

# НУКЛЕОФОЗМИН И НУКЛЕОЛИН: КОДИРУЮЩИЕ ГЕНЫ И ЭКСПРЕССИЯ В РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

**Е.Г. Зенит-Журавлева, Е.М. Полковниченко, А.А. Лушникова**, доктор биологических наук,  
**Е.М. Трещалина**, доктор биологических наук, профессор, **И.А. Букаева**, кандидат  
биологических наук, **Н.Т. Райхлин**, доктор медицинских наук, профессор  
**ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН**  
**E-mail: LAN21@yandex.ru**

*Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов (Ag-ОЯОР-белки) представляют собой группу протеинов ядрышка, для которых характерны специфичное окрашивание серебром и высокий уровень экспрессии в пролиферирующих клетках, включая опухолевые. Основную часть Ag-ОЯОР-белков (до 70%) составляют B23/нуклеофозмин и C23/нуклеолин. Эти протеины вовлечены в регуляцию функций РНК-полимеразы, в транскрипцию, репликацию и рекомбинацию ДНК, процессинг рРНК, стабилизацию структуры хроматина и мРНК, в регуляцию митоза и апоптоза. Гиперэкспрессия указанных белков выявлена при многих пролиферативных заболеваниях, в том числе при злокачественных новообразованиях и в ксенографтах опухолей человека у иммунодефицитных животных. Значение экспрессии нуклеолина и нуклеофозмина в опухолевых клетках связано с тем, что эти белки определяют скорость пролиферации и, соответственно, прогрессию опухолей. Одной из важных задач современной экспериментальной онкологии являются анализ и количественная оценка экспрессии Ag-ОЯОР-белков нуклеолина и нуклеофозмина, а также кодирующих их генов в опухолях различного происхождения. В обзоре рассмотрены результаты наиболее значимых исследований, посвященных анализу экспрессии нуклеофозмина и нуклеолина в опухолях человека и животных.*

**Ключевые слова:** Ag-ОЯОР белки, нуклеофозмин/B23, нуклеолин/C23, экспрессия генов в опухолях

## **NUCLEOPHOSMIN AND NUCLEOLIN: ENCODING GENES AND EXPRESSION IN VARIOUS HUMAN AND ANIMAL TISSUES**

**E.G. Zenit-Zhuravleva, E.M. Polkovnichenko, A.A. Lushnikova, E.M. Treshchalina, I.A. Bukaeva, N.T. Raikhlin.**

*Federal State Budgetary Institute «N.N. Blokhin Cancer Research Center»  
of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation*

*Argiophilic proteins of nucleolar organizer regions (Ag-NOR) pose a wide group of nucleolar proteins specifically stained by AgNO<sub>3</sub>. Expression level of Ag-NOR proteins in proliferating cells, including tumor ones, is commonly high. Nucleophosmin/B23 and nucleolin/C23 account for 70% of Ag-NOR proteins; B23 and C23 are involved into regulation of RNA polymerase function, DNA transcription, replication and recombination, RNA processing, mRNA and chromatin stabilization, mitosis and apoptosis regulation. Overexpression of B23/C23 was revealed in various proliferative diseases including malignant neoplasms and in human tumor xenografts implanted into animals with immunodeficiency. Cell proliferation rate and malignancy progression in vitro or in vivo mainly depends on B23/C23 expression. The values of Ag-NOR count and subjective Ag-NOR pattern assessment score as well as structure and expression of B23/C23 encoding genes in various tumors are important issues related to the field of experimental oncology. In the review the results of the most important studies analyzing the expression of nucleophosmin and nucleolin in human and animal tumors are considered.*

**Key words:** Ag-NOR proteins, nucleophosmin/B23, nucleolin/C23, gene expression in tumors

## **СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ B23/НУКЛЕОФОЗМИНА**

Нуклеофозмин, или ньюматрин (B23, NPM1), относится к семейству негистоновых белков с близкими молекулярными массами, несущих высококонсервативный N-концевой домен. Эти белки выполняют в клетке разнообразные функции, связанные с поддержанием структуры хроматина, нуклеопротеинов, рибосомных субъединиц и ядрышек, а также с регуляцией деления клеток и биогенеза рибосом. Ген *NPM1*, кодирующий соответствующий белок, картирован на хромосоме 5q35 и содержит 12 экзонов (11 интронов). Наряду с полноразмерным белком NPM1, молекулы

которого содержат 294 аминокислотных остатка, в результате альтернативного сплайсинга образуются еще 2 изоформы NPM1. Молекулы изоформы NPM1-2 состоят из 259 аминокислотных остатков вследствие вырезания экзона 12. Молекулы изоформы NPM1-3 содержат 265 аминокислотных остатков из-за вырезания внутренней последовательности на C-кодирующем конце мРНК (рис. 1). Функциональное значение 2 последних модификаций NPM1 не вполне ясно, однако сравнение их доменных структур с полноразмерной молекулой NPM1 указывает на утрату некоторых важных функций, присущих нуклеофозмину, локализованному в ядрышках. В частности, изоформа NPM1-2

## ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ B23/НУКЛЕОФОЗМИНА

Функции нуклеофомина, NPM1, B23	Белки, взаимодействующие с B23 и опосредующие данные функции
Регуляции репликации, транскрипции и репарации ДНК	MYC, APE1/Ref-1, NFκB, AP, AP2α, MIZ1, HEXIM1, YY1, CBF-A, IRF1, MNDА, GCN5, гистоны, с/EBPα, Trp1, DOT1L, BRCA2; протеинкиназа р38, активируемая при генотоксическом стрессе, ATR, BRCA1 и BRD1, APE1, Chk1, H2AX
Стабилизация и сплайсинг иРНК	hnRNP, hnRNPA1, NSP3a, NSP5a
Контроль клеточного цикла	p53, ARF, MDM2, pRB, p21, GADD 45A
Регуляция сборки митотического веретена, цитоскелета и центромера	CRM1, RPGR, RPGRIP1, Eg5, PCK2, CTCF
Регуляция биогенеза рибосом	EBP1, SENP3, SENP5, RPL5, RPL23, RPS9, C23, P120, NPM1-3, USP36, нуклеостемин, PES1, TTF1, ERGY 2α/YB1, NSUN2, рибосомные белки S9, L23
Регуляция апоптоза	Bax, PARP-1, PARP-2, PIP3, GAGE, p53
Участие в модификации, синтезе и деградации (протеолизе) белков	PKR, BRCA1+BARD1, AKT, Fbw7γ, HLJ1, гранзим М
Регуляция ангиогенеза	VEGFR-A
Контроль репликации вирусов	Rex HTLV, Rev и Tat HIV, антигены вируса гепатита дельта, белки кора HCV и HCB, p14 MMTV, коровый белок вируса японского энцефалита, основной коровый белок аденовирусов

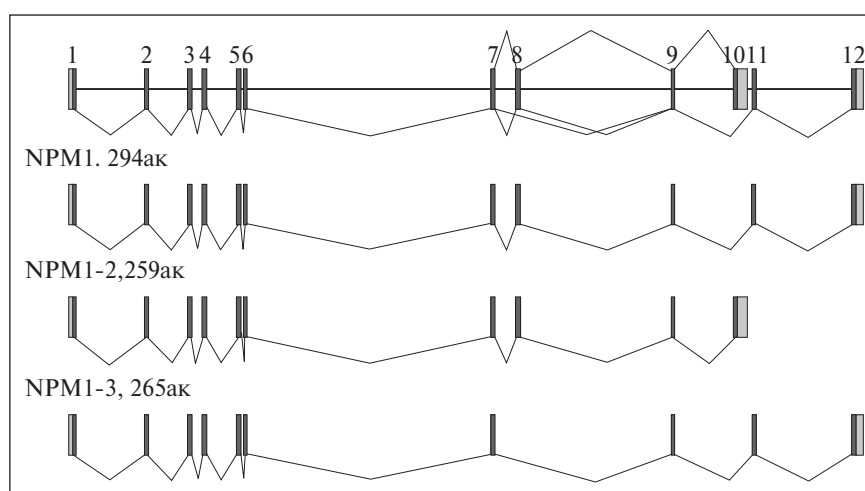
была обнаружена в минорной белковой фракции нуклеоплазмы и цитоплазмы; ее функции ограничены из-за утраты С-концевых доменов [35].

Молекулы NPM1 содержат уникальные области, ответственные за олигомеризацию, шаперонную активность, связывание с нуклеиновыми кислотами и белками [22, 23]. На N-конце молекулы NPM1 обнаружены метионинбогатый участок, важный для регуляции трансляции мРНК, и гистонсвязывающий участок. На С-конце молекулы имеется кластер положительно заряженных аминокислот, ответственный за связывание NPM1 с молекулами ДНК и РНК, АТФ, белками ядрышка, а также за транспорт гистонов и рибонуклеазную активность (рис. 2). Транспортная функция NPM1 обеспечивает импорт и экспорт рибосомных белков в ядро и из ядра, транспорт ядрышковых белков, а также вирусных белков Rev, Rex и Tat в ядрышко [8, 46]. Основные функции нуклеофомина и широкий спектр межмолекулярных взаимодействий, опосредующих эти функции, представлены в табл. 1.

При образовании веретена деления молекулы NPM1 формируют околохромосомный слой белков, которые составляют основу созревающих рибосомных субъединиц и гранулярного компонента ядрышек. Олигомеризация молекул NPM1 усиливает их шаперонную активность, увеличивает сродство к нуклеиновым кислотам и бел-

кам и ускоряет созревание рибосом. В последнее время появились данные, согласно которым изменение уровня биосинтеза NPM1 влечет за собой нарушение транспорта гистонов и регуляции сборки хроматина. Это, в свою очередь, может обусловить нарушение процесса митоза, индуцировать геномную нестабильность и развитие опухоли [35, 41].

В индукции генетической нестабильности и трансформации клеток немаловажную роль играет взаимодействие NPM1 с другими белками. В частности, связывание нуклеофомина с белком p14/ARF в ядрышке препятствует активации белка-супрессора p53 в клетках. Однако при повреждении ДНК моле-



**Рис. 1.** Схема альтернативного сплайсинга мРНК гена NPM1, в результате которого образуются 3 изоформы белка нуклеофомина: NPM1-1, NPM1-2 и NPM1-3, содержащих соответственно 294, 259 и 265 аминокислот. Сверху показана схема гена, цифрами обозначены экзоны с 1 по 12 (по [37])

кулы NPM1 переносят p14/ARF в ядро, обеспечивая взаимодействие этого белка с фактором mdm2 и активацию p53. Повышенный уровень экспрессии NPM1 и совместная локализация нуклеофозмина и белков – продуктов онкогенов или генов-супрессоров c-Fos, c-Myc, p53 и Rb описаны для клеток линии SMMC-7721 гепатокарциномы человека [34]. Показано, что экспрессия нуклеофозмина важна для стабилизации молекул белка ARF, который подавляет клеточную пролиферацию посредством p53-зависимых и p53-независимых механизмов. В клетках с низким уровнем экспрессии NPM1 молекулы ARF нестабильны, и это снижает их способность инициировать p53-зависимую остановку клеточного цикла.

Важную роль в репарации ДНК играет другой белок-супрессор – BRCA2, локализованный в центросомах и в клеточных ядрах и регулирующий транскрипцию, опосредуя клеточную пролиферацию. Для выполнения этих функций необходимо образование функционального комплекса BRCA2 с NPM1 и малой ГТФазой. Безошибочность клеточных делений и скорость прохождения клеточного цикла зависят также от функционирования комплекса белков BRCA2 – NPM1 – Rho-зависимая полимеразы ROCK II [50]. Было показано, что в активно пролиферирующих опухолевых клетках уровень NPM1(B23) выше, чем в неизмененных [12, 19, 37]. В клетках эпителиоидной карциномы легкого человека линии A549 выявленная гиперэкспрессия нуклеофозмина была связана с высокой активностью протеинкиназы B (PKB/Akt). Авторы предположили, что комплекс Akt2/B23 может функционировать как онкогенный полипротеин [32].

В клетках немелкоклеточного рака легкого человека линий CL1-0 и CL1-5 обнаружена олигомеризация молекул NPM1, которая зависела от активности белка теплового шока HLI1. В результате формирования гетеродимеров HLI1-NPM1 происходило рекрутирование регуляторного белка-корепрессора AP-2alpha к промотору гена, кодирующего матричную металлопротеиназу MMP-2. При взаимодействии молекул NPM1 с HLI1 нуклеофозмин представлен

мономерной формой и участвует в регуляции (снижении) уровня экспрессии генов. В итоге пролиферация клеток и рост опухоли замедляются. Олигомеризация NPM1 *in vivo* в виде гексамера, напротив, стимулирует экспрессию целого ряда генов, что указывает на онкогенную активность нуклеофозмина [35, 41].

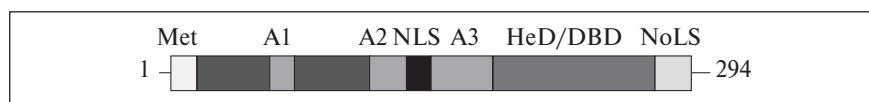
Показано также, что функциональная активность молекул NPM1 зависит от фосфорилирования остатков Ser10 и Ser70 циклинзависимой киназой (Cdk). Обнаружено, что одновременная инактивация фосфорилирования этих аминокислотных остатков молекулы нуклеофозмина в клетках мышиноного лейкоза ускоряет прохождение фазы G2/M клеточного цикла и приводит к стимуляции пролиферации [13]. Таким образом, фосфорилирование молекул NPM1 важно для регуляции клеточного цикла и прохождения клеткой сверочной точки G2/M.

Механизм такой регуляции связан с взаимодействием киназ Cdk1 и Cdk25C, опосредованным через фосфорилирование молекул NPM1. Обнаружено, что фосфорилирование серина Ser4 в молекуле NPM1 киназой Plk2 опосредует прохождение клеткой другой сверочной точки в фазе G1/S и дупликацию центромеры в S-фазе митоза. Было показано, что в ядерном матриксе нуклеофозмин при сборке функционального комплекса кинетохора взаимодействует с РНК-ассоциированным белком CENP-W [11]. Мутация нуклеотидного триплета, кодирующего Ser4 NPM1, запрещает фосфорилирование молекулы нуклеофозмина и приводит к остановке клеточного цикла в S-фазе [34].

Фосфорилирование молекул NPM1 необходимо также для связывания с другими белками и раскручивания молекул ДНК [41]. Кроме указанных выше факторов, в фосфорилировании NPM1 задействован целый ряд циклинзависимых протеинкиназ: CK2, CDK2, E/CDK2. Фосфорилирование молекул нуклеофозмина протеинкиназой CK2 крайне важно для распределения молекул нуклеофозмина в клеточном ядре. Нарушение межмолекулярного взаимодействия NPM1 и CK2 приводит к снижению скорости клеточной пролиферации и к индукции апоптоза [43].

Фосфорилированные молекулы нуклеофозмина взаимодействуют также с белками ряда вирусов, формируя транспортный комплекс для переноса вирусных нуклеиновых кислот в ядро (см. табл. 1).

Как было показано некоторыми авторами, инактивация нуклеофозмина снижает репликативную способность штаммов папилломавирусов высокого риска и экспрессию вирусных белков E6/E7, а также усиливает экспрессию маркеров клеточной дифференцировки *in vitro* и *in vivo*. Нокаут гена NPM1 в



**Рис. 2.** Доменная структура молекулы B23/NPM1 (294 аминокислоты); N-конец молекулы нуклеофозмина важен для олигомеризации молекул, C-конец – для связывания с аминокислотами. В молекуле имеется не менее 5 сайтов фосфорилирования киназами CDK2, CKII, N-II, Plk1. Мутации наиболее часто затрагивают C-конец молекулы B23 (триптофан 288, 290 при ОМЛ) и N-конец (транслокации при лимфомах и хроническом лейкозе). NLS – сигнал ядерной локализации, HD, или HeteroD, – домен гетеродимеризации, DBD или NBD – ДНК-связывающий домен, NoLS – мотив ядрышковой локализации, A1-A3 – участки с высоким содержанием кислых аминокислот. В изоформах NPM1-2 и NPM1-3 происходит частичная делеция функциональных участков молекулы пептида (по [37])

кератиноцитах, экспрессирующих вирусные белки E6/E7, вызывает усиление экспрессии белков-супрессоров p53 и pRb. Таким образом, нуклеофозмин необходим для пролиферации и ингибирования клеточной дифференцировки в инфицированных HPV клетках, экспрессирующих вирусные белки E6/E7 [39].

Кроме фосфорилирования, модификация молекул NPM1 возможна путем ацетилирования, убиквитирования и связывания с убиквитинподобными белками-модификаторами (SUMO), белками-супрессорами BRCA2 и p53, протеазами SENP3 и SENP5. Эти пока не до конца изученные процессы играют определенную роль в активации и поддержании стабильной структуры ядрышка, обеспечивая его функции [48, 51]. Гиперэкспрессия гена *NPM1* и высокая концентрация белка NPM1 стимулируют транскрипцию рДНК, транспорт в цитоплазму рибосомных субъединиц и репликацию ДНК в S-фазе митоза. Как уже говорилось, гиперэкспрессия *NPM1* приводит также к активации связывания нуклеофозмином белка p14/ARF и репрессии p53.

Показано, что гиперэкспрессия гена *NPM1* обуславливает активацию клеточных онкогенов *Ras* и *Myc* [37]. Высокий уровень NPM1 в опухолевых клетках зачастую связан с быстрым ростом этих клеток. Например, гиперэкспрессия *NPM1* наблюдалась при стимуляции митогенами В- и Т-лимфоцитов и клеточной линии Swiss 3T3 [16]. По данным ряда авторов, экспрессия *NPM1* усиливается в солидных опухолях молочной и щитовидной желез, печени, легких, надпочечников, предстательной железы, мозга и опухолей нейроэндокринного происхождения [12, 23, 27, 42, 44, 46, 55].

Однако в некоторых случаях нуклеофозмин может функционировать и как потенциальный опухолевый супрессор, активность которого в отличие от типичных супрессоров зависит не только от уровня этого белка в клетке, но и от его локализации в ядрышке, нуклеоплазме или цитоплазме, а также от функционального статуса белков p53 и ARF [23]. Некоторые авторы наблюдали переменный уровень экспрессии нуклеофозмина, локализованного в ядрышках, ядрах и цитоплазме в зависимости от клинико-патологических характеристик.

Например, есть данные о снижении уровня экспрессии *NPM1* в быстрорастущих опухолях молочной железы с плохим прогнозом. Относительно низкий уровень экспрессии нуклеофозмина наблюдали в культуре клеток опухолей молочной железы человека линии *MDA-MB-231*, растущих в матрикеле. Инвазивный потенциал клеток с более высоким уровнем экспрессии нуклеофозмина был ниже. Иллюстрацией этого служит разница в уровне экспрессии нуклеофозмина в нормальных клетках люминального эпителия молочной железы и в клетках *MDA-MB-231*. На супрессорную функцию *NPM1* в отдельных солидных опухолях указывают также эксперименты с нокаутными мышами, несущими единственный инактивированный аллель гена *NPM1*, что индуцирует рост

опухоли [31]. Однако снижение уровня экспрессии нуклеофозмина, а также ряда других белков ядерного матрикса в процессе апоптоза клеток остеосаркомы человека линии *MG-63* говорит о противоположной регуляторной роли нуклеофозмина [56]. Эти данные свидетельствуют о том, что для наиболее полной оценки пролиферативной активности опухоли и агрессивности ее поведения важно определять комплекс параметров: уровень экспрессии Ag-ОЯОР-белков, указывающий на скорость прохождения клетками митотического цикла, и содержания Ki-67 – маркера количества пролиферирующих клеток [7].

Таким образом, уровень продукции NPM1 свидетельствует о степени злокачественности клеток. За исключением отдельных наблюдений гиперэкспрессия нуклеофозмина коррелирует с быстрым ростом клеточной популяции и с плохим прогнозом [5, 7, 21, 37, 42, 55].

### МУТАЦИИ ГЕНА *NPM1* В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ

Гиперэкспрессия гена *NPM1* обусловлена индукцией промотора, например, при связывании его с белком *Myc*, а также мутациями в различных экзонах этого гена [10]. Наиболее полно эти мутации исследованы при гемобластозах, включая острый миелобластный лейкоз (ОМЛ). В большинстве таких опухолей обнаружена гиперэкспрессия гена *NPM1* в результате сдвига рамки считывания на 3'-конце мРНК. Мутации гена *NPM1* приводят к нарушению цитоплазматической локализации нуклеофозмина, что, в свою очередь, активирует клеточную пролиферацию и развитие опухоли [14, 15].

Описано около 50 мутаций гена *NPM1*, большинство из них выявлено у больных ОМЛ. До 80% всех известных мутаций картировано в экзоне 12 этого гена и обуславливает структурные изменения на С-конце молекулы нуклеофозмина. Наиболее частая из описанных мутаций приводит к замене остатков триптофана в позициях 288 и 290, определяющих локализацию NPM1 в ядрышках, и к вставке аминокислотного мотива – дополнительного сигнала ядерного экспорта (*nucleous export signal*, NES). Это вызывает накопление мутантного белка в цитоплазме. Пока нет убедительных данных о том, что потеря аллеля (LOH) гена *NPM1* приводит к нарушению клеточного цикла, индукции апоптоза и других процессов. Мутантная цитоплазматическая изоформа нуклеофозмина подавляет p53/ARF-зависимую супрессию и активирует онкогенный *c-Myc*-зависимый рост клеток, способствуя развитию опухоли [8].

Нуклеофозмин представляет большой интерес в качестве потенциальной мишени для таргетной терапии гемобластозов, что обусловлено многофункциональностью этого белка. Получены препараты, ингибирующие олигомеризацию NPM1 и индуцирующие p53 с последующим апоптозом. Кроме того, синтезирован пептид CIGB-300 (p15-TAT), связывающий



нуклеофозмин, что подавляет его фосфорилирование киназой СК2, ведет к разрушению ядрышек и к апоптозу опухолевых клеток. Есть и другие примеры прицельного связывания молекул нуклеофозмина с последующей индукцией апоптоза [27, 28].

### ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИИ С23/НУКЛЕОЛИНА

Аргирофильный белок нуклеолин (NCL, С23) выполняет ряд функций в качестве молекулярного шаперона и регулятора биогенеза рибосом (табл. 2), включая регуляцию транскрипции рДНК, процессинга рРНК и сборки рибосомных субъединиц [25, 33, 45, 47]. Нуклеолин представляет собой многофункциональный РНК- и протеинсвязывающий белок, который активно продуцируется в быстро растущих клетках. Нуклеолин входит в состав фибриллярного и, в меньшей степени, гранулярного компонентов ядрышек. Этот белок контролирует метаболизм ДНК и РНК, опосредуя функции ДНК и РНК-хеликаз и ДНК-зависимой АТФазы. Цитоплазматический нуклеолин выполняет транспортные функции, доставляя в клеточное ядро различные белки и обеспечивая посттранскрипционную регуляцию. Нуклеолин участвует в протеолизе, метилировании и фосфорилировании киназами СК2, cdc2, РКС-ζ АМФ-зависимой протеинкиназы и других белков путем специфического связывания с белковыми молекулами [49]. Функция нуклеолина в качестве транспортного протеина, циркулирующего между цитоплазмой и ядром и регулирующего клеточные сигнальные пути, пока изучена недостаточно. Молекулы нуклеолина, локализованные на поверхности клеток, располагаются кластерами в липидном слое клеточной

мембраны и взаимодействуют с различными лигандами, включая факторы роста, вирусные протеины и другие белки. Затем эти комплексы проникают в клетку путем эндоцитоза. Таким образом, молекулы нуклеолина функционируют как медиаторы внеклеточных сигналов [38, 40]. Ген *NCL*, кодирующий нуклеолин, картирован на хромосоме *2q37.1*, содержит 14 экзонов и 13 интронов протяженностью около 11 т.п.н., причем интрон 11 кодирует малую ядерную РНК U20.

Молекулы ядерного и внеядерного нуклеолина фосфорилируются разными киназами: СК2, CDC2 и эктопротеинкиназой типа СК. В результате посттрансляционной модификации молекул изоэлектрические точки и некоторые функции этих форм нуклеолина различаются [25, 26]. Более того, уровень биосинтеза нуклеолина на поверхности клеток не зависит от уровня продукции его ядерной фракции [16].

Молекула нуклеолина содержит 710 аминокислотных остатков. Фосфорилированный нуклеолин обнаружен в ядрышках и в клеточном ядре. Рецепторные молекулы нуклеолина на поверхности клеток могут быть гликированы и содержат О-, N-гликаны. Они участвуют в регуляции обмена ионов кальция и в межклеточном метаболизме, в регуляции Ca<sup>2+</sup>-зависимого транспорта лигандов. Локализованные на клеточной мембране молекулы нуклеолина взаимодействуют с разнообразными лигандами, включая лактоферрин, эндостатин, вирусные частицы, цитокины [10, 38]. В частности, блокирование нуклеолина с помощью нейтрализующих антител или нокаута гена *NCL* при РНК-интерференции ингибирует ангиогенную активность эндостатина *in vivo*. Гликированный нуклеолин и эндостатин локализуются на

Таблица 2

#### ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ С23/НУКЛЕОЛИНА

Функции С23/нуклеолина	Белки, взаимодействующие с С23 и опосредующие данные функции
Регуляция репарации, рекомбинации и транскрипции ДНК, трансляции РНК, взаимодействия с ДНК и РНК	Bcl-2, BRCA1, MAP-киназы, РКС, Stat1, семейство REST, протеинкиназа p38 hRPA, SWAP-70, топоизомераза I (Top1), hTERT, p53-индуцибельные белки PIDD/LRDD, PCNA, NPM
Регуляция сборки хроматина и рибосом	SWI/SNF, ANF, гистоны Рибосомные белки L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L13a, L18, L18a, L28, L35a, L37a, S3a S8, S9, S11
Регуляция активности теломеразы	субъединицы теломеразы, G4
Контроль апоптоза, протеолиза и модификации клеточных белков, клеточной дифференцировки	p53, L26, BRCA1, Bcl-2; СКII, cdc2, РКС-ζ АМФ-зависимая протеинкиназа pRB, P53, киназа CDC2, GDNF-индуцибельный белок цинковых пальцев GZF1, казеинкиназа II (СКII), гистоны H1, H2B и H3, IRF-2, Hdm2, BIG1, А-Myb, С-Myb, глюкокортикоидный рецептор GR, РНК-метилтрансфераза NSUN2, гранзим А
Регуляция пролиферативной активности клеток, клеточного цикла и дифференцировки клеток. Молекулы С23, локализованные на поверхности клеток, регулируют Ca <sup>2+</sup> -зависимый транспорт лигандов и соответствующие сигнальные пути	С-мус, К-Ras, ErbB, Hsp70, лактоферрин, эндостатин, цитокины, Rho- киназа + ГТФаза, P/Tpt1, P/Oct4 NCL, NSUN2, ARF, p53, SENP3 and SENP5, p21WAF1/CIP1, Hdm2, YY1, PKR (eIF2-киназа), HEXIM1, Ebp1, Поло-киназа I (Plk1), YB1, нуклеостемин, p120, USP36, CTCF, c-Jun, гистоны H2B, H3 и H4
Регуляция ангиогенеза	мРНК MMP-9
Контроль репликации вирусов	Е6/Е7 HPV, BS5B HCV, белок NS1 вируса гриппа А, вирусные частицы HSV-1

поверхности эндотелиальных клеток сосудов, быстро прорастающих в опухоли, и рецепторные молекулы нуклеолина обеспечивают транспорт эндостатина в ядра этих клеток. Однако эндостатин ингибирует активность локализованного в ядре фосфорилированного нуклеолина, что, в свою очередь, может быть причиной подавления пролиферации эндотелиальных клеток и неоангиогенеза в опухоли [18].

На мышинной клеточной линии рака желудка *MGT-40* было показано, что молекулы нуклеолина на поверхности клеток служат рецепторами для белка *Tira*, обеспечивая транспорт последнего из цитозоля в клеточное ядро [53, 54]. Известно, что белок *Tira* синтезируется *H. pylori* и индуцирует экспрессию фактора некроза опухолей ФНО- $\alpha$ . Интернализация *Tira* усиливает экспрессию ФНО- $\alpha$  и хемокиновых генов посредством активации NF- $\kappa$ B-зависимых сигнальных путей. По мнению авторов, канцерогенез рака желудка может быть связан с гликированием рецепторных молекул нуклеолина [54]. Это предположение подтверждено сравнительным исследованием, в котором показано, что неизменные клетки эпителия желудка в отличие от различных клеточных линий аденокарциномы человека и мышей не несут на своей поверхности молекулы нуклеолина. Однако в процессе канцерогенеза происходит быстрое накопление его гликированной фракции. Связыванию с *Tira* предшествует активная транслокация молекул нуклеолина на поверхность клеток, что позволяет рассматривать его как возможную мишень для таргетной терапии меланомы, опухолей желудка, предстательной железы [49] и другой локализации [25, 49, 53].

Молекула нуклеолина содержит ряд функционально важных доменов, которые обуславливают его функции. На N-конце молекулы имеется несколько сайтов фосфорилирования, в центральной части находится 4 РНК-связывающих домена (RDB), а на C-конце – глицин- и аргининобогатые домены, или RGG- и GAR-домены. Фосфорилирование остатков серина в молекуле нуклеолина, а также перенос модифицированных молекул нуклеолина из ядра в цитоплазму опосредованы RhoA-киназой в комплексе с ГТФазой. Основные функции нуклеолина представлены в табл. 2.

С ДНК связываются как фосфорилированные, так и нефосфорилированные молекулы нуклеолина. Однако фосфорилированный нуклеолин взаимодействует со специфичными регуляторными белками, например семейством REST, регулируя активность факторов транскрипции, протеинкиназ и опосредуя клеточную пролиферацию и апоптоз [49]. Фосфорилирование и дефосфорилирование молекул NPM1 и NCL играют важную роль при репарации поврежденных ДНК, обусловленных облучением и генотоксическим стрессом, и регулирует клеточный апоптоз, что важно учитывать при химиолучевой терапии новообразований.

По мнению некоторых исследователей, связывание молекул нуклеолина с тирозинкиназными рецеп-

торами ErbB индуцирует злокачественную трансформацию клеток [16, 47]. Гиперэкспрессия нуклеолина опосредует фосфорилирование этих рецепторов, их олигомеризацию, гиперактивацию соответствующих клеточных сигнальных путей и клеточной пролиферации. С помощью масс-спектрометрии и двухмерного электрофореза была исследована экспрессия *in vitro* совокупности белков клеточного ядра (ядерного протеома) при регрессии опухоли (линия клеток *QR-32*) или ее прогрессии (линия *QRsP-11*). В быстро пролиферирующих клетках линии *QRsP-11* было обнаружено значительное увеличение уровня экспрессии нуклеолина [55]. Молекулы нуклеолина взаимодействуют с регулятором транскрипции Stat1 и обеспечивают его взаимодействие с регуляторным элементом GAS. Это индуцирует дифференцировку клеток миелоидного ряда моноцитов в макрофаги [27]. С другой стороны, при взаимодействии нуклеолина с белком RPA возможно ингибирование репликации ДНК в условиях стресса. Показано, что при тепловом шоке молекулы нуклеолина переносятся в нуклеоплазму и связываются с белком RPA, ингибируя начало репликации ДНК и клеточную пролиферацию [37, 47].

Экспрессия нуклеолина опосредует целый ряд других важных процессов: сборку хроматина, рекомбинацию и репликацию ДНК, транскрипцию РНК РНК-полимеразой I, а также процессинг рРНК, стабилизацию мРНК, прохождение клеткой клеточного цикла и апоптоз. Молекулы нуклеолина и рибосомного белка *L26* связываются с 5'-нетранслируемым участком (UTR) РНК гена *p53*. При гиперэкспрессии нуклеолина подавляется трансляция мРНК *p53*, и соответствующий белок-супрессор не активируется после повреждения ДНК. Напротив, сравнительно низкий уровень экспрессии нуклеолина сопряжен с усиленной экспрессией гена *p53* [26, 45]. Кроме того, нуклеолин взаимодействует с белком-супрессором BRCA1. Совместная локализация NCL и BRCA1 выявлена в нуклеоплазме и в гранулярном компоненте ядрышек клеток рака шейки матки *HeLa* и рака молочной железы *MCF-7* человека [49]. При этом уровень продукции как BRCA1, так и нуклеолина был повышен в фазах *G1-S* и *G2/M*. Вероятно, нуклеолин взаимодействует с белком BRCA1 так же, как это доказано для нуклеофозмина, молекулы которого образуют комплекс с другим белком-супрессором: B23-BRCA2.

На клетках *HeLa* было показано, что гиперэкспрессия NCL снижает транскрипционную активность промотора онкогена *c-Myc* путем стабилизации комплекса *c-Myc-G4* [22]. Так называемый G-квадруплекс (G4) представляет собой 4-цепочечную ДНК, состоящую из 4 остатков гуанина (G), расположенных в одной плоскости. Такие структуры играют большую роль в регуляции теломеразной активности и в поддержании целостности теломера. При этом молекулы нуклеолина стабилизируют G4 и препятствуют раскручиванию суперспирализованной

ДНК и активации транскрипции онкогена *c-Myc*. Нуклеолин взаимодействует с РНК-связывающим доменом 4 и С-концевым доменом субъединицы теломеразы, имеющей активность обратной транскриптазы. Это взаимодействие стабилизирует ядерную форму теломеразы. Напротив, нарушение комплекса NPM1 – теломеразы приводит к дестабилизации теломер и обуславливает неограниченную пролиферацию клеток, характерную для опухолей [33]. Известно также, что локализованные на мембране молекулы нуклеолина, как и нуклеофозмина специфически взаимодействуют с белком k-Ras – ключевым регулятором основных клеточных сигнальных путей [28].

Являясь молекулярным шапероном, нуклеолин регулирует структуру хроматина, усиливая его сборку посредством активации факторов SWI/SNF и ANF. Нуклеолин ускоряет сборку нуклеосом, удаляя гистоновые димеры *H2A-H2B*. В то же время он способствует проникновению РНК-полимеразы II к хроматину, регулируя транскрипцию ДНК. Активация этих процессов в пролиферирующих клетках, включая и опухолевые, также связана с повышенной экспрессией нуклеолина.

Гиперэкспрессия нуклеолина в клетках наблюдается и при вирусной инфекции. Иммуногистохимическими методами выявлена совместная локализация нуклеолина и белков вируса простого герпеса I типа (HSV-1) в клеточных ядрах, а гранулярного нуклеолина – в цитоплазматических агрегатах с вирусными белками. С использованием малых ядерных РНК было показано, что высокое содержание нуклеолина в ядрышках – необходимое условие репликации HSV-1 [9]. Репликация ряда вирусов зависит также от экспрессии нуклеофозмина.

Молекулы нуклеолина связываются и с другими вирусными белками. Например, при взаимодействии с белком NS5B вируса гепатита С (*hepatitis C virus* – HCV) нуклеолин регулирует олигомеризацию этого белка. Обнаружено также, что нуклеолин взаимодействует с РНК-связывающим доменом белка NS1 вируса гриппа А. С помощью лазерной конфокальной микроскопии удалось выявить совместную локализацию этого вирусного белка и нуклеолина в ядрышках. По-видимому, формирование такого комплекса важно для успешной репликации этого вируса и потенциальной активации клеточных онкогенов [40].

С опухолевым ростом связана еще одна, пока мало исследованная функция нуклеолина – взаимодействие с пептидом F3, ассоциированным с эндотелием кровеносных сосудов. Этот пептид охарактеризован как маркер скорости неоангиогенеза в опухолях и как возможная мишень для таргетной терапии. Показано, что активность данного пептида напрямую связана с экспрессией нуклеолина [18]. Поскольку нуклеофозмин также приводит к усилению экспрессии митогена эндотелиальных клеток VEGFR-A, оба аргирофильных белка – нуклеолин и нуклеофозмин – являются мощ-

ными индукторами неоангиогенеза. Нуклеолин регулирует транскрипцию матричных металлопротеиназ (ММП). Эти белки участвуют в деградации внеклеточного матрикса при ангиогенезе, а также в опухолевой прогрессии и других процессах канцерогенеза. Обнаружено, что нуклеолин связывается с областью 3'UTR мРНК ММП-9 и усиливает трансляцию РНК, обеспечивая посттранскрипционный контроль экспрессии ММП-9. Исследование экспрессии нуклеолина в клетках может быть основой для разработки ингибиторов клеточной пролиферации и создания таргетных препаратов, направленных на эту мишень [45].

Анализ совместной экспрессии нуклеофозмина и нуклеолина представляет особенный интерес, поскольку эти белки регулируют общие сигнальные пути по сходным механизмам. В частности, с помощью вестерн-блоттинга была обнаружена гиперэкспрессия NPM1 и NCL в лейкозных клетках, связанная с лекарственной устойчивостью опухолей при рецидивах заболевания [26].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Продукты генов *NPM1* и *NCL* – аргирофильные белки NPM1/B23/нуклеофозмин и NCL/C23/нуклеолин играют ключевую роль в регуляции важнейших функций клетки, включая клеточный цикл. Нарушение экспрессии этих белков может быть связано со структурными перестройками генов и затрагивает функциональную активность указанных белков. Изменение уровня продукции B23 и C23 связано также с эпигенетическими механизмами регуляции транскрипции соответствующих генов. Такие изменения влияют на скорость прохождения клеточного цикла, активность клеточных сигнальных путей и могут индуцировать в клетке патологические процессы, включая злокачественную трансформацию. Диагностическое значение уровня экспрессии нуклеофозмина и кодирующего его гена доказано для острого миелоидного лейкоза.

В последнее время нуклеолин рассматривается в качестве мишени для молекулярно-направленной таргетной терапии. Начаты клинические исследования различных агентов на основе моноклональных антител к нуклеолину при терапии солидных опухолей. С учетом механизма действия таргетных препаратов их применение оправдано лишь для опухолей, имеющих конкретные молекулярные мишени, взаимодействующие с этими препаратами [6].

Доказана важная роль Ag-ОЯОР-белков в реализации пролиферативного потенциала и в прогрессии злокачественных опухолей человека. Анализ экспрессии этих белков и механизмов ее регуляции в опухолевых клетках способствует разработке молекулярных препаратов, действие которых направлено на регуляторные белки, участвующие в прогрессии опухолей человека. Это позволит добиться высокой терапевтической активности таких препаратов, а значит, улучшить качество и продлить жизнь онкологических больных.



1. Авдалян А.М., Бобров И.П., Климачев В.В. и др. Экспрессия рецепторов половых гормонов и активность аргирофильных белков области ядрышковых организаторов в клетках неизмененного миометрия и лейомиомы тела матки // *Морфология*. – 2010; 137 (2): 61–5.
2. Бобров И.П., Долгатов А.Ю., Лазарев А.Ф. и др. Ядрышковый аппарат и скорость клеточной пролиферации при предраковых заболеваниях и раке молочной железы // *Сибирский онкол. журн.* – 2008. Приложение №2: 27–9.
3. Демидова И.А. Мутации генов нуклеофосмина при острых лейкозах // *Клин. онкопатол.* – 2008; 1 (4): 297–302.
4. Лазарев А.Ф., Кобяков Д.С., Климачев В.В. Количественный анализ аргирофильных белков районов ядрышковых организаторов в аденомах толстой кишки и морфологические критерии риска малигнизации // *Российский журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* – 2006; 16 (5): 31–5.
5. Лазарев А.Ф., Кобяков Д.С., Климачев В.В. и др. Аргирофильные белки в аденомах толстой кишки с различными дисплазиями и аденокарциномой // *Арх. патол.* – 2010; 72 (4): 16–20.
6. Переводчикова Н.И. Таргетные (молекулярно-нацеленные) препараты // *Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний*. – М. – 2005. – Практическая медицина. – С. 41–48.
7. Райхлин Н.Т., Букаева И.А., Пробатова Н.А. Аргирофильные белки областей ядрышковых организаторов – маркеры скорости клеточной пролиферации: Обзор // *Арх. патол.* – 2006; 68 (3): 47–51.
8. Adachi Y., Copeland T., Hatanaka M. et al. Nucleolar targeting signal of Rex protein of human T-cell leukemia virus type I specifically binds to nucleolar shuttle protein B-23 // *J. Biol. Chem.* – 1993; 268 (19): 13930–4.
9. Caldiera P., Aquilar M., Mesquita R. et al. Oral leukoplakias with different degrees of dysplasia comparative study of hMLH1, p53 and AgNOR // *J. Oral. Pathol. Med.* – 2011; doi 10.1111/j.1600-0714.2010.01000.
10. Callé A., Ugrinova I., Epstein A. et al. Nucleolin is required for an efficient herpes simplex virus type 1 infection // *J. Virol.* – 2008; 82 (10): 4762–73.
11. Dabbous M., Jefferson M., Haney L. et al. Biomarkers of metastatic potential in cultured adenocarcinoma clones // *Clin Exp Metastasis*. – 2011; 28 (2): 101–11.
12. Du W., Zhou Y., Pike S. et al. NPM phosphorylation stimulates Cdk1, overrides G2/M checkpoint and increases leukemic blasts in mice // *Carcinogrnmsis*. – 2010; 31 (2): 302–10.
13. Falini B., Martelli M., Pileri S. et al. Molecular and alternative methods for diagnosis of acute myeloid leukemia with mutated NPM1: flexibility may help // *Haematologica*. – 2010; 95 (4): 529–34.
14. Falini B., Bolli N., Liso A. et al. Altered nucleophosmin transport in acute myeloid leukaemia with mutated NPM1: molecular basis and clinical implications // *Leukemia*. – 2009; 23 (10): 1731–43.
15. Farin K., Di Segni A., Mor A. et al. Structure-function analysis of nucleolin and ErbB receptors interactions // *PLoS One*. – 2009; 4 (7): 6128.
16. Feuerstein N., Spiegel S., Mond J. The nuclear matrix protein, numatrin (B23), is associated with growth factor-induced mitogenesis in Swiss 3T3 fibroblasts and with T lymphocyte proliferation stimulated by lectins and anti-T cell antigen receptor antibody // *J. of Cell. Biology*. – 1988; 107 (5): 1629–42.
17. Fogal V., Sugahara K., Ruoslahti E. et al. Cell surface nucleolin antagonist causes endothelial cell apoptosis and normalization of tumor vasculature // *Angiogenesis*. – 2009; 12 (1): 91–100.
18. Fréhlick L., Eirin-López J., Ausió J. New insights into the nucleophosmin/nucleoplasm family of nuclear chaperones // *Bioassays*. – 2007; 29 (1): 49–59.
19. Gadbail A., Chaundary M., Patil S. et al. Actual proliferating index p53 protein expression as a prognostic marker in ontogenic cysts // *Oral Dis*. – 2009; 15 (7): 490–8.
20. Goel T., Garg S. Role of AgNOR count and its correlation with serum PSA levels in prostatic lesions // *Urol. Int.* – 2009; 82 (3): 286–90.
21. González V., Guo K., Hursley L. et al. Identification and characterization of nucleolin as a c-myc G-quadruplex-binding protein // *J. Biol. Chem.* – 2009; 284 (35): 23622–35.
22. Gjersef R. DNA damage, p14ARF, nucleophosmin (NPM1/B23), and cancer // *J. Mol. Histol.* – 2006; 37 (5–7): 239–51.
23. Hingorani K., Szebeni A., Olson M. Mapping the functional domains of nucleolar protein B23 // *J. of Biol. Chemistry*. – 2000; 275 (32): 24451–7.
24. Hoja-Lukowicz D., Przybylo M., Pocheć E. et al. The new face of nucleolin in human melanoma // *Cancer Immunol Immunother.* – 2009; 58 (9): 1471–80.
25. Hovanessian A., Soundaramourty C., El Khoury D. et al. Surface expressed nucleolin is constantly induced in tumor cells to mediate calcium-dependent ligand internalization // *PLoSOne*. – 2010; 5 (12): e.15787.
26. Hu J., Lin M., Liu T. et al. DIGE-based proteomic analysis identifies nucleophosmin/B23 and nucleolin/C23 as over-expressed proteins in relapsed/refractory acute leukemia // *Leuk. Res.* – 2011; PMID. 21310483.
27. Jerke U., Tkachuk S., Kiyan J. et al. // Stat1 nuclear translocation by nucleolin upon monocyte differentiation // *PLoS One*. – 2009; 4 (12): e.8302.
28. Inder K., Hill M., Hancock J. Nucleophosmin and nucleolin regulate K-Ras signaling // *Communicat. Integr. Biol.* – 2010; 3 (2): 188–90.
29. Kang W., Ko M., Lee D. et al. Bioimaging of geographically adjacent proteins in single cell by quantum dot-based fluorescent resonance energy transfer // *Proteomics Clin Appl.* – 2009; 3 (12): 1383–8.
30. Kardum-Skelin I., Jaksic O., Kolonic S. et al. New parameters of diploid histogram of image DNA cytometry and newly characterized types of nucleolar organizer region structures in defining the proliferative-kinetic index in chronic leukemic lymphoproliferative disorders // *Anal. Quant. Cytol. Histol.* – 2009; 5: 313–25.
31. Karhemo P., Rivinoja A., Lundin J. et al. An extensive tumor array analysis supports tumor suppressive role for nucleophosmin in breast cancer // *Am. J. Pathol.* – 2011; 179 (2): 1004–14.
32. Kim C., Nguyen T., Lee S. et al. Akt2 and nucleophosmin/B23 function as an oncogenic unit in human lung cancer cells // *Exp Cell Res.* – 2010; PMID: 21182834.
33. Khurts S., Masutomi K., Delgermaa L. et al. Nucleolin interacts with telomerase // *J. Biol. Chem.* – 2004; 279 (49): 51508–15.
34. Krause A., Hoffmann I. Polo-like kinase 2-dependent phosphorylation of NPM/B23 on serine 4 triggers centriole duplication // *PLoS One*. – 2010; 5 (3): e. 9849.
35. Kuramitsu Y., Hayashi E., Okada F. Proteomic analysis for nuclear proteins related to tumor malignant progression: a comparative proteomic study between malignant progressive cells and regressive cells // *Anticancer Res.* – 2010; 30 (6): 2093–9.
36. Li Q., Tang J., Liu Q. et al. Localization and altered expression of nucleophosmin in the nuclear matrix during the differentiation of human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells induced by HMBA // *Cancer Invest.* – 2010; 28 (10): 1004–12.
37. Lindstrom M. NPM1/B23: a multifunctional chaperone in ribosome biogenesis and chromatin remodeling // *Biochem Res Int.* – 2011. – PMID:195209.
38. Lösfeld M., Khoury D., Mariot P. et al. The cell surface expressed nucleolin is glycoprotein that triggers calcium entry into mammalian cells // *Exp. Cell Res.* – 2009; 315 (2): 357–69.
39. McCloskey R., Menges C., Friedman A. et al. Human papillomavirus type 16 E6/E7 upregulation of nucleophosmin is important for proliferation and inhibition of differentiation // *J. Virol.* – 2010; 84 (10): 5131–9.
40. Murayama R., Harada Y., Shibata T. et al. Influenza A virus non-structural protein 1(NS1) interacts with cellular multifunctional protein nucleolin during infection // *Biochem Biophys Res Commun.* – 2007; 362 (4): 880–5.
41. Okuwaki M. The structure and functions of NPM1/Nucleophosmin/B23, a multifunctional nucleolar acidic protein // *J. Biochem.* – 2008; 143 (4): 441–8.
42. Planta A., Puppini C., Franzoni A. et al. Nucleophosmin is overexpressed in thyroid tumors // *Biochem Biophys. Res. Commun.* – 2010; 397 (3): 499–504.
43. Qi W., Shakalya K., Stejskal A. et al. NSC348884, a nucleophosmin inhibitor disrupts oligomer formation and induces apoptosis in human cancer cells // *Oncogene*. – 2008; 27 (30): 4210–20.
44. Quintana L., da Silva F., Pieczarska J. et al. Correlation between argyrophilic nucleolar organizer region staining and brain tumor classification and grading // *Cancer Invest.* – 2010; 28 (5): 459–64.
45. Rickards B., Flint S., Cole M. et al. Nucleolin is required for RNA polymerase I transcription in vivo // *Mol. Cell. Biol.* – 2007; 27 (3): 937–48.
46. Sheng J., Zhang W. Identification biomarkers for cervical cancer in peripheral blood lymphocytes by oligonucleotide microarrays // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2010; 90 (37): 2611–5.
47. Storck S., Shukla M., Dimitrov S. et al. Functions of the histone chaperone nucleolin in diseases // *Subcell Biochem.* – 2007; 41: 125–44.
48. Szebeni A., Mehrotra B., Baumann A. et al. Nucleolar protein B23 stimulates nuclear import of the HIV-1 Rev protein and NLS-conjugated albumin // *Biochemistry*. – 1997; 36 (13): 3941–9.
49. Tate A., Isotani S., Bradley M. et al. Met-independent hepatocyte growth factor-mediated regulation of cell adhesion in human prostate cancer cells // *BMC Cancer*. – 2006; 6: 197.
50. Tediose T., Kolev M., Sivasankar B. et al. Interplay between REST and nucleolin transcription factors: a key mechanism in the overexpression of genes upon increased phosphorylation // *Nucleic Acids Res.* – 2010; 38 (9): 2799–812.
51. Tulchin N., Chambon M., Juan G. et al. BRCA1 protein and nucleolin colocalize in breast carcinoma tissue and cancer cell lines // *Am J. Pathol.* – 2010; 176 (3): 1203–14.
52. Valdez B., Perlaky L., Henning D. et al. Identification of the nuclear and nucleolar localization signals of the protein p120. Interaction with translocation protein B23 // *J. Biol. Chem.* – 1994; 269 (38): 23776–83.
53. Wang H., Takenaka K., Nakanishi A. et al. BRCA2 and nucleophosmin co-regulate centrosome amplification and form a complex with Rho effector kinase ROCK2 // *Cancer Res.* – 2010; 71 (1): 68–77.
54. Watanabe T., Hirano K., Nakahashi A. et al. Nucleolin on the cell surface as a new molecular target for gastric cancer treatment // *Biol Pharm Bull.* – 2010; 33 (5): 796–803.
55. Watanabe T., Tsuge H., Kise D. Nucleolin as a cell surface receptor for tumor necrosis factor- $\alpha$  inducing protein: a carcinogenesis factor of *Helicobacter pylori* // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 2010; 136 (6): 911–21.
56. Yung B. Oncogenic role of nucleophosmin / B23 // *Chang Gung Med. J.* – 2007; 30 (4): 285–93.
57. Zhao Z., Li Q., Zheng Y. The aberrant expression of nuclear matrix proteins during the apoptosis of human osteosarcoma cells // *Anat. Rec. (Hoboken)*. – 2010; 293 (5): 813–20.