в інтраопераційній практиці з метою повного видалення як первинних вогнищ (візуалізація «негативних країв»), так і всіх метастатичних уражень лімфатичних вузлів [298].

Підсумовуючи вищезазначене, можна припустити, що імунотерапія та діагностичні дослідження з використанням анти-CEACAM1 mAbs та нативних CEACAM1 можуть бути дуже перспективними напрямками запровадження в практичну медичну діяльність, хоча клінічні випробування ще тривають.

Розділ 3

Експресія CEACAM1 у пухлинах

У пухлинній тканині експресія CEACAM1 дуже динамічна – спостерігається їх зниження на ранніх фазах багатьох злоякісних новоутворень, включаючи рак товстої кишки [275], простати [302], печінки [303], молочної залози [239, 304, 305], сечового міхура [79, 127], нирок [16, 133, 137] та матки [274, 306]. Більше того, таке їх зменшення в епітеліальних клітинах є ранньою ознакою під час прогресування захворювань, оскільки це явище починає відбуватися ще при гіперпластичних ураженнях цих органів [302]. Введення різних ізоформ CEACAM1 у культури клітин KPP та карциноми простати продемонструвало важливість експресії CEACAM1-L для підтримання нормального фенотипу клітин із пригніченням розвитку пухлини у сингенних або імунодефіцитних мишей [307]. Також встановлено, що експресія CEACAM1-L *in vitro* в клітинах аденокарциноми легень (A549) інгібує проліферативну активність клітин ITIM-опосередкованим шляхом [52]. Ці результати свідчили про супресивний ефект CEACAM1 щодо пухлинного розвитку.

У деяких злоякісних пухлинах молочної залози [304] та кишківника [276, 308] спостерігається збільшення експресії CEACAM1.

Однак гіперекспресія CEACAM1 та/або виникнення експресії у CEACAM1-негативних тканин за деяких типів агресивних пухлин, таких як меланома [273, 309], НДКРЛ (плоскоклітинний, аденогенний) [281, 310], рак шлунка [132, 311], щитоподібної залози [226], яєчників [312], пухлини ротової порожнини [134, 204] та слинних залоз [313], рак стравоходу [314] та підшлункової залози [78, 243], свідчили про, навпаки, модулюючий ефект CEACAM1-L щодо метастатичного поширення та гіршого прогнозу цих

новоутворень [315]. Зокрема, проведені дослідження показали не лише важливість коливання кількості CEACAM1 у пухлинній тканині, а й співвідношення CEACAM1-L/S. Зростання цього показника було пов'язане із залученням лімфатичних вузлів, гематогенними метастазами, гіршим прогнозом та меншою виживаністю пацієнтів, переосмислюючи роль CEACAM1 у прогресуванні злоякісних пухлин [32, 133, 276, 309]. Досліджуючи різні клітинні пухлинні лінії, встановлено, що клітини злоякісної гліоми більше експресують CEACAM1-L, клітини раку товстої кишки – CEACAM1-S. Клітини раку передміхурової та молочної залози мають варіабельну експресію CEACAM1-L та CEACAM1-S. Співвідношення CEACAM1-L/S здебільшого є відмінним від показників нормальних клітин цих органів [66].

Необхідно зазначити, що в деяких дослідженнях не виявлено коливання рівня CEACAM1 у карциномах молочної залози [316] та легень [238].

До регуляції експресії гена *Seacam1* залучені пухлинно-супресивні білки p53 [233], що відображається на взаємодії CEACAM1 з різними представниками сімейства інтегринів, кіназою місцевої адгезії (*focal adhesion kinase* – FAK) та паксиліном [261, 272, 273]. Описані також прометастатичні властивості CEACAM1 – за їх експресії пухлинними клітинами карциноми набувають більшої здатності поширюватися по організму [309, 273].

Однією з причин різнобічної експресії та функціональної ролі CEACAM1 можуть бути зміни співвідношення CEACAM1-L/S, які, як було показано, відрізняються між непроліферувальними і проліферувальними епітеліальними клітинами [52, 71]. Крім того, виявлено вплив варіабельності співвідношення CEACAM1-L/S на зростання та метастазування НДКРЛ [226].

Висловлюється також припущення про синтез неопластичними клітинами специфічних факторів, які індукують експресію ендотеліальними клітинами кровоносних та лімфатичних судин значну кількість CEACAM1 [133].

Далі наведені відомості про участь CEACAM1 у перебігу онкологічних процесів в окремих органах. Частково приділяється увага їх впливу та варіабельності в непухлинних захворюваннях.

3.1 Пухлини органів репродуктивної системи

3.1.1 Молочна залоза

У клітинних лініях молочної залози встановлена участь CEACAM1-S у поляризації клітин та формуванні просвітів ацинусів за рахунок активації анокізи [72, 110, 111, 278]. Це відбувається як через вах-опосередкований вихід цитохрому C із мітохондрій у цитоплазму клітин та активацію внутрішнього шляху апоптозу [111], так і через інші (зокрема, каспазні) сигнальні шляхи. Інші ж дослідження демонструють участь саме CEACAM1-L у формуванні просвітів ацинусів [317].

У нормі CEACAM1 експресується на апікальній поверхні протокового та залозистого епітелію молочної залози людини [228, 231, 239, 278, 304, 305, 316]. Відсутність у латеральних та базальних полюсах не виключає участі CEACAM1 в адгезії клітин у зв'язку з можливим маскуванням їх епітопів у нормальній тканині молочної залози та появі (візуалізації) в разі дисоціації клітин у неопластично-трансформованій тканині [16, 239]. Установлено наявність CEACAM1 на поверхні секретованих люмінальними клітинами везикулах і, як очікувалось, у складі грудного молока [278]. Було зроблено припущення про їх участь в адгезії ліпидовмісних везикул до ентероцитів дітей, яких вигодовують грудним молоком [278]. Міоепітеліальні клітини іноді мають сильну або помірну мембранну експре-

сію CEACAM1. Гранулоцити є завжди позитивними у тканині молочної залози, натомість судини та апокриновий епітелій – негативними [239].

Фіброзно-кістозна хвороба, внутрішньопотокова та часточкова гіперплазія (проста та атипова) характеризуються збереженням експресії CEACAM1 на апікальній поверхні люмінальних клітин та частково в міоепітеліюцитах [231, 239, 278, 305]. У дослідженні Q. Liu та ін. виявлено цитоплазматичну експресію CEACAM1 в атиповій протоковій гіперплазії, яка одночасно спостерігалася з апікальною експресією на периферії проліфератів [231]. Протокова та часточкова карциноми *in situ* характеризуються зміною апікальної експресії на суцільну мембранну [231, 239, 278] та цитоплазматичну [232] під час дедиференціювання пухлин.

У пацієнтів із різними формами РМЗ спостерігається статистично вищі показники sCEACAM1 у плазмі крові (у середньому 532 нг/мл), порівняно з жінками, які або не мають патології молочної залози (у середньому 330 нг/мл), або хворіють на доброякісні захворювання (у середньому 423 нг/мл) [240]. Крім того, за наявності доброякісних пухлин рівень sCEACAM1 у крові був також статистично вищим за показники здорових жінок. Тому було запропоновано використовувати визначення sCEACAM1 у плазмі крові як специфічний та чутливий маркер пухлинної патології молочної залози, надійність якого була вищою за показники CA15-3 та СЕА у плазмі крові [240]. Необхідно зазначити, що значно вищі показники sCEACAM1 було виявлено в РМЗ за відсутності естрогенових рецепторів (*Estrogen receptors – ER*) у неопластичних клітинах. Концентрація їх у крові не залежала від віку хворих, розмірів, гістологічного варіанта та ступеня диференціювання пухлин, наявності метастазів, експресії рецепторів до прогестерону (*Progesterone receptor – PR*), рецепторів другого

типу людського епідермального фактора росту (Human epidermal growth factor receptor-2 – Her2/neu) та проліфера- тивної активності пухлинних клітин.

Позитивну експресію CEACAM1 у тканині РМЗ згідно з різними дослідженнями виявлено у 79 % [241], 56 % [228], 80 % [304], 77 % [239], 73 % [305], 81 % [278] та 100 % [231] випадків.

У високодиференційованих карциномах експресія CEACAM1 залишається на апікальному полюсі клітин з одночасним її зменшенням та зникненням в окремих ділянках пухлини. У дедиференційованій неопластичній тканині виявляються вогнища з мембранною експресією CEACAM1 на всій поверхні клітин [228, 231, 239], а також цитоплазматична їх локалізація [231, 278, 304, 316]. Рівень експресії CEACAM1 в оточуючій інтактній тканині у переважній кількості випадків (65 %) був більший, ніж у пухлинній тканині [304, 305], хоча і виявляли випадки як з такою самою кількістю CEACAM1 (28,3 %), так і з меншою їх кількістю (6,6 %) [304].

Дослідження клітинних ліній РМЗ (BT-549, Hs 578T, T-47D, MCF7, MDA-MB-231 та MDA-MB-468) за допомогою ELISA показало їх майже вдвічі нижчу здатність до синтезу sCEACAM1 порівняно з нормальними клітинами молочної залози (MCF 10A) [305]. У цьому самому дослідженні за допомогою флуоресцентної мікроскопії виявлено, що клітини РМЗ більш ніж удвічі менше експресували мембранозв'язані CEACAM1, аніж клітини MCF 10A. Отже, дерегульованість CEACAM1 у неопластичних клітинах була підтверджена на мРНК та білковому рівнях – пухлинні клітини мали на 10–20 % меншу кількість мРНК CEACAM1 та більше ніж удвічі меншу кількість білка CEACAM1, визначеного за допомогою вестерн-блотингу [305]. Усі ці дослідження сприяли висловлюванню думки про дерегулювання (зниження) CEACAM1 у разі злякис-

ної трансформації в молочній залозі, яке було підтверджено на всіх рівнях, та їх антипухлинний (протективний) вплив [304, 305].

Деякі дослідження взагалі не виявили різниці в експресії CEACAM1 між нормальною та пухлинною тканиною молочної залози [316]. Незмінна кількість CEACAM1 спостерігається під час пухлинного росту в молочній залозі. Ключовим моментом є якісні особливості їх дистрибуції в неопластичних клітинах – експресія CEACAM1 на всій поверхні та в цитоплазмі клітин є ознакою злоякісного пухлинного росту [231].

У жінок із метастатичним ураженням лімфатичних вузлів виявлено нижчі рівні експресії CEACAM1 у неопластичній тканині [241]. Випадки інвазивного протокового РМЗ мали меншу експресію CEACAM1 у пухлинній тканині, порівняно з муцинозними, тубулярними та часточковими карциномами [241]. Не виявлено взаємозв'язку між CEACAM1 та іншими клінічними й морфологічними параметрами (диференціюванням і розміром пухлин, віком, експресією ER, PR, HER2, циклін D1, циклін E, p16, p21 та Ki-67) [228, 239, 241]. Незважаючи на це, наявні дані про відсутність взаємозв'язку між CEACAM1 та метастазами у лімфатичні вузли і диференціюванням карцином, і, навпаки, наявність позитивної кореляції між CEACAM1 та ER/PR і виживаністю пацієнтів [304].

Спостерігалася прямо пропорційна кореляція між рівнем експресії CEACAM1 (виявленим за допомогою вестерн-блотингу та імуногістохімічно в пухлинній тканині) та експресіями двох пухлино-супресивних генів ретинобластоми Rb та Rb2, а також CDK- (*cyclin-dependent kinase*) інгібіторами p27, що регулюють клітинний цикл [228]. Основний механізм участі CEACAM1 у регуляції активності Rb та Rb2 полягає в залученні різних посередників транс-

дукції сигналів, таких як v-src та ядерна тирозинкіназа Rak [229, 230].

Під час дослідження експресії Id-1 та CEACAM1 у нормальній, передпухлинній та карциноматозній тканині молочної залози виявлено їх чіткий взаємозв'язок – транслокація CEACAM1 з апікальної поверхні на весь периметр пухлинних клітин та в цитоплазму є наслідком посиленої експресії Id-1, яка виникає в разі злоякісної трансформації та прогресуванні РМЗ [231]. Враховуючи участь Id-1 у регуляції клітинного циклу [232, 233], не виключається роль CEACAM1 у регуляції проліферативної активності клітин через інгібування диференціювання клітин та синтезу ДНК.

Відмінності одержаних результатів можуть бути пов'язані з популяційними особливостями пацієнтів, різному стані довілля, а також чутливістю і специфічністю використаних маркерів [305].

Виявлено істотно нижчу експресію мРНК CEACAM1-4S у високометастатичних клітинах РМЗ (Hs578T, BT549 та MDA-MB-231) порівняно з мінімально метастазуючими клітинними лініями (MDA-MB-468 і T47D), а також неінвазивними клітинами (MCF10A) молочної залози. Більше того ініціювання експресії CEACAM1-4S шляхом CEACAM1-4S-трансфекції знижує метастатичний та інвазивний потенціал клітин РМЗ. CEACAM1-4S-трансфектні клітини (Hs578T та BT549) з модульованою експресією CEACAM1-4S мали підвищений рівень експресії тканинних інгібіторів MMP2 (*tissue inhibitor of MMP – TIMP*) та знижений рівень MMP2, що свідчить про виняткову їх участь (а не MMP9/TIMP1) у поширенні злоякісних пухлин молочної залози. З іншого боку, ініційована надекспресія CEACAM1-4S супроводжується посиленням експресії E-кадгерину та зниженням N-кадгерину, а також модуляцією епітеліально-мезенхімальної трансформації клітин РМЗ

[241]. Всупереч цьому менш агресивні клітинні лінії РМЗ (MCF7) показали меншу експресію SEACAM1-4S порівняно з більш агресивними неопластичними клітинами [318], що свідчить про незалежність поширення карцином від SEACAM1-4S-статусу новоутворень.

Виявлено незначний вплив SEACAM1-4S на проліферативну активність клітин РМЗ [241]. Більше того, вивчення експресії SEACAM1-S та SEACAM1-L у клітинах РМЗ і нормальних клітинах молочної залози показало зростання рівня SEACAM1-L у неопластичних клітинах та зменшення співвідношення SEACAM-S/L до 1–7,8 (у нормі воно становить 15–16) [66]. Коливання їх співвідношення також може бути причиною порушення поляризації епітеліальних клітин, одного з маркерів неопластичного процесу [66, 319].

Експресія SEACAM1-4S у клітинах РМЗ повертає нормальне диференціювання клітин молочної залози та нівелює їх злоякісний фенотип [111].

Під час дослідження пухлинних клітин молочної залози G-2, які містять як епітеліальні, так і мезенхімальні субпопуляції клітин, встановлено, що експресія SEACAM1 властива виключно епітеліальним клітинам [267]. Клітинні лінії РМЗ (G-2) з надекспресією SEACAM1 мали більшу кількість РНК Е-кадгерину та менший рівень експресії генів, які є маркерами мезенхімального фенотипу клітин (Snail, віментин, Twist1, Twist2, Tgfb1i1 та Wisp1). У цьому дослідженні виявлено спільну локалізацію та взаємодію SEACAM1 з β -катеніном за відсутності взаємодії з Е-кадгеріном. Пригнічення SEACAM1 супроводжується фосфорилуванням β -катеніну та його транслокацією в ядро, результатом цього є зменшення епітеліальної субпопуляції серед клітин G-2. Це є індикатором участі SEACAM1 у підтриманні епітеліального фенотипу клітин та протидії епітеліально-мезенхімальній трансформації [267].

Наявність мутантного p53 у пухлинних клітинах РМЗ підвищує агресивність пухлинних клітин та супроводжується наростанням епітеліально-мезенхімальної їх трансформації та зниженням експресії CEACAM1 [254, 255].

3.1.2 Матка

Шийка матки. Виявлено експресію CEACAM1 та CEACAM5 у поверхневих шарах ектоцервіксу в ділянці ендо-ектоцервікального переходу з подальшою експресією лише CEACAM5 у поверхневих та середніх шарах ектоцервіксу. Лише в одному випадку виявлено слабку експресію CEACAM6 у клітинах ектоцервіксу [320].

У дослідженні участі експресії пан-CD66 (сюди ж входять і молекули CEACAM) разом із білками Notch1 у випадку плоскоклітинного раку шийки матки встановлено їх модулюючий ефект на інвазивність та метастатичність пухлин у лімфатичні вузли [277]. Мембраноцитоплазматична експресія CD66 (згідно з рисунками першоджерела) виявлена в неопластичних клітинах первинного вогнища, внутрішньосудинних метастазуючих клітинах та ракових клітинах у вторинних вогнищах у лімфатичних вузлах. Необхідно зазначити, що в шийці матці експресія білків CD66 та Notch1 була менш вираженою, ніж у метастатичних вогнищах [277]. За рахунок взаємодії з Notch1-опосередкованою трансдукцією сигналів CD66 активує проліферативну активність клітин та блокує їх апоптоз [285].

CD66-позитивні пухлинні клітини шийки матки мають більшу експресію генів колагеназної активності (*Mmp*), генів стовбурових клітин (*Nanog*, *Oct4*) та генів, що відповідають за транспортування лікарських засобів (*Abcc3*) [277].

Ендометрій. CEACAM1 експресуються на апікальній поверхні покривного та залозистого епітелію ендометрія незалежно від фази менструального циклу

[16, 274, 306, 320, 321] та циліндричному епітелії ендocerвіку [16, 320]. Вони відсутні у стромальних клітинах ендометрія [306, 320], хоча й трапляються у складі тканинних лейкоцитів [320].

Під час фази секреції клітини ендометрія, які втрачають поляризацію та зв'язок з іншими залозистими клітинами, мають додатково експресію CEACAM1 по всій їх поверхні [306]. Необхідно зазначити, що в щурів експресія C-SAM-105 (аналог людського CEACAM1) виявлена в тих самих структурах ендометрія, хоча особливості їх маніфестації залежать від фази естрального циклу та гормонального фону тварин – естрогени стимулюють їх експресію на апікальній поверхні покривного епітелію, прогестерони – залозистого епітелію [323]. Їх було виявлено в епітеліальних клітинах та дрібних судинах ендометрія під час вагітності за відсутності в децидуальних клітинах [322]. CEACAM1 надекспресовані екстравільозним (проміжним) цитотрофобластом у місці імплантації ембріонів, а також екстравільозними клітинами трофобласта з інвазивним фенотипом у первинній культурі клітин [322]. У зв'язку з цим вони можуть брати участь у посередницьких взаємодіях між трофобластом та ендометрієм [321].

Необхідно зазначити, що, крім CEACAM1, ендометріальні клітини є в основному CEACAM-негативними – лише в одному випадку виявлено слабку фокусну експресію CEACAM5 у залозистих клітинах ендометрія [320].

За простої та комплексної гіперплазії ендометрія експресію CEACAM1 різної інтенсивності виявлено на апікальній поверхні у всіх випадках [274].

У 97,5 % випадків ендометріюїдних та 87,5 % світлоклітинних аденокарцином виявлено експресію CEACAM1, яка була меншою за інтенсивністю ніж у нормальному ендометрії. У високодиференційованих пухлинах спостерігається апікальна експресія цих рецепторів у клітинах, які

формують залозистоподібні утворення. У міру дедиференціювання карцином відбувається втрата експресії SEACAM1 або переміщення їх експресії на всій поверхні неопластичних клітин [274, 306]. Установлено коекспресію SEACAM1 та OPN в усіх випадках інтактного ендометрію та 86 % ендометріальних карцином [274]. В. Julianne та ін. продемонстрували, що OPN колокалізується з SEACAM1 в екстравільозному трофобласті плаценти людини і посилює інвазію плацентарних клітин, що експресують SEACAM1 [36]. Коекспресія цих двох глікопротеїнів виявлена також у разі трофобластних захворювань (міхурового заносу та хоріонепітеліоми) [284]. Передбачається, що SEACAM1 та OPN спільно функціонують у комплексі з інтегрином $\beta 3$, посилюючи інвазивність як трофобласта під час вагітності, так і пухлинних клітин у разі ендометріальних карцином [36, 274, 284].

Аналізуючи вищезазначене, можна стверджувати, що відомості про участь SEACAM1 у канцерогенезі ендометрія мають багато суперечностей. З одного боку, вони мають супресорний механізм у розвитку неоплазій, дерегулюючись у разі прогресування ендометріальних пухлин [306]. З іншого боку, їх коекспресія з прогностично несприятливими білками свідчить про їх модулюючу роль у розвитку злоякісних пухлин у тілі матки [274].

Використовуючи клітинні лінії раку ендометрія людини Hec1В, було встановлено, що стимуляція клітин естрадіолом, медроксипрогестероном та антагоністами прогестерону RU486 не супроводжується змінами експресії мРНК SEACAM1. Це свідчить про незалежність регуляції цих білків від впливів естрогену та прогестерону [324]. Також не виявлено ефекту від стимуляції клітин Hec1В за допомогою інтерферону- γ та TNF- α [324], які у клітинах раку товстого кишківника посилювали синтез SEACAM1, 5 та 6 [325]. Натомість виражена індукція екс-

пресії SEACAM1 була спровокована додаванням до клітин раку ендометрія 12-О-тетрадеканойлфорбол-13-ацетату (*12-O-tetradecano-ylphorbol-13-acetate* – *TPA*) та іонофору кальцію A23187. Індукція SEACAM1 у цьому разі відбувається РКС-опосередкованим сигнальним шляхом [324].

Використовуючи трансгенні лінії мишей, що експресують людські SEACAM1, 3, 5 та 6, встановлено їх участь у гонококовому інфікуванні жіночих статевих органів [320]. Гонококові білки Ора можуть зв'язуватися з вищезазначеними представниками сімейства СЕА. Ора-SEACAM5 взаємодіє з багатошаровим плоским епітелієм і підтримує тривалу колонізацію гонококами нижніх статевих шляхів, тоді як зв'язування білка Ора з SEACAM1 в епітелії матки підсилює гонококову асоціацію та проникнення в тканини. Хоча ці Ора-залежні взаємодії з SEACAM-позитивним епітелієм сприяють інфікуванню жіночих статевих органів, зв'язування Ора з нейтрофілами, які експресують різні SEACAM, урівноважує місцевий стан шляхом сприяння більш ефективному гонококовому кліренсу. Крім того, інфікування тканин матки SEACAM-опосередкованим шляхом посилює гостру запальну реакцію.

3.1.3 Яєчники

SEACAM1 не експресується в нормальних яєчниках [16]. Його експресія є негативною або слабкою (мембранною) в разі доброякісних епітеліальних пухлин яєчників [312]. Злоякісні новоутворення характеризуються вираженою надекспресією SEACAM1 у тканині. Менш агресивні (low-grade) серозні аденокарциноми мають переважно мембранну (апикальну), тоді як більш агресивні (high-grade) пухлини – переважно цитоплазматичну експресію SEACAM1. Висловлюється припущення, що мембранна експресія є індикатором підтримання адгезивних властиво-

стей клітин (протидія метастазуванню), тоді як цитоплазматична експресія SEASAM1 супроводжується втратою цих властивостей із набуттям клітинами метастатичних властивостей [312]. Муцинозні карциноми яєчників продукують ці білки переважно в цитоплазмі, ендометріюїдні – на мембрані (апикально) та в цитоплазмі, інші епітеліальні злоякісні пухлини яєчників (мезонефральна протокова карцинома, злоякісна пухлина Бреннера, перехідно-клітинна карцинома, світлоклітинна та недиференційована карциноми) мають мембраноцитоплазматичну експресію SEASAM1. Перехідноклітинна карцинома має найвищу експресію серед епітеліальних пухли [312].

Усі пухлини статевого тяжа яєчників та герміногенні пухлини (окрім злоякісної тератоми) мають цитоплазматичну експресію SEASAM1 у неопластичних клітинах. Вторинні (метастатичні) пухлини були також SEASAM1-позитивними, показуючи позитивний імуногістохімічний сигнал у цитоплазмі (метастази з шлунка та кишківника) та мембрані (метастази з кишківника) неопластичних клітин [312].

3.1.4 Яєчка

Імуноблот нормальної тканини яєчок та їх придатків, а також пухлин яєчок (семіоми та тератоми) дозволив виявити в них наявність SEASAM1. Їх кількість була статистично вищою в неопластичній тканині, порівняно з нормою. SEASAM1 були наявні також у спермі [138]. Під час ПГХ-дослідження виявлено їх експресію між клітинами Сертолі та у контактах клітин Сертолі з герміногенними клітинами, які є SEASAM1-негативними, у каналцях яєчок, а також на апикальній поверхні епітеліальних клітин придатка яєчка. Клітини Лейдіга та стромальні судини не мали експресії SEASAM1 [138]. Звивисті каналці яєчок без герміногенних клітин (у яких були наявні лише клітини

Сертолі) не мали цих білків на мембрані сустентоцитів. Ураховуючи вищезазначене, було зроблене припущення, що SEACAM1 у яечках бере участь у поляризації, диференціюванні, дозріванні, утриманні (адгезії) та вивільненні сперматогенних клітин [138].

Натомість герміногенні *cancer in situ* ураження супроводжувалися поширенням експресії на всій поверхні клітин Сертолі (до базальної мембрани), хоча пухлинні клітини були негативними. До того ж спостерігалось виникнення SEACAM1-позитивних судин у солідних пухлинних вогнищах семіноми за умови їх відсутності в прилеглому інтерстиції. Необхідно зазначити, що подібна динаміка змін маніфестації білків у сустентоцитах виявлена в разі ураження сперматогенезу (гіпосперматогенних каналцях та експериментальному порушенні сперматогенезу) [138].

3.1.5 Передміхурова залоза

SEACAM1 бере участь у розвитку тканини передміхурової залози, формуванні ацинарно-залозистих структур, виникненні в них просвітів [109]. У нормі SEACAM1 експресується люмінальною поверхнею секреторних клітин простатичних залоз та протоків за їх відсутності в прилеглих судинах [118, 302, 326]. Ця сама особливість маніфестації білків зберігається і в разі гіперплазії [302]. У дослідженні, проведеному С. Busch та ін., виявлено слабку навіть цитоплазматичну експресію SEACAM1 у люмінальних клітинах та більш інтенсивну експресію в цитоплазмі базальних протоковоацинарних клітин [302].

Виникнення простатичної інтраепітеліальної неоплазії (*prostate intraepithelial neoplasia – PIN*) супроводжується зниженням інтенсивності апікальної експресії SEACAM1 за low-grade PIN [302, 326] та їх зникненням із поверхні епітеліальних клітин за high-grade PIN [118, 302, 326]. Одноразом з'являється експресія SEACAM1 у майже всіх

прилеглих до інтраепітеліальних проліфератів кровонесних судинах [118]. У разі аденокарцином передміхурової залози спостерігається виражена варіабельність експресії SEACAM1 у неопластичних клітинах та пухлинних судинах. Виявлено наявність цих білків на апікальній поверхні клітин пухлинних тубулозалолистих структур за ступенів Глісона 1–3 з одночасним зменшенням SEACAM1-позитивних судин (слабка реакція в поодиноких судинах); за ступеня Глісона 4 або 5 ці білки наявні в більшості кровонесних судин, хоча повністю відсутні в неопластичних клітинах [118, 302, 326]. Відсутність експресії SEACAM1 спостерігається і в метастазах раку передміхурової залози (РПЗ) в лімфатичні вузли [326]. Дерегуляція SEACAM1 у разі прогресування РПЗ супроводжується зниженням експресії E-кадгерину та оклюдину, а також зростанням проліферативної активності пухлинних простатоцитів за відсутності впливу на їх апоптоз (експресія TUNEL) [302].

Дослідження, проведені S. Ergun та ін., свідчать про участь SEACAM1 в ангиогенезі передміхурової залози при неопластичній трансформації [118], який може бути опосередкований VEGF [113, 118, 123]. Надекспресія SEACAM1 у клітинах РПЗ Du-145 інгібує експресію VEGF-A, -C, -D, колагену 18 та ангиопоетину 2 (ангіогенно-супресивний ефект SEACAM1), водночас індукує експресію ангиопоетину 1 [118]. Взаємозв'язок SEACAM1 з VEGF-C та D свідчать про участь цих білків не лише в ангиогенезі кровонесних судин, а й лімфатичних. Установлена участь SEACAM1 у VEGF-опосередкованій міграції ендотеліоцитів та формуванні судиноподібних тубулярних структур [118]. Протилежно спрямована динаміка експресії SEACAM1 та VEGF-A була підтверджена в нормальній та неопластичній тканині передміхурової залози під час ІГХ-дослідження [118]. SEACAM1-позитивні судини при

high-grade PIN мають підвищену ендотеліальну фенестрацію, порушення міжендотеліальних контактів та деградацію базальної мембрани [118].

На противагу вищезазначеному під час вивчення впливу CEACAM1 на біологічну поведінку клітин РПЗ DU-145 встановлено, що ці білки не змінюють їх проліферативної активності та здатності до апоптозу (оцінювалась експресія білків bcl-2 та bax), а також секрецію ними VEGF. Водночас вони пригнічують неоваскуляризацію тканин, блокують міграцію та проліферацію ендотеліоцитів (HRAEC та HUVEC), стимулюють їх апоптоз, що може бути розцінено як пухлино-супресивні ефекти CEACAM1 [242]. Під час дослідження непухлинних клітин РПЗ (NbE) встановлено, що пригнічення експресії в них C-CAM1 призводить до пухлинної трансформації. Це ж підтверджено й у культурі неопластичних клітин передміхурової залози (PC-3) – експресія C-CAM1 пригнічує їх агресивність [327].

Крім того, експресія комбінації генів Ceacam1/BRCA1 (топ-пара генів) є визнаним індикатором відбору пацієнтів із прогресуванням РПЗ після радикальної простатектомії та здатності цих пухлин до метастатичного поширення [328]. Ген Ceacam1 є андроген-залежним геном – андрогени індукують його експресію ліганд-опосередкованим шляхом [329]. Андроген-незалежний рак передміхурової залози та її метастази в кастрованих мишей TRAMP є CEACAM1-негативними, хоча втрата експресії CEACAM1 виникає до того, як клітини стають невідповідними андрогенним стимулам [330]. Усупереч цьому в дослідженні J. Hsieh та ін. у кастрованих щурів виявлено підвищену експресію C-CAM (аналог CEACAM1 людини) [331].

Необхідно зазначити, що експресія генів CEACAM5 зростає за неопластичної трансформації в передміхуровій залозі [332].

3.2 Органи травлення

3.2.1 Ротова порожнина

У плоскоклітинних карциномах ротової порожнини патернами експресії CEACAM1 у пухлинних клітинах є мембрана та цитоплазма, яка виявлена у 83,5 % [134], 90,5 % [204] та 100 % [313] випадків. Серед них мембранну експресію виявлено в 34 %, яка була властива більш диференційованим пухлинам, у 66 % патерном маніфестації білків була цитоплазма, яка була характерна high-grade-пухлинам [134, 204, 313]. Посилення експресії CEACAM1 супроводжувалося лімфатичним метастазуванням пухлин та наростанням клінічної стадії захворювання, хоча і не залежало від статі, віку, ступеня диференціювання карцином, розмірів новоутворень та їх рецидивування [204]. Перитуморальні тканини були або CEACAM1-негативними, або мали слабку експресію цих білків [204, 313]. МСЦ була більш вираженою у CEACAM1-позитивних карциномах. Серед них частина представлена лімфатичними судинами, кількість яких, знову ж таки, превалює в рецептор-позитивних пухлинах зі зростанням їх кількості в разі цитоплазматичної експресії CEACAM1. У пухлинній тканині також виявляються CEACAM1-позитивні судини, кількість яких статистично вища в неоплазіях із цитоплазматичною експресією CEACAM1. Ця сама тенденція властива й окремим лімфатичним судинам [134]. Висловлюється припущення про набуття ендотелієм кровоносних судин фенотипу лімфоендотеліоцитів під час експресії CEACAM1 у цитоплазмі пухлинних клітин. До того ж судини стають морфологічно дезорганізованими, що сприяє метастазуванню плоскоклітинного раку. Натомість мембранна експресія білків у пухлині має судиностабілізаційний ефект [134].

CEACAM1-позитивні карциноми ротової порожнини (язика) характеризуються посиленою інфільтрацією пухлиноасоційованими нейтрофілами (*tumor-associated*

neutrophils – TAN), більшість з яких також експресує ці білки. Наростання кількості TAN у неопластичній тканині обернено пропорційно пов'язано з виживаністю пацієнтів. Установлено, що інфільтрація пухлини TAN стимулюється IL-8 та CXCL-6, експресія яких зростає у SEACAM1-позитивних пухлинних клітинах [204]. Більше того, SEACAM1 підтримує існування цих нейтрофілів у пухлинному мікрооточенні [244]. Серед ізоформ SEACAM1 саме SEACAM1-L задіяні в регулювання кількості TAN у вогнищі плоскоклітинної карциноми язика [204].

Дослідження, проведені F. Wang та ін., демонструють варіабельність експресії SEACAM1 у нормальних тканинах ротової порожнини та доброякісних і злоякісних пухлинах у ній [313]. SEACAM1 не виявлено в слинних залозах. Плоский епітелій ротової порожнини має слабку експресію. Не виявлено статистичної різниці в інтенсивності експресії SEACAM1 між доброякісними та злоякісними пухлинами слинних залоз. Крім того, обидві групи новоутворень характеризувалися переважною локалізацією цих білків у цитоплазмі. Серед усіх доброякісних (плеоморфна аденома та пухлина Уортіна) та злоякісних (міоепітеліальна, епітеліально-міоепітеліальна, ацинарно-клітинна, протокова, базально-клітинна, плеоморфна, мукоепідермоїдна, муциозна та інші карциноми) пухлин не виявлено експресію SEACAM1 лише в базально-клітинних карциномах [313]. Цитоплазматична експресія цих білків може бути індикатором агресивності неопластичних процесів, а мембранна – захисним механізмом у вигляді підтримання адгезивних властивостей та протидії ангіогенезу [134, 313].

3.2.2 Стравохід

Експресію SEACAM1 виявлено в 57 % раку стравоходу (плоскоклітинний рак, аденокарцинома) [314]. Метастатичні вогнища характеризуються спорідненою маніфеста-

цією цих білків. Установлено вплив патерна експресії аденокарцином стравоходу на клінічні характеристики захворювання – пацієнти з апікальною експресією CEACAM1 у неопластичній тканині мали кращу загальну виживаність, ніж хворі із суцільною мембранною локалізацією цих молекул. Не виявлено зв'язку між CEACAM1 та іншими клініко-морфологічними особливостями патологічного процесу (стадії захворювання, метастатичного ураження лімфатичних вузлів, диференціюванням карцином) [314].

3.2.3 Шлунок

Під час ІГХ-дослідження встановлено, що інтактна слизова оболонка шлунка є CEACAM1-негативною [132, 136, 311]. Їх варіабельна мембранна експресія спостерігається лише в перитуморальних ділянках із тонкокишковою метаплазією [132, 136]. При шлунковій інтраепітеліальній неоплазії (*gastrin intraepithelial neoplasia – GIN*) виявлено мембранну та цитоплазматичну локалізацію цих білків у 90 % випадків. Цитоплазматична реакція частіше спостерігалась у high-grade GIN [136].

В аденокарциномах шлунка спостерігається мембранна та цитоплазматична експресія CEACAM1 [132, 136, 311], з наявністю їх секреторних форм у просвітах неопластичних залозистих утворів [132]. Переважна більшість карцином кишкового типу (88 %) мають мембранний (апикальний та суцільний) патерн їх експресії, тоді як інші експресують ці білки або в цитоплазмі, або в комбінованому варіанті (мембрана з цитоплазмою) [132]. Спостерігається тенденція до трансформації мембранної експресії на цитоплазматичну та посилення маніфестації CEACAM1 при дедиференціюванні аденокарцином кишкового типу [136, 311]. Натомість цитоплазматична локалізація CEACAM1 властива більше для аденокарцином шлунка дифузного типу з менш вираженою мембранною та

змішаною їх маніфестацією [132]. Наростання інтенсивності експресії CEACAM1 у неопластичній тканині (незалежно від статі та віку хворих) прямо пропорційно корелює зі ступенем дедиференціювання новоутворень та стадією захворювання [136, 311]. Установлено модулюючий вплив CEACAM1 на метастазування пухлини в лімфатичні вузли, де вона також експресувала ці білки [132, 311].

Оцінюючи особливості ангиогенезу в неопластичній тканині, виявлено інгібувальний вплив цитоплазматичної експресії (властивий дифузному типу пухлин) CEACAM1 на інтенсивність МСЦ [132]. Натомість мембранна експресія цих білків, більш характерна для кишкового типу новоутворень, мала модулюючий ефект на ангиогенез у пухлині (зростання МСЦ) [132, 311]. Виявлена незначна закономірність залежності ангиогенезу від інтенсивності експресії CEACAM1 у цитоплазмі неопластичних клітин – слабка їх експресія сприяла ангиогенезу, а сильна – пригнічувала його [132]. Необхідно зазначити, що в дослідженні J-D. Guo та ін. встановлена протилежна закономірність – наростання експресії CEACAM1 у разі неопластичної трансформації слизової оболонки шлунка (норма → GIN → → аденокарцинома) супроводжується зростанням кількості CD31- та CD105-позитивних судин у пухлинній тканині [136].

3.2.4 Кишківник

У нормі експресію CEACAM1 виявлено у внутрішній частині крипт товстої кишки за відсутності в більш глибоких реплікаційних зонах [47, 235, 308]. CEACAM1 (CEACAM1-L) бере участь в утворенні порожнистих сфероїдних утворів у клітинній лінії KPP [333]. Серед загальної кількості CEACAM1 на частку CEACAM1-L припадає 15–20 % [65].

Експресія SEACAM1 знижується (на рівні мРНК та білка) більше ніж у 85 % колоректальних аденомах та всіх аденокарциномах [234, 235, 275], супроводжуючись мутаціями (дефектами) APC-генів [234, 235] та внутрішньоклітинним накопиченням β -катеніну [234]. APC-опосередкована сигналізація (сигнальний шлях Wnt) пригнічується, деградація β -катеніну припиняється, він транслокується в ядро (виявлено пряму кореляцію між SEACAM1 та ядерною експресією β -катеніну) і сприяє прогресуванню неопластичного процесу, регулюючи транскрипцію генів c-myc та циклін D1 [147, 148, 236, 237]. У разі гіперплазії слизової оболонки товстої кишки та її неоплазіях втрата експресії починається з перехідної зони (між нормальною та зміненою ділянками) і поширюється до «епіцентру» ураження [234].

Натомість в інших дослідженнях виявлено зовсім інші результати [47, 276, 308]. У разі аденом та аденокарцином товстої кишки спостерігалася подібна до нормального епітелію апікальна експресія SEACAM1 (SEACAM1-L та SEACAM1-S [276]), а також sSEACAM1 усередині неопластичних та нормальних залоз [308]. Крім того, відбувалося наростання інтенсивності забарвлення клітин при ІГХ дослідженні в міру збільшення ступеня клітинної дисплазії [308] та в інвазивному фронті пухлини (переважно за рахунок SEACAM1-L) [276]. У дослідженні J. Song та ін. виявлено гетерогенну (позитивну та негативну) експресію SEACAM1 в аденомах та аденокарциномах, із тенденцією до зростання SEACAM1-негативних випадків під час дедиференціювання неоплазії [47]. Кількість sSEACAM1 прямопропорційно відображалася на інвазивності пухлин (корелює зі стадіями захворювання), хоча і не виявлено її впливу на метастатичний потенціал карцином [308].

Детальний аналіз обох ізоформ в інвазивному фронті пухлин дозволив установити пряму кореляційну залеж-

ність між надекспресією CEACAM1-L та метастазами в лімфатичні вузли і віддалені органи, а також скороченням виживаності хворих [276]. Натомість загальний вміст CEACAM1 у новоутвореннях не впливав на стадію захворювання, локалізацію пухлин, їх розміри, метастазування в лімфатичні вузли та виживаність пацієнтів [47].

Під час ІГХ-дослідження нормальної та неопластичної тканини товстої кишки встановлена пряма кореляційна залежність між рівнем експресії CEACAM1 та апоптозом нормальних і пухлинних колоноцитів (експресія M30), хоча і не виявлено їх впливу на проліферативну активність клітин [234].

У разі ініціювання пухлин товстої кишки в диких (із CEACAM1) та накаутованих CEACAM1^{-/-} (без CEACAM1) мишей азоксиметаном виявлено, що CEACAM1^{-/-}-тварини мають значно більшу кількість пухлин зі значно більшими їх розмірами, в яких більш виражена проліферативна активність клітин та пригнічений апоптоз. Це свідчить про вплив делеції CEACAM1 на прогресування КРР [147,221].

У клітинній лінії КРР HT29 та LS174T встановлено, що CEACAM1-L підвищує резистентність пухлинних клітин до 5-фторурацилу, посилює їх інвазивний та міграційний потенціал, тоді як CEACAM1-S протидіє цим ефектам [276, 334].

В окремих випадках (3,3 %) КРР у генах Ceacam1 спостерігаються місенс-мутації (однонуклеотидні заміни), що відображаються на будові екстрацелюлярного (75 %) та трансмембранного (25 %) доменів [47], водночас оточуюча нормальна тканина, а також тканина аденом є генетично-інтактними.

3.2.5 Печінка

Уперше участь CEACAM1 (їх дерегуляцію) при канцерогенезі було досліджено в 1985 році D. Nixon та ін. у

тканині ГЦР [335].

У разі ГЦР експресія SEACAM1 зберігається переважно у високодиференційованих пухлинах за наявності жовчних капілярів та на апікальній поверхні псевдозалозистих утворів. І навпаки, в низькодиференційованих новоутвореннях мембранна експресія SEACAM1 стає менш вираженою, досягаючи повної її відсутності, іноді виникає переважна їх внутрішньоцитоплазматична локалізація [238, 303, 336, 337]. Втрата експресії SEACAM1 істотно пов'язана з розміром пухлини, мультифокальністю ураження печінки, інвазією в капсулу та судини (ворітна вена), що призводить до зниження виживаності пацієнтів [336, 337].

Останніми роками встановлено, що втрата апікальної мембранної експресії SEACAM1 із супутньою транслокацією у цитоплазму сприяє зниженню безрецидивної виживаності хворих із ГЦР після трансплантації печінки [337]. Зниження експресії SEACAM1 має обернено пропорційну кореляцію з МСЦ та дедиференціюванням пухлин [338].

У дослідженні S. Kiriуата та ін. не виявлено зниження експресії SEACAM1 за неопластичної трансформації печінки (85,1 % пухлин були SEACAM1-позитивними), натомість встановлено коливання його ізоформ [238]. Переважання експресії SEACAM1-L над SEACAM1-S у тканині раку печінки є фактором ризику мультифокальності ураження органа, інвазії в капсулу та судини, рецидивування новоутворень, а також зменшення виживаності хворих, чому протидіє зростання експресії SEACAM1-S [238]. У цьому самому дослідженні не виявлено різниці у впливі двох ізоформ SEACAM1 на проліферативну активність клітин, натомість надекспресія SEACAM1-L значно пригнічувала апоптоз та посилювала інвазивний потенціал клітинних ліній ГЦР HLF та PLC/PRF/5. Як виявилось, рівень SEACAM1-L у клітинах корелює з експресією β 2SP, а

їх спільна взаємодія модулює інвазивність неопластичних клітин [238, 270].

In vitro встановлено, що за участі β 2SP молекули SMAD зв'язуються з цитоплазматичним доменом CEACAM1-L, сприяючи ядерній транслокації SMAD3 для активації TGF β -опосередкованих сигналів [238]. Це може свідчити про участь CEACAM1-L у TGF β -залежній епітelialно-мезенхімальній трансформації та метастазуванні ГЦР [339].

3.2.6 Підшлункова залоза

Нормальна тканина підшлункової залози є CEACAM1-негативною. У разі виникнення PanIN спостерігається поява їх апікальної експресії в гіперплазованому епітелії та поступове наростання в міру прогресування PanIN: за PanIN1 CEACAM1 спостерігається у 9 %, за PanIN2 – у 22 %, за PanIN3 – у 85 % випадків [78].

У разі аденокарциноми підшлункової залози спостерігається зростання (порівняно з нормою та панкреатитами) експресії генів CEACAM1 [78, 340, 341], що відображається на збільшенні мРНК у неопластичних клітинах [78]. Під час ПХ-дослідження було підтверджено ці результати – виключно клітини аденокарциноми підшлункової залози мали мембранну (апикальну і на всій поверхні) [78] та мембраноцитоплазматичну [243] експресію CEACAM1 (у 100 % [78] та 62,8 % [243] випадків). Спостерігається залежність гематогенного поширення новоутворень від рівня експресії CEACAM1, хоча і не виявлено його впливу на будь-який інший клініко-морфологічний параметр [243].

Середні показники вмісту sCEACAM1 в плазмі крові при злоякісних пухлинах (29 нг/мл [78], 6 260 пг/мл [280], 33 мг/л [76]) були статистично вищі за їх значення в нормі (0 нг/мл [78], 1580 пг/мл [280], 16,1 мг/л [76]) та при панкреатитах (5 нг/мл [78], 23,1 мг/л [76]) [78, 243, 279, 280].

Більше того, використання sCEACAM1 як індикатора злоякісного процесу у підшлунковій залозі має більшу специфічність (98 %) та чутливість (85 %) ніж CA19-9, CA242 та CEA [78, 279]. Необхідно зазначити, що варіабельність sCEACAM1 у крові не була пов'язана з особливостями їх експресії в неопластичній тканині. Нижчі рівні sCEACAM1 супроводжувалися довшою виживаністю пацієнтів [243].

Тому надрегуляція CEACAM1 у неопластичній тканині та зростання рівня sCEACAM1 у плазмі крові є надійними індикаторами виникнення та прогресування аденокарциноми підшлункової залози в людини [78, 279, 280, 340].

3.3 Сечовидільна система

3.3.1 Нирки

У нормі CEACAM1 експресується епітелієм проксимальних каналців нирок, з яких розвивається світлоклітинний рак нирок, та ендотелієм кровеносних судин клубочків нефрону і міжтубулярного простору, а також стромальними лейкоцитами [16, 137]. Тканина нирковоклітинного раку (світлоклітинний, хромофобний та хромофільний рак) характеризувалася відсутністю CEACAM1 у неопластичних клітинах при їх збереженні в ендотелії стромальних судин та оточувальній нормальній тканині нирок [137]. Спостерігалася певна закономірність ентотеліальної маніфестації білків – їх дерегуляція (але не зникнення) в неопластичній тканині та надекспресія в перехідній зоні (на межі пухлина – нормальна тканина). Відсутність CEACAM1 також встановлено у вторинних метастатичних вогнищах та внутрішньосудинних пухлинних емболах.

Аденоми нирок характеризувалися відсутністю експресії CEACAM1 у неопластичній тканині за їх експресії в судинах пухлин [137].

Стимуляція CEACAM1-негативних пухлинних клітин нирково-клітинного раку (A498 та RCC26) CD8⁺-Т-лімфоцитами викликала INF- γ -залежну появу CEACAM1 у неопластичних клітинах, що не супроводжувалася їх імунологічним кілінгом [137]. Більше того, позбавлення цих клітин від впливу INF- γ сприяло відновленню імунологічного профілю пухлинних клітин (вони знову ставали CEACAM1-негативними). Активація ТІЛ та НК-клітин за допомогою ІЛ-2 індукує в них експресію CEACAM1 із можливою подальшою взаємодією з пухлинними клітинами, які також стають позитивними в насиченому імунному мікрооточенні. Можливо, це один із механізмів уникнення нирково-клітинним раком імунологічного кілінгу пухлини [137].

3.3.2 Сечовий міхур

У нормі CEACAM1 експресується клітинами апікальної частини перехідного епітелію (парасолькові клітини) у сечовому міхурі, беруть участь в інтеграції поверхневих клітин уротелію та виконують протективно-бар'єрну функцію щодо сечі. При цьому судини є CEACAM1-негативними [79, 127]. У нормі в сечі не виявлено sCEACAM1 [79].

Поява запального процесу (цистити) супроводжується реверсією маніфестації білків у зазначених компартментах – зниження їх експресії в парасолькових клітинах (поступове зникнення) та поява CEACAM1-позитивних судин, які щільно прилягають до уротеліального епітелію [127]. Майже в половини спостерігається поява sCEACAM1 у сечі [79].

Неінвазивний папілярний уротеліальний рак сечового міхура характеризується зникненням експресії CEACAM1 із перехідного пухлинного епітелію, що супроводжується появою малих CEACAM1-позитивних новоутворених су-

дин (великі судини залишаються негативними) та судино-подібних утворів у власній пластинці. Ця сама закономірність експресії в ендотеліоцитах зберігається і в інвазивних уротеліальних карциномах з її посиленням за умови інвазії пухлиною власної пластинки сечового міхура та поширення новоутворення (запущені випадки) [79, 127]. Поява SEACAM1-позитивних судин у сечовому міхурі до інвазії пухлини може сприяти ангиогенезу та васкуляризації перитуморальних тканин, тим самим ініціюючи її інвазію. Необхідно зазначити, що в інвазивних пухлинах виявляються поодинокі неопластичні клітини з експресією SEACAM1 [127]. Під час неопластичної трансформації та прогресування (виникнення інвазивних форм) уротеліального раку сечового міхура спостерігалось виникнення та наростання sSEACAM1 у сечі. Найвищі його рівні виявлено в разі інвазії пухлини м'язового шару сечового міхура. Було зроблено припущення, що варіабельність sSEACAM1 у сечі пов'язано з особливостями ангиогенезу в пухлинах та експресією SEACAM1 у них [79].

Дослідження клітинних ліній раку сечового міхура 486р та RT4 показало пригнічення VEGF-індукованого утворення ендотеліальної трубки в разі надекспресії SEACAM1 пухлинними клітинами 486р, виникнення якої яскраво спостерігалось у SEACAM1-негативних клітинних лініях RT4. Це відбувалося за рахунок SEACAM1-опосередкованого пригнічення синтезу VEGF-C та в дещо меншому ступені – VEGF-D клітинами уротеліального раку RT4 [127].

У мишей, яким було трансплантовано клітини раку сечового міхура 253J B-V, SEACAM1 пригнічував ріст пухлини, виявляючи свій пухлиносупресивний ефект [342].

3.4 Щитоподібна залоза

Нормальна тканина щитоподібної залози є SEACAM1-

негативною, хоча в ній виявляються судини з позитивною експрессією цих білків. Доброякісні пухлини переважно є рецептор-негативними – лише в 1-му випадку виявлено слабку їх реакцію. Серед злоякісних пухлин SEACAM1 виявлено у 30 % папілярних, 29 % – фолікулярних, 50 % – медулярних, та 20 % – анапластичних карцином. Експресія SEACAM1 виявлена на апікальній поверхні неопластичних клітин високодиференційованого папілярного раку, в анапластичних та низькодиференційованих пухлинах виявлено цитоплазматичну їх локалізацію. Вторинні метастатичні вогнища мали більш виражену експресію SEACAM1. Рецептор-позитивні новоутворення мали менші розміри, хоча виявляли більш виражену спроможність до екстраорганного поширення [226].

Досліджуючи клітинні лінії раку щитоподібної залози (WRO), встановлено, що надекспресія SEACAM1 інгібує перехід клітин із G₁- у S-фазу мітотичного циклу, тим самим істотно знижуючи їх проліферативну активність (відсоток популяції клітин у S-фазі). Експрессія SEACAM1 супроводжується накопиченням білка p21 (індикатор клітин у стані спокою) та зниженням його кількості при замовчуванні SEACAM1; посиленням адгезії клітин до ПКМ; зростанням метастатичних та інвазивних властивостей у неопластичних клітин; зменшенні розмірів карцином. W. Liu та його колеги зробили висновок, що SEACAM1 є важливим інгібітором проліферації клітин, блокуючи декілька механізмів росту пухлини, при посередництві їх інвазії [226].

3.5 Легені

Експресія SEACAM1 незалежно від віку, статі, групи крові та ступеня диференціювання хворих посилюється в разі злоякісних пухлин легень, особливо при НДКРЛ (згідно з рисунками першоджерел наявна цитоплазматична

експресія) [135, 310, 281, 343, 344], індукуючи ангиогенез (виявлено посилену МСЩ у SEACAM1-позитивних пухлинах) та віддалене метастазування цих пухлин, хоча і не впливає на локальне рецидивування [135, 310, 344]. Клінічні дані свідчать, що пацієнти з SEACAM1-негативними пухлинами мали в 1,8 разів більшу виживаність при НДКРЛ [135, 344]. Наявність рецепторів частіше виявляється в аденокарциномах (56 % [135, 344], 66 % [310], 81 % [345]), ніж у плоскоклітинному раку легень (27 %) [135, 281, 344]. Вони є незалежним фактором прогнозу в пацієнтів з аденокарциномами легень, які перенесли операцію, що негативно впливає на загальну та безрецидивну виживаність, корелює зі стадією захворювання [310]. У хворих II а–III а стадій спостерігається виражений зв'язок між надекспресією (мембрано-цитоплазматичною, ідентифікованою за рисунком першоджерела) SEACAM1 та зменшенням виживаності і зростанням метастазування аденокарциноми легень [345]. Установлено, що в переважній кількості випадків SEACAM1-позитивний профіль первинного вогнища має той самий фенотип у лімфогенних і гематогенних метастазах [345].

SEACAM1-L (мРНК) є переважною формою експресії в нормальних тканинах легень, тоді як SEACAM1-S переважно експресується в більшості тканин НДКРЛ, зменшуючи співвідношення SEACAM1-L/S [281]. До того ж рівень експресії SEACAM1-L у пухлинах не змінюється [281]. На противагу цьому в інших дослідженнях не виявлено SEACAM1 в жодній структурі (альвеолярному та бронхіальному епітеліях та стромі, крім гранулоцитів) нижніх дихальних шляхів у нормі [281, 135]. Рівень sSEACAM1 у сироватці крові при НДКРЛ є значно підвищеним (у середньому 544,79 нг/мл) порівняно зі здоровими особами (386,20 нг/мл) [281, 346]. Крім того, спостерігається тенденція до зменшення цього показника в разі про-

гресування карцином (зростання групи захворювання). У жінок рівень sCEACAM1 є статистично нижчим за чоловіків при НДКРЛ [281]. sCEACAM1 у плазмі крові у комбінації з IGFBP-1 та sIL-1Ra має високу чутливість та специфічність у разі виявлення НДКРЛ [346].

Експресія CEACAM1 на поверхні клітин аденокарциноми легень людини A549 відіграє вирішальну роль у диференціюванні та контактному інгібуванні їх росту [52]. Водночас CEACAM1-L, але не CEACAM1-S пригнічує проліферацію клітин ІТІМ-опосередкованим шляхом, тоді як у проліферувальних клітинах експресія CEACAM-L не спостерігається.

Наявні дані про участь CEACAM1 у розвитку хронічних обструктивних захворювання легень, будучи посередником між деякими збудниками захворювання (M. catarrhalis) та загибеллю епітелію дихальних шляхів [70, 346].

3.6 Шкіра

У нормі епідерміс шкіри не експресує CEACAM1, хоча в дермі трапляються CEACAM1-позитивні клітини [244]. У разі потовщення та гіперпроліферації кератоцитів, що відбувається при псоріазі, спостерігається виражена індукція їх експресії в зовнішньому шарі клітин. Водночас також наявна експресія CEACAM1 у нейтрофілах, які входять до складу мікроабсцесів Мунро (типова ознака себорейного ураження шкіри). Не виявлено маніфестації цих білків у епідермісі над інтрадермальними пухлинами (меланомами) та при atopічному та нумулярному дерматитах. Необхідно зазначити, що деякі Т-лімфоцити при псоріатичному та atopічному дерматитах також експресують CEACAM1. Не виявлено в жодній більше клітині дерми експресії цих білків, включаючи дендритні клітини.

Досліджуючи нормальні людські кератиноцити, встановлено, що експресія CEACAM1 (як CEACAM1-L, так і CEACAM1-S) у них індукується IFN- γ та онкостатином M, які синтезуються внутрішньодермальними T-лімфоцитами [244, 347]. Водночас не виявлено секреції sCEACAM1 нормальними кератиноцитами в разі екзогенної стимуляції [244].

CEACAM1-опосередкована гомофільна взаємодія між кератиноцитами, активованими цитокінами, та нейтрофілами відображається в пригніченні спонтанного апоптозу в останніх, що може лежати в основі патогенезу псоріазу [244].

Меланома. CEACAM1-L взаємодіє з підтипом інтегрину 3β через цитоплазматичний домен, посилюючи міграційний та інвазивний потенціал клітин меланоми [273]. Експресія CEACAM1 у клітинах первинної меланоми шкіри прогнозує розвиток метастатичного їх поширення [309]. CEACAM1 є одним із маркерів плазми крові, який виявляється в пацієнтів із метастатичною меланою [348]. Крім того, рівень sCEACAM1 у крові обернено корелює із загальною виживаністю пацієнтів [77, 349], а також може бути використаним (із рівнем надійності у 74 %) для виявлення рецидивування захворювання [348]. Аналіз великої кількості клітинних ліній меланоми виявив середній рівень експресії CEACAM1, який дорівнює 72 % [210]. Усі CEACAM1-позитивні клітинні лінії експресували виключно CEACAM1-4L окремо або в поєднанні з іншими варіантами CEACAM1. В усіх випадках рівні експресії L-варіантів (як CEACAM1-3L, так і CEACAM1-4L) домінували над S-варіантами. Необхідно зазначити, що надекспресія CEACAM1-4L у попередньо негативних непухлинних меланоцитах і клітинах меланоми *in vitro* посилювала міграційні та інвазивні потенціали клітин.

За допомогою аналізу біопсій тканини хворих на меланому I–IV стадії (згідно з Американським об'єднаним комітетом з питань раку), виявлено неоекспресію SEACAM1 приблизно у 80 % випадків [77, 210, 288]. На початкових стадіях (I/II) експресувалися лише SEACAM1-4L та SEACAM1-4S, тоді як випадки меланоми III/IV стадії мали переважну експресію SEACAM1-3L та SEACAM1-3S. Таким чином, відсутність експресії SEACAM1-3S та SEACAM1-3L у ранній меланомі (стадія I/II) з подальшим різким збільшенням експресії *de novo* у 86 % пізніх стадіях (III/IV) підкреслює роль варіації ізоформ SEACAM1 у біологічній поведінці пухлинних клітин. Ідентифікація SEACAM1-3, зокрема SEACAM1-3S, може бути використана як потенційний біомаркер моніторингу прогресування меланоми [210].

Надмірна експресія SEACAM1 у клітинах меланоми *in vitro*, з одного боку, призводить до посилення клітинної проліферації, міграції та інвазії, з іншого – захищає пухлинні меланоцити від елімінації, опосередкованої NK- та T-клітинами. У клітинах меланоми, які зазнали імунної атаки *in vitro*, експресія SEACAM1 поступово підвищується, гальмуючи наступні кілінгові атаки [211, 350].

Фактор транскрипції, асоційований з мікрофтальмією (*microphthalmia-associated transcription factor* – MITF), є ключовим регулятором розповсюдження меланоми, який контролює програми розвитку та диференціювання в клітинних лініях меланоцитів. Установлено його потенційний регульовальний ефект кореляції з SEACAM1 [286, 287]. MITF контролює клітинний цикл, виживаність меланоцитів, утворення та дозрівання меланосом, регулюючи активність різних ферментів (CDK2, TBX2, MART-1, CDK2 та ін.) [351].

Група дослідників, під керівництвом А. Kreuter установила, що інтактна шкіра немає експресії SEACAM1 та

SEACAM5 [352]. Ця сама закономірність зберігається і в доброякісних невусах. Натомість мембрано-цитоплазматичну експресію SEACAM1 та SEACAM5 виявлено у 9,6 та 1,8 % випадках диспластичних невусів відповідно. Злоякісна трансформація невусних клітин та зростання товщі поверхнево поширеної меланоми супроводжувалися ступінчастим зростанням інтенсивності експресії SEACAM1 (до 74 %) та SEACAM5 (до 7,7 %). Щодо SEACAM1, то для цих молекул виявлено ще одну закономірність – більш виражена експресія спостерігається в інвазивному компоненті пухлини на межі з оточуючими тканинами. Це дослідження підтверджує дані щодо варіабельності (появи та посилення) експресії SEACAM1 при меланомах [309, 353], а також доводить участь SEACAM5 у неопластичній трансформації невусних клітин, хоча деякі попередні дослідження не виявляли SEACAM5 ні в нормальних, ні в пухлинних невусних клітинах [354, 355].

В іншому дослідженні серед 100 випадків первинної меланоми в 40 % виявлено експресію SEACAM1 з посиленням їх інтенсивності в ділянках інвазії. Серед них в 70 % спостерігалось метастатичне поширення пухлин. Натомість, лише у 10 % SEACAM1-негативних новоутворень було виявлено метастази [309]. Незважаючи на це, N. Khatib та ін. не виявили залежності між SEACAM1-статусом первинної пухлини та її метастатичним потенціалом [356]. У 89 % [48] та 81 % [356] метастатичних вогнищ також спостерігалась експресія SEACAM1. Усі первинні меланоми з експресією SEACAM1 у первинному вогнищі (45 % пухлин) мали наявність цього білка й у метастазах у печінці. Крім того, у 36 % випадків пухлини набували цих якісних ознак (експресія SEACAM1) лише під час метастазування [356].

Результати порівняння чутливості SEACAM1 у первинній та метастатичній меланомі з іншими маркерами

(MelanA, S100 та HMB45), що широко використовуються у практичній діяльності, показали більшу їх надійність та специфічність в ідентифікації неопластичних меланоцитарних уражень. Було запропоновано включити анти-CEACAM1 mAbs (4D1/C2) до стандартної панелі антитіл [353, 357].

У 7 % пацієнтів із меланомою спостерігається наявність CEACAM1-позитивних мікросудин у пухлинному мікрооточенні, хоча вони не впливають на прогноз захворювання [309].

3.7 Очі

Під час вивчення експресії CEACAM1 в увеальній меланомі встановлено, що 45,6 % пухлин є рецептор-позитивними з більш вираженою експресією білка в епітеліоїдно-клітинному варіанті пухлини [356]. У цій праці не виявлено взаємозв'язку між CEACAM1, статтю та віком хворих, а також розмірами пухлини.

3.8 Нервова система

Вперше експресію C-CAM1 у нервовій системі було виявлено в мікросудинах головного мозку щурів під час розвитку (виникала експресія на 13-ту добу, посилювалася до 15-ї доби, а потім поступово знижувалася) за умови, що всі інші структури були C-CAM1-негативними [116].

Експресію C-CAM1 виявлено в олігодендроцитах головного мозку щурів під час внутрішньоутробного розвитку, яка була представлена мембранозв'язаними CEACAM1-L та CEACAM1-S, а також секреторною формою CEACAM1-4C2. Відзначено термін-залежне коливання ізоформ CEACAM1 під час вагітності. Клітини, які маніфестували ці білки, мали фібрилярну форму та з віком набували більш інтенсивної експресії. Установлено участь C-CAM1 у мієлінізації нервових волокон [358].

Запальне та гіпоксичне ураження мозку не відображається на коливанні мембранозв'язаних CEACAM1, але спричиняє зростання кількості sCEACAM1-4C2 [358]. Досліджуючи клітинну лінію олігодендроцитів, було підтверджено наявність CEACAM1 у їх незрілих та зрілих формах [358].

Узагальнена таблиця експресії CEACAM1 у вищезазначених органах у нормі та в разі неопластичної трансформації, особливості патернів маніфестації в неопластичних клітинах, а також їх вплив на МСЦ наведено в таблиці 1.

Таблиця 1 – Експресія CEACAM1 у нормі, при пухлинах та в пухлиноасоційованих судинах

Орган	CC1 у нормі	CC1 у пухлинах	Патерн експресії	МСЦ	CC1 у судинах
<i>Молочна залоза</i>	+	↓[304, 305] ↑[304]	М/Ц [231, 304, 305]	НД	+ [304]
<i>Матка</i>	+	↓[274, 306]	М [274, 306]	НД	НД
<i>Яєчник</i>	-	↑[312]	М/Ц [312]	НД	НД
<i>Яєчка</i>	+/-	↑[138]	???	НД	+ [138]
<i>Простата</i>	+	↓[118, 302, 326]	М [118, 302, 326]	НД	+ [118]
<i>Ротова порожнина</i>	-	↑[134, 204, 313]	М/Ц [134, 204, 313]	↑[134]	+ [134]
<i>Слинні залози</i>	-	↑[313]	М/Ц [313]	НД	НД
<i>Стравохід</i>	+/-	↑[314]	М [314]	НД	НД
<i>Шлунок</i>	-	↑[132, 136, 311]	М/Ц [132, 136, 311]	↓[132] ↑[136,311]	НД
<i>Товста кишка</i>	+	↓[234, 235, 275] ↑[56, 488]	М [47, 234, 235, 275,	НД	НД

Продовження таблиці 1

Орган	CC1 у нормі	CC1 у пухлинах	Патерн експресії	МСЦ	CC1 у судинах
			276]		
<i>Печінка</i>	+	↓[335]	М/Ц [238, 303, 336, 337]	↑[338]	НД
<i>Підшлункова залоза</i>	-/+	↑[78, 243, 340, 341]	М[78] Ц[78, 234]	НД	НД
<i>Нирки</i>	+	↓[16, 137]	НД	НД	+ [16]
<i>Сечовий міхур</i>	+	↓[79, 127]	–	НД	+ [79, 127]
<i>Щитоподібна залоза</i>	–	↑[226]	М/Ц [226]	НД	НД
<i>Легені</i>	-/+	↑[135, 281, 310, 343– 345]	Ц[135, 281, 310] М/Ц [345]	↑[135, 310, 344]	НД
<i>Меланома</i>	–	↑[77, 210, 288, 309, 353, 357]	М/Ц [352]	НД	+ [309]

Примітка: CC1 – SEASAM1; МСЦ – мікросудинна щільність; НД – не досліджували, «+» – наявність ознаки; «–» – відсутність ознаки; ↑ – зростання показника; ↓ – зниження показника

Розділ 4

СЕАСАМ5

4.1 Молекулярна характеристика та експресія СЕАСАМ5 у нормі

СЕАСАМ5 (СЕА) має один змінний V-подібний N-домен, за яким йдуть три повторювані пари константних C2-подібних домени (A1, B1, A2, B2, A3 і B3) [359]. Досліджуючи органи дорослих людей у нормі, СЕАСАМ5 виявлено в епітелії пілоричного відділу шлунка, багатошаровому плоскому епітелії язика, стравоходу та шийки матки, колоноцитах та келихоподібних клітинах товстої кишки, секреторних клітинах та протоковому епітелії потових залоз, а також в епітеліальних клітинах (особливо в разі гіперплазії) простати [16, 27]. Поряд із цим вони були ідентифіковані в носоглотці, перехідному епітелії сечовидільної системи [360], яєчниках, легенях та епітелії великих протоків підшлункової залози [361]. СЕАСАМ5 локалізувався як на мембрані клітин, так і частково в цитоплазмі [27, 360–362]. Наявність їх у легенях, молочній та підшлунковій залозах залишається суперечливою [248]. Експресія СЕАСАМ5 у вищеперелічених органах, за даними G. J. Fleuren починається в ранньому фетальному періоді (9–14 тижнів) і зберігається впродовж життя. Основним місцем їх експресії був циліндричний епітелій та келихоподібні клітини товстої кишки, особливо верхня третина крипт та вільна люмінальна поверхня [363].

СЕАСАМ5 через N-домени може гомофільно взаємодіяти з антипаралельними молекулами СЕАСАМ5 на протилежних клітинних поверхнях, а також гетерофільно приєднуватися до інших молекул (як сімейства СЕА, так і інших білків, наприклад інтегринів), тим самим модулюючи міжклітинну адгезію [108]. Також встановлено участь

СЕАСАМ5 у пригніченні нейрогенного та адипогенного диференціювання [364].

Трансфекція пухлинних клітин кДНК СЕАСАМ5 сприяла частковому виявленню потенційних функцій цього білка. Було встановлено, що СЕАСАМ5 функціонує як міжклітинна молекула адгезії, з'єднуючи мембрани сусідніх епітеліальних клітин, особливо в кишківнику ембріонів та пухлинах товстої кишки. Ця властивість білків була пригнічена анти-СЕАСАМ5 mAbs [108]. Міжклітинна адгезія, опосередкована СЕАСАМ5, відбувається між протилежно спрямованими N- та А3В3-доменами [42], що є унікальним явищем у цьому сімействі (рис. 15А). Незважаючи на високу глікозилувану структуру, ці посттрансляційні модифікації не відіграють істотної ролі в ініціації адгезії клітин, окрім зміни міцності адгезії [365].

Окрім адгезивних властивостей, СЕАСАМ5 відіграє значну роль в інших клітинних процесах, включаючи пригнічення диференціювання [366, 367], гальмування апоптозу (особливий вид апоптозу в результаті порушеної або втраченої адгезії клітин з позаклітинним матриксом) та апоптозу [368], порушення поляризації клітин і тканинної архітектури [367]. Пригнічення їх активності специфічним анти-СЕАСАМ5 mAbs сприяє зниженню проліферативної активності клітин КРР [369]. СЕАСАМ5 регулює ці процеси, активуючи сигнальні шляхи інтегрину та спричиняючи активацію інтегрин-зв'язаної кінази, РІЗК та АКТ [270].

Експресія СЕАСАМ5 на епітеліальних клітинах може безпосередньо впливати на розвиток пухлини в разі утворення СЕАСАМ5-СЕАСАМ5 мостів між пухлинними клітинами або пухлиностромальними клітинами [32]. Крім того, це може бути опосередковано порушенням розпізнавання неопластичних клітин імунною системою. СЕАСАМ5 у складі клітин КРР на відміну від СЕАСАМ5 нормальних колоноцитів має високу експресію вуглеводів,

пов'язаних із групою крові (Льюїс X і Льюїс Y), які є лігандами до CD209, також відомого як DC-SIGN (*dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule 3-grabbing non-integrin*) (рис. 15Б).

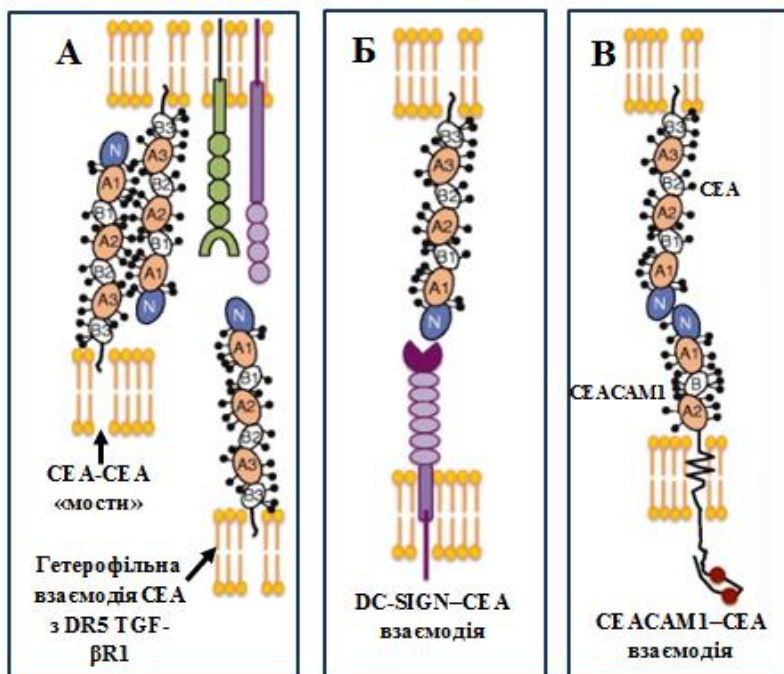


Рисунок 15 – Схема участі мембранозв'язаних CEACAM5 (CEA) у функціонуванні клітин [32]: А – «мости» CEA – CEA між пухлинними клітинами або пухлиностромальними клітинами можуть безпосередньо впливати на розвиток пухлини. Гетерофільна асоціація CEA з рецепторами DR5 або TGF-βR1 на пухлинних клітинах призводить до зниження апоптозу або стійкості до інгібіторів росту; Б – вуглеводні CEA функціонують як ліганди до DC-SIGN, які експресуються на поверхні ДК, що супроводжується їх толерантністю до пухлинних клітин; В – CEA може взаємодіяти із CEACAM1, експресованих на поверхні НК-клітин. Таке гетерофільне зв'язування через N домени CEA та CEACAM1 призводить до МНС-незалежного інгібування НК-опосередкованого кілінгу

Зв'язування лектину РНА-L у пухлинах спричинює збільшення розгалужених N-гліканів у його структурі, які відповідають лігандам DC-SIGN та галектину-3. Таким чином, це призводить до дворазового збільшення зв'язування CEACAM5 із цими лектинами [371]. Внутрішньопухлинні незрілі ДК, але не периферичні зрілі ДК, взаємодіють із неопластичними клітинами шляхом зв'язування лектину DC-SIGN з вуглеводами CEACAM5, можливо, для пригнічення функцій ДК [372]. Припускається, що незрілі DC-SIGN-позитивні ДК не здатні ініціювати адекватну Т-клітинну реакцію і можуть бути залучені до індукції толерантності до клітин КРР, опосередкованим CEACAM5.

4.2 Експресія CEACAM5 у пухлинах

Злоякісна трансформація супроводжується появою CEACAM5 у разі утворення пухлин легень, підшлункової залози, жовчного та сечового міхурів, муцинозної аденокарциноми яєчників та ендометрія [27]. Значно зростає їх кількість у цитоплазмі пухлинних клітин при плоскоклітинному раку язика з одночасною їх колонізацією в цитозолі з остеопонтином (у нормі вони мають різні патерни експресії в епітелії язика) [199]. Їх кількість значно зростає при КРР та злоякісних новоутвореннях шлунка [373, 374] та може служити маркером при встановленні метастатичного ураження лімфатичних вузлів [375].

Натомість в інших працях продемонстровано ненадійність використання цього індикатора як онкопротеїну під час встановлення остаточного діагнозу, оскільки синтез CEACAM5 починається в ранньому фетальному періоді та зберігається впродовж життя в інтактному кишківнику. Пухлинна трансформація супроводжується зберіганням цієї властивості, за винятком коливання рівня експресії цих білків у разі зміни ступеня диференціювання неоплазій

– більш диференційовані новоутворення мали вищий рівень їх експресії [363].

Розвиток патологічних процесів в організмі відображається в сироватці крові на зростанні рівня sCEACAM5. Установлено підвищення його кількості при КРР, карциномах шлунка, підшлункової залози, легень, РМЗ, медулярному раку щитоподібної залози, пухлинах сечового та жовчного міхурів, яєчників, матки, а також при деяких непухлинних захворюваннях, таких як виразковий коліт, цироз печінки, хронічне обструктивне захворювання легень, хвороба Крона та в курців [27, 80].

Підвищення рівня sCEACAM5 у крові (середній рівень у крові 2,0 mg/l) є надійним індикатором рецидивування раку товстої кишки – у 81 % [376] та 89 % [377] спостерігалася його елевация.

Оцінюючи результати, необхідно обов'язково враховувати чутливість методів дослідження, якими досліджуються молекули CEACAM. Наявність CEACAM5 у пухлинах підшлункової та молочної залози може бути індикатором того, що вони не виявляються ПХ-методами в нормальних клітинах. У той самий час їх візуалізація під час використання цих технік є показником більше їх зростання, ніж появи *de novo* [27]. Зростання експресії CEACAM5, також як і CEACAM6, у більше ніж 10 разів (кількість властива злоякісним пухлинам) у клітинних лініях КРР призводить до порушення 3D-архітектури тканин [367]. Водночас CEACAM5 бере участь в апоптозі клітин, модулюючи зворотний розвиток прилеглих клітин [368].

S. Hammarstrom в одній із своїх праць намагається пояснити відмінність експресії молекул сімейства SEA при пухлинній трансформації [27]. Він показує, що на противагу чіткій апікальній експресії цих білків епітеліальними клітинами товстої кишки, CEACAM1, 5 та 6 в аденокарциномах кишківника експресуються всією поверхнею нео-

пластичних клітин і з'являються в цитоплазмі. Одночасно вони також наявні на апікальній поверхні клітин, під час формування ними залозистоподібних утворень. S. Hammarstrom, спираючись на дані класичного дослідження R. Fritsche та J. P. Mach [378], доводить, що на генетичному рівні немає різниці між нормальним і пухлинним SEACAM5 у товстій кишці за імунологічними, фізико-хімічними та хімічними критеріями. Однак можливість тонких посттрансляційних модифікацій, таких як обрізання С-кінця ендогенними ферментами PI-PLC та PI-PLD після вивільнення з мембрани або модифікації вуглеводних ланцюгів, можуть створювати відмінності між пухлинним та нормальним SEACAM5. Іншим джерелом неоднорідності SEACAM5 може бути їх унікальна посттрансляційна модифікація в різних органах. Такі самі варіації у структурі можуть стосуватися й інших представників сімейства SEA.

Було зроблено припущення [27], що основні причини, чому молекули sSEACAM5 є корисними маркерами в сироватці крові при КРР та деяких інших пухлинах, полягає в такому: основна їх кількість у здорової людини виробляється в товстій кишці та вивільняється з апікальної поверхні зрілих колоноцитів у просвіт кишківника з подальшим виведенням їх із калом. Таким чином, у крові здорових людей спостерігається лише низький їх рівень. При КРР злякисні клітини не обмежуються апікальною мембраною експресією цих білків. Вони поширюються у тканинах по всій поверхні клітин та мають постійний контакт із судинами. У подальшому відокремлення компонентів плазматичної мембрани у вигляді везикул служить джерелом зростання рівня SEACAM5 у крові за рахунок проникнення їх у лімфатичні та кровоносні судини, які дрениують пухлину [379]. Зростання розміру пухлин супроводжується накопиченням їх у крові (рис. 16).

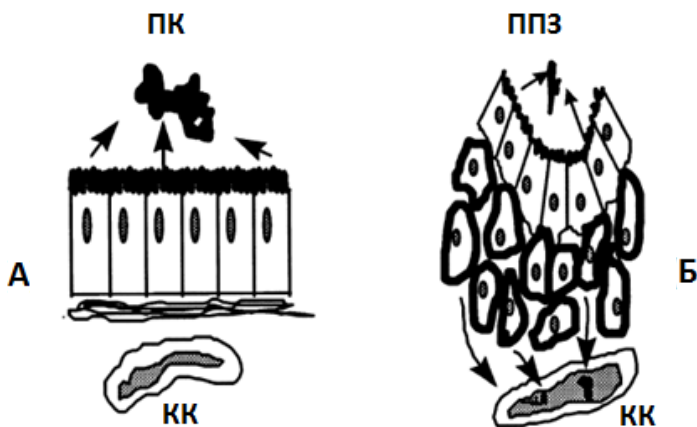


Рисунок 16 – Основні шляхи виведення SEACAM5 у товстій кишці у нормі та при КРР [27]: А – у нормальній товстій кишці поляризовані колоноцити експресують SEACAM5 виключно на апікальній поверхні клітин, вивільняючи їх у просвіт кишківника (ПК). Вони не мають доступу до кровоносних капілярів (КК); Б – при КРР епітеліальні клітини, що обмежують «сліпі» просвіти пухлинних залоз (ППЗ), частково поляризовані і виділяють SEACAM5 в їх просвіті. Навпаки, неопластичні клітини, розміщені глибоко всередині пухлинного вогнища, неполяризовані та експресують SEACAM5 по всій поверхні клітин. У результаті їх вивільнення має вільний доступ до кровоносних або лімфатичних судин через міжклітинні простори

Незважаючи на те, що SEA (SEACAM5) є «засновником» цього сімейства білків і зазвичай використовується в клініці, відомості про його функції є обмеженими. Більше ніж 50 років він був визнаний надійним маркером КРР, але новітні дослідження поставили під сумнів SEACAM5 як чутливого та специфічного біомаркера пухлин товстої кишки. У 2003 році показано, що рівень експресії SEACAM5 у первинних поверхневих колоректальних неоплазіях не мав прогностичного значення і не впливав на загальну виживаність пацієнтів [380]. Однак за допомогою дослідження, проведеного у 2013 році, знову було виявлено важли-

вість СЕАСАМ5 як маркера карциноми товстої кишки [375]. Порівнюючи експресію у пухлинній тканині та метастазах із нормальною тканиною в 280 хворих, СЕАСАМ5 виявився високочутливим (93,7 %) та високоспецифічним (96,1 %) біомаркером. Відмінність одержаних результатів може бути обумовлена специфічністю використаних анти-тіл або вдосконаленням методів візуалізації рецепторів. Крім того, нещодавнє дослідження, яке включало 17 910 пацієнтів, чітко продемонструвало, що підвищений рівень СЕАСАМ5 у сироватці крові в передопераційному періоді є незалежним індикатором загальної виживаності пацієнтів при раку товстої кишки незалежно від клінічної стадії [381].

При раку товстої кишки СЕАСАМ5 корелює з епігенетичними модифікаціями ДНК (гіпометилуванням) [294]. Але ці дані потребують уточнення, у зв'язку з ненадійністю висновків, одержаних більше ніж 30 років тому.

У дослідженні D. B. Rosalyn та ін. виявлено СЕАСАМ5 у ряді солідних злоякісних пухлин [361]. Серед РМЗ найвищий рівень експресії спостерігався в папілярних карциномах, серед новоутворень легень – у дрібноклітинній карциномі, серед аденокарцином підшлункової залози – у помірно диференційованих пухлинах, серед новоутворень яєчників – у муцинозних аденокарциномах. Кількість СЕАСАМ5 у тканині РПЗ у разі злоякісної трансформації не змінювався, порівнюючи з нормою [361].

У нормальній тканині молочної залози виявлено лише вогнищеву апікальну експресію СЕАСАМ5 у люмінальних клітинах [239]. Доброякісні пухлини та дизгормональні розлади в молочній залозі супроводжуються зниженням експресії СЕАСАМ5, натомість у внутрішньопрокових та часточкових карциномах *in situ*, а також в інвазивних варіантах РМЗ виявлено суцільну та апікальну фокусну їх експресії [239].

При РМЗ підвищення рівня SEACAM5 пов'язано з метастатичним поширенням пухлин [382]. Показано, що передопераційні їх показники в сироватці крові корелюють зі стадією захворювання, розмірами первинної та метастатичної пухлини. Натомість в інших дослідженнях виявлено, що SEACAM5 не можна використовувати як один маркер під час діагностування та моніторингу РМЗ, його необхідно комбінувати з CA15-3 [383, 384].

При аденокарциномах підшлункової залози у 63,5 % спостерігається мембраноцитоплазматична експресія SEACAM5, яка прямо пов'язана з експресією SEACAM6. Зростання маніфестації SEA супроводжується посиленням лімфогенного та гематогенного метастазування пухлин і скороченням терміну виживаності хворих. Крім того при карциномах відбувається зростання розчинної форми SEACAM5 у сироватці крові (у середньому 8,5 мг/л), порівняно з нормою (у середньому 1,9 мг/л) та при панкреатитах (у середньому 4,8 мг/л). Варіабельність SEACAM5 у крові відображається на поширенні пухлин у лімфатичні вузли [243].

Для дослідження ролі SEACAM5 у розвитку пухлин було використано SEACAM5-генетично модифікованих мишей (тварини, які експресували людський SEACAM5) [385, 386]. Експресія SEACAM5 була виявлена в тих самих тканинах, що й у людини; жодна первинна пухлина не розвивалася впродовж життя тварин. Більше того, жодна з мишей не демонструвала більшого ризику розвитку пухлини порівняно з SEACAM5-негативними тваринами в трьох різних моделях раку (молочної залози, кишківника та легенів), що свідчить про незалежність пухлинної трансформації від експресії SEACAM5 [387].

З іншого боку, в іншій моделі мишей (модель SEABAC), які мали експресію SEACAM5, 6 та 7, результати виявилися дещо відмінними [388]. Уразі індукції пух-

линного росту азоксиметаном ці тварини мали вдвічі більшу кількість аденом та аденокарцином товстої кишки [389]. Необхідно зазначити, що в моделі SEAVAS експресія SEACAM6 була в 20 разів, а SEACAM5 – удвічі вищою в пухлинній тканині порівняно з нормальними колоноцитами. У цьому разі є актуальним питанням про залежність канцерогенезу від SEACAM5 та незалежність від SEACAM6. На жаль, на той час не було можливості отримання незалежних SEACAM6-трансгенних мишей для проведення обґрунтованого порівняння.

4.3 Участь SEACAM5 у протипухлинній імунній відповіді

Гетерофільне зв'язування SEACAM5 з SEACAM1 через їх N-домени призводить до МНС-незалежного пригнічення знешкоджувальної спроможності НК-клітин (рис. 15В). Окрім N-доменів цих білків, наявність A- і B-доменів у екстрацелюлярному компартменті SEACAM5 посилює інтенсивність зв'язування їх із SEACAM1 [92]. Блокування зв'язування SEACAM5 з SEACAM1 на очищених НК-клітинах людини за допомогою специфічних анти-SEACAM5 mAbs (PR1A3, CC4), які взаємодіють із мембранозв'язаною формою SEACAM5, спричиняє інтенсивний кілінг клітин КРР людини, що експресують ці молекули. Це може бути перспективним напрямом у запровадженні ефективної цитотоксичної терапії для аденокарцином товстої кишки [294, 390].

Ще одним терапевтичним підходом, який активно розвивається впродовж останніх 30 років, є розроблення протипухлинних вакцин на основі SEACAM5 [391]. Додавання Т-клітинних коstimуляторних молекул, таких як B7-1, ICAM-1 та LFA-3, індукує виражену Т-клітинну відповідь, специфічну для SEACAM5, сприяючи збільшенню рівня виживаності пацієнтів [392, 393]. Вакцинація мишей, які

мають пухлини, що експресують CEACAM5 із рекомбінаційною формою IgV-подібного N-домену, призводила до затримки росту підшкірно-імплантованих пухлин, перешкоджала розвитку метастазів у легені та стимулювала імунну відповідь (лізис пухлин), опосередковану антитіло- та комплемент-залежною клітинною цитотоксичністю, водночас представляючи новий підхід для майбутньої терапії [393]. Крім того, два ДНК-аптамери, що здатні інгібувати опосередковану CEACAM5-гомофільну адгезію через свій N-домен, також були ефективними в разі блокування імплантації пухлинних клітин *in vivo*, не впливаючи на імунну відповідь [394].

4.4 CEACAM5 як маркер метастазування

CEACAM5 відіграє активну роль у розвитку метастазів КРР у печінку [395, 396]. Підтвердженням цього стало посилення метастатичного ураження печінки під час введення мишам із раком товстої кишки sCEACAM5 [396]. Це відбувається за рахунок зв'язування CEACAM5 з рецепторами SEA, гетерогенним ядерним рибонуклеопротеїдом M (hnRNP M), на поверхні макрофагів печінки (клітини Купфера) завдяки взаємодії з мотивом PELPK, розміщеним між доменами N та A1 (рис. 17). Активація печінково-специфічних макрофагів Купфера, опосередкована цим зв'язуванням, призводить до секреції прозапальних цитокінів (IL-1 α , IL-1 β , IL-6 та TNF- α) у печінкові синусоїди [397]. Вони зі свого боку підвищують активність ряду молекул клітинної адгезії, таких як ICAM-1, VCAM-1 та E-селектину на прилеглих ендотеліальних клітинах, водночас сприяючи прикріпленню циркулюючих у крові клітин раку товстої кишки до судинної стінки з подальшим проникненням у периваскулярні простори печінки [398].

Пухлинні клітини з CEACAM5-експресією стимулюють вивільнення протизапального цитокіну IL-10, що від-

повідляє за інгібування цитотоксичного ефекту NO та реактивних форм кисню у мікроциркуляторному руслі печінки, які повинні утворюватись у відповідь на подразнення ендотелію метастатичними клітинами [397].

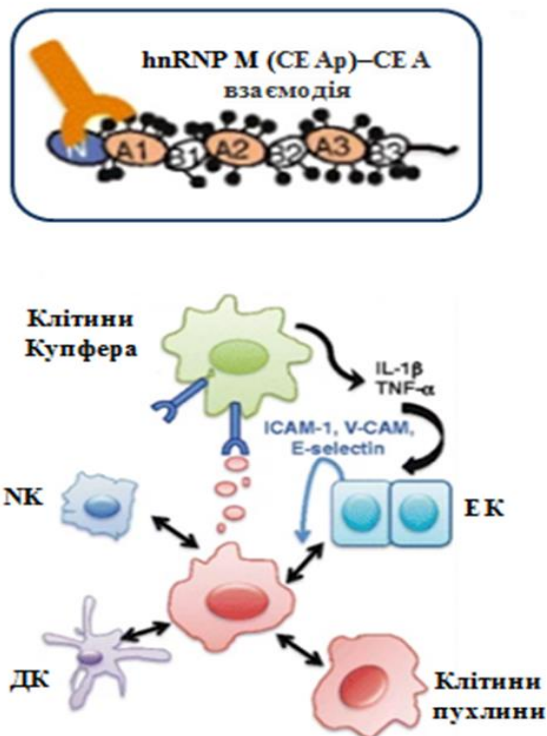


Рисунок 17 – Схема участі sCEACAM5 (CEA) в метастатичному поширенні пухлин до печінки [32]. CEA, що секретуються пухлинними клітинами, розпізнаються рецепторами до них (pCEA), гетерогенними ядерними рибонуклеопротеїнами М (hnRNP М), на поверхні макрофагів печінки (клітини Купфера). Зв'язування CEA–pCEA активує клітини Купфера, індукуючи їх до секреції прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α). Ці цитокіни впливають на синусоїдальні ендотеліальні клітини (ЕК). ЕК печінки посилюють експресію ряду клітинних адгезійних молекул, таких як ICAM-1, VCAM-1 та Е-селектин, що зі свого боку індукує зв'язування циркулюючих пухлинних клітин з ендотелієм та сприяє розвитку метастатичного росту

Крім того, пряма асоціація CEACAM5 із рецепторами DR5 (TRAIL-R2) (рис. 15A), експресованими на клітинах KPP, призводить до зниження апоптозу і, як наслідок, посилення метастазування [399]. Таким чином, запровадження терапевтичного блокування експресії CEACAM5 за допомогою імунотерапії або вакцинації може знизити метастатичне поширення пухлин у людей [32].

Установлено, що CEACAM5 може посилювати метастазування пухлин у печінку шляхом прямого зв'язування з рецепторами 1-го типу трансформувального фактора росту- β 1 – TGF- β R1 (*transforming growth factor β receptor 1*) (рис. 15–A) [400]. Клітини пухлини стають стійкими до TGF- β -опосередкованого інгібування росту, водночас вони набувають проінвазивного фенотипу у відповідь на стимуляцію TGF- β . Асоціація CEACAM5 і TGF- β R1 погіршує активність SMG3, стимульовану TGF- β .

Надекспресія CEACAM5 при РМЗ та новоутвореннях підшлункової залози також відображається на посиленні метастатичного потенціалу карцином [243, 382].

Підсумовуючи вищезазначене, можна стверджувати, що CEACAM5 як гомофільні та гетерофільні молекули адгезії або в поєднанні із сигнальними рецепторами, такими як DR5 і TGF- β R1, можуть впливати як на епітеліальні клітини неоплазій, так і на оточуюче стромальне та імунне мікрооточення, змінюючи їх сигнальні шляхи для підтримання пухлинного прогресування та метастазування.

Розділ 5

СЕАСАМ6

5.1 Молекулярна характеристика та експресія СЕАСАМ6 у нормі

Позаклітинний домен СЕАСАМ6 складається з варіабельного N-домену, за яким йдуть два (А та В) константних С2-домени. СЕАСАМ6 має високу гомологічність із СЕАСАМ1 як на нуклеотидному рівні (80/90 %), так і на рівні амінокислот (70/85 %) [401]. Однак на відміну від СЕАСАМ1, які містять трансмембранні домени з інтрацитоплазматичними хвостами, СЕАСАМ6 зв'язані з плазматичною мембраною лише за допомогою GPI-якоря [40]. Ця специфічна структурна особливість може пояснювати протилежну їх роль у розвитку злоякісних пухлин [248].

СЕАСАМ6 доволі поширений у нормальних тканинах зі значною експресією у різних типах епітелію, а також у гранулоцитах, макрофагах та моноцитах [402, 403]. Так, СЕАСАМ6 був виявлений на верхній 1/3 частині багат шарового незроговілого плоского епітелію язика та у всій товщині епітелію в мигдаликах і стравоході [402, 404], на внутрішній частині (1/5) крипт товстого кишківника [361, 402, 405], у мукоцитах та у меншому ступені в серицитах піднижньощелепних та язикових слинних залоз [402], власних залозах стравоходу [406], апікальному епітелії жовчного міхура [402], пневмоцитах та бронхіальному епітелії легень [361, 402, 407], епітелії потових залоз [402, 408], епітелії деяких проток молочної залози [361, 402], багат шаровому епітелії шкіри (враховуючи волосяні фолікули) [402, 409], мієлоцитах кісткового мозку [402], епітелії окремих протоків підшлункової й передміхурової залоз [361, 402, 404], екзоцервіксі та плаценті

[402]. У супереч цьому є дані про відсутність SEACAM6 у частині вищеназваних органів, наприклад молочній залозі [410].

У нормі у людини наявна секреторна форма SEACAM6 (sSEACAM6) у сироватці крові, рівень якої становить у середньому 18,8 нг/мл (від 15,1 нг/мл до 28,9 нг/мл). Незначне їх коливання виявлено під час вагітності – вищі показники в 1-му та 3-му триместрах [76].

Хоча SEACAM6 не має трансмембранного домену, він здатний ефективно регулювати внутрішньоклітинне передавання сигналів. Білки, зв'язані з GPI-якорем, агрегуються на поверхні плазматичної мембрани, утворюючи мікродомени, також відомі як «ліпідні рафти (плоти)» [411]. Саме завдяки цьому механізму SEACAM6 здатний модулювати передавання сигналів і в кінцевому підсумку координувати поведінку клітин. Кавеолін-1-опосередкована активація SRC із фосфорилуванням її субстрату FAK бере участь у набутті клітинами стійкості до апоптозу в результаті крос-функціональної взаємодії SEACAM6 з VxPC3 [56, 412]. SRC є ключовою молекулою прогресування пухлин, яка може передавати онкогенні сигнали, модулюючи виживаність клітин, інтенсивність мітогенезу, інвазію, ангиогенез та метастазування [413]. Також кавеолін-1 – це інтегральний мембранний білок, необхідний для SRC-залежної активації сигналів інтегрину [414]. АКТ і SRC, діючи разом, сприяють метастазуванню пухлин, активуючи сигнальний шлях PI3K/АКТ.

Експресія SEACAM6 прямо пов'язана з посиленням активності IGF-I та IGF-IR, яка відображається на ініціюванні клітинної інвазивності, проліферації та посиленні ангиогенезу [56, 415, 416]. Активація АКТ стимулює надрегуляцію IGF-IR. Надмірна експресія SEACAM6 через IGF-I підвищує активність SRC, АКТ та MMP2. З іншого боку, АКТ може відповідати за підвищення регуляції IGF-

IR у клітинах із надмірною експресією CEACAM6 [417]. CEACAM6-залежна надекспресія IGF-I призводить до посилення експресії та активності MMP2. Активація сигнального шляху АКТ також призводить до зменшення деградації MMP2 [418]. IGF-I сприяє агресивності пухлини за рахунок підвищення рівня мембранної MMP1, що призводить до активації MMP2 за допомогою РІЗК/АКТ-опосередкованої трансдукції сигналів [419]. SRC-залежна транскрипційна регуляція активності MMP-9 (спричинена надмірною експресією CEACAM6) значною мірою посилює клітинну інвазію. Інгібування SRC нівелює інвазивність клітин аденокарциноми підшлункової залози через дефосфорилування SRC та пригнічення активності MMP2 та MMP9 [417].

CEACAM5 та 6 разом з a5b1 локалізуються в одному і тому самому конкретному ліпідному рафті [263], що може бути індикатором їх крос-функціональної активності. CEACAM6 є багатофункціональним глікопротеїном, який опосередковує гомофільне зв'язування з іншими членами сімейства SEA та гетерофільне зв'язування з рецепторами інтегрину [108].

CEACAM6 здатний активувати адгезію нейтрофілів до ендотеліальних клітин людини [420]. Він також впливає на пухлинне мікрооточення завдяки тісній взаємодії з інтегринами. Інтегрин avb3 бере активну участь в адгезії ракових клітин до ПКМ, водночас безпосередньо впливаючи на адгезію, міграцію, проліферацію та виживаність клітин. CEACAM6 сприяє активації та приєднанню нейтрофілів до фібронектину та вітронектину ПКМ [421, 422]. Узагальнена схема участі CEACAM6 у клітинній трансдукції сигналів зображена на рисунку 18.

CEACAM6 відіграє імуномодулюючу роль при деяких інфекційних захворюваннях людини [423]. Він може діяти як адгезивний рецептор для проникнення *E. coli* та

Neisseriae в організм людини [424, 425]. Установлена участь CEACAM6 у канцерогенезі, опосередкованому *Helicobacter pylori* [426].

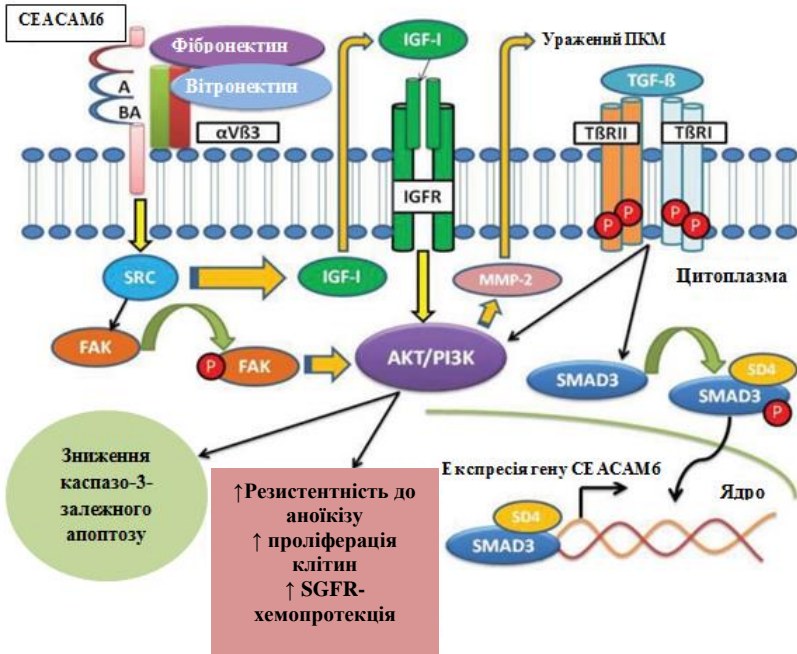


Рисунок 18 – Схема участі CEACAM6 у клітинній трансдукції сигналів [417]. CEACAM6-залежна активація SRC посилює секрецію IGF-I з подальшою аутокринною та паракринною стимуляцією IGF-1R, активуючи сигнальний шлях PI3K/AKT. Підвищена експресія IGF-I призводить до синтезу та активації MMP2 і деградації ПКМ. TGF- β зв'язується з рецепторами до нього (TBR1), сприяючи гетеротетрамеризації інших його рецепторів (TBR2), водночас посилюючи фосфорильовання SMAD3. Фосфорильований SMAD3 утворює комплекс із Co-Smad (SD4), який переміщується в ядро, зв'язуючи промотори генів та активуючи експресію генів-мішеней, зокрема CEACAM6. Також TGF- β через TGF- β -рецептори активує альтернативний шлях сигналізації AKT/PI3K

5.2 Експресія CEACAM6 у пухлинах

Дерегуляція CEACAM6 уперше була помічена в лейкоцитах при хронічному мієлоїдному лейкозі [427] та в дитячому віці при гострих В-лімфобластних лейкеміях [428]. Гіперекспресія CEACAM6 при поліпах та аденомах товстої кишки вважалася найбільш ранньою передпухлинною молекулярною зміною [402], а їх надекспресія в КРР свідчила про гіршу загальну виживаність хворих, дозволяючи розділити пацієнтів на групи з низьким та високим ризиком [380]. Втрата клітинної поляризації супроводжується додатковою (поряд з апікальною) експресією CEACAM6 у цитоплазмі та на базолатеральних полюсах мембрани колоноцитів [402]. Деполяризація клітин зі зміною патернів експресії CEACAM5 та 6 може ініціювати розвиток пухлин, сприяючи поверненню (реверсії) одношарового епітелію товстої кишки до ембріональної багатшарової конфігурації [402]. Повідомлялося також, що CEACAM5 та 6, але не CEACAM1, інгібують диференціацію клітин у разі ектопічної експресії в Л6-міобластах і адипоцитах, а також за надмірної експресії в колоноцитах [429], що може сприяти розвитку пухлин.

CEACAM1 та 6 можуть вивільнятися в кров із різних лейкоцитів (основним їх джерелом у крові є епітеліальні клітини) [27, 193, 282]. Тому як індикатори пухлинного росту вони є менш надійними, ніж коливання CEACAM5, які продукуються виключно епітеліальними клітинами. Ураховуючи значні коливання CEACAM6 у різних людей у нормі, було запропоновано їх використовувати під час дослідження крові лише в післяопераційному періоді після видалення пухлин товстої кишки. Лише тоді різке зростання CEACAM6 може бути індикатором рецидивування захворювання.

Більш детально опис впливу CEACAM6 на розвиток пухлинних процесів у різних органах висвітлено нижче.

5.2.1 Стравохід

Окрім багатоядерного плоского епітелію стравоходу виявлено фокусну експресію SEACAM6 у цитоплазмі та апікальній поверхні клітин його власних залоз. При стравоході Барретта (передраковому захворюванні стравоходу) позитивна ПГХ реакція спостерігається у 100 % випадків, при диспластичних його ураженнях – у 93,7 %, при аденокарциномах – у 66,6 % [430]. Спостерігається зростання експресії SEACAM6 при дедиференціюванні пухлин. Установлено, що варіабельність SEACAM6 за різних патологічних станів стравоходу супроводжується коливаннями кількості p53-позитивних клітин [430]. Хоча й допускається їх спільна участь у канцерогенезі стравоходу, ці дані повинні бути валідовані в подальших дослідженнях.

5.2.2 Шлунок

Рівень експресії SEACAM6 набагато вищий у SNU-16 та MKN-28 клітинах раку шлунка порівняно з SGC-7901 і MKN-45 клітинами. Ініціювання експресії SEACAM6 кДНК-трансфекцією у клітинних лініях раку шлунка MKN-45 і SGC-7901 призводить до зростання їх інвазивного та метастатичного потенціалу. Натомість міРНК-опосередковане пригнічення SEACAM6 у клітинах MKN-28 та SNU-16 нівелює їх здатність до поширення. Міграційна здатність SEACAM6-позитивних клітин легко інгібується додаванням анти-SEACAM6 mAbs. Необхідно зазначити, що фосфорилування SRC було виражене за надмірної експресії SEACAM6 у клітинах SGC-7901, що свідчить про участь кіназної модифікації SGC-7901 як ініціативного етапу пухлинної трансформації клітин [431].

Завдяки вимірюванню рівня мРНК SEACAM6 за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції в реа-

льному часі встановлено, що тканина аденокарцином шлунка має статистично вищі їх показники. Крім того, оточуюча тканина, що прилягає до пухлини (на відстані до 5 мм), має також вищі показники мРНК SEACAM6 порівнянно з нормальною слизовою оболонкою шлунка [432]. У цьому дослідженні виявлено цитоплазматичну та/або мембранну (іноді навіть ядерну) експресію SEACAM6 у пухлинних клітинах (90,7 % випадків). Зі свого боку, інтактні епітеліальні клітини були SEACAM6-негативними. Поодинокі розкидані стромальні клітини також мали цитоплазматично-ядерну експресію SEACAM6. Зростання кількості цих білків у неопластичних клітинах, властиве більш запущеним стадіям раку шлунка, супроводжувалося посиленням метастазування в лімфатичні вузли та скороченням післяопераційної виживаності пацієнтів (у середньому 17 місяців). Водночас розміри пухлини та їх гістологічний тип, а також вік пацієнтів не впливали на експресію SEACAM6, хоча й виявлено тенденцію до більш вираженої реакції у високодиференційованих пухлинах [432]. Дослідження, проведені Y. Zhang та ін., підтвердили ці результати – серед 101 хворого на рак шлунка у 78,2 % виявлено надекспресію SEACAM6, яка позитивно впливала на метастазування пухлин у лімфатичні вузли та не залежала від інших параметрів пухлини [431].

Натомість в іншому дослідженні надекспресія SEACAM6 при раку шлунка не мала зв'язку з їх клініко-морфологічними особливостями новоутворень [433], хоча рівень ДНК SEACAM6 у периферичній крові, виявлений за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі, корелював зі стадією захворювання [434].

5.2.3 Товстий кишківник

Упродовж останніх 20 років було оприлюднено значну кількість даних про високу ефективність SEACAM6 як

прогностичного маркера та терапевтичної мішені при КРР. Під час дослідження 243 зразків пухлин було виявлено залежність між рівнем експресії CEACAM6 та чутливістю до 5-фторурацилу [380]. Незважаючи на відносно незначні рівні експресії цього білка (55 %) порівняно із CEACAM5 (94 %), багатофакторний Cox-аналіз чітко свідчить про те, що надекспресія CEACAM6 є незалежним прогностичним маркером загальної виживаності ($p < 0,01$) та виживаності без рецидивування ($p < 0,0028$). Метастатичне поширення пухлин у печінку в 50 % випадків супроводжується зростанням рівня експресії CEACAM6 у вторинних вогнищах [361]. Пригнічення експресії CEACAM6 у клітинах LoVo з використанням CEACAM6-специфічної міРНК або посилення їх експресії в клітинах HCT116 відповідно інгібує та посилює інвазію їх через позаклітинний матрикс [435]. Важливим є і той факт, що супресія CEACAM6 призводить до підвищення активності промотору E-кадгерину, що свідчить про участь CEACAM6 у метастазуванні.

Експериментальні дослідження підтвердили участь CEACAM6 у сприянні метастатичного поширення КРР шляхом оброблення клітин карциноми товстої кишки (GW-39) людини Fab-фрагментами mAbs (MN-15, MN-3 та MN-14) з подальшим дослідженням метастазів у легені [369]. Антитіла MN-3 і MN-15 розпізнають відповідні епітопи в N- та A1B1-доменах CEACAM5 і 6, тоді як mAb MN-14 виключно зв'язуються з епітопом A3B3 молекули CEACAM5. mAb MN-14 не протидіяло метастазуванню в легені, тоді як mAbs MN-3 і MN-15 проявляли антиметастатичні ефекти *in vivo*, за умови, що антитіла вводили до того, як клітини надходили до циркуляції.

Підвищена експресія CEACAM6 пов'язана з пригніченням диференціації та аноїкізу в пухлинних клітинах товстої кишки [367], прямою кореляцією зі стадією захворювання та метастатичним потенціалом новоутворень

[380]. Надекспресія CEACAM6 у клітинах KPP посилює їх інвазивний потенціал, корелюючи з його гіперекспресією в метастазах печінки [435].

5.2.4 Печінка

Експресія CEACAM6 у пацієнтів після хірургічного лікування внутрішньопечінкової холангіокарциноми супроводжувалася більшими розмірами первинного ураження та більш запущеною стадією захворювання [436]. Надекспресія CEACAM6 знижувала виживаність пацієнтів.

Пухлинні клітинні лінії (TFK-1) з експресією CEACAM6 мали більшу стійкість до гемцитабіну, ніж CEACAM6-негативні неопластичні клітини (HuCC-T1 та MEC). Імплантація CEACAM6-індукованих клітин HuCC-T1 (через трансфекцію генів) мишам супроводжувалася посиленою їх проліферацією та інвазією, а також хіміорезистентністю до гемцитабіну. І навпаки, «замовчування» гена CEACAM6 в клітинній лінії TKF-1 призводило до підвищення хіміочутливості до гемцитабіну [436].

5.2.5 Підшлункова залоза

CEACAM6 є важливим маркером при раку підшлункової залози [243], в якому його найвища експресія виявлена в помірно диференційованих аденокарциномах [361]. Надекспресія CEACAM6 була виявлена в high-grade PanIN, порівняно з low-grade PanIN [437]. CEACAM6-негативний профіль аденокарцином пов'язаний із відсутністю метастазів у лімфатичні вузли та віддалені органи, зниженням стадії захворювання та підвищенням післяопераційної виживаності [243, 417, 437]. «Замовчування» CEACAM6 позбавляло набутої стійкості до аноїкізу пухлинних клітин підшлункової залози (Mia-AR) та гальмувало метастатичне поширення до печінки [438]. Надмірна експресія CEACAM6 у ракових клітинах підшлункової залози

Sarpan2 посилює їх резистентність до гемцитабіну, тоді як міРНК-опосередковане пригнічення експресії SEACAM6 у клітинах VxPC3 хемосенсибілізувало їх до препарату, модулюючи активність Src-залежного АКТ [439].

Гіперекспресія SEACAM6 проявляється також активацією та підвищеною експресією MMP2 та MMP9 [440–442]. Надекспресія SEACAM6 у культурі клітин аденокарциноми підшлункової залози супроводжується зростанням їх проліферативної активності, інвазивного потенціалу, зменшенням чутливості до хіміотерапевтичних препаратів, порівняно з клітинами з нормальним рівнем SEACAM6. Разом із SEACAM5 вони інгібують апоптоз/аноїкіз, ще більше підкреслюючи їх роль в аберантному рості [56].

Клітини підшлункової залози VxPC3 з надекспресією SEACAM6, зв'язані зі специфічними анти-SEACAM6 mAbs (BuA114), показали, що інтерналізація SEACAM6 супроводжується більш високим каспазозалежним апоптозом та зменшенням об'єму пухлин у мишей [443]. Подальші проведені доклінічні дослідження з використанням більш специфічних анти-SEACAM6 mAbs, кон'югованих із мертанзином (відомим як DM1), підтвердили попередні дані щодо розподілу SEACAM6 в аденокарциномах підшлункової залози та ефективності анти-SEACAM6 mAbs при специфічному зв'язуванні з пухлинами, без виникнення інших токсичних проявів в організмі мишей [444].

Виникнення злоякісних пухлин у підшлунковій залозі супроводжується статистично достовірним зростанням sSEACAM6 у плазмі крові (у середньому 2,9 мг/л), який у нормі становить 2,25 мг/л. Його зростання прямо пов'язано з посиленням метастатичного потенціалу новоутворень та стадією захворювання [243].

5.2.6 Молочна залоза

Досліджуючи загальний профіль експресії генів, установлено, що SEACAM6 є третьою найбільш надрегульованою молекулою серед генів, що показали достовірне підвищення при атипівій протоковій гіперплазії молочної залози (АПГМЗ) та карциномах, які розвиваються на їх фоні [445]. Мембранно-цитоплазматичну експресію SEACAM6 виявлено при АПГМЗ, простій часточково-протоковій гіперплазії, фіброзно-кістозній хворобі та внутрішньопротоковій папіломі молочної залози. Жодна зі стромальних клітин не експресувала ці білки. Надмірна експресія SEACAM6 при АПГМЗ є чітким предиктором виникнення РМЗ. Прогностична цінність цих білків є подібною до MMP1, а їх комбінація значно підвищує чутливість скринінгових досліджень патологій молочної залози [406]. Шляхом блокування рецепторів SEACAM6 вдається попередити взаємодію пухлинних клітин з ендотелієм та попередити їх інвазивний потенціал [369].

Ретроспективний аналіз 243 хворих на РМЗ показав виникнення резистентності до тамоксифену за надмірної експресії SEACAM6 пухлинною тканиною. Багатофакторний аналіз даних підтвердив, що SEACAM6 був важливим предиктором рецидивування захворювань та виживаності пацієнтів [446]. МіРНК-індуковане SEACAM6-«мовчання» в MMU1-тамоксифен-стійких клітинах (MCF7) повертає ендокринну чутливість і залежність цих клітин, яка була блокована надекспресією SEACAM6 [447].

SEACAM6 може бути важливим біомаркером метастазування РМЗ, оскільки його надмірна експресія в клітинах, стійких до тамоксифену та нечутливих до стероїдних гормонів, стимулює виражені інвазивні властивості клітин і незалежність їх росту, які були повністю нівельовані їх пригніченням [446–448].

Рівень експресії SEACAM6 був значно вищим у папілярній карциномі молочної залози ($6,0 \pm 2,1$) порівняно з інвазивним протоковим ($5,1 \pm 2,5$) та часточковим ($4,0 \pm 0,8$) раком [361].

Серед 840 інвазивних РМЗ експресія SEACAM6 виявлена в 37,1 % випадків [449], з найвищими показниками у Her2/neu-позитивних (67 %) та найнижчими – в потрійно-негативних (25 %) пухлинах. Рівень SEACAM6 не корелював зі ступенем диференціювання пухлин, метастазами у лімфатичні вузли, розмірами первинного вогнища, наявністю ER, PR, Ki-67, EGFR, віком хворих та отримуваним лікуванням. Найвища експресія SEACAM6 у неопластичних клітинах була у разі метастазування в кістки. Не виявлено впливу SEACAM6 на загальну виживаність хворих.

Один із можливих механізмів високої експресії SEACAM6 при Her2/neu-позитивному раку може бути пов'язаний із TGF β -опосередкованим сигнальним шляхом. SEACAM6 є основним таргетним геном для SMAD3-опосередкованої TGF β -сигналізації [450]. Her2/neu-опосередкована сигналізація може взаємодіяти з TGF β у транскрипційному регулюванні SMAD-підпорядкованих генів та шляхів [451]. Her2/neu-сигналізація індукує фосфорилування SMAD3 і подальшу експресію MMP 9 у клітинах РМЗ [452]. EGF також може викликати фосфорилування SMAD3 та надекспресію SEACAM6. Крім того, фосфорилування SMAD3 істотно пов'язане з експресією Her2/neu саме у SEACAM6-позитивному, але не негативному раку [452]. Отже, Her2/neu-сигналізація за участі компонентів сигнального шляху TGF β може опосередковувати експресію SEACAM6.

За допомогою епігенетичного аналізу промотору SEACAM6 за різних первинних новоутворень молочної залози виявлено зниження рівня експресії SEACAM6 пухлинними клітинами під час його гіперметилування в по-

трійно-негативних карциномах [453]. Висловлюється припущення про аберантне гіперметилування ДНК промотору SEACAM6 шляхом надекспресії DNMT3b, ДНК метилтрансфераз та метилувально-залежного «замовчування» експресії SEACAM6, що є провокуючими факторами прогресування РМЗ.

Метастатичне поширення злоякісних пухлин молочної залози та легень супроводжується як різноспрямованим коливанням рівня експресії SEACAM6, так і його відповідністю первинним вогнищам [361].

5.2.7 Яєчка

Існують поодинокі повідомлення про наявність та експресію (більш виражену на 6-му тижні постнатального періоду) SEACAM6 у клітинах Сертолі яєчок шурів (його нового варіанта сплайсингу SEACAM6-L) [454, 455]. Хоча ці дані є доволі сумнівними, оскільки переважна кількість даних свідчить про існування в тканинах шурів лише SEACAM1 [26, 41]. SEACAM6-L локалізується на мембрані клітин Сертолі в ділянках контакту зі статевими клітинами, де формуються апікальні ектоплазматичні спеціалізації. Вони беруть участь у прикріпленні сперматид до клітин Сертолі та вивільненні сперматозоїдів у просвіт звивистих каналців яєчок (сперміації) [455]. Крім того, виявлено асоціацію SEACAM6 із віментином у клітинах Сертолі, де він може брати участь у його структуруванні [454].

5.2.8 Голова та шия

Вогнищева експресія SEACAM6 посилює прогресування пухлин при плоскоклітинному раку голови та шиї, інгібуючи апоптоз [456]. Високоагресивні пухлинні клітинні лінії (Detroit 562, Cal27 та FaDu) мали підвищений рівень SEACAM6 порівняно з менш агресивними клітин-

ними лініями (SCC25, SCC9 та SCC15) [457]. Надекспресія SEACAM6 у клітинній лінії Detroit 562 була пов'язана з пригніченням апоптозу за участі каспази 3 [456]. SEACAM6-опосередкована активація сигнального шляху РІЗК/АКТ призводить до посилення проліферації клітин і є мішенню при плоскоклітинному раку голови та шиї [456].

5.2.9 Легені

Серед SEACAM6-позитивних злоякісних пухлин легень (аденокарцином, плоскоклітинного раку, нейроендокринних злоякісних пухлин) найвищу експресію виявлено у високо та помірно диференційованих аденокарциномах, найнижчу – у низько диференційованих плоскоклітинних пухлинах [361].

В аденокарциномах легень експресія SEACAM6 мала істотний вплив на несприятливість клінічного перебігу захворювання, тоді як експресія SEACAM3 свідчила про кращий прогноз [113]. У клітинах раку легенів A549 SEACAM6 сприяє їх проліферації [52], яка досягається ослабленням контакт-інгібуючого впливу SEACAM1-L на інтенсивність поділу клітин.

SEACAM6 може використовуватись як маркер щодо чутливості злоякісних пухлин легень до терапії інгібіторами EGFR [458, 459]. У пацієнтів з мутаціями EGFR більшість SEACAM часто були надмірно вираженими. Однак у 115 пацієнтів з аденокарциномою легень без мутації EGFR надекспресія SEACAM6 також спостерігалася, маючи несприятливий вплив на перебіг захворювання.

5.2.10 Гемопоетична тканина

Гострий лімфобластний лейкоз. Установлено ектопічну експресію SEACAM6 при В-клітинній лімфобластній лейкемії (В-КЛЛ) за відсутності в інших бластних формах лейкозів [460]. Порівняно з нормальними гранулоцитами в

усіх зразках виявлено надекспресію CEACAM6 та CEACAM8. Крім того, експресія мРНК CEACAM6 також була високою в пацієнтів із В-КЛЛ (> 90 %) порівняно з іншими клітинними лініями лейкемій [460]. Однак на сьогодні відсутні відомості про клінічну значущість експресії CEACAM6, вплив на прогноз захворювання та чутливість до лікування при В-КЛЛ. Експресія CEACAM6 у цитоплазмі множинних клітинних лейкемічних ліній людини наявна незалежно від експресії її на поверхні клітин [461]. Більшість лейкозів мають тенденцію до дерегуляції рівнів CEACAM6 та 8. Крім того, дерегуляція CEACAM6 сприяє апоптозу через посилення активності каспаз та зниження регуляції АКТ-залежного шляху виживаності клітин, що виправдовує пригнічення CEACAM6 при гострих лейкеміях.

Множинна мієлома. При ММ експресія CEACAM6 сприяє злоякісності через механізми імунного ухилення. Установлена роль CEACAM6 в інгібуванні Т-клітинної відповіді на мієломні клітини [462]. Хоча цитотоксичні Т-клітини (cytotoxic T-lymphocyte – CTL) є функціональними компетентними клітинами протипухлинного захисту, вони мають дуже низьку клітингову спроможність проти мієломних пухлинних клітин [463], що здатні блокувати їх ефекторні функції. CTL реагують на антигени ММ, коли вони представлені аутологічними ДК пухлинного мікроточення, але не безпосередньо клітинами ММ. Пухлинні клітини ММ надекспресують декілька CEACAM (CEACAM1, 6 та 8). CEACAM6-опосередкована взаємодія мієломних клітин з CTL гальмує їх активацію, модулюючи Т-клітинну толерантність. Блокування CEACAM6 на поверхні клітин ММ за допомогою mAb або міРНК, які «замовчують» CEACAM6, відновлює реактивність Т-клітин проти злоякісних плазматичних клітин. Це призвело до збільшення секреції IFN- γ та перфोरину CTL, сприяючи апоп-

тозу клітин ММ [462]. Запропонований механізм полягає в тому, що ММ-клітини уникають розпізнавання CD8⁺-Т-клітинами посередництвом експресії СЕАСАМ6. Відповідно СЕАСАМ6 відіграє вирішальну роль у регуляції CD8⁺-відповіді порівняно з ММ, що аргументує використання СЕАСАМ6 як нового терапевтичного напрямку під час інгібування імунних контрольних точок ММ [417].

Висловлюються припущення про участь СЕАСАМ6 у варіабельності ПКМ та імунного мікрооточення медулярного раку щитоподібної залози [464]. Їх експресію встановлено при РПЗ, що разом із СЕАСАМ5 не перевищували показників інтактної тканини та не залежали від стадії захворювання чи індексу Глісона [361]. Серед СЕАСАМ6-позитивних герміногенних та негерміногенних пухлин яєчників найвищу експресію мали муцинозні аденокарциноми [361].

Особливості впливу експресії СЕАСАМ6 на перебіг неопластичних процесів та перспективність використання анти-СЕАСАМ6 mAbs як таргетної терапії злоякісних пухлин зображено на рисунку 19.

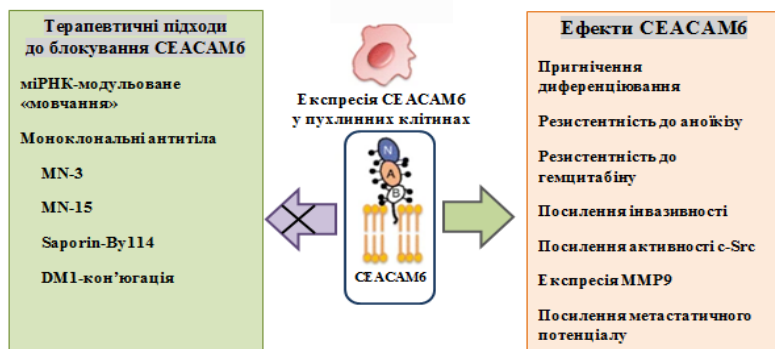


Рисунок 19 – Особливості впливу експресії СЕАСАМ6 на перебіг неопластичних процесів [32]. Надмірна експресія СЕАСАМ6 пухлинними клітинами сприяє погіршенню прогнозу захворювання, водночас будучи прогностичним маркером (ліворуч) і терапевтичною мішенню (праворуч)

Узагальнені ефекти надекспресії SEACAM6 на прогресування пухлин зображено в таблиці 2 [417].

Таблиця 2 Узагальнені ефекти надекспресії SEACAM6 на прогресування пухлин [417]

Пухлина	Механізм дії
Рак товстої кишки	Інгібування диференціювання, втрата клітинної поляризації, порушення тканинної архітекτονіки та резистентність до аноїкізу
Аденокарцинома підшлункової залози	Посилення резистентності до аноїкізу, IGF-1-залежне зростання метастатичного потенціалу клітин за рахунок експресії протеолітичних ферментів MMP2 та MMP9, підвищення хеморезистентності за участі SRC-AKT-сигнального шляху, підвищення проліферативної активності клітин
РМЗ	Підвищення проліферативної активності клітин, їх міграційного та інвазивного потенціалу за участі SRC-AKT-сигнального шляху; Her2/neu-опосередкована сигналізація через компоненти шляху TGF- β може стимулювати експресію SEACAM6
Холангіокарцинома	Підвищення проліферативної активності та інвазивності клітин, хеморезистентність до гемцитабіну, підвищення інвазії лімфатичних судин
Аденокарцинома легень	Підвищення проліферативної активності клітин, незалежність росту
Рак шлунка	Фосфорилування SRC призводить до інвазії та метастазування пухлин
Медулярний рак щитоподібної залози	Підвищення проліферативної активності клітин, міграції та інвазивності посередництвом ремоделювання ПКМ, незалежність росту.
Плоскоклітинний рак голови та шиї	Посилення росту пухлини за рахунок пригнічення PI3K/AKT-опосередкованого апоптозу клітин
В-ЛЛ	Попередження AKT-залежного аноїкізу клітин
Множинна мієлома	Інактивація CTL шляхом взаємодії з пухлинними плазматичними клітинами, що призводить до нівелювання Т-клітинного імунного кліінгу

Зростання рівня sCEACAM6 у плазмі крові виявлено у пацієнтів із раком легень, підшлункової та молочної залози, печінки та товстої кишки. Не виявлено кореляції між його кількістю й рівнем CEACAM5 [465].

Експресія CEACAM6 є також більш вираженою, ніж CEACAM5, у тканинах аденокарцином молочної залози, підшлункової залози, яєчників, матки, шлунка, кишківника та легенів [27, 435], зі значно вищими їх показниками в сироватці крові [465]. Це було підтверджено в клітинних пухлинних лініях молочної залози, яєчників, кишківника, підшлункової та передміхурової залоз, легень [369]. Наведені дані є передумовою для використання CEACAM6 як специфічного маркера для ряду агресивних ракових захворювань [32].

5.3 Використання CEACAM6 у таргетній терапії та діагностиці пухлин

CEACAM6-позитивні клітини аденокарциноми підшлункової залози при блокуванні CEACAM6 мають значно нижчу проліферативну активність (на 68 %) порівняно з контрольними клітинами, що також супроводжується пригніченням ангіогенезу та посиленням апоптозу [443]. Крім того, міРНК-опосередковане «замовчування» CEACAM6 нівелює метастазування пухлин та покращує виживаність пацієнтів за умови відсутності будь-якої токсичності.

Імунотерапевтичні підходи під час лікуванні злоякісних пухлин бувають прямими та непрямими. Непрямий підхід передбачає використання анти-CEACAM6 мишачих mAbs Ву114, позбавлених прямої протипухлинної активності, з подальшою антипухлинною активністю сапорину [466]. Використання Ву114 призводить до накопичення їх у цитоплазмі, що підвищує ефективність імунотерапії сапорином, індукуючи каспаз-опосередкований апоптоз [443]. Прямий імунологічний ефект досягається за рахунок

безпосереднього впливу CEACAM6 на фенотипічні особливості пухлинних клітин. Як зазначалося раніше, додавання анти-CEACAM6 mAbs MN-15 та MN-3 призводить до зниження адгезії пухлинних клітин до ПКМ та нівелювання метастатичного потенціалу, пригнічуючи ріст новоутворень [369].

Більше ніж 10 років тому було виділено гуманізований варіабельний одноланцюговий анти-CEACAM6 фрагмент (scFv). Внутрішньоперитонеальне його введення мишам двічі на тиждень упродовж 4 тижнів показало пригнічення росту пухлини за рахунок вираженого апоптозу неопластичних клітин, а також пригнічення ангиогенезу та проліферативної активності клітин [467]. Гуманізований scFv спочатку спричинив пригнічення росту пухлини приблизно на 25 %. Проте в разі додаткового застосування гемцитабіну пригнічення росту пухлини збільшувалося більше ніж на 50 %. Це дослідження демонструє унікальність анти-CEACAM6 scFv, що індукує апоптоз пухлинних клітин, який може бути посилений комплемент-залежною цитотоксичністю стандартних хіміотерапевтичних препаратів.

Кон'югація анти-CEACAM6 антитіл із лікарськими засобами досліджено в моделі ксенотрансплантата миші клітин раку підшлункової залози [444]. Пухлинний ріст помітно пригнічувався під час використанні імунокон'югатів. Установлено також безпечність даного виду лікування у приматів. Експресія CEACAM6 в гемопоетичних клітинах-попередниках, зокрема найбільш ранніх мієлоїдних клітинах (CD34⁺/CD38⁺/CD33⁺), була нижчою за експресію в зрілих гранулоцитах. Введення разової дози анти-CEACAM6 mAbs із лікарським засобом призводило до нейтропенії. Некон'юговані анти-CEACAM6 mAbs не мали протипухлинної активності і призводили до оборотної невираженої нейтропенії.

Однодоменне антитіло (*single domain antibody – sdAb*), націлене на SEACAM6, відоме також як 2A3, зв'язується з SEACAM6 на поверхні клітини. Гемцитабін і 2A3 зменшують проліферацію ракових клітин, однак лише 2A3 зменшує інвазію неопластичних клітин та ангиогенез у пухлинній масі, а також активність MMP9. Крім того, 2A3 і 2A3-Fc гальмують інвазію та ангиогенний потенціал клітин аденокарциноми підшлункової залози ВхРС3 [468]. Анти-SEACAM6 mAb L-DOS47, кон'юговане з рослинною уреазою, створює лужне середовище в пухлинному вогнищі. На сьогодні продовжується їх дослідження як монотерапії при НДКРЛ.

Оскільки SEACAM6 експресується на мієлоїдних клітинах, пухлини із запальним інфільтратом, ймовірно, ініціюють пряму взаємодію між неопластичними клітинами та нейтрофілами. Установлення цих молекулярних міжклітинних взаємодій у пухлинному мікрооточенні може надати велику кількість інформації для подальшого покращання методів лікування [417].

Участь SEACAM6 у пригніченні чутливості клітин РМЗ до тамоксифену [447, 464] відкриває новий напрямок у лікуванні карцином цієї локалізації. Можливість блокування SEACAM6 та їх функціональної активності з наступною реактивацією чутливості до стероїдних гормонів [464] може покращити ефективність антигормональної терапії при РМЗ.

Показано ефективність використання флуоресцентно-кон'югованих антитіл SEACAM6 як діагностики в реальному часі при патологіях шлунка (лише за умов патології наявна експресія SEACAM6), що може бути використано під час ендоскопічного дослідження шлунково-кишкового тракту [430].

Розділ 6

Інші представники CEACAMs

6.1 CEACAM3

CEACAM3 експресуються виключно гранулоцитами в людей. Вони мають єдиний позаклітинний варіабельний домен, але не вступають у гомо- або гетерофільні взаємодії з іншими представниками сімейства SEA. CEACAM3 мають інтрацитоплазматичний ITAM, задіяний в активації сигнальних шляхів у клітинах. У дослідженнях виявлено, що CEACAM3 може фосфорилуватися тирозинкіназами сімейства Src, зокрема Hck та Fgr, які активуються під час взаємодії інфекційних патогенів із фагоцитами людини.

Нещодавні дослідження продемонстрували участь CEACAM3 як рецептора до *H. pylori* (опосередковане NorQ), *E. Coli* та *C. albicans* [101, 469, 470]. Бактерії, які взаємодіють із CEACAM3, ефективно поглинаються фагоцитами опсонін-незалежним шляхом за участі неушкодженого ITAM [471]. Підтвердженням цього є блокування фагоцитозу та кліренсу бактерій гранулоцитами при додаванні анти-CEACAM3 mAbs до фагоцитарних клітин [472].

Отже, ці висновки дозволяють стверджувати, що CEACAM3, для якого до цього часу не виявлено ендогенного ліганду та не знайдено жодного гомолога в інших видів ссавців, є специфічним представником CEACAM, який еволюційно виник у людей, підтримуючи природжений імунний контроль проти специфічних бактеріальних збудників [35, 107].

6.2 CEACAM7

CEACAM7 виявлено в епітеліальних клітинах окремих органів (внутрішня частина (диференційовані клітини) крипт товстого кишківника, окремі ділянки малих проток

підшлункової залози) [402, 235]. Існує дві форми сплайсингу SEASAM7 – SEASAM7-1 та -2 [473]. Досліджуючи експресію SEASAM5, 6 та 7 упродовж фетального періоду (з 18-го до 35-го тижня вагітності), виявлено наявність цих білків на апікальній поверхні колоноцитів упродовж усього періоду спостереження з їх подальшим збереженням після народження. Впродовж фетального періоду SEASAM7 виявляли додатково у перинуклеарних просторах (внутрішньоцитоплазматично) клітин. Завершення внутрішньоутробного періоду супроводжувалося повним зникненням SEASAM7 із цитоплазми клітин і збереженням їх виключно на апікальній частині мембран колоноцитів [402]. Було зроблено припущення, що SEASAM7 акумулюється в цитоплазмі у фетальному періоді, коли його функціонування не потрібне для плода, і переміщується на апікальну поверхню, якщо він стає необхідним для дитини (після народження). Необхідно зазначити, що цей феномен не був властивий SEASAM5 та 6.

SEASAM7 бере участь у регуляції диференціювання клітин [402]. Дерегуляція експресії SEASAM7 спостерігається на початку онкогенезу при KPP – зниження експресії виявлено в аденомах та гіперпластичних поліпах ободової кишки [235, 402, 474], а також при раку прямої кишки [80, 235, 475]. Неопластична трансформація в товстій кишці у вигляді аденом, гіперпластичних поліпів та аденокарцином супроводжується дерегуляцією SEASAM7 [402, 474]. При раку прямої кишки спостерігається зниження експресії SEASAM7 у пухлинній тканині у 21 раз щодо норми. Зростання експресії цих білків супроводжується зниженням виживаності пацієнтів та рецидивуванням новоутворень [475].

Натомість кількість мРНК SEASAM7 зростає при карциномі шлунка [476] та муцинозній аденокарциномі яєчників [474].

У 31 % випадків раку шлунка виявлено наявність SEACAM7, що корелює з експресією SEACAM5 [477]. SEACAM7 частіше виявляється в низько диференційованих карциномах зі значним переважанням у дифузному типі раку шлунка та корелює з наявністю метастатичного поширення цих пухлин [477]. У цьому ж дослідженні не виявлено експресії SEACAM7 у клітинах нормальної слизової оболонки шлунка, хоча 12 % випадків хронічного атрофічного гастриту, 29,1 % low-grade та 28,9 % high-grade випадків GIN мали експресію SEACAM7. Ці білки локалізувалися на апікальній поверхні клітин при атрофічному гастриті та GIN. Рак шлунка супроводжувався експресією цього білка по всій поверхні пухлинних клітин. Виявлено погіршення прогнозу перебігу захворювання (однорічна і трирічна виживаність) в разі експресії неопластичними клітинами SEACAM7 [477]. На підставі одержаних результатів рекомендовано використовувати визначення експресії SEACAM7 як скринінгового методу під час визначенні передракового ураження шлунка.

Коекспресія SEACAM7 і 6 та FAS-рецепторів (за їх участі запускається зовнішній шлях апоптозу), а також наявність фрагментації ДНК у SEACAM7-позитивних клітинах є індикаторами їх участі в запрограмованій загибелі клітин [402]. Під час дослідження проліферативної активності (експресія Mib-1) клітин в аденомах товстого кишківника виявлено протилежні результати – при «переміщенні» експресії Mib-1 із базальних відділів в апікальному напрямку відбувалося поступове зникнення SEACAM7 [402].

6.2 SEACAM4, 8, 16, 20

Патерни експресії SEACAM4 на сьогодні чітко не встановлені, хоча висловлюють припущення про їх наявність у злякисних клітинах при мієлолейкозі і Т/В-лімфобластних лейкоміях [27,41].

CEACAM8 обмежений експресією виключно в гранулоцитах людини (його не виявлено в жодному з типів епітеліальних пухлин). Його широко використовують для ідентифікації, диференціації та активації гранулоцитів людини [41, 137, 478].

Необхідно зазначити, що, незважаючи на доволі добре проаналізовані властивості CEACAM1-8, досить мало одержано інформації про CEACAM9-21.

CEACAM16 у людей розміщений на хромосомі 19q13.31 поряд із геном, що відповідає за слух (DFNA4). CEACAM16 секретується зовнішніми кохлеарними волосковими клітинами, з'єднуючись з α -текторином. Тому будь-які порушення щодо функціонування CEACAM16 можуть відобразитися на якості слуху [479].

Транскрипти CEACAM20 виявлено в простаті, клітинах Лейдіга яєчок та шлунково-кишковому тракті (порожня, клубова, сліпа та ободова кишки) [31, 109]. У передміхуровій залозі їх експресію виявлено на апікальній поверхні ацинарно-протокового епітелію. Неопластична трансформація та прогресування злоякісних пухлин у передміхуровій залозі супроводжуються зниженням експресії CEACAM20 [109]. У клітинній культурі передміхурової залози (hPrEC) його експресію спостерігали на апікальній поверхні залозисто- та тубулоподібних утворів. Установлено його домінуючу роль у структуруванні ацинусів передміхурової залози та утворенні в них просвітів. Спостерігається секреція CEACAM20 клітинами в живильні середовища, що доводить існування їх секреторних форм [109].

CEACAM20 наявний у мікроросинках епітеліальних клітин кишківника [31]. Функція їх у шлунково-кишковому тракті залишається не до кінця з'ясованою. Пригнічення експресії CEACAM20 в епітеліальних клітинах було виявлене при зменшенні кількості мікроорганізмів у тонкому кишківнику, що свідчить про регуляцію

CEACAM20 мікробіотою. На підтвердження цього бутират- або IFN γ -опосередкована індукція експресії CEACAM20 свідчить про її регульованість імунними медіаторами та мікробними метаболітами [480]. Зниження експресії цих білків виявлене при хворобі Крона [481]. Взаємодіючи із SAP-1, CEACAM20 бере участь у неопластичній трансформації клітин кишківника, а індукуючи синтез IL-8, ці білки задіяні в активації запальної реакції при колітах [482]. Висловлюються припущення про видову специфічність експресії CEACAM20 у людей і тварин, їх залежність від відділу кишківника (тонкий чи товстий), а також про їх властивість бути рецепторами до мікроорганізмів [296].

Висновки

Підсумовуючи всі вищезазначені дані, можна з упевненістю стверджувати, що SEACAMs беруть участь у численних фізіологічних та патологічних процесах у людському організмі. Вони є необхідною складовою в їх розвитку та існуванні. Крім того, задіяні в молекулярно-генетичних механізмах неопластичної трансформації клітин, відіграючи роль у кожному конкретному випадку інгібіторів ракових клітин або їх модуляторів (стимуляторів).

Відмінності щодо функціональної активності представників SEACAMs можуть залежати від значної кількості складових – рівня глікозилювання їх позаклітинних доменів; кількості та щільності SEACAMs на поверхні клітини; співвідношення між їх ізоформами, що постійно змінюється залежно від стану клітин, діючи як внутрішній функціональний перемикач; позаклітинних сигналів і, нарешті, взаємодії між іншими молекулами SEACAM в їх мікрооточенні.

SEACAM1 з'єднані з різними цитозольними білками, які варіюють від Src-подібних кіназ та SHP-1/SHP-2-фосфатаз до цитоскелетних білків, що сприяють передаванню сигналів. Варіабельність експресії SEACAM1 під час розвитку пухлини та їх метастазуванні, починаючи з низької або відсутньої експресії на ранніх стадіях повільно зростаючих новоутворень і завершуючи їх надекспресією в прогресивних метастатичних фазах того ж раку або при агресивних злоякісних пухлинах, підкреслює їх функціональну адаптивну гнучкість [32].

Проте існує ряд напрямків, які обов'язково необхідно дослідити в майбутніх дослідженнях. Це може бути досягнуто за рахунок отримання клітинних ліній з експресією

лише певного виду SEASAM1, а також SEASAM1-негативних клітинних ліній різних пухлин. Можливість впливати на SEASAM1-позитивні клітини є підґрунтям для встановлення їх взаємодії з іншими молекулами, включаючи інші типи SEASAM.

Окрім людей, представники сімейства SEASAM також наявні в інших 27 видів ссавців (щурів, собак, великої рогатої худоби та інших) [26]. Однак вони не мають експресії переважної більшості SEASAMs (миші, щури). У цих випадках *in vivo* використовують трансгенні моделі тварин (мишей) зі штучною бактеріальною хромосоною людини, що містить компоненти людського геному (SEASAM-вмісного), зокрема генів SEASAM1, 3, 5, 6 та 7 [483]. Це дозволяє дослідити особливості функціонування певного типу людського SEASAM або їх комбінації (SEAVAS-модель мишей). Патерни експресії тварин дуже подібні з людськими як у структурному, так і у відносному рівні, дозволяючи більш точно встановити функції цих молекул та провести доклінічне тестування ефективності та/або токсичності анти-SEASAM імунологічних терапевтичних препаратів.

Не може не привернути до себе увагу одержання іноді протилежних результатів різними групами вчених під час дослідження однієї й тієї самої проблеми. Це може бути пов'язане з популяційними особливостями пацієнтів, різним оточуючим середовищем, чутливістю і специфічністю використаних маркерів [305]. Наприклад, дослідження SEASAM1 проводили з використанням різних анти-SEASAM1 mAbs (4D1/C2 [430], GM8G5 [137], B3-17 [76], TЕС-11 [75] та інші), що, без сумніву, могло відобразитися на якісних та кількісних показниках одержаних результатів. Більше того, можливість ідентифікації цих білків залежить від методу їх дослідження, враховуючи неможливість їх виявлення на білковому рівні (під час ІГХ-дослідження)

за низьких їх концентрацій у клітинах, та можливості ідентифікації їх на рівні мРНК і ДНК у тканинах при використанні інших молекулярно-генетичних методик (полімеразна ланцюгова реакція, вестерн-блот та інші). Прикладом цього можуть бути легені, в тканині яких у нормі не виявлено експресії SEACAM1, хоча спостерігається наявність їх мРНК в альвеолярному епітелії [281].

Участь SEACAMs у канцерогенезі та протипухлинній імунній відповіді є дуже складною і не до кінця зрозумілою. Незважаючи на те, що впродовж більше ніж пів століття намагалися охарактеризувати їх роль в онкогенезі, на сьогодні немає єдиної думки щодо поведінки цих молекул адгезії в пухлинах людини. Вони співвзаємодіють із конкретними сигнальними факторами, білками та рецепторами залежно від місця їх експресії. Тому роль SEACAMs у розвитку пухлин пропонується розглядати окремо в кожному конкретному випадку залежно від типу клітин, тканин і патологічних станів. Коливання експресії SEACAM1, 5 та 6 у неопластичній тканині, з одного боку, може бути якісною ознакою пухлинного розвитку та прогресії, з іншого – вносити корективи до процесу карциногенезу за рахунок взаємодії з іншими прогностично-важливими білками. Вони є цінними прогностичними маркерами різних пухлин. Крім того, їх роль у прогресуванні пухлин, ухиленні від імунітету, ангіогенезі та інвазії робить SEACAMs перспективною молекулярною мішенню, яку можна використовувати (поряд з іншими існуючими імунотерапевтичними засобами) в таргетній терапії онкохворих [315, 484].

Незважаючи на це, навіть після опрацювання більше ніж пів тисячі літературних джерел залишається дуже багато невирішених питань:

- Більшість проведених досліджень стосується окремого представника сімейства SEA, які зазвичай мають протилежні функціональні ефекти на клітини. Однак існу-

ють переконливі дані про спільне функціонування основних її представників: SEACAM5 та 6 можуть використовувати SEACAM1 для трансдукції своїх сигналів [52]; SEACAM5 та 6 локалізуються в одному ліпідному рафті [263, 417], що може бути індикатором їх крос-функціональної активності; більшість новоутворень характеризується одночасними коливаннями SEACAM1, 5 та 6, а іноді і почерговим їх виникненням; клітини мають можливість за рахунок *trans*-димеризації (між SEACAM1, 5 та 6) передавати трансцелюлярні імпульси; взагалі, існує думка про еволюційне виникнення SEACAM5 у результаті мутації гена SEACAM1 у його екзоні, що відповідає за трансмембранне прикріплення цих білків [40]. Усе це доводить необхідність комплексного дослідження всіх представників SEACAMs для встановлення їх участі у патологічних процесах.

- Майже в усіх працях виявлено варіабельність експресії SEACAM1 при пухлинній трансформації клітин: зростання або зниження (іноді зникнення) їх у тканинах, зміна патерну експресії, коливання співвідношення SEACAM1-L/S. На жаль, не виявлено відмінностей (а може й не шукали) у молекулярній будові SEACAMs у нормальних та трансформованих клітинах, що можуть починатися як на рівні ДНК (мутації, метилування), так і на посттрансляційному рівні (на рівні білка). Можливо при канцерогенезі вони зазнають певних мутацій [223], що може пояснити їх відмінні функції в нормальних і неопластичних тканинах. Саме це могло б бути переконливим аргументом у використанні цих молекул під час скринінгового обстеження пацієнтів, ураховуючи їх ненадійність, продемонстровану в деяких дослідженнях.

- Як відомо, SEACAM1 існує у вигляді мембранозв'язаної та секреторної форм, а також у вигляді мікроевезикул. Логічно було б стверджувати, що їх коливання в пу-

хлинній тканині повинне відобразитися на їх кількості в біологічних рідинах. Проте окремі праці з вивчення як мембранозв'язаних, так і секреторних форм SEACAM1 не виявили цієї закономірності [243] або одержане зовсім різноспрямоване їх коливання [16, 137]. Відповідно постає питання, що є джерелом SEACAMs у біологічних рідинах і чому спостерігаються ці парадоксальні явища.

- Існує думка про різноспрямованість змін SEACAM1, а також їх функціональних властивостей на початкових і запущених стадіях карцином. Однак SEACAM1 – це білок, що не може змінювати свого впливу на клітину залежно від стадії захворювання. Поясненням цього феномену може бути або зміна його структурних особливостей, а отже, й функціонального впливу на клітину, або хибне трактування одержаних результатів.

- Майже всі праці присвячено вивченню окремих пухлин і зроблено висновки на підставі одержаних результатів. Саме це стає перешкодою у визначенні впливу цих молекул на особливості канцерогенезу. На нашу думку, основні висновки повинні будуватися на підставі багаторічного досвіду попередніх досліджень та якісній інтерпретації власних результатів.

- Лише окремі праці присвячені вивченню змін патернів експресії (мембрана, цитоплазма) SEACAMs при неопластичній трансформації клітин як у разі виникнення й прогресування пухлин, так і в разі їх метастазування. Саме це могло стати передумовою одержання різних, а іноді й протилежних даних про їх вплив на злоякісні процеси. Більше того, необхідно звернути увагу не лише на патерн експресії, а й на тонкі відмінності при одному й тому самому патерні (чи апікальна або суцільна мембранна експресія, чи перинуклеарна або субмембранна інтрацитоплазматична локалізація цих білків). Існують навіть праці, в

яких виявлено ядерну локалізацію CEACAM6 [432], що є малоймовірним.

- Вивчаючи експресію CEACAMs у пухлинах, автори завжди роблять висновки саме про їх вплив на поведінку пухлинних клітин. Водночас не враховується залежність експресії CEACAMs від ступеня анаплазії клітин. Іншими словами, не досліджується першоджерело змін – CEACAMs впливають на прогресування пухлин чи дедиференціювання новоутворень впливає на варіабельність цих молекул.

- Дослідження анти-CEACAMs mAbs іноді проводять на тваринах, які природно не виявляють експресії цих білків, хоча вони наявні в імплантованих пухлинних клітинах [437]. Тоді логічним є питання про токсичність цих препаратів для людини, якщо вони навіть і не впливали на піддослідних тварин. Можливо, модифікуючи перебіг злоякісних процесів, анти-CEACAMs mAbs одночасно будуть нівелювати фізіологічні властивості цих білків у нормальних тканинах, чого не спостерігалося під час експерименту (бо не було з чим взаємодіяти в нормальних тканинах).

- Висловлюють припущення про те, що молекули CEACAM беруть участь у функціонуванні клітин лише під час стресових ситуацій, таких як пошкодження тканин та їх відновлення [171]. Цей факт може пояснити відсутність порушень у формуванні та функціонуванні органів у CEACAM^{-/-}-лабораторних тварин, позбавлених участі CEACAM у цих процесах. Також стимуляція CEACAM1-негативних пухлинних клітин нирково-клітинного раку (A498 та RCC26) INF- γ спричинила появу CEACAM1 у неопластичних клітинах [137], що зникла після усунення екзогенного впливу. Це нібито доводить їх вплив на клітини лише за дії екзогенних факторів. Але тоді як пояснити їх експресію в тканинах у нормі та зникнення за деяких патологічних станів.

- З іншого боку, цим білкам іноді приписують ключову роль у регулюванні деяких фізіологічних процесів, доводячи їх незамінність та необхідність під час розвитку живих організмів. Тоді як пояснити феномен нормального існування SEASAM-негативних мишей, які нібито позбавлені «унікальних» ефектів цих білків.

- SEASAMs все ж таки є «ембріональними» молекулами, але обмежена кількість праць присвячені вивченню їх експресії і функціонування в ембріонів.

І такі «але» можна перелічувати ще довго. Тому ця монографія, з одного боку, є підсумовуванням попередніх 55 років досліджень молекул сімейства SEA, з іншого – вона є приводом до переосмислення даних попередніх праць та започаткування нового напрямку в їх дослідженні.

Список літератури

1. Gold, P., Freedman, S. O. Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *J Exp Med.* 1965;122(3):467–81.
2. Thomson D. M., Krupey J., Freedman S. O., Gold P. The radioimmunoassay of circulating carcinoembryonic antigen of the human digestive tract. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1969;64(1):161–7.
3. Graham R. A., Wang S., Catalano P. J., Haller D. G. Postsurgical surveillance of colon cancer. *Ann Surg.* 1998 Jul;228(1):59–63.
4. Krupey J., Wilson T., Freedman S. O., Gold P. The preparation of purified carcinoembryonic antigen of the human digestive system from large quantities of tumor tissue. *Immunochemistry.* 1972;9(6):617–22.
5. Hammarstrom S., Engvall E., Sundblad G. Carcinoembryonic antigen (CEA): purification, structure and antigenic properties, in Health Control in Detection of Cancer. *Stockholm: Almqvist & Wiksell;* 1976. 24–39 p.
6. Von Kleist S., Chavanel G., Burtin P. Identification of an antigen from normal human tissue that crossreacts with the carcinoembryonic antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1972; 69(9): 2492–2494.
7. Mach J. P., Pusztaszeri G. Carcinoembryonic antigen (CEA): Demonstration of a partial identity between CEA and a normal glycoprotein. *Immunochemistry.* 1972;9(10):1031–4.
8. MacSween J. M., Warner N. L., Bankhurst A. D., MacKay I. R. Carcinoembryonic antigen in whole serum. *Br J Cancer.* 1972;26(5):356–60.
9. Sorokin J. J., Sugarbaker P. H., Zamcheck N., Pisick M., Kupchik H. Z., Moore F. Serial carcinoembryonic antigen assays. Use in detection of cancer recurrence. *JAMA.* 1974;228(1):49–53.

10. Svenberg T. Carcinoembryonic antigen-like substances of human bile. Isolation and partial characterization. *Int J Cancer*. 1976;17(5):588–96.
11. Svenberg T., Hammarstrom S., Hedin A. Purification and properties of biliary glycoprotein I (BGP I) – immunochemical relationship to carcinoembryonic antigen. *Mol Immunol*. 1979;16(4):245–52.
12. Drzeniek Z., Lamerz R., Fenger U., Wagener C., Haubeck H.D. Identification of membrane antigens in granulocytes and colonic carcinoma cells by a monoclonal antibody specific for biliary glycoprotein, a member of the carcinoembryonic antigen family. *Cancer Lett*. 1991;56:173–9.
13. Stoffel A., Neumaier M., Gaida F.J., Fenger U., Drzeniek Z., Haubeck H.D., Wagener C. Monoclonal, anti-domain and anti-peptide antibodies assign the molecular weight 160,000 granulocyte membrane antigen of the CD66 cluster to a mRNA species encoded by the biliary glycoprotein gene, a member of the carcinoembryonic antigen gene family. *J Immunol*. 1993;150(11):4978–84.
14. Hinoda Y., Neumaier M., Hefta S. A., Drzeniek Z., Wagener C., Shively L., Hefta L. J., Shively J. E., Paxton R. J. Molecular cloning of a cDNA coding biliary glycoprotein I: Primary structure of a glycoprotein immunologically crossreactive with carcinoembryonic antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:6959–63.
15. Svenberg T., Hammarström S., Zeromski J. Immunofluorescence studies on the occurrence and localization of the CEA-related biliary glycoprotein I (BGP I) in normal human gastrointestinal tissues. *Clin Exp Immunol*. 1979;36:436–41.
16. Prall F., Nollau P., Neumaier M., Haubeck H. D., Drzeniek Z., Helmchen U., Loning T., Wagener C. CD66a (BGP), an adhesion molecule of the carcinoembryonic antigen family, is expressed in epithelium, endothelium, and myeloid cells in a wide range of normal human tissues. *J Histochem Cytochem*. 1996;44(1):35–41.
17. Cheung P. H., Culic O., Qiu Y., Earley K., Thompson N., Hixson D. C., Lin S. H. The cytoplasmic domain of C-CAM is required for C-CAM-mediated adhesion function: Studies of a C-

CAM transcript containing an unspliced intron. *Biochem J.* 1993; 295(Pt 2): 427–35.

18. Shively J. E., Beatty J. D. CEA-related antigens: Molecular biology and clinical significance. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1985;2(4):355–99.

19. Oikawa S., Nakazato H., Kosaki G. Primary structure of human carcinoembryonic antigen (CEA) deduced from cDNA sequence. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987;142(2):511–8.

20. Zimmermann W., Ortlieb B., Friedrich R., Von Kleist S. Isolation and characterization of cDNA clones encoding the human carcinoembryonic antigen reveal a highly conserved repeating structure. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987; 84(9): 2960–4.

21. Kuroki M., Yamanaka T., Matsuo Y., Ohtani T., Matsuo Y., Minowada J., Misumi Y., Oikawa S., Nakazato H., Matsuoka Y. Characterization of a species of non-specific cross-reacting antigen (NCA) expressed by human monocytic cell lines: Structure and expression during cell differentiation. *Int J Cancer.* 1994;56(6):886–91.

22. Kuroki M., Arakawa F., Matsuo Y., Oikawa S., Nakazato H., Matsuoka Y. Three novel molecular biliary glycoprotein cDNA isoforms deduced clones from a leukocyte library. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;176(2):578–85.

23. Behr T. M., Sharkey R. M., Juweid M. E., Dunn R. M., Ying Z., Zhang C. H., Siegel J. A., Gold D. V., Goldenberg D. M. Factors influencing the pharmacokinetics, dosimetry and diagnostic accuracy of radioimmunodetection and radioimmunotherapy of carcinoembryonic antigen-expressing tumors. *Cancer Res.* 1996;56(8):1805–16.

24. Ychou M., Pelegrin A., Faurous P., Robert B., Saccavini J. C., Guerreau D., Rossi J. F., Fabbro M., Buchegger F., Mach J. P., Artus J. C. Phase IrII radio-immunotherapy Iodine--labeled anti-CEA monoclonal antibody F6 F(ab9)2 in patients with non-resectable liver metastases from colorectal cancer. *Int J Cancer.* 1998;75(4):615–9.

25. Delgado C., Pedley R. B., Herraes A., Boden R., Boden J. A., Keep P. A., Chester K. A., Fisher D., Begent R. H., Francis G. E. Enhanced tumour specificity of an anti-carcinoembryonic

antigen Fab' fragment by polyethylene glycol) (PEG) modification. *Br J Cancer*. 1996;73(2):175–82.

26. Kammerer R., Zimmermann W. Coevolution of activating and inhibitory receptors within mammalian carcinoembryonic antigen families. *BMC Biol*. 2010;8:12.

27. Hammarstrom S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: Structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol*. 1999;9(2):67–81.

28. Olsen A., Teglund S., Nelson D., Gordon L., Copeland A., Georgescu A., Carrano A., Hammarstrom S. Gene organization of the pregnancy-specific glycoprotein region on human chromosome 19: Assembly and analysis of a 700 kb cosmid contig spanning the region. *Genomics*. 1994;23(3):659–68.

29. Zimmermann W., Weber B., Ortlieb B., Rudert F., Schempp W., Fiebig H. H., Shively J. E., Von Kleist S., Thompson J. Chromosomal localization of the carcinoembryonic antigen gene family and differential expression in various tumors. *Cancer Res*. 1988;48(9):2550–4.

30. Frängsmyr L., Israelsson A., Teglund S., Matsunaga T., Hammarström S. Evolution of the Carcinoembryonic antigen family. *Tumor Biol*. 2000;21:63-81.

31. Zebhauser R., Kammerer R., Eisenried A., McLellan A., Moore T., Zimmermann W. Identification of a novel group of evolutionarily conserved members within the rapidly diverging murine Cea family. *Genomics*. 2005;86:566–80.

32. Beauchemin N., Arabzadeh A. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) in cancer progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2013;32(3-4):643–71.

33. Beauchemin N., Draber P., Dveksler G., Gold P., Gray-Owen S., Grunert F., Hammarström S., Holmes K. V., Karlsson A., Kuroki M., Lin S. H., Lucka L., Najjar S. M., Neumaier M., Obrink B., Shively J. E., Skubitz K. M., Stanners C. P., Thomas P., Thompson J. A., Virji M., Von Kleist S., Wagener C., Watt S., Zimmermann W. Redefined nomenclature for members of the carcinoembryonic antigen family. *Exp Cell Res*. 1999;252(2):243–9.

34. Obrink B. CEA adhesion molecules: Multifunctional proteins with signal-regulatory properties. *Curr Opin Cell Biol.* 1997;9(5):616–26.
35. Kuespert K., Pils S., Hauck C. R. CEACAMs: Their role in physiology and pathophysiology. *Curr Opin Cell Biol.* 2006;18(5):565–71.
36. Waterhouse R., Ha C., Dveksler G. S. Murine CD9 is the receptor for pregnancy-specific glycoprotein 17. *J Exp Med.* 2002;195(2):277–82.
37. Zhou G. Q., Baranov V., Zimmermann W., Grunert F., Erhard B., Mincheva-Nilsson L., Hammarstrom S., Thompson J. Highly specific monoclonal antibody demonstrates that pregnancy-specific glycoprotein (PSG) is limited to syncytiotrophoblast in human early and term placenta. *Placenta.* 1997;18(7):491–501.
38. Thompson J., Grunert F., Zimmermann W. Carcinoembryonic antigen gene family: molecular biology and clinical perspectives. *J Clin Lab Anal.* 1991;5(5):344–66.
39. Muturi H. T., Dreesen J. D., Nilewski E., Jastrow H., Giebel B., Ergun S., Singer B.B. Tumor and endothelial cell-derived microvesicles carry distinct CEACAMs and influence T-cell behavior. *PLoS One.* 2013;8(9):e74654.
40. Naghibalhossaini F., Stanners C. P. Minimal mutations are required to effect a radical change in function in CEA family members of the Ig superfamily. *J Cell Sci.* 2004;117(Pt 5):761–9.
41. Singer B. B. CEACAMs. In book: *Encyclopedia of Signaling Molecules.* Springer International Publishing, New York; 2016. 1–9 p.
42. Zhou H., Fuks A., Alcaraz G., Bolling T. J., Stanners C. P. Homophilic adhesion between Ig superfamily carcinoembryonic antigen molecules involves double reciprocal bonds. *J Cell Biol.* 1993;122(4):951–60.
43. Voges M., Bachmann V., Naujoks J., Kopp K., Hauck C. R. Extracellular IgC2 constant domains of CEACAMs mediate PI3K sensitivity during uptake of pathogens. *PLoS One.* 2012;7(6):e39908.
44. Human CEACAM1 splice variants [Internet]. 2018[updated 2018 June 19; cited 2020 Feb 9]. Available from:

<http://www.carcinoembryonic-antigen.de/human/human-ceacam1-splice-variants.html>.

45. Bjerner J., Lebedin Y., Bellanger L., Kuroki M., Shively J. E., Varaas T., Nustad K., Hammarström S., Borner O. P. Protein epitopes in carcinoembryonic antigen. Report of the ISOBM TD8 workshop. *Tumour Biol.* 2002;23(4):249–62.

46. Matsuoka Y., Matsuo Y., Okamoto N., Kuroki M., Kuroki M., Ikehara Y. Highly effective extraction of carcinoembryonic antigen with phosphatidylinositol-specific phospholipase C. *Tumour Biol.* 1991;12(2):91–8.

47. Song J. H., Cao Z., Yoon J. H., Nam S. W., Kim S. Y., Lee J. Y., Park W. S. Genetic alterations and expression pattern of CEACAM1 in colorectal adenomas and cancers. *Pathol Oncol Res.* 2011;17:67–74.

48. Ortenberg R., Galore-Haskel G., Greenberg I., Zamlin B., Sapoznik S., Greenberg E., Barshack I., Avivi C., Feiler Y., Zan-Bar I., Besser M. J., Azizi E., Eitan F., Schachter J., Markel G. CEACAM1 promotes melanoma cell growth through Sox-2. *Neoplasia.* 2014;16(5):451–60.

49. Watt S. M., Teixeira A. M., Zhou G. Q., Doyonnas R., Zhang Y., Grunert F., Blumberg R. S., Kuroki M., Skubitz K. M., Bates P. A. Homophilic adhesion of human CEACAM1 involves N-terminal domain interactions: structural analysis of the binding site. *Blood.* 2001;98(5):1469–79.

50. Cheung P. H., Luo W., Qiu Y., Zhang X., Earley K., Millirons P., Lin S. H. Structure and function of C-CAM1. The first immunoglobulin domain is required for intercellular adhesion. *J Biol Chem.* 1993;268(32):24303–10.

51. Klaile E., Vorontsova O., Sigmundsson K., Müller M. M., Singer B. B., Ofverstedt L. G., Svensson S., Skoglund U., Obrink B. The CEACAM1 N-terminal Ig domain mediates cis- and trans-binding and is essential for allosteric rearrangements of CEACAM1 microclusters. *J Cell Biol.* 2009;187(4):553–67.

52. Singer B. B., Scheffrahn I., Kammerer R., Suttorp N., Ergun S., Slevogt H. Dereglulation of the CEACAM expression pattern causes undifferentiated cell growth in human lung adenocarcinoma cells. *PLoS One.* 2010;5(1): e8747.

53. Singer B. B., Lucka L. CEACAM1. UCSD-Nature Molecule Pages [Internet]. *UCSD Nature Molecule Pages*. 2005 [updated 2005 Dec 5; cited 2019 Feb 18]. Available from: <https://doi.org/10.1038/mp.a003597.01>.
54. Klaile E., Müller M. M., Kannicht C., Otto W., Siner B. B., Reutter W., Öbrink B., Lucka L. The cell adhesion receptor carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 regulates nucleocytoplasmic trafficking of DNA polymerase delta-interacting protein 38. *J Biol Chem*. 2007;282(36):26629–40.
55. Singer B. B., Scheffrahn I., Heymann R., Sigmundsson K., Kammerer R., Öbrink B. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 expression and signaling in human, mouse, and rat leukocytes: evidence for replacement of the short cytoplasmic domain isoform by glycosylphosphatidylinositol-linked proteins in human leukocytes. *J Immunol*. 2002;168(10):5139–46.
56. Duxbury M. S., Ito H., Ashley S. W., Whang E. E. CEACAM6 cross-linking induces caveolin-1-dependent, Src-mediated focal adhesion kinase phosphorylation in BxPC3 pancreatic adenocarcinoma cells. *J Biol Chem*. 2004;279(22):23176–82.
57. Nouvion A. L., Oubaha M., Leblanc S., Davis E. C., Jastrow H., Kammerer R., Breton V., Turbide C., Ergun S., Gratton JP, Beauchemin N (2010) CEACAM1: a key regulator of vascular permeability. *J Cell Sci*. 2010;123(Pt 24):4221–30.
58. Oikawa S., Kuroki M., Matsuoka Y., Kosaki G., Nakazato H. Homotypic and heterotypic Ca(++)-independent cell adhesion activities of biliary glycoprotein, a member of carcinoembryonic antigen family, expressed on CHO cell surface. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992;186(2):881–7.
59. Hayhurst G. P., Lee Y. H., Lambert G., Ward J. M., Gonzalez F. J. Hepatocyte nuclear factor 4 α (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol Cell Biol*. 2001;21:1393–403.
60. Najjar S. M., Boisclair Y. R., Nabih Z. T., Philippe N., Imai Y., Suzuki Y., Suh D. S., Ooi G. T. Cloning and characterization of a functional promoter of the rat pp120 gene, encoding a substrate of the insulin receptor tyrosine kinase. *J Biol Chem*. 1996;271:8809–17.

61. Battle M. A., Konopka G., Parviz F., Gaggl A. L., Yang C., Sladek F. M., Duncan S. A. Hepatocyte nuclear factor 4 α orchestrates expression of cell adhesion proteins during the epithelial transformation of the developing liver. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103:8419–24.
62. Bonzo J. A., Ferry C. H., Matsubara T., Kim J. H., Gonzalez F. J. Suppression of hepatocyte proliferation by hepatocyte nuclear factor 4 α in adult mice. *J Biol Chem*. 2012;287:7345–56.
63. Yin L., Ma H., Ge X., Edwards P. A., Zhang Y. Hepatic hepatocyte nuclear factor 4 α is essential for maintaining triglyceride and cholesterol homeostasis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31:328–36.
64. Dery K. J., Gaur S., Gencheva M., Yen Y., Shively J. E., Gaur R. K. Mechanistic control of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule-1 (CEACAM1) splice isoforms by the heterogeneous nuclear ribonuclear proteins hnRNP L, hnRNP A1, and hnRNPM. *J Biol Chem*. 2011;286(18):16039–51.
65. Turbide C., Kunath T., Daniels E., Beauchemin N. Optimal ratios of biliary glycoprotein isoforms required for inhibition of colonic tumor cell growth. *Cancer Res*. 1997;57(13):2781–8.
66. Gaur S., Shively J.E., Yen Y., Gaur R. K. Altered splicing of CEACAM1 in breast cancer: Identification of regulatory sequences that control splicing of CEACAM1 into long or short cytoplasmic domain isoforms. *Mol Cancer*. 2008;7:46.
67. Wang L., Lin S. H., Wu W. G., Kemp B. L., Walsh G. L., Hong W. K., Mao L. C-CAM1, a candidate tumor suppressor gene, is abnormally expressed in primary lung cancers. *Clin Cancer Res*. 2000;6(8):2988–93.
68. Brummer J., Neumaier M., Gopfert C., Wagener C. Association of pp60c-src with biliary glycoprotein (CD66a), an adhesion molecule of the carcinoembryonic antigen family downregulated in colorectal carcinomas. *Oncogene*. 1995;11(8):1649–55.
69. Muller M. M., Klaile E., Vorontsova O., Singer B. B., Obrink B. Homophilic adhesion and CEACAM1-S regulate dimerization of CEACAM1-L and recruitment of SHP-2 and c-Src. *J Cell Biol*. 2009;187(4):569–81.

70. Ling Y., Wang J., Wang L., Hou J., Qian P., Xiangdong W. Roles of CEACAM1 in cell communication and signaling of lung cancer and other diseases. *Cancer Metastasis Rev.* 2015;34(2):347–57.

71. Singer B. B., Scheffrahn I., Obrink B. The tumor growth-inhibiting cell adhesion molecule CEACAM1 (C-CAM) is differently expressed in proliferating and quiescent epithelial cells and regulates cell proliferation. *Cancer Res.* 2000;60:1236–44.

72. Kirshner J., Schumann D., Shively J.E. CEACAM1, a cell-cell adhesion molecule, directly associates with annexin II in a three-dimensional model of mammary morphogenesis. *J Biol Chem.* 2003;278:50338–45.

73. Schumann D., Chen C. J., Kaplan B., Shively J. E. Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 directly associates with cytoskeleton proteins actin and tropomyosin. *J Biol Chem.* 2001;276:47421–33.

74. Markel G., Achdout H., Katz G., Ling K. L., Salio M., Gruda R., Gazit R., Mizrahi S., Hanna J., Gonen-Gross T., Arnon T. I., Lieberman N., Stren N., Nachmias B., Blumberg R. S., Steuer G., Blau H., Cerundolo V., Mussaffi H., Mandelboim O. Biological function of the soluble CEACAM1 protein and implications in TAP2-deficient patients. *Eur J Immunol.* 2004;34(8):2138–48.

75. Draberova L., Cerna H., Brodska H., Boubelik M., Watt S. M., Stanners C. P., Dráber P. Soluble isoforms of CEACAM1 containing the A2 domain: Increased serum levels in patients with obstructive jaundice and differences in 3-fucosyl-N-acetyl-lactosamine moiety. *Immunology.* 2000;101(2): 279–87.

76. Mach P., Gellhaus A., Prager S., Moore T., Wennemuth G., Kimmig R., Koninger A., Singer B. B. Soluble CEACAM1 and CEACAM6 are differently expressed in blood serum of pregnant women during normal pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2017;78:e12700.

77. Markel G., Ortenberg R., Seidman R., Sapoznik S., Koren-Morag N., Besser M. J., Bar J., Shapira R., Kubi A., Nardini G., Tessone A., Treves A. J., Winkler E., Orenstein A., Schachter J. Systemic dysregulation of CEACAM1 in melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother.* 2010;59(2):215–30.

78. Simeone D. M., Baoan J., Banerjee M., Arumugham T., Li D., Anderson M. A., Bamberger A. M., Greenson J., Brand R. E., Ramachandran V., Logsdon C. D. CEACAM1, a novel serum biomarker for pancreatic cancer. *Pancreas*. 2007;34(4):436–43.
79. Tilki D., Singer B. B., Shariat S. F., Behrend A., Fernando M., Irmak S., Buchner A., Hooper A. T., Stief C. G., Reich O., Ergün S. CEACAM1: A novel urinary marker for bladder cancer detection. *Eur Urol*. 2010;57(4):648–54.
80. Horst A. K., Wagener C. CEA-related CAMs. In Handbook of experimental pharmacology. *Springer International Publishing, New York*; 2004. 283–341 p.
81. Gray-Owen S. D., Blumberg R. S. CEACAM1: contact-dependent control of immunity. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(6):433–46.
82. Hunter I., Lindh M., Obrink B. Differential regulation of C-CAM isoforms in epithelial cells. *J Cell Sci*. 1994;107:1205–16.
83. Sundberg U., Beauchemin N., Obrink B. The cytoplasmic domain of CEACAM1-L controls its lateral localization and the organization of desmosomes in polarized epithelial cells. *J Cell Sci*. 2004;117(pt 7):1091–04.
84. Sundberg U., Obrink B. CEACAM1 isoforms with different cytoplasmic domains show different localization, organization and adhesive properties in polarized epithelial cells. *J Cell Sci*. 2002;115(Pt 6):1273–84.
85. Odin P., Öbrink B. Dynamic Expression of the Cell Adhesion Molecule Cell-CAM 105 in Fetal and Regenerating Rat Liver. *Exp Cell Res*. 1986;164:103–14.
86. Daniels E., Létourneau S., Turbide C., Kuprina N., Rudinskaya T., Yazova A., Holmes K. V., Dveksler G., Beauchemin N. Biliary Glycoprotein 1 expression during embryogenesis: Correlation with events of epithelial differentiation, mesenchymal-epithelial interactions, absorption, and myogenesis. *Dev Dyn*. 1996;206:272–90.
87. Mitchell C., Willenbring H. A reproducible and well-tolerated method for 2/3 partial hepatectomy in mice. *Nat Protoc*. 2008;3:1167–70.

88. Michalopoulos G. K. Liver regeneration after partial hepatectomy: Critical analysis of mechanistic dilemmas. *Am J Pathol.* 2010;176:2–13.
89. Briese J., Oberndorfer M., Patschenik C., Schulte H. M., Makriqiannakis A., Loning T., Bamberger A. M. Osteopontin is colocalized with the adhesion molecule CEACAM1 in the extravillous trophoblast of the human placenta and enhances invasion of CEACAM1-expressing placental cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5407–13.
90. Horst A. K., Najjar S. M., Wagener C., Tieggs G. CEACAM1 in Liver Injury, Metabolic and Immune Regulation. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10):3110.
91. Rueckschloss U., Kuerten S., Ergün S. The role of CEA-related cell adhesion molecule-1 (CEACAM1) in vascular homeostasis. *Histochem Cell Biol.* 2016;146(6):657–71.
92. Stern N., Markel G., Arnon T. I., Gruda R., Wong H., Gray-Owen S. D., Mandelboim O. Carcinoembryonic antigen (CEA) inhibits NK killing via interaction with CEA-related cell adhesion molecule 1. *J Immunol.* 2005;174(11):6692–701.
93. Singer B. B., Opp L., Heinrich A., Schreiber F., Binding-Liermann R., Berrocal-Almanza L. C., Heyl K. A., Muller M. M., Weimann A., Zweigner J., Slevogt H. Soluble CEACAM8 interacts with CEACAM1 inhibiting TLR2-triggered immune responses. *PLoS One.* 2014; 9(4): e94106.
94. Hill D. J., Virji M. A novel cell-binding mechanism of *Moraxella catarrhalis* ubiquitous surface protein UspA: specific targeting of the N-domain of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules by UspA1. *Mol Microbiol.* 2003;48(1):117–29.
95. Muenzner P., Rohde M., Kneitz S., Hauck C. R. CEACAM engagement by human pathogens enhances cell adhesion and counteracts bacteria-induced detachment of epithelial cells. *J Cell Biol.* 2005; 170(5): 825–36.
96. Brooks M. J., Sedillo J. L., Wagner N., Wang W., Attia A. S., Wong H., Laurence C. A., Hansen E. J., Gray-Owen S. D. *Moraxella catarrhalis* binding to host cellular receptors is mediated by sequence-specific determinants not conserved among all UspA1 protein variants. *Infect Immun.* 2008;76(11):5322–9.

97. Connors R., Hill D. J., Borodina E., Agnew C., Daniell S. J., Burton N. M., Sessions R. B., Clarke A. R., Catto L. E., Lammie D., Wess T., Brady R. L., Virji M. The Moraxella adhesin UspA1 binds to its human CEACAM1 receptor by a deformable trimeric coiled-coil. *EMBO J.* 2008; 27(12): 1779–89.
98. Toleman M., Aho E., Virji M. Expression of pathogen-like Opa adhesins in commensal Neisseria: genetic and functional analysis. *Cell Microbiol.* 2001;3(1):33–44.
99. Virji M., Evans D., Griffith J., Hill D., Serino L., Hadfield A., Watt S. M. Carcinoembryonic antigens are targeted by diverse strains of typable and non-typable Haemophilus influenzae. *Mol Microbiol.* 2000;36(4):784–95.
100. Javaheri A., Kruse T., Moonens K., Mejias-Luque R., Debraekeleer A., Asche C. I., Tegtmeier N., Kalali B., Bach N. C., Sieber S. A., Hill D. J., Königer V., Hauck C. R., Moskalenko R., Haas R., Busch D. H., Klaile E., Slevogt H., Schmidt A., Backert S., Remaut H., Singer B. B., Gerhard M. Helicobacter pylori adhesin HopQ engages in a virulence-enhancing interaction with human CEACAMs. *Nat Microbiol.* 2016;2:16189.
101. Klaile E., Muller M. M., Schafer M. R., Clauder A. K., Feer S., Heyl K. A., Stock M., Klassert T. E., Zipfel P. F., Singer B. B. Binding of Candida albicans to Human CEACAM1 and CEACAM6 Modulates the Inflammatory Response of Intestinal Epithelial Cells. *mBio.* 2017;8:e02142–16.
102. Hirai A., Ohtsuka N., Ikeda T., Taniguchi R., Blau D., Nakagaki K., Miura H. S., Ami Y., Yamada Y. K., Itohara S., Holmes K. V., Taguchi F. Role of mouse hepatitis virus (MHV) receptor murine CEACAM1 in the resistance of mice to MHV infection: studies of mice with chimeric mCEACAM1a and mCEACAM1b. *J Virol.* 2010;84(13):6654–66.
103. Slevogt H., Zabel S., Opitz B., Hocke A., Eitel J., N’guessan P. D., Lucka L., Riesbeck K., Zimmermann W., Zweigner J., Temmesfeld-Wollbrueck B., Suttorp N., Singer B. B. CEACAM1 inhibits Toll-like receptor 2-triggered antibacterial responses of human pulmonary epithelial cells. *Nat Immunol.* 2008;9(11):1270–8.

104. Tchoupa A. K., Schuhmacher T., Hauck C. R. Signaling by epithelial members of the CEACAM family – mucosal docking sites for pathogenic bacteria. *Cell Commun Signal*. 2014;12:27.
105. Sadarangani M., Hoe C. J., Makepeace K., van der Ley P., Pollard A. J. Phase variation of Opa proteins of *Neisseria meningitidis* and the effects of bacterial transformation. *J. Biosci*. 2016;41:13–19.
106. Boulton I. C., Gray-Owen S. D. Neisserial binding to CEACAM1 arrests the activation and proliferation of CD4+ T lymphocytes. *Nat Immunol*. 2002;3(3):229–36.
107. Sadarangani M., Pollard A. J., Gray-Owen S. D. Opa proteins & CEACAMs: pathways of immune engagement for pathogenic *Neisseria*. *FEMS Microbiol Rev*. 2010;35(3):498–514.
108. Benchimol S., Fuks A., Jothy S., Beauchemin N., Shirota K., Stanners C. P. Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, functions as an intercellular adhesion molecule. *Cell*. 1989;57(2):327–34.
109. Zhang H., Eisenried A., Zimmermann W., Shively J. E. Role of CEACAM1 and CEACAM20 in an in vitro model of prostate morphogenesis. *PLoS One*. 2013;8(1):e53359.
110. Huang J., Hardy J. D., Sun Y., Shively J. E. Essential role of biliary glycoprotein (CD66a) in morphogenesis of the human mammary epithelial cell line MCF10F. *J Cell Sci*. 1999;112 (Pt 23):4193–205.
111. Kirshner J., Chen C. J., Liu P., Huang J., Shively J. E. CEACAM1-4S, a cell-cell adhesion molecule, mediates apoptosis and reverts mammary carcinoma cells to a normal morphogenic phenotype in a 3D culture. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(2):521–6.
112. Nguyen T., Shively J. E. Induction of lumen formation in a three-dimensional model of mammary morphogenesis by transcriptional regulator ID4: role of CaMK2D in the epigenetic regulation of ID4 gene expression. *J Biol Chem*. 2016; 291(32): 16766–76.
113. Ergun S., Kilik N., Ziegeler G., Hansen A., Nollau P., Gotze J., Wurmbach J. H., Horst A., Weil J., Fernando M., Wagener C. CEA-related cell adhesion molecule 1: a potent angiogenic factor

and a major effector of vascular endothelial growth factor. *Mol Cell*. 2000;5(2):311–20.

114. Horst A. K, Ito W. D., Dabelstein J., Schumacher U., Sander H., Turbide C., Brummer J., Meinertz T., Beauchemin N., Wagener C. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 modulates vascular remodeling in vitro and in vivo. *J Clin Invest*. 2006;116(6):1596–605.

115. Gerstel D., Wegwitz F., Jannasch K., Ludewig P., Scheike K., Alves F., Beauchemin N., Deppert W., Wagener C., Horst A. K. (2011) CEACAM1 creates a pro-angiogenic tumor micro-environment that supports tumor vessel maturation. *Oncogene*. 2011;30(41):4275–88.

116. Sawa H., Kamada K., Sato H., Sendo S., Kondo A., Saito I., Edlund M., Obrink B. C-CAM expression in the developing rat central nervous system. *Brain Res Dev Brain Res*. 1994;78(1):35–43.

117. Kilic N., Oliveira-Ferrer L., Wurmbach J.H., Loges S., Chalajour F., Neshat-Vahid S., Weil J., Fernando M., Ergun S. Pro-angiogenic signaling by the endothelial presence of CEACAM1. *J Biol Chem*. 2005;280(3):2361–9.

118. Tilki D., Irmak S., Oliveira-Ferrer L., Hauschild J., Miethe K., Atakaya H., Hammerer P., Friedrich M. G., Schuch G., Galalae R., Stief C. G., Kilic E., Huland H., Ergun S. CEA-related cell adhesion molecule-1 is involved in angiogenic switch in prostate cancer. *Oncogene*. 2006;25(36):4965–74.

119. Gu A., Tsark W., Holmes K. V., Shively J. E. Role of Ceacam1 in VEGF induced vasculogenesis of murine embryonic stem cell-derived embryoid bodies in 3D culture. *Exp Cell Res*. 2009;315(10):1668–82.

120. Zengin E., Chalajour F., Gehling U. M., Ito W. D., Treede H., Lauke H., Weil J., Reichenspurner H., Kilic N., Ergun S. Vascular wall resident progenitor cells: a source for postnatal vasculogenesis. *Development*. 2006;133(8):1543–51.

121. De Lisser H. M., Christofidou-Solomidou M., Strieter R. M., Burdick M. D., Robinson C. S., Wexler R. S., Kerr J. S., Garlanda C., Merwin J. R., Madri J. A., Albelda S. M. Involvement of endothelial PECAM-1/CD31 in angiogenesis. *Am J Pathol*. 1997;151(3):671–7.

122. Duncan G. S., Andrew D. P., Takimoto H., Kaufman S. A., Yoshida H., Spellberg J., De la Pompa J. L., Elia A., Wakeham A., Karan-Tamir B., Muller W. A., Senaldi G., Zukowski M. M., Mak T. W. Genetic evidence for functional redundancy of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1): CD31-deficient mice reveal PECAM-1-dependent and PECAM-1-independent functions. *J Immunol.* 1999;162(5):3022–30.

123. Wagener C., Ergun S. Angiogenic properties of the carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1. *Exp Cell Res.* 2000;261(1):19–24.

124. Folkman J. Angiogenesis. *Annu Rev Med.* 2006;57:1–18.

125. Najjar S. M., Ledford K. J., Abdallah S. L., Paus A., Russo L., Kaw M. K., Ramakrishnan S. K., Muturi H. T., Raphael C. K., Lester S. G., Heinrich G., Pierre S. V., Benndorf R., Kleff V., Jaffa A. A., Levy E., Vazquez G., Goldberg I. J., Beauchemin N., Scalia R., Ergun S. Ceacam1 deletion causes vascular alterations in large vessels. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;305(4):E519–29.

126. Oh P., Li Y., Yu J., Durr E., Krasinska K. M., Carver L. A., Testa J. E., Schnitzer J. E. Subtractive proteomic mapping of the endothelial surface in lung and solid tumours for tissue-specific therapy. *Nature.* 2004;429(6992):629–35.

127. Oliveira-Ferrer L., Tilki D., Ziegeler G., Hauschild J., Loges S., Irmak S., Kilic E., Hulan H., Friedrich M., Ergun S. Dual role of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in angiogenesis and invasion of human urinary bladder cancer. *Cancer Res.* 2004;64(24):8932–8.

128. Horst A., Bickert T., Brewig N., Schumacher U., Beauchemin N., Fleischer B., Wagener C., Ritter U. CEACAM1+ myeloid cells control angiogenesis in inflammation. *Blood.* 2009;113(26):6726–36.

129. Lu R., Kujawski M., Pan H., Shively J. E. Tumor angiogenesis mediated by myeloid cells is negatively regulated by CEACAM1. *Cancer Res.* 2012;72(9), 2239–50.

130. Samineni S., Zhang Z., Shively J. E. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 negatively regulates granu-

loocyte colony-stimulating factor production by breast tumor-associated macrophages that mediate tumor angiogenesis. *Int J Cancer*. 2013;133(2):394–407.

131. Arabzadeh A., Chan C., Nouvion A. L., Breton V., Benlolo S., De Marte L., Turbide C., Brodt P., Ferri L., Beauchemin N. Host-related carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 promotes metastasis of colorectal cancer. *Oncogene*. 2012;32(7):849–60.

132. Zhou C. J., Liu B., Zhu K. X., Zhang Q. H., Zhang T. G., Xu W. H., Wang H. B., Yu W. H., Qu Y. D., Wang H. J., Wu H. L., Sun S. Z., Guo J. Q. The different expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) and possible roles in gastric carcinomas. *Pathol Res Pract*. 2009;205(7):483–9.

133. Öbrink B. On the role of CEACAM1 in cancer. *Lung Cancer*. 2008;60(3):309–12.

134. Zhou C.J., Qu X., Yang Y. M., Wang F. F., Dong Z. Q., Wang C. Q., Zhang X. Y., Liu G. X., Wei F. C., Sun S. Z. CEA-CAM1 distribution and it's effects on angiogenesis and lymphangiogenesis in oral carcinoma. *Oral Oncol*. 2009 Oct;45(10):883–6.

135. Dango S., Sienel W., Schreiber M., Stremmel C., Kirschbaum A., Pantel K., Passlick B. Elevated expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) is associated with increased angiogenic potential in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2008;60(3):426–33.

136. Guo J. Q., Yu W. H., Wang H. J., Liu B., Zhu K. X., Zhang Q. H., Zhang T. G., Xu W. H., Wang H. B., Wu H. L., Zhou C. J. Different expression patterns of CEACAM1 and its impacts on angiogenesis in gastric nonneoplastic and neoplastic lesions. *Ann Surg Oncol*. 2012;19 Suppl 3:S365–74.

137. Kammerer R., Riesenberger R., Weiler C., Lohrmann J., Schleyen J., Zimmermann R.. The tumour suppressor gene CEACAM1 is completely but reversibly downregulated in renal cell carcinoma. *J Pathol*. 2004;204:258–67.

138. Lauke H., Kilic N., Bozorgzad R., Fernando M., Neshat-Vahid S., Pottek T., Ergun S. Expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule-1 (CEACAM1) in normal

human Sertoli cells and its up-regulation in impaired spermatogenesis. *Mol Hum Reprod*. 2004;10(4):247–52.

139. Abou-Rjaily G. A., Lee S. J., May D., Al-Share Q. Y., Deangelis A. M., Ruch R. J., Neumaier M., Kalthoff H., Lin S. H., Najjar, S. M. (2004). CEACAM1 modulates epidermal growth factor receptor-mediated cell proliferation. *J Clin Invest*. 2004;114(7):944–52.

140. Kilic N., Oliveira-Ferrer L., Neshat-Vahid S., Irmak S., Obst-Pernberg K., Wurmbach J. H., Loges S., Kilic E., Weil J., Lauke H., Tilki D., Singer B. B., Ergün S. Lymphatic reprogramming of microvascular endothelial cells by CEA-related cell adhesion molecule-1 via interaction with VEGFR-3 and Prox1. *Blood*. 2007;110(13):4223–33.

141. Namiki A., Brogi E., Kearney M., Kim E. A., Wu T., Couffinhal T., Varticovski L., Isner J. M. Hypoxia induces vascular endothelial growth factor in cultured human endothelial cells. *J Biol Chem*. 1995;270(52):31189–95.

142. Yamakawa M., Liu L. X., Date T., Belanger A. J., Vincent K. A., Akita G. Y., Kuriyama T., Cheng S. H., Gregory R. J., Jiang C. Hypoxia-inducible factor-1 mediates activation of cultured vascular endothelial cells by inducing multiple angiogenic factors. *Circ Res*. 2003;93(7):664–73.

143. Chen W. J., Chen H. W., Yu S. L., Huang C. H., Wang T. D., Chen J. J., Chien C. T., Chen H. Y., Yang P. C., Lee Y. T. Gene expression profiles in hypoxic preconditioning using cDNA microarray analysis: altered expression of an angiogenic factor, carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1. *Shock*. 2005;24(2):124–31.

144. Kurrelmeyer K. M., Michael L. H., Baumgarten G., Taffet G. E., Peschon J. J., Sivasubramanian N., Entman M. L., Mann D. L. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97(10):5456–61.

145. Muenzner P., Naumann M., Meyer T. F., Gray-Owen S. D. Pathogenic Neisseria trigger expression of their carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 (CEA-

CAM1; previously CD66a) receptor on primary endothelial cells by activating the immediate early response transcription factor, nuclear factor-kappaB. *J Biol Chem.* 2001;276(26):24331–40.

146. Wang Y., Chen Y., Yan Y., Li X., Chen G., He N., Shen S., Chen G., Zhang C., Liao W., Liao Y., Bin J. Loss of CEACAM1, a tumor-associated factor, attenuates post-infarction cardiac remodeling by inhibiting apoptosis. *Sci Rep.* 2016;6:21972.

147. Leung N., Turbide C., Balachandra B., Marcus V., Beauchemin N. Intestinal tumor progression is promoted by decreased apoptosis and dysregulated Wnt signaling in Ceacam1^{-/-} mice. *Oncogene.* 2008;27(36):4943–53.

148. Essers M. A., de Vries-Smits L. M., Barker N., Polderman P. E., Burgering B. M., Korswagen H. C. Functional interaction between beta-catenin and FOXO in oxidative stress signaling. *Science.* 2005;308(5725):1181–4.

149. Potente M., Urbich C., Sasaki K., Hofmann W. K., Heeschen C., Aicher A., Kollipara R., DePinho R. A., Zeiher A. M., Dimmeler S. Involvement of Foxo transcription factors in angiogenesis and postnatal neovascularization. *J Clin Invest.* 2005;115(9):2382–92.

150. Montagnani M., Chen H., Barr V. A., Quon M. J. Insulin-stimulated activation of eNOS is independent of Ca²⁺ but requires phosphorylation by Akt at Ser(1179). *J Biol Chem.* 2001;276(32):30392–8.

151. Huie R. E., Padmaja S. The reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res Commun.* 1993;18(4):195–9.

152. Ishizuka T., Kawakami M., Hidaka T., Matsuki Y., Takamizawa M., Suzuki K., Kurita A., Nakamura H. Stimulation with thromboxane A₂ (TXA₂) receptor agonist enhances ICAM-1, VCAM-1 or ELAM-1 expression by human vascular endothelial cells. *Clin Exp Immunol.* 1998;112(3):464–70.

153. Chae Y. J., Kim C. H., Ha T. S., Hescheler J., Ahn H. Y., Sachinidis A. Epigallocatechin-3-O-gallate inhibits the angiotensin II-induced adhesion molecule expression in human umbilical vein endothelial cell via inhibition of MAPK pathways. *Cell Physiol Biochem.* 2007;20(6):859–66.

154. Liang B., Wang X., Zhang N., Yang H., Bai R., Liu M., Bian Y., Xiao C., Yang Z. Angiotensin-(1-7) attenuates angiotensin II-induced ICAM-1, VCAM-1, and MCP-1 expression via the MAS receptor through suppression of P38 and NF-kappaB pathways in HUVECs. *Cell Physiol Biochem.* 2015;35(6):2472–82.
155. Marui N., Offermann M. K., Swerlick R., Kunsch C., Rosen C. A., Ahmad M., Alexander R. W., Medford R. M. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest.* 1993;92(4):1866–74.
156. Fulton D., Gratton J. P., McCabe T. J., Fontana J., Fujio Y., Walsh K., Franke T. F., Papapetropoulos A., Sessa W. C. Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature.* 1999;399(6736):597–601.
157. Huang J., Ledford K. J., Pitkin W. B., Russo L., Najjar S. M., Siragy H. M. Targeted deletion of murine CEACAM 1 activates PI3 K-Akt signaling and contributes to the expression of (Pro)renin receptor via CREB family and NF-kappaB transcription factors. *Hypertension.* 2013;62(2):317–23.
158. Nagaishi T., Pao L., Lin S. H., Iijima H., Kaser A., Qiao S. W., Chen Z., Glickman J., Najjar S. M., Nakajima A., Neel B. G., Blumberg R. S. SHP1 phosphatase-dependent T cell inhibition by CEACAM1 adhesion molecule isoforms. *Immunity.* 2006;25(5):769–81.
159. Lampugnani M. G., Corada M., Andriopoulou P., Esser S., Risau W., Dejana E. Cell confluence regulates tyrosine phosphorylation of adherens junction components in endothelial cells. *J Cell Sci.* 1997;110(Pt 17):2065–77.
160. Young B. A., Sui X., Kiser T. D., Hyun S. W., Wang P., Sakarya S., Angelini D. J., Schaphorst K. L., Hasday J. D., Cross A. S., Romer L. H., Passaniti A., Goldblum S. E. Protein tyrosine phosphatase activity regulates endothelial cell-cell interactions, the paracellular pathway, and capillary tube stability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2003;285(1):L63–L75.
161. Ludewig P., Sedlacik J., Gelderblom M., Bernreuther C., Korkusuz Y., Wagener C., Gerloff C., Fiehler J., Magnus T., Horst A. K. Carcinoembryonic antigen-related cell adhe-

sion molecule 1 inhibits MMP-9-mediated blood-brain-barrier breakdown in a mouse model for ischemic stroke. *Circ Res.* 2013;113(8):1013–22.

162. Perrotti N., Accili D., Marcus-Samuelas B., Rees-Jones R. W., Taylor S. I. Insulin stimulates phosphorylation of a 120-kDa glycoprotein substrate (pp120) for the receptor-associated protein kinase in intact H-35 hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987;84:3137–40.

163. Margolis R. N., Taylor S., Seminara D., Hubbard A. L. Identification of pp120, an endogenous substrate for the hepatocyte insulin receptor tyrosine kinase, as an integral membrane glycoprotein of the bile canalicular domain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:7256–9.

164. Soni P., Lakkis M., Poy M. N., Fernstrom M. A., Najjar S. M. The differential effects of pp120 (Ceacam 1) on the mitogenic action of insulin and insulin-like growth factor 1 are regulated by the nonconserved tyrosine 1316 in the insulin receptor. *Mol. Cell. Biol.* 2000;20:3896–905.

165. Najjar S. M., Neubert P., Suzuki Y., Ignacio G. A., Formisano P., Accili D., Taylor S. I. Insulin-stimulated phosphorylation of recombinant pp120/HA4, an endogenous substrate of the insulin receptor tyrosine kinase. *Biochemistry.* 1995;34:9341–3.

166. Li Calzi S., Choice C. V., Najjar S. M. Differential effect of pp120 on insulin endocytosis by two variant insulin receptor isoforms. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 1997;273:E801–E808.

167. Huber M., Izzi L., Grondin P., Houde C., Kunath T., Veillette A., Beauchemin N. The carboxyl-terminal region of biliary glycoprotein controls its tyrosine phosphorylation and association with protein-tyrosine phosphatases SHP-1 and SHP-2 in epithelial cells. *J Biol Chem.* 1999;274(1):335–44.

168. Lu R., Pan H., Shively J. E. CEACAM1 negatively regulates IL-1 β production in LPS activated neutrophils by recruiting SHP-1 to a SYK-TLR4-CEACAM1 complex. *PLoS Pathog.* 2012;8:e1002597.

169. Pajvani U. B., Accili D. The new biology of diabetes. *Diabetologia.* 2015;58:2459–68.

170. Boucher J., Kleinridders A., Kahn C. R. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2014;6:1–23.
171. Najjar S. M. Regulation of insulin action by CEACAM1. *Trends Endocrinol Metab.* 2002;13:240–5.
172. Dubois M. J., Bergeron S., Kim H. J., Dombrowski L., Perreault M., Fournes B., Faure R., Olivier M., Beauchemin N., Shulman G. I., Siminovitch K. A., Kim J. K., Marette A. The SHP-1 protein tyrosine phosphatase negatively modulates glucose homeostasis. *Nat Med.* 2006;12(5):549–56.
173. Greicius G., Severinson E., Beauchemin N., Öbrink B., Singer B. B. CEACAM1 is a potent regulator of B cell receptor complex-induced activation. *J Leukoc Biol.* 2003;74(1):126–34.
174. Yu Q., Chow E.M., Wong H., Gu J., Mandelboim O., Gray-Owen S. D., Ostrowski M. A. CEACAM1 (CD66a) promotes human monocyte survival via a phosphatidylinositol 3-kinase- and AKT-dependent pathway. *J Biol Chem.* 2006;281:39179–93.
175. Kammerer R., Hahn S., Singer B. B., Luo J. S., Von Kleist S. Biliary glycoprotein (CD66a), a cell adhesion molecule of the immunoglobulin superfamily, on human lymphocytes: Structure, expression and involvement in T cell activation. *Eur J Immunol.* 1998;28:3664–74.
176. Markel G., Lieberman N., Katz G., Arnon T. I., Lotem M., Drize O., Blumberg R. S., Bar-Haim E., Mader R., Eisenbach L., Mandelboim O. CD66a interactions between human melanoma and NK cells: A novel class I MHC-independent inhibitory mechanism of cytotoxicity. *J Immunol.* 2002;168(6):2803–10.
177. Moller M. J., Kammerer R., Grunert F., Von Kleist S. Biliary glycoprotein (BGP) expression on T cells and on a natural-killer-cell sub-population. *Int J Cancer.* 1996;65:740–5.
178. Kammerer R., Stober D., Singer B. B., Öbrink B., Reimann J. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 on murine dendritic cells is a potent regulator of T cell stimulation. *J Immunol.* 2001;166(11):6537–44.
179. Hosomi S., Chen, Z., Baker K., Chen L., Huang Y. H., Olszak T., Zeissig S., Wang J. H., Mandelboim O., Beauchemin N., Lanier L. L., Blumberg R. S. CEACAM1 on activated NK cells in-

hibits NKG2D-mediated cytolytic function and signaling. *Eur J Immunol.* 2013;43(9):2473–83.

180. Chen Z., Chen L., Baker K., Olszak T., Zeissig S., Huang Y. H., Kuo T. T., Mandelboim O., Beauchemin N., Lanier L. L., Blumberg R. S. CEACAM1 dampens antitumor immunity by down-regulating NKG2D ligand expression on tumor cells. *J Exp Med.* 2011; 208(13): 2633–40.

181. Skubitz K. M., Ducker T. P., Goueli S. A. CD66 monoclonal antibodies recognize a phosphotyrosine-containing protein bearing a carcinoembryonic antigen cross-reacting antigen on the surface of human neutrophils. *J Immunol.* 1992;148(3):852–60.

182. Pan H., Shively J. E. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule-1 regulates granulopoiesis by inhibition of granulocyte colony-stimulating factor receptor. *Immunity.* 2010;33(4):620–31.

183. Khairnar V., Duhan V., Maney S. K., Honke N., Shaabani N., Pandya A. A., Seifert M., Pozdeev V., Xu H. C., Sharma P., Baldin F., Marquardsen F., Merches K., Lang E., Kirschning C., Westendorf A. M., Häussinger D., Lang F., Dittmer U., Küppers R., Recher M., Hardt C., Scheffrahn I., Beauchemin N., Göthert J. R., Singer B. B., Lang P. A., Lang K. S.. CEACAM1 induces B-cell survival and is essential for protective antiviral antibody production. *Nat Commun.* 2015;6:6217.

184. Chen T., Zimmermann W., Parker J., Chen I., Maeda A., Bolland S. Biliary glycoprotein (BGPa, CD66a, CEACAM1) mediates inhibitory signals. *J Leukoc Biol.* 2001;70(2):335–40.

185. Nagaishi T., Iijima H., Nakajima A., Chen D., Blumberg R. S. Role of CEACAM1 as a regulator of T cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1072:155–75.

186. Blau D. M., Turbide C., Tremblay M., Olson M., Letourneau S., Michaliszyn E., Jothy S., Holmes K. V., Beauchemin N. Targeted disruption of the Ceacam1 (MHVR) gene leads to reduced susceptibility of mice to mouse hepatitis virus infection. *J Virol.* 2001;75(17):8173–86.

187. Nakajima A., Iijima H., Neurath M. F., Nagaishi T., Nieuwenhuis E. E., Raychowdhury R., Glickman J., Blau D. M.,

Russell S., Holmes K. V., Blumberg R. S. Activation-induced expression of carcinoembryonic antigen-cell adhesion molecule 1 regulates mouse T lymphocyte function. *J Immunol.* 2002;168(3):1028–35.

188. Alegre M. L., Noel P. J., Eisfelder B. J., Chuang E., Clark M. R., Reiner S. L., Thompson C.B. Regulation of surface and intracellular expression of CTLA4 on mouse T cells. *J Immunol.* 1996;157:4762–70.

189. Khairnar V., Duhan V., Patil A. M., Zhou F., Bhat H., Thoens C., Sharma P., Adomati T., Friendrich S. K., Bezgovsek J., Dreesen J. D., Wennemuth G., Westendorf A. M., Zelinskyy G., Dittmer U., Hardt C., Timm J., Göthert J. R., Lang P. A., Singer B. B., Lang K. S. CEACAM1 promotes CD8(+) T cell responses and improves control of a chronic viral infection. *Nat Commun.* 2018;9(1):2561.

190. Klaile E., Muller M. M., Kannicht C., Singer B. B., Lucka L. CEACAM1 functionally interacts with filamin A and exerts a dual role in the regulation of cell migration. *J Cell Sci.* 2005;118(Pt 23):5513–24.

191. Huang Y. H., Zhu C., Kondo Y., Anderson A. C., Gandhi A., Russell A., Dougan S. K., Petersen B. S., Melum E., Peritel T., Clayton K. L., Raab M., Chen Q., Beauchemin N., Yazaki P., Pyzik M., Ostrowski M. A., Glickman J. N., Rudd C. E., Ploegh H. L., Franke A., Petsko G. A., Kuchroo V. K., Blumberg R. S. CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion. *Nature.* 2015;517 (7534):386–90.

192. Huang Y. H., Zhu C., Kondo Y., Anderson A. C., Gandhi A., Russell A., Dougan S. K., Petersen B. S., Melum E., Peritel T., Clayton K. L., Raab M., Chen Q., Beauchemin N., Yazaki P. J., Pyzik M., Ostrowski M. A., Glickman J. N., Rudd C. E., Ploegh H. L., Franke A., Petsko G. A., Kuchroo V. K., Blumberg R. S. Corrigendum: CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion. *Nature.* 2016;536(7616):359.

193. Wahren B., Gahrton G., Hammarstrom S. Nonspecific cross-reacting antigen in normal and leukemic myeloid cells and serum of leukemic patients. *Cancer Res.* 1980;40(6):2039–44.

194. Chen D., Iijima H., Nagaishi T., Nakajima A., Russell S., Raychowdhury R., Morales V., Rudd C. W., Utku N., Blumberg, R. S. Carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule 1 isoforms alternatively inhibit and costimulate human T cell function. *J Immunol.* 2004;172(6):3535–43.
195. Chen L., Chen Z., Baker K., Halvorsen E. M., da Cunha A. P., Flak M. B., Gerber G., Huang Y. H., Hosomi S., Arthur J. C., Dery K. J., Nagaishi T., Beauchemin N., Holmes K. V., Ho J. W., Shively J. E., Jobin C., Onderdonk A. B., Bry L., Weiner H. L., Higgins D. E., Blumberg, R. S. The short isoform of the CEACAM1 receptor in intestinal T cells regulates mucosal immunity and homeostasis via Tfh cell induction. *Immunity.* 2012;37(5):930–46.
196. Arthur J. C., Jobin C. The complex interplay between inflammation, the microbiota and colorectal cancer. *Gut Microbes.* 2013; 4(3): 253–8.
197. Morales V. M., Christ A., Watt S. M., Kim H. S., Johnson K. W., Utku N., Texeira A. M., Mizoguchi A., Mizoguchi E., Russell G. J., Russell S. E., Bhan A. K., Freeman G. J., Blumberg R. S. Regulation of human intestinal intraepithelial lymphocyte cytolytic function by biliary glycoprotein (CD66a). *J Immunol.* 1999;163(3):1363–70.
198. Chen C. J., Shively J. E. The cell–cell adhesion molecule CEACAM1 inhibits IL-2 production and proliferation in human T-cell by association with activated Src homology protein-1 and down-regulates IL-2 receptor. *J Immunol.* 2004;172(6):3544–52.
199. Chen Z., Chen L., Qiao S. W., Nagaishi T., Blumberg, R. S. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 inhibits proximal TCR signaling by targeting ZAP-70. *J Immunol.* 2008;180(9):6085–93.
200. Lobo E. O., Zhang Z., Shively JE. Pivotal advance: CEACAM1 is a negative coreceptor for the B cell receptor and promotes CD19-mediated adhesion of B cells in a PI3K-dependent manner. *J Leukoc Biol.* 2009;86(2):205–18.
201. Horst A. K., Wegscheid C., Schaefers C., Schiller B., Neumann K., Lunemann S., Langeneckert A. E., Oldhafer K. J., Weiler-Normann C., Lang K. S., Singer B. B., Altfeld M., Diehl L.,

Tiegs G. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 controls IL-2-dependent regulatory T-cell induction in immune-mediated hepatitis in mice. *Hepatology*. 2018;68(1):200–14.

202. Satoh Y., Hayashi T., Takahashi T., Itoh F., Adachi M., Fukui M., Kuroki M., Kuroki M., Imai K., Hinoda Y. Expression of CD66a in multiple myeloma. *J Clin Lab Anal*. 2002;16(2):79–85.

203. Jeffery H. C., Jeffery L. E., Lutz P., Corrigan M., Webb G. J., Hirschfield G. M., Adams D. H., Oo Y. H. Low-dose interleukin-2 promotes STAT-5 phosphorylation, Treg survival and CTLA-4-dependent function in autoimmune liver diseases. *Clin Exp Immunol*. 2017;188:394–411.

204. Wang N., Feng Y., Wang Q., Liu S., Xiang L., Sun M., Zhang X., Liu G., Qu X., Wei F. Neutrophils infiltration in the tongue squamous cell carcinoma and Its correlation with CEA-CAM1 expression on tumor cells. *PLoS One*. 2014; 9(2):e89991.

205. Markel G., Wolf D., Hanna J., Gazit R., Goldman-Wohl D., Lavy Y., Yagel S., Mandelboim O. Pivotal role of CEA-CAM1 protein in the inhibition of activated decidual lymphocyte functions. *J Clin Invest*. 2002;110(7):943–53.

206. Markel G., Seidman R., Stern N., Cohen-Sinai T., Izhaki O., Katz G., Besser M., Treves A. J., Blumberg R. S., Loewenthal R., Mandelboim O., Orenstein A., Schachter J. Inhibition of human tumor-infiltrating lymphocyte effector functions by the homophilic carcinoembryonic cell adhesion molecule 1 interactions. *J Immunol*. 2006;177(9):6062–71.

207. Moller H., Bohrsch V., Lucka L., Hackenberger C. P., Hinderlich S. Efficient metabolic oligosaccharide engineering of glycoproteins by UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase (GNE) knock-down. *Mol Biosyst*. 2011;7(7):2245–51.

208. Agaoglu S., Marcenaro E., Ferranti B., Moretta L., Moretta A. Human natural killer cells exposed to IL-2, IL-12, IL-18, or IL-4 differently modulate priming of naive T cells by monocyte-derived dendritic cells. *Blood*. 2008;112(5):1776–83.

209. Thirion G., Feliu A. A., Coutelier J. P. CD66a (CEACAM1) expression by mouse natural killer cells. *Immunology*. 2008; 125(4): 535–40.
210. Ullrich N., Heinemann A., Nilewski E., Scheffrahn I., Klode J., Scherag A., Schadendorf D., Singer B. B., Helfrich I. CEACAM1-3S Drives Melanoma Cells into NK Cell-Mediated Cytolysis and Enhances Patient Survival. *Cancer Res*. 2015;75(9):1897–907.
211. Sapoznik S., Ortenberg R., Schachter J., Markel G. CEACAM1 in malignant melanoma: A diagnostic and therapeutic target. *Curr Top Med Chem*. 2012;12(1):3–10.
212. Lakshmikanth T., Burke S., Ali T. H., Kimpfler S., Ursini F., Ruggeri L., Capanni M., Umansky V., Paschen A., Sucker A., Pende D., Groh V., Biassoni R., Höglund P., Kato M., Shibuya K., Schadendorf D., Anichini A., Ferrone S., Velardi A., Kärre K., Shibuya A., Carbone E., Colucci F. NCRs and DNAM-1 mediate NK cell recognition and lysis of human and mouse melanoma cell lines in vitro and in vivo. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1251–63.
213. Guerra N., Tan Y. X., Joncker N. T., Choy A., Gallardo F., Xiong, N., Knoblaugh S., Cado D., Greenberg N. M., Raulat D. H. NKG2D-deficient mice are defective in tumor surveillance in models of spontaneous malignancy. *Immunity*. 2008;28(4):571–80.
214. Helfrich I., Singer B. B. Size Matters: The Functional Role of the CEACAM1 Isoform Signature and Its Impact for NK Cell-Mediated Killing in Melanoma. *Cancers (Basel)*. 2019;11(3):pii: E356.
215. Champsaur M., Lanier L. L. Effect of NKG2D ligand expression on host immune responses. *Immunol Rev*. 2010;235(1):267–85.
216. Botling J., Oberg F., Nilsson K. (1995). CD49f (alpha 6 integrin) and CD66a (BGP) are specifically induced by retinoids during human monocytic differentiation. *Leukemia*. 1995;9(12):2034–41.
217. Skubitz K. M., Campbell K. D., Ahmed K., Skubitz A. P. CD66 family members are associated with tyrosine kinase activity in human neutrophils. *J Immunol*. 1995;155(11):5382–90.

218. Singer B. B., Klaile E., Scheffrahn I., Müller M. M., Kammerer R., Reutter W., Obrink B., Lucka L. CEACAM1 (CD66a) mediates delay of spontaneous and Fas ligand-induced apoptosis in granulocytes. *Eur J Immunol.* 2005;35(6):1949–59.
219. Bogoevska V., Horst A., Klampe B., Lucka L., Wagener C., Nollau P. CEACAM1, an adhesion molecule of human granulocytes, is fucosylated by fucosyltransferase IX and interacts with DC-SIGN of dendritic cells via Lewis X residues. *Glycobiology.* 2006;16(3):197–209.
220. Nonaka M., Ma B. Y., Murai R., Nakamura N., Baba M., Kawasaki N., Hodohara K., Asano S., Kawasaki T. Glycosylation-dependent interactions of C-type lectin DC-SIGN with colorectal tumor-associated Lewis glycans impair the function and differentiation of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol.* 2008;180(5):3347–56.
221. Leung N., Turbide C., Olson M., Marcus V., Jothy S., Beauchemin N. Deletion of the carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (Ceacam1) gene contributes to colon tumor progression in a murine model of carcinogenesis. *Oncogene.* 2006;25(40):5527–36.
222. Scheffrahn I., Singer B. B., Sigmundsson K., Lucka L., Obrink B. Control of density-dependent, cell state-specific signal transduction by the cell adhesion molecule CEACAM1, and its influence on cell cycle regulation. *Exp Cell Res.* 2005;307(2):427–35.
223. Sappino A. P., Buser R., Seguin Q., Fernet M., Lesne L., Gumy-Pause F., Reith W., Favaudon V., Mandriota S. J. The CEACAM1 tumor suppressor is an ATM and p53-regulated gene required for the induction of cellular senescence by DNA damage. *Oncogenesis.* 2012;1(4):e7.
224. Pollak M. Insulin and insulin-like growth factor signaling in neoplasia. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(12):915–28.
225. Poy M. N., Ruch R. J., Fernstrom M. A., Okabayashi Y., Najjar S. M. Shc and CEACAM1 interact to regulate the mitogenic action of insulin. *J Biol Chem.* 2002;277(2):1076–84.
226. Liu W., Wei W., Winer D., Bamberger A. M., Bamberger C., Wagener C., Ezzat S., Asa S. L. CEACAM1 impedes thy-

roid cancer growth but promotes invasiveness: A putative mechanism for early metastases. *Oncogene*. 2007;26(19):2747–58.

227. Lee S. J., Heinrich G., Fedorova L., Al-Share Q. Y., Ledford K. J., Fernstrom M. A., Mc Inerney M. F., Erickson S. K., Gatto-Weis C., Najjar S. M. Development of nonalcoholic steatohepatitis in insulin-resistant liver-specific S503A carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 mutant mice. *Gastroenterology*. 2008;135(6):2084–95.

228. Bamberger A. M., Kappes H., Methner C., Rieck G., Brümmer J., Wagener C., Löning T., Milde-Langosch K. Expression of the adhesion molecule CEACAM1 (CD66a, BGP, C-CAM) in breast cancer is associated with the expression of the tumor-suppressor genes Rb, Rb2, and p27. *Virchows Arch*. 2002;440(2):139–144.

229. Craven R. J., Cance W. G., Liu E. T. The nuclear tyrosine kinase Rak associates with the retinoblastoma protein. *Cancer Res*. 1995;55(18):3969–72.

230. Marx M., Dorsch O. pp60c-src is required for the induction of a quiescent mesangial phenotype. *Kidney Int*. 1997;51(1):110–8.

231. Liu Q., Yang Y. M., Zhang Q. H., Zhang T. G., Zhou Q., Zhou C. J. Inhibitor of differentiation is overexpressed with progression of benign to malignant lesions and related with carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 distribution in mammary glands. *Ann Diagn Pathol*. 2011;15(1):30–6.

232. Ouyang X. S., Wang X., Ling M. T., Wong H. L., Tsao S. W., Wong Y. C. Id-1 stimulates serum independent prostate cancer cell proliferation through inactivation of p16(INK4a)/pRB pathway. *Carcinogenesis*. 2002;23(5):721–5.

233. Lin C. Q., Singh J., Murata K., Itahana Y., Parrinello S., Liang S. H., Gillett C. E., Campisi J., Desprez P. Y. A role for Id-1 in the aggressive phenotype and steroid hormone response of human breast cancer cells. *Cancer Res*. 2000;60(5):1332–40.

234. Nittka S., Gunther J., Ebisch C., Erbersdobler A., Neumaier M. The human tumor suppressor CEACAM1 modulates apoptosis and is implicated in early colorectal tumorigenesis. *Oncogene*. 2004;23(58):9306–13.

235. Nollau P., Scheller H., Kona-Horstmann M., Rohde S., Hagenmüller F., Wagener C., Neumaier M. Expression of CD66a (human C-CAM) and other members of the carcinoembryonic antigen gene family of adhesion molecules in human colorectal adenomas. *Cancer Res.* 1997;57(12):2354–7.
236. He T. C., Sparks A. B., Rago C., Hermeking H., Zawel L., da Costa L. T., Morin P. J., Vogelstein B., Kinzler K. W. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science.* 1998;281(5382):1509–12.
237. Chen R. H., Ding W. V., McCormick F. Wnt signaling to betacatenin involves two interactive components. Glycogen synthase kinase-3beta inhibition and activation of protein kinase C. *J Biol Chem.* 2000;275(23):17894–9.
238. Kiriyama S., Yokoyama S., Ueno M., Hayami S., Ieda J., Yamamoto N., Yamaguchi S., Mitani Y., Nakamura Y., Tani M., Mishra L., Shively J. E., Yamaue H. CEACAM1 long cytoplasmic domain isoform is associated with invasion and recurrence of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2014;21 Suppl 4 (04):S505–14.
239. Riethdorf L., Lisboa B. W., Henkel U., Naumann M., Wagener C., Loning T. Differential expression of CD66a (BGP), a cell adhesion molecule of the carcinoembryonic antigen family, in benign, premalignant, and malignant lesions of the human mammary gland. *J Histochem Cytochem.* 1997;45(7):957–63.
240. Yang C., He P., Liu Y., He Y., Yang C., Du Y., Zhou M., Wang W., Zhang G., Wu M., Gao F. Assay of serum CEACAM1 as a potential biomarker for breast cancer. *Clin Chim Acta.* 2015;450:277–81.
241. Yang C., Cao M., Liu Y., He Y., Yang C., Du Y., Wang W., Zhang G., Wu M., Zhou M., Gao F. Inhibition of cell invasion and migration by CEACAM1-4S in breast cancer. *Oncol Lett.* 2017;14(4):4758–66.
242. Volpert O., Luo W., Liu T. J., Estrera V. T., Logothetis C., Lin S. H. Inhibition of prostate tumor angiogenesis by the tumor suppressor CEACAM1. *J Biol Chem.* 2002;277(38):35696–702.

243. Gebauer F., Wicklein D., Horst J., Sundermann P., Maar H., Streichert T., Tachezy M., Izbicki J. R., Bockhorn M., Schumacher U. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAM) 1, 5 and 6 as biomarkers in pancreatic cancer. *PLoS One*. 2014;9(11):e113023.
244. Rahmoun M., Molès J. P., Pedretti N., Mathieu M., Fremaux I., Raison-Peyron N., Lecron J. C., Yssel H., Pène J. Cytokine-induced CEACAM1 expression on keratinocytes is characteristic for psoriatic skin and contributes to a prolonged lifespan of neutrophils. *J Invest Dermatol*. 2009;129(3):671–81.
245. Li Y., Shively J. E. CEACAM1 regulates Fas-mediated apoptosis in Jurkat T-cells via its interaction with β -catenin. *Exp Cell Res*. 2013;319(8):1061–72.
246. Houde C., Roy S., Leung N., Nicholson D. W., Beauchemin N. The cell adhesion molecule CEACAM1-L is a substrate of caspase-3-mediated cleavage in apoptotic mouse intestinal cells. *J Biol Chem*. 2003;278(19):16929–35.
247. Chen C. J., Nguyen T., Shively J. E. Role of calpain-9 and PKC-delta in the apoptotic mechanism of lumen formation in CEACAM1 transfected breast epithelial cells. *Exp Cell Res*. 2010;316(4):638–48.
248. Rizeq B., Zakaria Z., Ouhtit A. Towards understanding the mechanisms of actions of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 in cancer progression. *Cancer Sci*. 2018;109(1):33–42
249. Beroukhim R., Mermel C. H., Porter D., Wei G., Raychaudhuri S., Donovan J., Barretina J., Boehm J. S., Dobson J., Urashima M., Mc Henry K. T., Pinchback R. M., Ligon A. H., Cho Y. J., Haery L., Greulich H., Reich M., Winckler W., Lawrence M. S., Weir B. A., Tanaka K. E., Chiang D. Y., Bass A. J., Loo A., Hoffman C., Prensner J., Liefeld T., Gao Q., Yecies D., Signoretti S., Maher E., Kaye F. J., Sasaki H., Tepper J. E., Fletcher J. A., Taberero J., Baselga J., Tsao M. S., Demichelis F., Rubin M. A., Janne P. A., Daly M. J., Nucera C., Levine R. L., Ebert B. L., Gabriel S., Rustgi A. K., Antonescu C. R., Ladanyi M., Letai A., Garraway L. A., Loda M., Beer D. G., True L. D., Okamoto A., Pomeroy S. L., Singer S., Golub T. R., Lander E. S.,

Getz G., Sellers W. R., Meyerson M. The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature*. 2010;463(7283):899–905.

250. Knuutila S., Björkqvist A. M., Autio K., Tarkkanen M., Wolf M., Monni O., Szymanska J., Larramendy M. L., Tapper J., Pere H., El-Rifai W., Hemmer S., Wasenius V. M., Vidgren V., Zhu Y. DNA copy number amplifications in human neoplasms: review of comparative genomic hybridization studies. *Am J Pathol*. 1998;152(5):1107–23.

251. Smith D. H., Christensen I. J., Jensen N. F., Markussen B., Müller S., Nielsen H. J., Brünner N., Nielsen K. V. An explorative analysis of ERCC1-19q13 copy number aberrations in a chemo-naïve stage III colorectal cancer cohort. *BMC Cancer*. 2013;13:489.

252. Fusenig N. E., Boukamp P. Multiple stages and genetic alterations in immortalization, malignant transformation, and tumor progression of human skin keratinocytes. *Mol carcinog*. 1998;23:144–58.

253. Bartek J., Iggo R., Gannon J., Lane D. P. Genetic and immunochemical analysis of mutant p53 in human breast cancer cell lines. *Oncogene*. 1990;5(6):893–9.

254. Heinlein C., Krepulat F., Lohler J., Speidel D., Deppert W., Tolstonog G. V. Mutant p53(R270H) gain of function phenotype in a mouse model for oncogene-induced mammary carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2008;122(8):1701–9.

255. Lenfert E., Maenz C., Heinlein C., Jannasch K., Schumacher U., Pantel K., Tolstonog G. V., Deppert W., Wegwitz F. Mutant p53 promotes epithelial-mesenchymal plasticity and enhances metastasis in mammary carcinomas of WAP-T mice. *Int J Cancer*. 2015;136(6):E521–33.

256. Klaile E., Kukalev A., Obrink B., Müller M. M. PDIP38 is a novel mitotic spindle-associated protein that affects spindle organization and chromosome segregation. *Cell Cycle*. 2008 Oct;7(20):3180–6.

257. La Flamme S. E., Kowalczyk A. P. Cell Junctions: Adhesion. Development and Disease. *NJ: John Wiley & Sons* (1 edition); 2008. 318 p.

258. Sippel C. J., Shen T., Perlmutter D. H. Site-directed mutagenesis within an ectoplasmic ATPase consensus sequence abrogates the cell aggregating properties of the liver canicular bile acid transporterrecto-ATPase cell CAM 105 and carcinoembryonic antigen. *J Biol Chem.* 1996;271(51):33095–104.
259. Olsson H., Wikstrom K., Kjellstrom G., Obrink B. Cell adhesion activity of the short cytoplasmic domain isoform of C-CAM (C-CAM2) in CHO cells. *FEBS Lett.* 1995;365(1):51–6.
260. Odin P., Asplund M., Busch C., Obrink B. Immunohistochemical localization of cell-CAM 105 in rat tissues. Appearance in epithelia, platelets and granulocytes. *J Histochem Cytochem.* 1988;36(7):729–39.
261. Brummer J., Ebrahimnejad A., Flayeh R., Schumacher U., Loning T., Bamberger A. M., Wagener C. Cis interaction of the cell adhesion molecule CEACAM1 with integrin beta(3). *Am J Pathol.* 2001;159(2):537–46.
262. Hoffmann C., Berking A., Agerer F., Buntru A., Neske F., Chhatwal G. S., Ohlsen K., Hauck C. R. Caveolin limits membrane microdomain mobility and integrin-mediated uptake of fibronectin-binding pathogens. *J Cell Sci.* 2010;123(Pt 24):4280–91.
263. Ordonez C., Zhai A. B., Camacho-Leal P., Demarte L., Fan M. M., Stanners C. P. GPI-anchored CEA family glycoproteins CEA and CEACAM6 mediate their biological effects through enhanced integrin alpha5beta1-fibronectin interaction. *J Cell Physiol.* 2007;210(3):757–65.
264. Camacho-Leal P., Stanners C. P. The human carcinoembryonic antigen (CEA) GPI anchor mediates anoikis inhibition by inactivation of the intrinsic death pathway. *Oncogene.* 2008;27(11):1545–53.
265. Liu J., Di G., Wu C. T., Hu X., Duan H. CEACAM1 inhibits cell-matrix adhesion and promotes cell migration through regulating the expression of N-cadherin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;430(2):598–603.
266. Cheung P. H., Thompson N. L., Earley K., Culic O., Hixson D., Lin S. H. Cell-CAM105 isoforms with different adhesion functions are coexpressed in adult rat tissues and during liver development. *J Biol Chem.* 1993;268(9):6139–46.

267. Wegwitz F., Lenfert E., Gerstel D., von Ehrenstein L., Einhoff J., Schmidt G., Logsdon M., Brandner J., Tiesgs G., Beauchemin N., Wagener C., Deppert W., Horst A. K. CEACAM1 controls the EMT switch in murine mammary carcinoma in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 2016;7(39):63730-46.
268. Löffek S., Ullrich N., Görgens A., Murke F., Eilebrecht M., Menne C., Giebel B., Schadendorf D., Singer B. B., Helfrich I. CEACAM1-4L Promotes Anchorage-Independent Growth in Melanoma. *Front Oncol*. 2015;5:234.
269. Díaz B., Yuen A., Iizuka S., Higashiyama S., Courtneidge, S. A. Notch increases the shedding of HB-EGF by ADAM12 to potentiate invadopodia formation in hypoxia. *J Cell Biol*. 2013;201(2):279-92.
270. Sadekova S., Lamarche-Vane N., Li X., Beauchemin N. The CEACAM1-L glycoprotein associates with the actin cytoskeleton and localizes to cell-cell contact through activation of Rho-like GTPases. *Mol Biol Cell*. 2000;11(1):65-77.
271. Chen C. J., Kirshner J., Sherman M. A., Hu W., Nguyen T., Shively J. E. Mutation analysis of the short cytoplasmic domain of the cell-cell adhesion molecule CEACAM1 identifies residues that orchestrate actin binding and lumen formation. *J Biol Chem*. 2007;282(8):5749-60.
272. Ebrahimnejad A., Flayeh R., Unteregger G., Wagener C., Brümmer J. Cell adhesion molecule CEACAM1 associates with paxillin in granulocytes and epithelial and endothelial cells. *Exp Cell Res*. 2000;260(2):365-73.
273. Ebrahimnejad A., Streichert T., Nollau P., Horst A. K., Wagener C., Bamberger A. M., Brümmer J. CEACAM1 enhances invasion and migration of melanocytic and melanoma cells. *Am J Pathol*. 2004;165(5):1781-7.
274. Briese J., Schulte H. M., Bamberger C. M., Löning T., Bamberger A. M. Expression pattern of osteopontin in endometrial carcinoma: correlation with expression of the adhesion molecule CEACAM1. *Int J Gynecol Pathol*. 2006;25(2):161-9.
275. Neumaier M., Paululat S., Chan A., Matthaes P., Wagener C. Biliary glycoprotein, a potential human cell adhesion

molecule, is down-regulated in colorectal carcinomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(22):10744–8.

276. Ieda J., Yokoyama S., Tamura K., Takifuji K., Hotta T., Matsuda K., Oku Y., Nasu T., Kiriya S., Yamamoto N., Nakamura Y., Shively J. E., Yamaue H. Re-expression of CEACAM1 long cytoplasmic domain isoform is associated with invasion and migration of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2011;129(6):1351–61.

277. Bajaj J., Maliekal T. T., Vivien E., Pattabiraman C., Srivastava S., Krishnamurthy H., Giri V., Subramanyam D., Krishna S. Notch signaling in CD66+ cells drives the progression of human cervical cancers. *Cancer Res*. 2011;71(14):4888–97.

278. Kirshner J., Hardy J., Wilczynski S., Shively J. E. Cell-cell adhesion molecule CEACAM1 is expressed in normal breast and milk and associates with beta1 integrin in a 3D model of morphogenesis. *J Mol Histol*. 2004;35(3):287–99.

279. Gong D., Fu H., Peng Y., You Y., Li Z. Diagnostic value of serum CEACAM1 in patients with pancreatic cancer. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2011;31(1):164–6.

280. Nolen B. M., Brand R. E., Prosser D., Velikokhatnaya L., Allen P. J., Zeh H. J., Grizzle W. E., Huang Y., Lomakin A., Lokshin A. E. Prediagnostic serum biomarkers as early detection tools for pancreatic cancer in a large prospective cohort study. *PLoS One*. 2014;9(4):e94928.

281. Zhou M. Q., Du Y., Liu Y. W., Wang Y. Z., He Y. Q., Yang C. X., Wang W. J., Gao F. Clinical and experimental studies regarding the expression and diagnostic value of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 in non-small-cell lung cancer. *BMC Cancer*. 2013;13:359.

282. Svenberg T., Hammarström S., Andersson G., Johansson C., Samuelson K., Wahren B. Serum level of biliary glycoprotein I, a determinant of cholestasis, of similar use as γ -glutamyltranspeptidase. *Scand J Gastroenterol*. 1981;16(6):817–24.

283. Uchino R., Kanemitsu L., Obayshi H., Hiraoka T., Miyauchi Y. Carcinoembryonic Antigen (CEA) and CEA-related substances in the bile of patients with biliary diseases. *Am J Sur*. 1994;167(3):306–8.

284. Briese J., Oberndörfer M., Schulte H. M., Löning T., Bamberger A. M. Osteopontin expression in gestational trophoblastic diseases: correlation with expression of the adhesion molecule, CEACAM1. *Int J Gynecol Pathol.* 2005;24(3):271–6.

285. Maliekal T. T., Bajaj J., Giri V., Subramanyam D., Krishna S. The role of Notch signaling in human cervical cancer: implications for solid tumors. *Oncogene.* 2008;27(38):5110–4.

286. Hoek K. S., Schlegel N. C., Eichhoff O. M., Widmer D. S., Praetorius C., Einarsson S. O., Valgeirsdottir S., Bergsteinsdottir K., Schepsky A., Dummer R., Steingrimsdottir E. Novel MITF targets identified using a two-step DNA microarray strategy. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2008;21(6):665–76.

287. Ullrich N., Löffek S., Horn S., Ennen M., Sánchez-Del-Campo L., Zhao F., Breitenbuecher F., Davidson I., Singer B. B., Schadendorf D., Goding C. R., Helfrich I. MITF is a critical regulator of the carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) in malignant melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015;28(6):736–40.

288. Ortenberg R., Sapir Y., Raz L., Hershkovitz L., Ben Arav A., Sapoznik S., Barshack I., Avivi C., Berkun Y., Besser M. J., Ben-Moshe T., Schachter J., Markel G. Novel immunotherapy for malignant melanoma with a monoclonal antibody that blocks CEACAM1 homophilic interactions. *Mol Cancer Ther.* 2012;11(6):1300–10.

289. Agenus acquires novel antibodies to immuno-oncology target CEACAM1 [Internet]. 2015 [updated 2015 July 20; cited 2020 Mar 3]. Available from: <https://www.businesswire.com/news/home/20150720005321/en/Agenus-Acquires-Antibodies-Immuno-oncology-Target-CEACAM1>.

290. Study of CM-24 (MK-6018) Alone and In Combination With Pembrolizumab (MK-3475) in Participants With Selected Advanced or Recurrent Malignancies (MK-6018-001) [Internet]. 2017 [updated 2017 Mar 15; cited 2019 Nov 7]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/history/NCT02346955?V_16=View.

291. Alegre M. L., Shiels H., Thompson C. B., Gajewski T. F. Expression and function of CTLA-4 in Th1 and Th2 cells. *J Immunol.* 1998;161(7):3347–56.

292. Riley J. L. PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol Rev.* 2009;229(1):114–25.
293. Liu J., Di G., Wu C. T., Hu X., Duan H. Development and evaluation of a novel anti-colorectal cancer monoclonal antibody, WL5. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;432(2):370–7.
294. Sanders D. S., Evans A. T., Allen C. A., Bryant F. J., Johnson G. D., Hopkins J., Stocks S. C., Marsden J. R., Kerr M. A. Classification of CEA-related positivity in primary and metastatic malignant melanoma. *J Pathol.* 1994;172(4):343–8.
295. Humphries M. J. Towards a structural model of an integrin. *Biochem Soc Symp.* 1999;65:63–78.
296. Kelleher M., Singh R., O’Driscoll C. M., Melgar S. Carcinoembryonic antigen (CEACAM) family members and Inflammatory Bowel Disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2019;47:21–31.
297. Jin Y., Lin L., Lin Y., Zheng C. Exogenous carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 suppresses 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid-induced ulcerative colitis in mice. *J Surg Res.* 2015;195(1):113–20.
298. Hollandsworth H. M., Amirfakhri S., Filemoni F., Schmitt V., Wennemuth G., Schmidt A., Hoffman R. M., Singer B. B., Bouvet M. Anti-carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule antibody for fluorescence visualization of primary colon cancer and metastases in patient-derived orthotopic xenograft mouse models. *Oncotarget.* 2020;11(4):429–39.
299. Metildi C. A., Kaushal S., Snyder C. S., Hoffman R. M., Bouvet M. Fluorescence-guided surgery of human colon cancer increases complete resection resulting in cures in an orthotopic nude mouse model. *J Surg Res.* 2013;179:87–93.
300. Metildi C. A., Kaushal S., Pu M., Messer K. A., Luiken G. A., Moossa A. R., Hoffman R. M., Bouvet M. Fluorescence-guided Surgery with a Fluorophore-conjugated Antibody to Carcinoembryonic Antigen (CEA), that Highlights the Tumor, Improves Surgical Resection and Increases Survival in Orthotopic Mouse Models of Human Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2014;21:1405–11.

301. Menen R. S., Kaushal S., Snyder C. S., Talamini M. A., Hoffman R. M., Bouvet M. Detection of colon cancer metastases with fluorescence laparoscopy in orthotopic nude mouse models. *Arch Surg.* 2012;147:876–80.
302. Busch C., Hanssen T. A., Wagener C., OBrink B. Down-regulation of CEACAM1 in human prostate cancer: correlation with loss of cell polarity, increased proliferation rate, and Gleason grade 3 to 4 transition. *Hum Pathol.* 2002;33(3):290–8.
303. Cruz P. V., Wakai T., Shirai Y., Yokoyama N., Hatakeyama K. Loss of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 expression is an adverse prognostic factor in hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2005;104(2):354–60.
304. Wang J. L., Sun S. Z., Qu X., Liu W. J., Wang Y. Y., Lv C. X., Sun J. Z., Ma R. Clinicopathological significance of CEACAM1 gene expression in breast cancer. *Chin J Physiol.* 2011;54(5):332–8.
305. Yang C., He P., Liu Y., He Y., Yang C., Du Y., Zhou M., Wang W., Zhang G., Wu M., Gao F. Down-regulation of CEACAM1 in breast cancer. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2015;47(10):788–94.
306. Bamberger A. M., Riethdorf L., Nollau P., Naumann M., Erdmann I., Götze J., Brümmer J., Schulte H. M., Wagener C., Löning T. Dysregulated expression of CD66a (BGP, C-CAM), an adhesion molecule of the CEA family, in endometrial cancer. *Am J Pathol.* 1998;152(6):1401–6.
307. Kunath T., Ordoñez-García C., Turbide C., Beauchemin N. Inhibition of colonic tumor cell growth by biliary glycoprotein. *Oncogene.* 1995;11(11):2375–82.
308. Kang W. Y., Chen W. T., Wu M. T., Chai C. Y. The expression of CD66a and possible roles in colorectal adenoma and adenocarcinoma. *Int J Colorectal Dis.* 2007;22(8):869–74.
309. Thies A., Moll I., Berger J., Wagener C., Brümmer J., Schulze H. J., Brunner G., Schumacher U. CEACAM1 expression in cutaneous malignant melanoma predicts the development of metastatic disease. *J Clin Oncol.* 2002;20(10):2530–6.
310. Laack E., Nikbakht H., Peters A., Kugler C., Jasiewicz Y., Edler L., Brümmer J., Schumacher U., Hossfeld D. K.

Expression of CEACAM1 in adenocarcinoma of the lung: A factor of independent prognostic significance. *J Clin Oncol.* 2002;20(21):4279–84.

311. Shi J. F., Xu S. X., He P., Xi Z. H. Expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1(CEACAM1) and its correlation with angiogenesis in gastric cancer. *Pathol Res Pract.* 2014;210(8):473–6.

312. Li N., Yang J. Y., Wang X. Y., Wang H. T., Guan B. X., Zhou C. J. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 is expressed and as a function histotype in ovarian tumors. *Ann Diagn Pathol.* 2016;20:7–12.

313. Wang F. F., Guan B. X., Yang J. Y., Wang H. T., Zhou C. J. CEACAM1 is overexpressed in oral tumors and related to tumorigenesis. *Med Mol Morphol.* 2017;50(1):42–51.

314. Papadopoulos V., Reichelt U., Marx A., Schurr P., Kaifi J., Simon R., Sauter G., Wagener C., Izbicki J. Changes in expression pattern of CEACAM1 in esophageal cancer: A factor of independent prognostic significance. *AACR Annual Meeting*; 67(9); Apr 14-18, Los Angeles, CA; 2007. p. 3028.

315. Thies A., Moll I., Berger J., Wagener C., Brümmer J., Schulze H. J., Brunner G., Schumacher U. CEACAM1 expression in cutaneous malignant melanoma predicts the development of metastatic disease. *J Clin Oncol.* 2002;20(10):2530–6.

316. Huang J., Simpson J. F., Glackin C., Riethorf L., Wagener C., Shively J. E. Expression of biliary glycoprotein (CD66a) in normal and malignant breast epithelial cells. *Anticancer Res.* 1998;18(5A):3203–12.

317. Li C., Chen C. J., Shively J. E. Mutational analysis of the cytoplasmic domain of CEACAM1-4L in humanized mammary glands reveals key residues involved in lumen formation: Stimulation by Thr-457 and inhibition by Ser-461. *Exp. Cell Res.* 2009;315:1225–33.

318. Chakrabarti R., Hwang J., Andres Blanco M., Wei Y., Lukačičin M., Romano R. A., Smalley K., Liu S., Yang Q., Ibrahim T., Mercatali L., Amadori D., Haffty B. G., Sinha S., Kang Y. Elf5 inhibits the epithelial-mesenchymal transition in mammary gland

development and breast cancer metastasis by transcriptionally repressing Snail2. *Nat Cell Biol.* 2012;14(11):1212-22.

319. Hanahan D., Weinberg R. A. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100(1):57-70.

320. Islam E. A., Anipindi V. C., Francis I., Shaik-Dasthagirisaheb Y., Xu S., Leung N., Sintsova A., Amin M., Kaushic C., Wetzler L. M., Gray-Owen S. D. Specific Binding to Differentially Expressed Human Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecules Determines the Outcome of Neisseria gonorrhoeae Infections along the Female Reproductive Tract. *Infect Immun.* 2018;86(8):e00092-18.

321. Horne A. W., White J. O., Lalani el-N. Adhesion molecules and the normal endometrium. *BJOG.* 2002;109(6):610-7.

322. Bamberger A. M., Sudahl S., Löning T., Wagener C., Bamberger C. M., Drakakis P., Coutifaris C., Makrigiannakis A. The adhesion molecule CEACAM1 (CD66a, C-CAM, BGP) is specifically expressed by the extravillous intermediate trophoblast. *Am J Pathol.* 2000;156(4):1165-70.

323. Svalander P. C., Odin P., Nilsson B. O., Obrink B. Expression of cellCAM-105 in the apical surface of rat uterine epithelium is controlled by ovarian steroid hormones. *J Reprod Fertil.* 1990;88(1):213-21.

324. Bamberger A. M., Briese J., Götze J., Erdmann I., Schulte H. M., Wagener C., Nollau P. Stimulation of CEACAM1 expression by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) and calcium ionophore A23187 in endometrial carcinoma cells. *Carcinogenesis.* 2006;27(3):483-90.

325. Takahashi H., Okai Y., Paxton R. J., Hefta L. J., Shively J. E. Differential regulation of carcinoembryonic antigen and biliary glycoprotein by gamma-interferon. *Cancer Res.* 1993;53(7):1612-9.

326. Greenberg N. M., DeMayo F., Finegold M. J., Medina D., Tilley W. D., Aspinall J. O., Cunha G. R., Donjacour A. A., Matusik R. J., Rosen J. M. Prostate cancer in a transgenic mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(8):3439-43.

327. Hsieh J. T., Luo W., Song W., Wang Y., Kleinerman D. I., Van N. T., Lin S. H. Tumor suppressive role of an

androgen-regulated epithelial cell adhesion molecule (C-CAM) in prostate carcinoma cell revealed by sense and antisense approaches. *Cancer Res.* 1995;55(1):190–7.

328. Zhao H., Logothetis C. J., Gorlov I. P. Usefulness of the top-scoring pairs of genes for prediction of prostate cancer progression. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2010;13(3):252–9.

329. Phan D., Sui X., Chen D. T., Najjar S. M., Jenster G., Lin S. H. Androgen regulation of the cell-cell adhesion molecule-1 (Ceacam1) gene. *Mol Cell Endocrinol.* 2001;184(1-2):115–23.

330. Pu Y. S., Luo W., Lu H. H., Greenberg N. M., Lin S. H., Gingrich J. R. Differential expression of C-CAM cell adhesion molecule in prostate carcinogenesis in a transgenic mouse model. *J Urol.* 1999;162(3 Pt 1):892–6.

331. Hsieh J. T., Lin S. H. Androgen regulation of cell adhesion molecule gene expression in rat prostate during organ degeneration. C-CAM belongs to a class of androgen-repressed genes associated with enriched stem/amplifying cell population after prolonged castration. *J Biol Chem.* 1994;269(5):3711–6.

332. Kleinerman D. I., Troncoso P., Lin S. H., Pisters L. L., Sherwood E. R., Brooks T., von Eschenbach A. C., Hsieh J. T. Consistent expression of an epithelial cell adhesion molecule (C-CAM) during human prostate development and loss of expression in prostate cancer: implication as a tumor suppressor. *Cancer Res.* 1995;55(6):1215–20.

333. Tamura K., Yokoyama S., Ieda J., Takifuji K., Hotta T., Matsuda K., Oku Y., Watanabe T., Nasu T., Kiriya S., Yamamoto N., Nakamura Y., Shively J. E., Yamaue H. Hollow spheroids beyond the invasive margin indicate the malignant potential of colorectal cancer. *BMJ Open.* 2011;1(1):e000179.

334. Yamamoto N., Yokoyama S., Ieda J., Mitani Y., Yamaguchi S., Takifuji K., Hotta T., Matsuda K., Watanabe T., Shively J. E., Yamaue H. CEACAM1 and hollow spheroid formation modulate the chemosensitivity of colorectal cancer to 5-fluorouracil. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015;75(2):421–30.

335. Hixson D. C., McEntire K. D., Obrink B. Alterations in the expression of a hepatocyte cell adhesion molecule by transplantable rat hepatocellular carcinomas. *Cancer Res.* 1985;45(8):3742–9.

336. Tanaka K., Hinoda Y., Takahashi H., Sakamoto H., Nakajima Y., Imai K. Decreased expression of biliary glycoprotein in hepatocellular carcinomas. *Int J Cancer*. 1997 Feb 20;74(1):15–9.
337. Sha Q. Q., Wei Q. Z., Zhu J. K., Wang K. X., Wang C., Liu H. T., Yu W. B., Li M. X., Zhang G. Y. Loss of membranous carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 expression is related to decreased relapse-free survival of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Chin Med J (Engl)*. 2012;125(16):2841–5.
338. Wu C. C., Yang S. F., Chen W. T., Tsai H. P., Luo C. W., Chai C. Y., Yin H. L. Absence of CD66a expression is associated with high microvessel density and high histologic grade in hepatocellular carcinoma. *Kaohsiung J Med Sci*. 2016;32(6):306–12.
339. Polyak K., Weinberg R. A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(4):265–73.
340. Logsdon C. D., Simeone D. M., Binkley C., Arumugam T., Greenson J. K., Giordano T. J., Misek D. E., Kuick R., Hanash S. Molecular profiling of pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis identifies multiple genes differentially regulated in pancreatic cancer. *Cancer Res*. 2003;63(10):2649–57.
341. Giulietti M., Occhipinti G., Principato G., Piva F. Weighted gene co-expression network analysis reveals key genes involved in pancreatic ductal adenocarcinoma development. *Cellular Oncology*. 2016;39(4):379–88.
342. Kleinerman D. I., Dinney C. P., Zhang W. W., Lin S. H., Van N. T., Hsieh J. T. Suppression of human bladder cancer growth by increased expression of C-CAM1 gene in an orthotopic model. *Cancer Res*. 1996;56(15):3431–35.
343. Ohwada A., Takahashi H., Nagaoka I., Kira S. Biliary glycoprotein mRNA expression is increased in primary lung cancer, especially in squamous cell carcinoma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994;11(2):214–20.
344. Sielaff W., Dango S., Woelfle U., Morresi-Hauf A., Wagener C., Brümmer J., Mutschler W., Passlick B., Pantel K. Elevated expression of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion

molecule 1 promotes progression of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2003;9(6):2260–6.

345. Thöm I., Schult-Kronefeld O., Burkholder I., Schuch G., Andritzky B., Kastendieck H., Edler L., Wagener C., Bokemeyer C., Schumacher U., Laack E. Expression of CEACAM-1 in pulmonary adenocarcinomas and their metastases. *Anticancer Res.* 2009;29(1):249–54.

346. Nolen B. M., Lomakin A., Marrangoni A., Velikokhatnaya L., Prosser D., Lokshin A. E. Urinary protein biomarkers in the early detection of lung cancer. *Cancer Prev Res.* 2015;8(2):111–9.

347. Boniface K., Diveu C., Morel F., Pedretti N., Froger J., Ravon E., Garcia M., Venereau E., Preisser L., Guignouard E., Guillet G., Dagregorio G., Pène J., Moles J. P., Yssel H., Chevalier S., Bernard F. X., Gascan H., Lecron J. C. Oncostatin M secreted by skin infiltrating T lymphocytes is a potent keratinocyte activator involved in skin inflammation. *J Immunol.* 2007;178(7):4615–22.

348. Kluger H. M., Hoyt K., Bacchiocchi A., Mayer T., Kirsch J., Kluger Y., Sznol M., Ariyan S., Molinaro A., Halaban R. Plasma markers for identifying patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res.* 2011;17(8):2417–25.

349. Sivan S., Suzan F., Rona O., Tamar H., Vivian B., Tamar P., Jacob S., Gal M., Michal L. Serum CEACAM1 Correlates with Disease Progression and Survival in Malignant Melanoma Patients. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:290536.

350. Turcu G., Nedelcu R. I., Ion D. A., Brînzea A., Cioplea M. D., Jilaveanu L. B., Zurac S. A. CEACAM1: Expression and Role in Melanocyte Transformation. *Dis Markers.* 2016;2016:9406319.

351. Cheli Y., Ohanna M., Ballotti R., Bertolotto C. Fifteen-year quest for microphthalmia-associated transcription factor target genes. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2010;23(1):27–40.

352. Gambichler T., Grothe S., Rotterdam S., Altmeyer P., Kreuter A. Protein expression of carcinoembryonic antigen cell adhesion molecules in benign and malignant melanocytic skin lesions. *Am J Clin Pathol.* 2009;131(6):782–7.

353. Thies A., Berlin A., Brunner G., Schulze H. J., Moll I., Pfüller U., Wagener C., Schachner M., Altevoigt P., Schumacher U. Glycoconjugate profiling of primary melanoma and its sentinel node and distant metastases: implications for diagnosis and pathophysiology of metastases. *Cancer Lett.* 2007;248(1):68–80.
354. Ravindranath M. H., Shen P., Habal N., Soh D., Nishimoto K., Gonzales A., Tam W. Y., Bilchik A., Morton D. L. Does human melanoma express carcinoembryonic antigen? *Anti-cancer Res.* 2000;20(5A):3083–92.
355. Sanders D. S., Evans A. T., Allen C. A., Bryant F. J., Johnson G. D., Hopkins J., Stocks S. C., Marsden J. R., Kerr M. A. Classification of CEA-related positivity in primary and metastatic malignant melanoma. *J Pathol.* 1994;172(4):343–8.
356. Khatib N., Peer J., Ortenberg R., Schachter J., Frenkel S., Markel G., Amer R. Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule-1 (CEACAM1) in posterior uveal melanoma: correlation with clinical and histological survival markers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(13):9368–72.
357. Yu L. L., Flotte T. J., Tanabe K. K., Gadd M. A., Cosimi A. B., Sober A. J., Mihm M.C Jr, Duncan L. M. Detection of microscopic melanoma metastases in sentinel lymph nodes. *Cancer.* 1999;86(4):617–27.
358. Prager S., Singer B. B., Bendix I., Schlager G. W., Bertling F., Ceylan B., Keller M., Felderhoff-Mueser U., Ergün S. CEACAM1 expression in oligodendrocytes of the developing rat brain shows a spatiotemporal relation to myelination and is altered in a model of encephalopathy of prematurity. *Dev Neurosci.* 2013;35(2-3):226–40.
359. Beauchemin N., Benchimol S., Cournoyer D., Fuks A., Stanners C. P. Isolation and characterization of full-length functional cDNA clones for human carcinoembryonic antigen. *Mol Cell Biol.* 1987;7(9):3221–30.
360. Thompson J. A. Molecular cloning and expression of carcinoembryonic antigen gene family members. *Tumour Biol.* 1995;16(1):10–6.

361. Blumenthal R. D., Leon E., Hansen H. J., Goldenberg D. M. Expression patterns of CEACAM5 and CEACAM6 in primary and metastatic cancers. *BMC Cancer*. 2007;7:2.
362. Zhang F., Jin Liu X., Qu X., Sheng Hu Z., Yang Y. M., Ma L., Liu P., Shi P., Cai Wei F. Osteopontin's colocalization with the adhesion molecule CEACAM5 in cytoplasm of carcinoma of tongue and its correlation with the invasion of that disease. *Cancer Cell Int*. 2012;12(1):33.
363. Nap M., Mollgard K., Burtin P., Fleuren G. J. Immunohistochemistry of carcino-embryonic antigen in the embryo, fetus and adult. *Tumour Biol*. 1988;9(2-3):145–53.
364. Stanners C., Fuks A. Properties of adhesion mediated by the human CEA family. In book: Cell Adhesion and Communication Mediated by the CEA Family: Basic and Clinical Perspectives. *Amsterdam, Harwood Academic Publishers*; 1998. 57–72 p.
365. Charbonneau J., Stanners C. P. Role of carbohydrate structures in CEA-mediated intercellular adhesion. *Cell Adhes Commun*. 1999;7(3):233–44.
366. Eidelman F. J., Fuks A., DeMarte L., Taheri M., Stanners C. P. Human carcinoembryonic antigen, an intercellular adhesion molecule, blocks fusion and differentiation of rat myoblasts. *J Cell Biol*. 1993;123(2):467–75.
367. Ilantzis C., DeMarte L., Screatton R. A., Stanners C. P. Deregulated expression of the human tumor marker CEA and CEA family member CEACAM6 disrupts tissue architecture and blocks colonocyte differentiation. *Neoplasia*. 2002;4(2):151–63.
368. Ordonez C., Screatton R. A., Ilantzis C., Stanners C. P. Human carcinoembryonic antigen functions as a general inhibitor of anoikis. *Cancer Res*. 2000;60(13):3419–24.
369. Blumenthal R. D., Hansen H. J., Goldenberg D. M. Inhibition of adhesion, invasion, and metastasis by antibodies targeting CEACAM6 (NCA-90) and CEACAM5 (Carcinoembryonic Antigen). *Cancer Res*. 2005;65(19):8809–17.
370. Camacho-Leal P., Zhai A. B., Stanners C. P. A co-clustering model involving alpha5beta1 integrin for the biological effects of GPI-anchored human carcinoembryonic antigen (CEA). *J Cell Physiol*. 2007;211(3):791–802.

371. Saeland E., Belo A. I., Mongera S., van Die I., Meijer G. A., van Kooyk Y. Differential glycosylation of MUC1 and CEACAM5 between normal mucosa and tumour tissue of colon cancer patients. *Int J Cancer*. 2012;131(1):117–28.
372. van Gisbergen K. P., Aarnoudse C. A., Meijer G. A., Geijtenbeek T. B., van Kooyk Y. Dendritic cells recognize tumor-specific glycosylation of carcinoembryonic antigen on colorectal cancer cells through dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin. *Cancer Res*. 2005;65(13):5935–44.
373. Jothy S., Yuan S. Y., Shirota K. Transcription of carcinoembryonic antigen in normal colon and colon carcinoma. In situ hybridization study and implication for a new in vivo functional model. *Am J Pathol*. 1993;143(1):250–7.
374. Kodera Y., Isobe K., Yamauchi M., Satta T., Hasegawa T., Oikawa S., Kondoh K., Akiyama S., Itoh K., Nakashima I. Expression of carcinoembryonic antigen (CEA) and nonspecific crossreacting antigen (NCA) in gastrointestinal cancer; the correlation with degree of differentiation. *Br J Cancer*. 1993;68(1):130–6.
375. Tiernan J. P., Perry S. L., Verghese E. T., West N. P., Yeluri S., Jayne D. G., Hughes T. A. Carcinoembryonic antigen is the preferred biomarker for in vivo colorectal cancer targeting. *Br J Cancer*. 2013;108(3):662–7.
376. Minton J. P., Hoehn J. L., Gerber D. M., Horsley J. S., Connolly D. P., Salwan F., Fletcher W. S., Cruz A. B. Jr, Gatchell F. G., Oviedo M. Results of a 400-patient carcinoembryonic antigen second-look colorectal cancer study. *Cancer*. 1985;55(6):1284–90.
377. Wanebo H. J., Llaneras M., Martin T., Kaiser D. Prospective monitoring trial for carcinoma of colon and rectum after surgical resection. *Surg Gynecol Obstet*. 1989;169(6):479–87.
378. Fritsche R., Mach J. P. Isolation and characterization of carcinoembryonic antigen CEA. extracted from normal human colon mucosa. *Immunochemistry*. 1997;14(2):119–28.
379. Taylor D. D., Black P. H. Inhibition of macrophage Ia antigen expression by shed plasma membrane vesicles from metastatic murine melanoma lines. *J Natl Cancer Inst*. 1985;74(4):859–67.

380. Jantscheff P., Terracciano L., Lowy A., Glatz-Krieger K., Grunert F., Micheel B., Brümmer J., Laffer U., Metzger U., Herrmann R., Rochlitz C. Expression of CEACAM6 in resectable colorectal cancer: a factor of independent prognostic significance. *J Clin Oncol.* 2003;21(19):3638–46.
381. Thirunavukarasu P., Sukumar S., Sathaiah M., Mahan M., Pragatheeshwar K. D., Pingpank J. F., Zeh H., Bartels C. J., Lee K. K., Bartlett D. L. C-stage in colon cancer: implications of carcinoembryonic antigen biomarker in staging, prognosis, and management. *J Natl Cancer Inst.* 2011;103(8):689–97.
382. Kabel A. M. Tumor markers of breast cancer: New perspectives. *Journal of Oncological Sciences.* 2017;3(1):5–11.
383. Ślawicki S., Mroczko B., Szmitkowski M. Tumor markers of breast cancer. *Postep Hig Med Dosw Online.* 2004; 58:292–300.
384. Geng B., Liang M. M., Ye X. B, Zhao W. Y. Association of CA 15-3 and CEA with clinicopathological parameters in patients with metastatic breast cancer. *Mol Clin Oncol.* 2015;3(1):232–6.
385. Eades-Perner A. M., van der Putten H., Hirth A., Thompson J., Neumaier M., von Kleist S., Zimmermann W. Mice transgenic for the human carcinoembryonic antigen gene maintain its spatiotemporal expression pattern. *Cancer Res.* 1994;54(15):4169–76.
386. Clarke P., Mann J., Simpson J. F., Rickard-Dickson K., Primus F. J. Mice transgenic for human carcinoembryonic antigen as a model for immunotherapy. *Cancer Res.* 1998;58(7):1469–77.
387. Thompson J. A., Eades-Perner A. M., Ditter M., Muller W. J., Zimmermann W. Expression of transgenic carcinoembryonic antigen (CEA) in tumor-prone mice: an animal model for CEA-directed tumor immunotherapy. *Int J Cancer.* 1997 Jul 3;72(1):197–202.
388. Johnson R. L., Fleet J. C. Animal models of colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2013 Jun;32(1-2):39–61.
389. Chan C. H., Cook D., Stanners C. P. Increased colon tumor susceptibility in azoxymethane treated CEABAC transgenic mice. *Carcinogenesis.* 2006;27(9):1909–16.

390. Conaghan P., Ashraf S., Tytherleigh M., Wilding J., Tchilian E., Bicknell D., Mortensen N. J., Bodmer W. Targeted killing of colorectal cancer cell lines by a humanised IgG1 monoclonal antibody that binds to membrane-bound carcinoembryonic antigen. *Br J Cancer*. 2008;98(7):1217–25.
391. Berinstein N. L. Carcinoembryonic antigen as a target for therapeutic anticancer vaccines: a review. *J Clin Oncol*. 2002;20(8):2197–207.
392. Gulley J. L., Arlen P. M., Tsang K. Y., Yokokawa J., Palena C., Poole D. J., Remondo C., Cereda V., Jones J. L., Pazdur M. P., Higgins J. P., Hodge J. W., Steinberg S. M., Kotz H., Dahut W. L., Schlom J. Pilot study of vaccination with recombinant CEA-MUC-1-TRICOM poxviral-based vaccines in patients with metastatic carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2008;14(10):3060–9.
393. Abdul-Wahid A., Huang E. H., Lu H., Flanagan J., Mallick A. I., Gariépy J. A focused immune response targeting the homotypic binding domain of the carcinoembryonic antigen blocks the establishment of tumor foci in vivo. *Int J Cancer*. 2012;131(12):2839–51.
394. Orava E. W., Abdul-Wahid A., Huang E. H., Mallick A. I., Gariépy J. Blocking the attachment of cancer cells in vivo with DNA aptamers displaying anti-adhesive properties against the carcinoembryonic antigen. *Mol Oncol*. 2013;7(4):799–811.
395. Thomas P., Forse R. A., Bajenova O. Carcinoembryonic antigen (CEA) and its receptor hnRNP M are mediators of metastasis and the inflammatory response in the liver. *Clin Exp Metastasis*. 2011;28(8):923–32.
396. Jessup J. M., Kim J. C., Thomas P., Ishii S., Ford R., Shively J. E., Durbin H., Stanners C. P., Fuks A., Zhou H. Adhesion to carcinoembryonic antigen by human colorectal carcinoma cells involves at least two epitopes. *Int J Cancer*. 1993;55(2):262–8.
397. Jessup J. M., Laguinge L., Lin S., Samara R., Aufman K., Battle P., Frantz M., Edmiston K. H., Thomas P. Carcinoembryonic antigen induction of IL-10 and IL-6 inhibits hepatic ischemic/reperfusion injury to colorectal carcinoma cells. *Int J Cancer*. 2004;111(3):332–7.

398. Gangopadhyay A., Bajenova O., Kelly T. M., Thomas P. Carcinoembryonic antigen induces cytokine expression in Kupffer cells: implications for hepatic metastasis from colorectal cancer. *Cancer Res.* 1996;56(20):4805–10.

399. Samara R. N., Laguinge L. M., Jessup J. M. Carcinoembryonic antigen inhibits anoikis in colorectal carcinoma cells by interfering with TRAIL-R2 (DR5) signaling. *Cancer Res.* 2007;67(10):4774–82.

400. Li Y., Cao H., Jiao Z., Pakala S. B., Sirigiri D. N., Li W., Kumar R., Mishra L. Carcinoembryonic antigen interacts with TGF- β receptor and inhibits TGF- β signaling in colorectal cancers. *Cancer Res.* 2010;70(20):8159–68.

401. Hefta L. J., Schrewe H., Thompson J. A., Oikawa S., Nakazato H., Shively J. E. Expression of Complementary DNA and genomic clones for carcinoembryonic antigen and nonspecific cross-reacting antigen in Chinese hamster ovary and mouse fibroblast cells and characterization of the membrane-expressed products. *Cancer Res.* 1990;50(8):2397–403.

402. Schölzel S., Zimmermann W., Schwarzkopf G., Grunert F., Rogaczewski B., Thompson J. Carcinoembryonic antigen family members CEACAM6 and CEACAM7 are differentially expressed in normal tissues and oppositely deregulated in hyperplastic colorectal polyps and early adenomas. *Am J Pathol.* 2000;156(2):595–605.

403. Burtin P., Quan P. C., Sabine M. C. Nonspecific cross reacting antigen as a marker for human polymorphs, macrophages and monocytes. *Nature.* 1975;255(5511):714–6.

404. Skubitz K. M., Grunert F., Jantscheff P., Kuroki M., Skubitz A. P. Summary of the CD66 Cluster Workshop. In book: Leukocyte Typing VI: White cell differentiation antigens. *New York and London, Garland Publishing, Inc;* 1997. 922–1000 p.

405. Grunert F., AbuHarfeil N., Schwarz K., von Kleist S. Two CEA and three NCA species, although distinguishable by monoclonal antibodies, have nearly identical peptide patterns. *Int J Cancer.* 1985;36(3):357–62.

406. Poola I., Shokrani B., Bhatnagar R., DeWitty R.L., Yue Q., Bonney G. Expression of carcinoembryonic antigen cell ad-

hesion molecule 6 oncoprotein in atypical ductal hyperplastic tissues is associated with the development of invasive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2006;12(15):4773–83.

407. Abbonda G. C., Papotti M., Gugliotta P., Pecchio F., Rapellino M. Immunohistochemical detection of carcinoembryonic antigen (CEA) in non-neoplastic lung disease. *Int J Biol Markers.* 1993;8(4):240–3.

408. Metze D., Bhardwaj R., Amann U., Eades-Perner A. M., Neumaier M., Wagener C., Jantscheff P., Grunert F., Luger T. A. Glycoproteins of the carcinoembryonic antigen (CEA) family are expressed in sweat and sebaceous glands of human fetal and adult skin. *J Invest Dermatol.* 1996;106(1):64–9.

409. Honda Y., Egawa K., Kuroki M., Ono T. Hair cycle-dependent expression of a nonspecific cross reacting antigen (NCA)-50/90-like molecule on follicular keratinocytes. *Arch Dermatol Res.* 1997;289(8):457–65.

410. Ihnen M., Kilic E., Köhler N., Löning T., Witzel I., Hagel C., Höller S., Kersten J. F., Müller V., Jänicke F., Milde-Langosch K. Protein expression analysis of ALCAM and CEA-CAM6 in breast cancer metastases reveals significantly increased ALCAM expression in metastases of the skin. *J Clin Pathol.* 2011;64(2):146–52.

411. Harris T.J., Siu C.H. Reciprocal raft-receptor interactions and the assembly of adhesion complexes. *BioEssays.* 2002;24(11):996–1003.

412. Gabarra-Niecko V., Schaller M. D., Dunty J. M. FAK regulates the biological processes important for the pathogenesis of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2003;22(4):359–74.

413. Sen B., Johnson F. M. Regulation of SRC family kinases in human cancers. *J Signal Transduct.* 2011;2011:865819.

414. Giaccone G., Zucali P.A. Src as a potential therapeutic target in non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2008;19(7):1219–23.

415. Duxbury M. S., Ito H., Benoit E., Zinner M. J., Ashley S. W. Overexpression of CEACAM6 promotes insulin-like growth factor I-induced pancreatic adenocarcinoma cellular invasiveness. *Oncogene.* 2004;23(34):5834–42.

416. Zeng H., Datta K., Neid M., Li J., Parangi S., Mukhopadhyay D. Requirement of different signaling pathways mediated by insulin-like growth factor-I receptor for proliferation, invasion, and VPF/VEGF expression in a pancreatic carcinoma cell line. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;302(1):46–55.
417. Johnson B., Mahadevan D. Emerging role and targeting of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (CEACAM6) in human malignancies. *Clin Cancer Drugs.* 2015;2(2):100–11.
418. Park B. K., Zeng X., Glazer R. I. Akt1 induces extracellular matrix invasion and matrix metalloproteinase-2 activity in mouse mammary epithelial cells. *Cancer Res.* 2001;61(20):7647–53.
419. Zhang D., Brodt P. Type 1 insulin-like growth factor regulates MT1-MMP synthesis and tumor invasion via PI 3-kinase/Akt signaling. *Oncogene.* 2003;22(7):974–82.
420. Skubitz K. M., Campbell K. D., Skubitz A. P. CD66a, CD66b, CD66c, and CD66d each independently stimulate neutrophils. *J Leukoc Biol.* 1996;60(1):106–17.
421. Nair K. S., Zingde S. M. Adhesion of neutrophils to fibronectin: role of the cd66 antigen. *Cell Immunol.* 2001;208(2):96–106.
422. Duxbury M. S., Ito H., Ashley S. W., Whang E. E. c-Src dependent cross-talk between CEACAM6 and $\alpha\beta 3$ integrin enhances pancreatic adenocarcinoma cell adhesion to extracellular matrix components. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;317(1):133–41.
423. Shao L., Allez M., Park M. S., Mayer L. Immunomodulatory roles of the carcinoembryonic antigen family of glycoproteins. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1072:194–209.
424. Barnich N., Carvalho F. A., Glasser A. L., Darcha C., Jantscheff P., Allez M., Peeters H., Bommelaer G., Desreumaux P., Colombel J. F., Darfeuille-Michaud A. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. Version 2. *J Clin Invest.* 2007;117(6):1566–74.
425. Schmitter T., Pils S., Weibel S., Agerer F., Peterson L., Buntru A., Kopp K., Hauck C. R. Opa proteins of pathogenic neisseriae initiate Src kinase-dependent or lipid raft-mediated uptake via

distinct human carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule isoforms. *Infect Immun.* 2007;75(8):4116–26.

426. Roy R. K., Hoppe M. M., Srivastava S., Samanta A., Sharma N., Tan K. T., Yang H., Voon D. C., Pang B., Teh M., Murata-Kamiya N., Hatakeyama M., Chang Y. T., Yong W. P., Ito Y., Ho K. Y., Tan P., Soong R., Koefler P. H., Yeoh K. G., Jeyasekharan A. D. CEACAM6 is upregulated by *Helicobacter pylori* CagA and is a biomarker for early gastric cancer. *Oncotarget.* 2016;7(34):55290–301.

427. Berling B., Kolbinger F., Grunert F., Thompson J. A., Brombacher F., Buchegger F., von Kleist S., Zimmermann W. Cloning of a carcinoembryonic antigen gene family member expressed in leukocytes of chronic myeloid leukemia patients and bone marrow. *Cancer Res.* 1990;50(20):6534–9.

428. Hanenberg H., Baumann M., Quentin I., Nagel G., Grosse-Wilde H., von Kleist S., Göbel U., Burdach S., Grunert F. Expression of the CEA gene family members NCA-50/90 and NCA-160 (CD66) in childhood acute lymphoblastic leukemias (ALLs) and in cell lines of B-cell origin. *Leukemia.* 1994;8(12):2127–33.

429. Stanners C. Contributions of the human CEA family to malignant transformation. In book: *Cell Adhesion and Communication Mediated by the CEA Family: Basic and Clinical Perspectives.* Amsterdam, Harwood Academic Publishers; 1998. 141–54 p.

430. Sharma N., Srivastava S., Kern F., Xian W., Yeoh K. G., Ming T., McKeon F., Ho K. Y. CEACAM 6, a novel marker for the diagnosis of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus.* 2017;30(7):1–5.

431. Greenberg N. M., DeMayo F., Finegold M. J., Medina D., Tilley W. D., Aspinall J. O., Cunha G. R., Donjacour A. A., Matusik R. J., Rosen J. M. Prostate cancer in a transgenic mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92(8):3439–43.

432. Deng X., Liu P., Zhao Y., Wang Q. Expression profiling of CEACAM6 associated with the tumorigenesis and progression in gastric adenocarcinoma. *Genet Mol Res.* 2014;13(3):7686–97.

433. Oue N., Hamai Y., Mitani Y., Matsumura S., Oshimo Y., Aung P. P., Kuraoka K., Nakayama H., Yasui W. Gene expression profile of gastric carcinoma: identification of genes and

tags potentially involved in invasion, metastasis, and carcinogenesis by serial analysis of gene expression. *Cancer Res.* 2004;64(7):2397–405.

434. Zhao Z. S., Li L., Wang H. J., Wang Y. Y. Expression and prognostic significance of CEACAM6, ITGB1 and CYR61 in peripheral blood of patients with gastric cancer. *J Surg Oncol.* 2011;104(5):525–9.

435. Kim K. S., Kim J. T., Lee S. J., Kang M. A., Choe I. S., Kang Y. H., Kim S. Y., Yeom Y. I., Lee Y. H., Kim J. H., Kim K. H., Kim C. N., Kim J. W., Nam M. S., Lee H. G. Overexpression and clinical significance of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 in colorectal cancer. *Clin Chim Acta.* 2013;415:12–9.

436. Ieta K., Tanaka F., Utsunomiya T., Kuwano H., Mori M. CEACAM6 gene expression in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Cancer.* 2006;95(4):532–40.

437. Duxbury M. S., Matros E., Clancy T., Bailey G., Doff M., Zinner M. J., Ashley S. W., Maitra A., Redston M., Whang E. E. CEACAM6 is a novel biomarker in pancreatic adenocarcinoma and PanIN lesions. *Ann Surg.* 2005;241(3):491–6.

438. Duxbury M. S., Ito H., Zinner M. J., Ashley S. W., Whang E. E. CEACAM6 gene silencing impairs anoikis resistance and in vivo metastatic ability of pancreatic adenocarcinoma cells. *Oncogene.* 2004;23(2):465–73.

439. Duxbury M. S., Ito H., Benoit E., Waseem T., Ashley S. W., Whang E. E. A novel role for carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 as a determinant of gemcitabine chemoresistance in pancreatic adenocarcinoma cells. *Cancer Res.* 2004;64(11):3987–93.

440. Duxbury M. S., Ito H., Benoit E., Ashley S. W., Whang E. E. CEACAM6 is a determinant of pancreatic adenocarcinoma cellular invasiveness. *Br J Cancer.* 2004;91(7):1384–90.

441. Fahy B. N., Schlieman M., Virudachalam S., Bold R. J. AKT inhibition is associated with chemosensitisation in the pancreatic cell line MIA-PaCa-2. *Br J Cancer.* 2003;89(2):391–7.

442. Ng S. S., Tsao M. S., Nicklee T., Hedley D. W. Wortmannin inhibits pkb/akt phosphorylation and promotes gemcitabine

antitumor activity in orthotopic human pancreatic cancer xenografts in immunodeficient mice. *Clin Cancer Res.* 2001;7(10):3269–75.

443. Duxbury M. S., Ito H., Ashley S. W., Whang E. E. CEACAM6 as a novel target for indirect type 1 immunotoxin-based therapy in pancreatic adenocarcinoma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;317(3):837–43.

444. Strickland L. A., Ross J., Williams S., Ross S., Romero M., Spencer S., Erickson R., Sutcliffe J., Verbeke C., Polakis P., van Bruggen N., Koeppen H. Preclinical evaluation of carcinoembryonic cell adhesion molecule (CEACAM) 6 as potential therapy target for pancreatic adenocarcinoma. *J Pathol.* 2009;218(3):380–90.

445. Poola I., DeWitty R. L., Marshall J. J., Bhatnagar R., Abraham J., Leffall L. D. Identification of MMP-1 as a putative breast cancer predictive marker by global gene expression analysis. *Nat Med.* 2005;11(5):481–3.

446. Maraqa L., Cummings M., Peter M. B., Shaaban A. M., Horgan K., Hanby A. M., Speirs V. Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 6 predicts breast cancer recurrence following adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res.* 2008;14(2):405–11.

447. Scott D. J., Parkes A. T., Ponchel F., Cummings M., Poola I., Speirs V. Changes in expression of steroid receptors, their downstream target genes and their associated co-regulators during the sequential acquisition of tamoxifen resistance in vitro. *Int J Oncol.* 2007;31(3):557–65.

448. Lewis-Wambi J. S., Cunliffe H. E., Kim H. R., Willis A. L., Jordan V. C. Overexpression of CEACAM6 promotes migration and invasion of oestrogen-deprived breast cancer cells. *Eur J Cancer.* 2008;44(12):1770–9.

449. Tsang J. Y., Kwok Y. K., Chan K. W., Ni Y. B., Chow W. N., Lau K. F., Shao M. M., Chan S. K., Tan P. H., Tse G. M. Expression and clinical significance of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 in breast cancers. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;142(2):311–22.

450. Han S. U., Kwak T. H., Her K. H., Cho Y. H., Choi C., Lee H. J., Hong S., Park Y. S., Kim Y. S., Kim T. A., Kim S. J. CEACAM5 and CEACAM6 are major target genes for Smad3-mediated TGF-beta signaling. *Oncogene.* 2008;27(5):675–83.

451. Wang S. E. The Functional Crosstalk between HER2 Tyrosine Kinase and TGF- β Signaling in Breast Cancer Malignancy. *J Signal Transduct.* 2011;2011:804236.

452. Kim S., Han J., Lee S. K., Koo M., Cho D. H., Bae S. Y., Choi M. Y., Kim J. S., Kim J. H., Choe J. H., Yang J. H., Nam S. J., Lee J. E. Smad7 acts as a negative regulator of the epidermal growth factor (EGF) signaling pathway in breast cancer cells. *Cancer Lett.* 2012;314(2):147–54.

453. Roll J. D., Rivenbark A. G., Sandhu R., Parker J. S., Jones W. D., Carey L. A., Livasy C. A., Coleman W. B. Dysregulation of the epigenome in triple-negative breast cancers: basal-like and claudin-low breast cancers express aberrant DNA hypermethylation. *Exp Mol Pathol.* 2013;95(3):276–87.

454. Kurio H., Hatsuda H., Murayama E., Kaneko T., Iida H. Identification of CEACAM6 as an intermediate filament-associated protein expressed in Sertoli cells of rat testis. *Biol Reprod.* 2011;85(5):924–33.

455. Kurio H., Murayama E., Kaneko T., Shibata Y., Inai T., Iida H. Intron retention generates a novel isoform of CEACAM6 that may act as an adhesion molecule in the ectoplasmic specialization structures between spermatids and sertoli cells in rat testis. *Biol Reprod.* 2008;79(6):1062–73.

456. Cameron S., de Long L. M., Hazar-Rethinam M., Topkas E., Endo-Munoz L., Cumming A., Gannon O., Guminski A., Saunders N. Focal overexpression of CEACAM6 contributes to enhanced tumorigenesis in head and neck cancer via suppression of apoptosis. *Mol Cancer.* 2012;11:74.

457. Cameron S. R., Dahler A. L., Endo-Munoz L. B., Jabbar I., Thomas G. P., Leo P. J., Poth K., Rickwood D., Guminski A., Saunders N. A. Tumor-initiating activity and tumor morphology of HNSCC is modulated by interactions between clonal variants within the tumor. *Lab Invest.* 2010;90(11):1594–603.

458. Kobayashi M., Miki Y., Ebina M., Abe K., Mori K., Narumi S., Suzuki T., Sato I., Maemondo M., Endo C., Inoue A., Kumamoto H., Kondo T., Yamada-Okabe H., Nukiwa T., Sasano H. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules as surro-

gate markers for EGFR inhibitor sensitivity in human lung adenocarcinoma. *Br J Cancer*. 2012;107(10):1745–53.

459. Choi K., Creighton C. J., Stivers D., Fujimoto N., Kurie J. M. Transcriptional Profiling of Non-Small Cell Lung Cancer Cells with Activating EGFR Somatic Mutations. *PLoS One*. 2007;2(11):e1226.

460. Lasa A., Serrano E., Carricondo M., Carnicer M. J., Brunet S., Badell I., Sierra J., Aventín A., Nomdedéu J. F. High expression of CEACAM6 and CEACAM8 mRNA in acute lymphoblastic leukemias. *Ann Hematol*. 2008;87(3):205–11.

461. Sugita K., Mori T., Yokota S., Kuroki M., Koyama T. O., Inukai T., Iijima K., Goi K., Tezuka T., Kojika S., Shiraishi K., Nakamura M., Miyamoto N., Karakida N., Kagami K., Nakazawa S. The KOR-SA3544 antigen predominantly expressed on the surface of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia cells is nonspecific cross-reacting antigen-50/90 (CD66c) and invariably expressed in cytoplasm of human leukemia cells. *Leukemia*. 1999;13(5):779–85.

462. Witzens-Harig M., Hose D., Jünger S., Pfirschke C., Khandelwal N., Umansky L., Seckinger A., Conrad H., Brackertz B., Rème T., Gueckel B., Meißner T., Hundemer M., Ho A. D., Rossi J. F., Neben K., Bernhard H., Goldschmidt H., Klein B., Beckhove P. Tumor cells in multiple myeloma patients inhibit myeloma-reactive T cells through carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule-6. *Blood*. 2013;121(22):4493–503.

463. Homa P., Sotomayor E. M. Cellular and molecular mechanisms of tumor-induced T-cell tolerance. *Curr Cancer Drug Targets*. 2007;7(1):41–53.

464. Ameur N., Lacroix L., Roucan S., Roux V., Broutin S., Talbot M., Dupuy C., Caillou B., Schlumberger M., Bidart J. M. Aggressive inherited and sporadic medullary thyroid carcinomas display similar oncogenic pathways. *Endocr Relat Cancer*. 2009;16(4):1261–72.

465. Kuroki M., Matsushita H., Matsumoto H., Hirose Y., Senba T., Ymamamoto T. Nonspecific cross-reacting antigen 50/90 (NCA-50/90) as a new tumor marker. *Anticancer Res*. 1999;19(6C):5599–606.

466. Mayne K. M., Pulford K., Jones M., Micklem K., Nagel G., van der Schoot C. E., Mason D. Y. Antibody By114 is selective for the 90 kD PI-linked component of the CD66 antigen: a new reagent for the study of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol.* 1993;83(1):30–8.
467. Riley C. J., Engelhardt K. P., Saldanha J. W., Qi W., Cooke L. S., Zhu Y., Narayan S. T., Shakalya K., Croce K. D., Georgiev I. G., Nagle R. B., Garewal H., Von Hoff D. D., Mahadevan D. Design and activity of a murine and humanized anti-CEACAM6 single-chain variable fragment in the treatment of pancreatic cancer. *Cancer Res.* 2009;69(5):1933–40.
468. Cheng T. M., Murad Y. M., Chang C. C., Yang M. C., Baral T. N., Cowan A., Tseng S. H., Wong A., Mackenzie R., Shieh D. B., Zhang J. Single domain antibody against carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 (CEACAM6) inhibits proliferation, migration, invasion and angiogenesis of pancreatic cancer cells. *Eur J Cancer.* 2014;50(4):713–21.
469. Javaheri A., Kruse T., Moonens K., Mejías-Luque R., Debraekeleer A., Asche C. I., Tegtmeier N., Kalali B., Bach N. C., Sieber S. A., Hill D. J., Königer V., Hauck C. R., Moskalenko R., Haas R., Busch D. H., Klaile E., Slevogt H., Schmidt A., Backert S., Remaut H., Singer B. B., Gerhard M. Helicobacter pylori adhesin HopQ engages in a virulence-enhancing interaction with human CEACAMs. *Nat Microbiol.* 2016;2:16189.
470. Korotkova N., Yarova-Yarovaya Y., Tchesnokova V., Yazvenko N., Carl M. A., Stapleton A. E., Moseley S. L. Escherichia coli DraE adhesin-associated bacterial internalization by epithelial cells is promoted independently by decay-accelerating factor and carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule binding and does not require the DraD invasin. *Infect Immun.* 2008;76(9):3869–80.
471. McCaw S. E., Schneider J., Liao E. H., Zimmermann W., Gray-Owen S. D. Immunoreceptor tyrosine-based activation motif phosphorylation during engulfment of Neisseria gonorrhoeae by the neutrophil-restricted CEACAM3 (CD66d) receptor. *Mol Microbiol.* 2003;49(3):623–37.

472. Schmitter T., Agerer F., Peterson L., Munzner P., Hauck C. R. Granulocyte CEACAM3 is a phagocytic receptor of the innate immune system that mediates recognition and elimination of human-specific pathogens. *J Exp Med.* 2004;199(1):35–46.
473. Ohlsson L., Hammarström M. L., Israelsson A., Näslund L., Oberg A., Lindmark G., Hammarström S. Biomarker selection for detection of occult tumour cells in lymph nodes of colorectal cancer patients using real-time quantitative RT-PCR. *Br J Cancer.* 2006;95(2):218–25.
474. Thompson J., Zimmermann W., Nollau P., Neumaier M., Weber-Arden J., Schrewe H., Craig I., Willcocks T. CGM2, a member of the carcinoembryonic antigen gene family is down-regulated in colorectal carcinomas. *J Biol Chem.* 1994;269(52):32924–31.
475. Messick C. A., Sanchez J., DeJulius K. L., Hammel J., Ishwaran H., Kalady M. F. CEACAM-7: a predictive marker for rectal cancer recurrence. *Surgery.* 2010;147(5):713–9.
476. Kinugasa T., Kuroki M., Takeo H., Matsuo Y., Ohshima K., Yamashita Y., Shirakusa T., Matsuoka Y. Expression of four CEA family antigens (CEA, NCA, BGP and CGM2) in normal and cancerous gastric epithelial cells: up-regulation of BGP and CGM2 in carcinomas. *Int J Cancer.* 1998;76(1):148–53.
477. Nittka S., Gunther J., Ebisch C., Erbersdobler A., Neumaier M. The human tumor suppressor CEACAM1 modulates apoptosis and is implicated in early colorectal tumorigenesis. *Oncogene.* 2004;23(58):9306–13.
478. Skubitz K. M.; Skubitz A. P. Interdependency of CEACAM-1, -3, -6, and -8 induced human neutrophil adhesion to endothelial cells. *J Transl Med.* 2008;6:78.
479. Zheng J., Miller K. K., Yang T., Hildebrand M. S., Shearer A. E., DeLuca A. P., Scheetz T. E., Drummond J., Scherer S. E., Legan P. K., Goodyear R. J., Richardson G. P., Cheatham M. A., Smith R. J., Dallos P. Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 16 interacts with alpha-tectorin and is mutated in autosomal dominant hearing loss (DFNA4). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(10):4218–23.

480. Kitamura Y., Murata Y., Park J. H., Kotani T., Imada S., Saito Y., Okazawa H., Azuma T., Matozaki T. Regulation by gut commensal bacteria of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule expression in the intestinal epithelium. *Genes Cells*. 2015;20(7):578–89.

481. VanDussen K. L., Stojmirović A., Li K., Liu T. C., Kimes P. K., Muegge B. D., Simpson K. F., Ciorba M. A., Perrigoue J. G., Friedman J. R., Towne J. E., Head R. D., Stappenbeck T. S. Abnormal Small Intestinal Epithelial Microvilli in Patients With Crohn's Disease. *Gastroenterology*. 2018;155(3):815–28.

482. Murata Y., Kotani T., Supriatna Y., Kitamura Y., Imada S., Kawahara K., Nishio M., Daniwijaya E. W., Sadakata H., Kusakari S., Mori M., Kanazawa Y., Saito Y., Okawa K., Takeda-Morishita M., Okazawa H., Ohnishi H., Azuma T., Suzuki A., Matozaki T. Protein tyrosine phosphatase SAP-1 protects against colitis through regulation of CEACAM20 in the intestinal epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(31):E4264–71.

483. Chan C. H., Stanners C. P. Novel mouse model for carcinoembryonic antigen-based therapy. *Mol Ther*. 2004;9(6):775–85.

484. Calinescu A., Turcu G., Nedelcu R. I., Brinzea A., Hodorogea A., Antohe M., Diaconu C., Bleotu C., Pirici D., Jilaveanu L. B., Ion D. A., Badarau I. A. On the Dual Role of Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecule 1 (CEACAM1) in Human Malignancies. *J Immunol Res*. 2018;2018:7169081.

Наукове видання

Линдін Микола Сергійович,
Романюк Анатолій Миколайович,
Сікора Владислав Володимирович,
Зінгер Б. Бернгард

Молекули клітинної адгезії раково-ембріонального антигену (CEACAMs)

Монографія

*За загальною редакцією
доктора медичних наук, професора А. М. Романюка*

Художнє оформлення обкладинки М. С. Линдіна
Редактори: Н. З. Клочко, С. М. Симоненко
Комп'ютерне верстання М. С. Линдіна

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 12,79. Обл.-вид. арк. 11,78. Тираж 300 пр. Зам. №

Видавець і виготовлювач
Сумський державний університет,
вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007
Свідоцтво суб'єкта видавничої діяльності ДК № 3062 від 17.12.2007.