

УДК 577.218:577.216

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-170-182>

Методы оценки влияния микроРНК на гены стволовой пластичности

Першина А.Г.¹, Невская К.В.¹, Морозов К.Р.¹, Литвяков Н.В.^{1,2}

¹ Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)

Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

² Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук

Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Согласно современным представлениям, для перехода микрометастаза в макрометастаз дифференцированная раковая клетка должна перейти в дедифференцированное состояние. Ключевую роль в данном переходе играет активация генов стволовой пластичности. Подавление экспрессии генов стволовой пластичности с использованием микроРНК может стать основой для разработки эффективных антиметастатических препаратов. Приведен обзор существующих методов оценки влияния микроРНК на гены стволовой пластичности и процесс дедифференцировки раковой клетки.

Ключевые слова: микроРНК, рак, гены стволовой пластичности

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1073 от 29.09.2021).

Для цитирования: Першина А.Г., Невская К.В., Морозов К.Р., Литвяков Н.В. Методы оценки влияния микроРНК на гены стволовой пластичности. *Бюллетень сибирской медицины*. 2022;21(4):170–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-170-182>.

Methods for assessing the effect of microRNA on stemness genes

Pershina A.G.¹, Nevskaya K.V.¹, Morozov K.R.¹, Litviakov N.V.^{1,2}

¹ Siberian State Medical University

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC), Russian Academy of Sciences
5, Kooperativnii Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

According to the latest concepts, for micrometastasis to develop into macrometastasis, differentiated cancer cells must revert to a dedifferentiated state. Activation of stemness genes plays a key role in this transition. Suppression of stemness gene expression using microRNAs can become the basis for the development of effective anti-metastatic

drugs. This article provides an overview of the existing methods for assessing the effect of microRNAs on stemness genes and cancer cell dedifferentiation.

Keywords: microRNA, cancer, stemness genes

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement No. 075-15-2021-1073 of 29.09.2021).

For citation: Pershina A.G., Nevskaya K.V., Morozov K.R., Litviakov N.V. Methods for assessing the effect of microRNA on stemness genes. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(4):170–182. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-170-182>.

ВВЕДЕНИЕ

Изучение фундаментальных механизмов канцерогенеза и поиск новых препаратов для терапии злокачественных новообразований являются одними из ведущих задач онкологии [1]. Серьезной проблемой, осложняющей успешное лечение злокачественных новообразований, является метастатическая болезнь. В зависимости от локализации опухоли и стадии заболевания, доля больных, у которых развиваются метастазы, варьирует от 15 до 90%. При подавляющем большинстве локализаций онкологические пациенты умирают от метастазов [2, 3]. На сравнительно ранних этапах развития опухоли часть раковых клеток экстравазирует в сосуды и разносится кровеносной системой по разным органам и тканям – формируются так называемые микрометастазы. В микрометастазах раковые клетки могут находиться длительное время в покое (дорматном) состоянии и при определенных условиях давать начало макрометастазам. Согласно современным представлениям, для перехода микрометастаза в макрометастаз дифференцированная раковая клетка должна перейти в дедифференцированное состояние. Ключевую роль в данном переходе играют гены стволовой пластичности.

Было показано, что стволовая пластичность клетки связана с экспрессией ряда генов (*SOX2*, *MYC*, *OCT*, *NANOG* и т.д.) [4–6]. Изменение экспрессии данных генов может быть опосредовано влиянием широкого спектра факторов, в том числе некодирующих РНК (длинной некодирующей РНК, малой интерферирующей РНК, микроРНК) [7–9]. В настоящее время активно изучаются подходы к изменению экспрессии генов стволовой пластичности с использованием микроРНК [10], так как они могут лечь в основу создания эффективного антиметастатического препарата. В данной статье приведен обзор существующих методов оценки влияния микроРНК на гены стволовой пластичности и процесс дедифференцировки раковой клетки.

ГЕНЫ СТВОЛОВОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

Транскрипционные факторы, ассоциированные со стволовостью, играют ключевую роль в процессах канцерогенеза. Гены *SOX2*, *OCT4*, *NANOG*, *MYC* необходимы для самообновления, перепрограммирования и поддержания гомеостаза стволовых клеток. Гиперэкспрессия генов данных транскрипционных факторов ассоциирована с развитием и прогрессией широкого спектра онкологических заболеваний – рака молочной железы [11–14], меланомы [15–17], остеосаркомы [18–20], плоскоклеточного рака головы и шеи [21–23], колоректального рака [24–26], рака шейки матки [27, 28], поджелудочной железы [29–31], желудка [32–35]. При этом наиболее высоким уровнем экспрессии *SOX2*, *OCT4*, *NANOG*, *MYC* характеризуются агрессивные, метастазирующие и химиорезистентные опухоли [17, 35–42].

Экспрессия генов стволовости обеспечивает поддержание стволового фенотипа, самообновление опухолевых стволовых клеток, пролиферацию прогениторных опухолевых клеток, стимулирует дедифференцировку нестволовых опухолевых клеток [43, 44]. Гены стволовости обеспечивают свои функции, участвуя практически во всех сигнальных путях, связанных с пролиферацией (WNT/β-catenin, сигнальный путь Notch, передача сигналов Hedgehog (HH) и Sonic Hedgehog (SHH), передача сигналов NRF2, передача сигналов PI3K/AKT/mTOR и др.) [45]. Активация программы самообновления является неотъемлемой частью стволовости опухолевых стволовых клеток (ОСК), активно способствуя прогрессированию и метастазированию опухоли, вызывая высокий клеточный оборот и продукцию прогениторных клеток [46]. Более того, способность ОСК к длительному самообновлению – одна из основных причин развития устойчивости к противоопухолевым препаратам [47, 48]. Так, например, развитие *SOX2*-опосредованной резис-

стентности к химиотерапии показано при колоректальном раке, плоскоклеточном раке головы и шеи, аденокарциноме протоков поджелудочной железы, раке молочной железы [21, 38, 49, 50]. Эктопическая коэкспрессия Oct4/Nanog приводит к тому, что клетки немелкоклеточного рака легких (NSCLC) приобретают свойства ОСК, включая самообновление, лекарственную устойчивость, эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и высокую опухоль-иницирующую активность [51]. Уже непосредственно в очаге возможного метастазирования эктопическая экспрессия генов стволовости может обеспечивать приобретение дифференцированными опухолевыми клетками метастатического потенциала за счет дедифференцировки до ОСК [5, 52]. Таким образом, гены стволовости можно считать ключевыми факторами метастазирования опухолей, резистентности опухолевых клеток к лечению и поддержания популяции ОСК.

ВЛИЯНИЕ микроРНК НА ГЕНЫ СТВОЛОВОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

МикроРНК (miRNAs) – короткие двухцепочечные РНК длиной 20–23 нуклеотида, которые на 5'-конце имеют уникальную последовательность seed sequence длиной 6–7 нуклеотидов; данная последовательность связывается с мРНК и таким образом реализуется посттранскрипционная регуляция экспрессии генов (рис. 1). В настоящее время в геноме человека известно более 2 500 микроРНК, которые регулируют нормальные процессы развития и гомеостаза в клетке. Информация о микроРНК может быть получена с использованием баз данных, например <https://www.mirbase.org/>, в которой можно найти описание опубликованных последовательностей микроРНК, или <https://miRTarBase.cuhk.edu.cn/>, где приведены экспериментально подтвержденные гены-мишени для микроРНК и др.

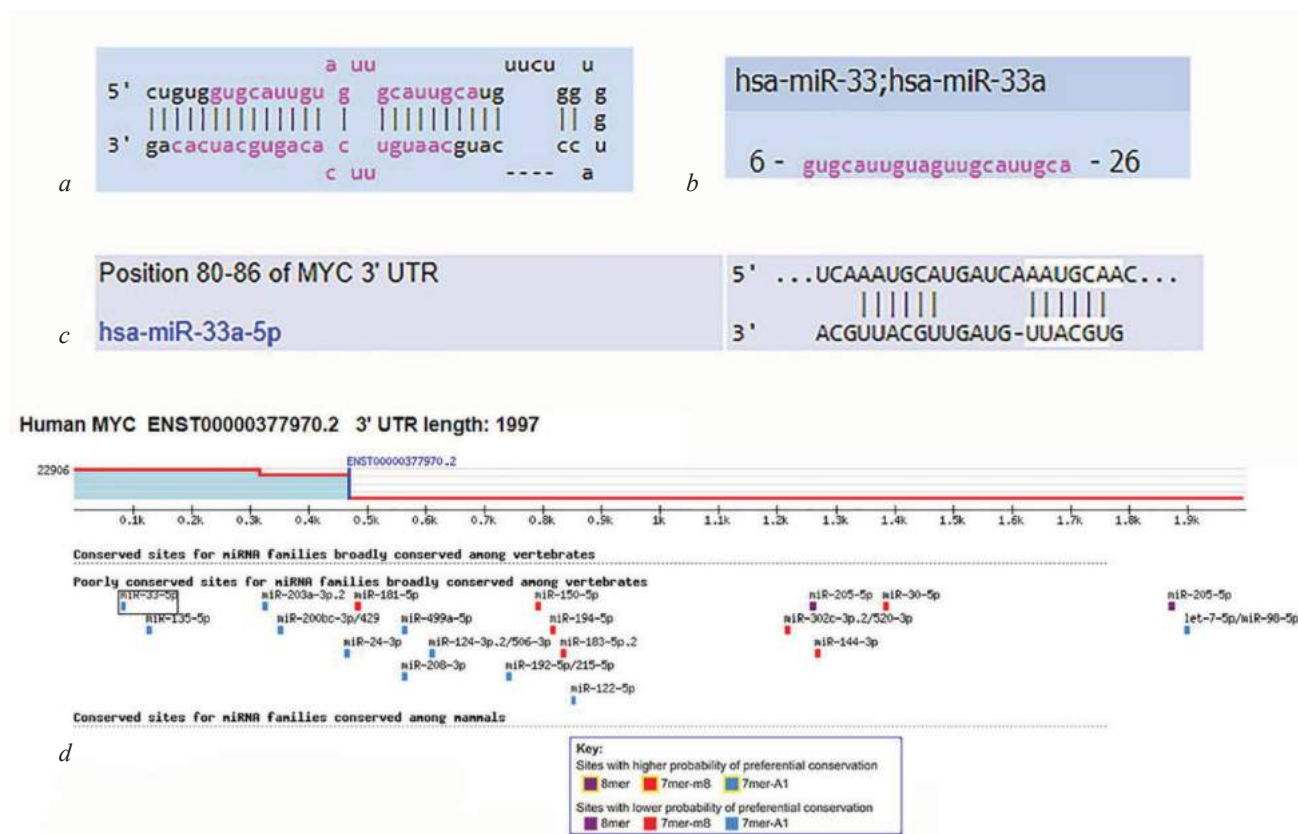


Рис. 1. Посттранскрипционная регуляция экспрессии генов: *a* – структура незрелой микроРНК; *b* – зрелой микроРНК, поступающей в активный сайт белка-аргоната, hsa-miR-33 (база данных miRBase); *c* – связывание hsa-miR-33 с 3'-нетранслируемой областью мРНК, кодирующей транскрипционный фактор с-Мус (*d*). Сайты связывания для различных микроРНК в 3'-нетранслируемой области мРНК гена *MYC*, предсказанные программой TargetScan

Внеклеточные микроРНК в микровезикулах, попадая в клетки-мишени, способны действовать как аутокринные, паракринные и (или) эндокринные регуляторы клеточных процессов [53]. В совокупности микроРНК-опосредованная регуляция может затрагивать до 60% транскриптома клетки, оказывая существенное влияние как на экспрессию белков, так и на функцию клетки в целом [54–56]. Более подробно о биогенезе и механизме действия микроРНК можно прочитать в статьях [57, 58].

В опухолевых клетках наблюдается глобальная дисрегуляция микроРНК [59]. В литературе можно найти подтверждение вовлеченности микроРНК в регуляцию всех процессов, приводящих к измене-

ниям, характерным для опухолевой клетки (рис. 2) [60] – поддержание пролиферативного сигналинга, избегание супрессии (угнетения) клеточного роста, сопротивление клеточной гибели, неограниченное деление («клеточное бессмертие»), индукция ангиогенеза (прорастания новых сосудов), активация инвазии (проникновения в окружающие ткани) и метастазирования, перепрограммирование энергетического метаболизма, избегание уничтожения со стороны иммунной системы, эпигенетическое перепрограммирование, влияние полиморфных микробиомов, клеточное старение, фенотипическая пластичность и, соответственно, тесно связанная с ней регуляция генов стволовой пластичности.

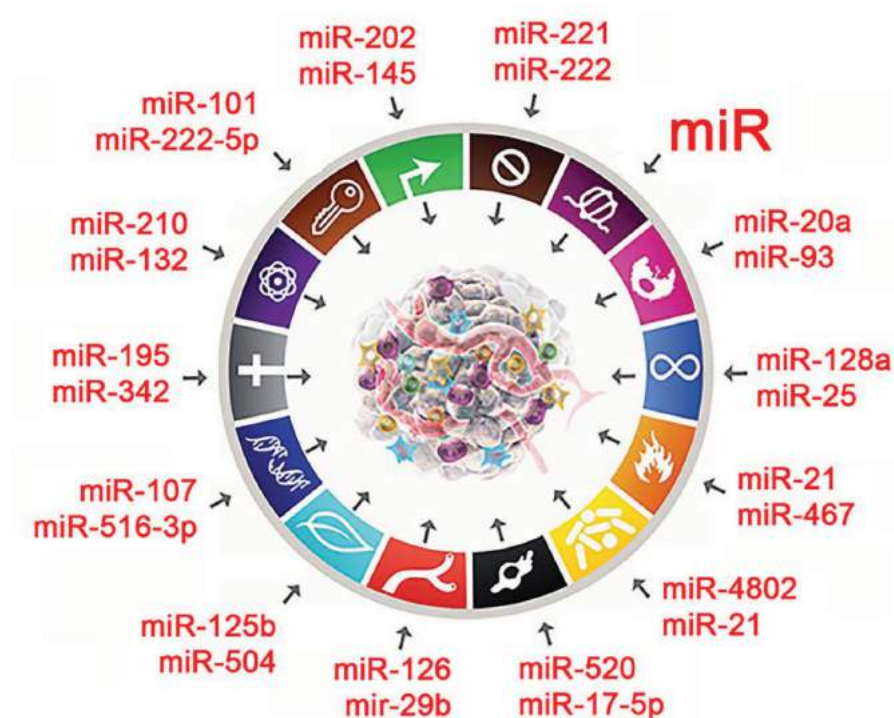


Рис. 2. Примеры микроРНК, участвующих в регуляции процессов в клетке, которые отвечают за отличие нормальной клетки от раковой (адаптировано из [60])

Необходимо отметить, что выявление про- или антионкогенных свойств для каждой конкретной микроРНК – достаточно сложная задача, поскольку паттерны их экспрессии являются тканеспецифичными. Каждый вид микроРНК может связываться со множеством мРНК и в то же время один тип мРНК может быть мишенью для подмножества микроРНК [61]. Более того, одна микроРНК способна регулировать несколько мишеней, контролирующих разные сигнальные пути [62] (см. рис. 1, d). Роль специфической микроРНК зависит от контекста – она может выступать в одной ситуации в качестве опухолевого супрессора и в качестве онкогена – в другой. Раз-

ные ткани (клетки) экспрессируют разные наборы длинных некодирующих РНК (нкРНК) и кольцевых РНК, РНК-связывающих белков, РНК-модифицирующих и РНК-редактирующих белков [63]. Взаимодействие с данными белками позволяет делать сайты связывания микроРНК на мРНК доступными или недоступными. Длинные нкРНК и кольцевые РНК, имеющие сайт связывания микроРНК, могут действовать как «РНК-губки» или ловушки, выводящие микроРНК из игры. Дополнительным фактором является альтернативное полиаденилирование мРНК, влияющее на наличие сайта связывания для микроРНК [63].

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ микроРНК НА ЦЕЛЕВЫЕ ГЕНЫ

Способность микроРНК поддерживать стволовую пластичность, регулировать ЭМП и мезенхимально-эпителиальный переход (МЭП), аутофагию, резистентность и дедифференцировку опухолевых клеток изучают с использованием относительно небольшого спектра методов *in vitro* и *in vivo* (см. таблицу). На первом этапе для подтверждения возможности влияния конкретной микроРНК на определенный ген используют биоинформатический анализ наличия сайтов связывания и люциферазный репортерный анализ, позволяющий валидировать гены-мишени микроРНК. Второй этап включает в себя оценку влияния микроРНК на экспрессию целевого гена (например, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени) и, как следствие, продукцию белка (например, методом вестерн-блот). Третий этап включает в себя оценку влияния микроРНК на функциональную активность клеток – пролиферацию, маммосферообразование, миграционную активность и др.

Для прогнозирования генов-мишеней конкретных микроРНК используют инструменты онлайн-анализа в базах данных, таких как TargetScan (<https://www.targetscan.org/>) и miRDB (<https://www.mirdb.org>) [83, 84]. После проведения биоинформатического анализа данных для проверки функциональной релевантности предсказанных пар микроРНК-мРНК целевого гена-мишени используют различные модификации люциферазного репортерного анализа, в котором люцифераза выступает в качестве репортерного белка [85]. Методом генетического клонирования на 3'-конец гена люциферазы добавляют последовательность 3'-нетранслируемой области мРНК гена интереса. Если клетка успешно синтезировала репортерный белок (люциферазу), то добавление субстрата приводит к химической реакции, протекание которой можно регистрировать по появлению биolumинесценции, причем интенсивность биolumинесценции пропорциональна количеству успешно транслированных мРНК [86]. Таким образом, снижение биolumинесценции после обработки клеток микроРНК свидетельствует о ее взаимодействии с мРНК.

Для определения уровня экспрессии генов под влиянием микроРНК также широко используют ПЦР в реальном времени, позволяющую оценивать экспрессию гена на основании данных определения количества мРНК в образце [87]. Определение белкового продукта целевого гена проводят преимущественно методом вестерн-блота. Данный метод включает в себя проведение SDS-PAGE электрофо-

реза биообразца, перенос белков-мишеней на гидрофобную мембрану и их детектирование с использованием специфических антител [88].

Для анализа пролиферативной активности клеток под действием микроРНК используют различные способы подсчета клеток – от базовых с окраской трипановым синим до более сложных многоэтапных протоколов. Одним из наиболее распространенных методов оценки пролиферативной активности клеток является МТТ-тест, основанный на ферментативном восстановлении 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолия бромид (желтого растворимого тетразолиевого красителя) митохондриальными дегидрогеназами до пурпурно-фиолетовых кристаллов формазана. Кристаллы растворяют в ДМСО, после чего анализируют оптическую плотность полученных образцов [89]. Аналогами МТТ-теста являются МТС-тест, для проведения которого используется другой тип тетразолиевого красителя – (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2Н-тетразолий), и ССК-8-тест с применением тетразолиевой соли WST-8. Данные типы красителей растворимы в воде и не требуют этапа солиubilизации, что снижает вероятность погрешности при проведении анализа [90].

Другим подходом к оценке пролиферативной активности клеток является анализ включения аналога нуклеотида BrdU, который способен встраиваться в реплицирующуюся ДНК и может быть определен с использованием специфических антител [91]. Новым видом оценки пролиферативной активности и гибели клеток в режиме реального времени является использование прибора RTCA iCELLigence по измерению импеданса. При этом не требуется никаких красителей, а клетки можно наблюдать в течение длительного времени. Однако метод применим только к адгезионным клеточным культурам [92]. Также для анализа выживаемости клеток и их способности к пролиферации после обработки микроРНК используют клоногенный анализ, основанный на способности отдельных клеток давать начало колонии. Клетки рассаживают в очень низкой плотности и инкубируют в течение 1–3 нед, после чего фиксируют, окрашивают кристаллическим фиолетовым и проводят подсчет количества образовавшихся колоний [93].

Жизнеспособность клеток в ряде исследований оценивают по наличию или отсутствию цитофлуориметрических признаков некроза, апоптоза и вторичного некроза с использованием соответствующих флуоресцентно-меченных антител, таких как Annexin V, caspase-Glo 3/7 и ДНК-связывающих красителей (пропидий йодид или 7-аминоактиномицин D) [94]. Также методом проточной цитофлуоримет-

трии возможно определение влияния микроРНК на фазы клеточного цикла предварительно фиксированных клеток с использованием ДНК-связывающих красителей [95].

Для оценки фенотипического профиля клеток изучают экспрессию маркеров стволовых клеток CD24, CD44, CD133, ALDH, используя флуоресцентно-меченные антитела [96]. Экспрессию белков – маркеров стволовой пластичности CD44, CD24, CD133, LGR5 и ЭМП Snail, Slug, Zeb1, Cloudin1, B-catenin, E-кадгерина, виментина – оценивают методом иммуноцитохимии и вестерн-блот анализа.

Для изучения миграционной способности клеток используют несколько тестов. Одна из вариаций миграционного теста заключается в том, что после достижения клетками монослоя на дне плашки проводят полосу с использованием скребка для клеток или наконечника пипетки, после чего оценивают в динамике миграцию клеток и восстановление конфлюентности [97]. Также распространен миграционный тест с использованием вкладышей Transwell для плашек. Дно данных вкладышей имеет поры, позволяющие клеткам перемещаться из вкладыша в лунку планшета. Таким образом, оценка миграционной способности осуществляется исходя из количества клеток, прошедших через поры вкладыша и оказавшихся в лунке планшета [97]. С использованием вкладышей Transwell также проводят оценку способности клеток к инвазии. Перед проведением теста дно вкладыша покрывают солубилизованным внеклеточным матриксом Matrigel, при полимеризации которого формируется структура, сходная по составу и свойствам с базальной мембраной. В результате количество клеток, способных пройти через Matrigel и оказавшихся в основной лунке, коррелирует с их способностью к инвазии [97].

Способность опухолевых клеток инициировать опухолевый рост определяют методом образования сфероидов (для клеток рака молочной железы – маммосфер). Для этого суспензию единичных клеток рассаживают в лунки с гидрофобным покрытием дна в бессывороточной среде с добавлением ростовых факторов или в коммерческой среде Mammocult. Через 5–14 дней оценивают количество образовавшихся сфероидов диаметром от 35–100 мкм в зависимости от используемой клеточной линии и дизайна эксперимента [98, 99]. Формирование сфероидов в данном случае является *in vitro* прототипом метастазирования. Также возможно оценить способность клеток в составе сфероидов к самообновлению, деагрегируя первичные сфероиды и рассаживая их вновь на низкоадгезионный пластик в бессывороточной среде для образования вторичных и, по анало-

гии, третичных сфероидов [100]. Для предотвращения миграции сфероидов и их агрегации используют модификацию метода – образование сфероидов в мягком агаре [101].

Отдельным блоком работ при исследовании роли микроРНК в канцерогенезе являются эксперименты *in vivo* на иммунодефицитных мышах (nude, NOD/SCID). Для оценки туморогенности используют клетки, трансфецированные микроРНК миметиками, либо генетически модифицированные клеточные линии, экспрессирующие целевую микроРНК. После подкожного введения клеток оценивают скорость роста опухоли, ее гистологическую структуру и экспрессию интересующих маркеров с помощью иммуногистохимического окрашивания [69, 71, 73, 75].

МИКРОРНК В РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ СТВОЛОВОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

За последние 5–7 лет микроРНК были широко исследованы как компонент опухолевых супрессирующих и онкогенных путей. Есть отдельные исследования регуляции генов стволовости при помощи микроРНК в опухолевых тканях различных локализаций. Нокдаун *SOX2* при помощи антисмысловых РНК ингибирует инвазию и миграцию клеток рака молочной железы [8]. МикроРНК miR-302b, P21 и miR-145 подавляют экспрессию генов стволовости *SOX2* и *MYC* при интестинальном и диффузном раке желудка [102]. Гиперэкспрессия miR-145 ингибирует стволовые факторы транскрипции *SOX2*, *NANOG* и *OCT4* в стволовых опухолевых клетках шейки матки, а также уменьшает инвазию опухоли и образование колоний *in vitro*. Нокдаун miR-145 приводит к значительному уменьшению роста опухоли шейки матки у мышей линии nude [9].

Было показано, что miR-148a ингибирует стволовые свойства глиобластомы и метастатический потенциал глиомы посредством ингибирования *SOX2* и *OCT4*. Кроме этого, пониженная экспрессия pre-miR-29a, pre-miR-181, pre-miR-let7b и pre-miR-124a наблюдается в опухолевых стволовых клетках, экспрессирующих *SOX2* и *OCT4*. miR-148a была признана одной из наиболее значимых микроРНК, осуществляющих негативную регуляцию в ответ на коэкспрессию *Oct4* и *Sox2*. Экспрессия miR-148a ингибирует индуцированные *Oct4/Sox2*-опухолевые стволовые фенотипы при глиоме, включая сферообразующую активность *in vitro* и образование опухоли *in vivo* [103]. Показано, что мишенями для miR-221-3p и miR-221-5p являются 3'-нетранслируемые области транскриптов мРНК основных факторов плюрипотентности *OCT4*, *Nanog* и *Sox2* в мышинных эмбриональных клетках [104].

Таблица

Методы исследования способности микроРНК поддерживать стволовую пластичность клеток, стимулировать ЭМП и дифференцировку опухолевых клеток							
Ген	miR	Локализация опухоли	Линия клеток	Экспрессия гена	Эффекты	Метод	Ссылка
<i>c-MYC</i>	miR-340	Рак молочной железы	MDA-MB231	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ миграции ↓ инвазии	MTT-тест Transwell-миграция Transwell-миграция в матрикеле	64
	miR-320a	Гепатоцеллюлярная карцинома	HerG2, QGY-7703	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ инвазии	MTT-тест Transwell-миграция в матрикеле	65
	miR-320a	Рак молочной железы	MCF-7, T47D	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ устойчивости к тамоксифену ↓ количества маммофер	MTT-тест ССК-8-тест Маммоферообразование в мягком агаре	66
	miR-145	Рак поджелудочной железы	PDAC	↓ RT, WB	↓ миграции	Миграционный тест	67
	miR-34a	Рак поджелудочной железы	MiaPaCa2	↓ WB	↓ формирования колоний	Метод образования колоний	68
	miR-590-5p	Рак молочной железы	MCF-7, ZR75-1	↓ RT, WB	↓ экспрессии ALDH ↓ количества маммофер ↓ туморогенности <i>in vivo</i>	Проточная цитофлуориметрия Маммоферообразование Ксеноинтрансплантация под-SCID мышам	69
<i>SOX2</i>	miR-590-5p	Немелкоклеточный рак легкого	A549, H1299	↓ RT, WB	↑ экспрессии E-кадгерина ↓ экспрессии виментина, Snail, Slug	WB WB	70
	miR-101	Рак молочной железы	MCF-7, MDA-MB231	↓ RT, WB	↓ образования колоний ↓ миграции ↓ инвазии ↓ пролиферации ↑ апоптоза ↓ туморогенности <i>in vivo</i>	Метод образования колоний Миграционный тест Transwell-миграция в матрикеле MTT-тест Проточная цитофлуориметрия Ксеноинтрансплантация nude мышам	71
	miR-129-5p	Рак молочной железы	MCF-7, MDA-MB231	↓ RT	↓ миграции ↓ инвазии ↑ апоптоза ↓ образования колоний ↓ резистентности к адриамицину	Миграционный тест Transwell-миграция в матрикеле Проточная цитофлуориметрия Метод образования колоний ССК-8-тест	72
<i>NANOG</i>	miR-760	Рак молочной железы	MCF-7, BT-549	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ миграции ↓ туморогенности <i>in vivo</i>	MTT-тест Transwell-миграция Ксеноинтрансплантация nude мышам	73

miR-142-3p	Рак молочной железы	MCF-7, MDA-MB468	↓ RT	↓ формирования колоний ↓ количества маммосфер ↑ апоптоза ↑ клеток в G2M фазе ↓ экспрессии SOX2, ALDH, c-MYC	Метод образования колоний Маммосферообразование Протоочная цитофлуориметрия Протоочная цитофлуориметрия WB	74
miR-134	Глиобластома	U87	↓ RT, WB	↓ инвазии ↓ миграции ↓ опухоленности <i>in vivo</i>	Transwell-миграция в матрикеле Transwell-миграция Митрационный тест Ксеноплантация nude мышам	75
miR-128a	Рак простаты	PC3, DU145, PPC-1, LAPC9, LNCaP, VCAP, NHP9	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ инвазии ↓ количества клеток в S-фазе ↓ количества маммосфер ↓ самообновления ↓ опухоленности <i>in vivo</i>	Transwell-миграция в матрикеле Протоочная цитофлуориметрия Сферообразование Образование вторичных сферидов Ксеноплантация NOD/SCID-мышам	76
miR-203	Рак молочной железы	MDA-MB231	↓ RT	↓ популяции стволовых клеток CD44+CD24-	Протоочная цитофлуориметрия	77
miR-150	Рак молочной железы	MDA-MB231	↑ RT	↑ популяции стволовых клеток CD44+CD24-	Протоочная цитофлуориметрия	77
miR-126	Рак простаты	PC3, DU145, LNCaP	↑ RT	↑ пролиферации	MTS-тест	78
miR-149	Рак простаты	PC3, DU145, LNCaP	↑ RT	↑ пролиферации	MTS-тест	78
miR-598	Рак желудка	MKN-45	↓ RT, WB	↓ пролиферации ↓ образований колоний ↓ миграции ↓ инвазии ↑ апоптоза	Метод образования колоний Митрационный тест Transwell-миграция в матрикеле Протоочная цитофлуориметрия	79
miR-299-3p	Рак молочной железы	MDA-MB231, HT1080	↓ RT, WB	↓ инвазии ↓ пролиферации ↑ апоптоза	LOC-анализ CellToxGreen Протоочная цитофлуориметрия	80
miR-145	Аденокарцинома легких	A549	↓ RT, WB	↓ инвазии ↓ пролиферации ↓ количества клеток в S-фазе ↓ CD133+ клеток ↓ количества туморосфер	Transwell-миграция в матрикеле ССК 8-тест Протоочная цитофлуориметрия Протоочная цитофлуориметрия Маммосферообразование	81
miR-3658	Колоректальный рак	SW480	↓ RT, WB	↓ экспрессии CyclinD1, PCNA ↓ пролиферации ↓ миграции ↓ экспрессии Snail, Zeb1 ↑ экспрессии Clouidin1, B-catenin ↑ доли клеток в SubG1-фазе	WB MTT-тест Митрационный тест WB WB Протоочная цитофлуориметрия	82

NANOG

Oct4

Примечание. ↑ – повышение, ↓ – снижение, RT – ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени, WB – вестерн-блот.

miR-296, miR-470 и miR-134 и многие другие регулируют мышинные эмбриональные стволовые клетки путем ингибирования Nanog, OCT4 и Sox2 [105]. miR-371-5p способна подавлять ЭМП, связанный с индукцией стволовости, через Wnt-бета-катенин-сигналинг. miR-371-5p уменьшает образование сфероидов клетками колоректального рака. Деметилирование гена *Sox17* индуцирует экспрессию miR-371-5, которая подавлена экспрессией Sox2. Ингибирующий Wnt-1 белок (WIF1) является членом семейства белков, который связывает Wnt и ингибирует передачу Wnt-сигналинга. WIF1 стимулирует экспрессию miR-200c, которая уменьшает экспрессию маркеров плюрипотентности и стволовости OCT4, c-MYC, c-KIT и MYB, а также *BM1*, *ZEB1* и *ZEB2*, что приводит к увеличению экспрессии E-кадгерина [106].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время известны микроРНК, способные регулировать экспрессию генов стволовой пластичности в эмбриональных стволовых клетках, а также в опухолевых стволовых клетках при разных локализациях. Активные исследования в этом направлении ведутся с момента доказательства происхождения опухоли от опухолевых стволовых клеток, и уже имеются значительные достижения, позволяющие надеяться на разработку лекарственных препаратов, которые будут регулировать активность опухолевых стволовых клеток и, тем самым, контролировать рост опухоли. В целом сейчас еще идет этап накопления знаний о механизмах регуляции метастатического каскада и идентификация мишеней с целью разработки лекарственных препаратов на основе микроРНК для подавления метастазирования.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Sopik V., Narod S.A. The relationship between tumour size, nodal status and distant metastases: on the origins of breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2018;170(3):647–656. DOI: 10.1007/s10549-018-4796-9.
3. Yu K.D., Jiang Y.Z., Shao Z.M. Difference between observed and expected number of involved lymph nodes reflects the metastatic potential of breast cancer independent to intrinsic subtype. *Oncotarget.* 2015;6(18):16686–16697. DOI: 10.18632/oncotarget.3647.
4. Miranda A., Hamilton P.T., Zhang A.W., Pattnaik S., Becht E., Mezheyski A. et al. Cancer stemness, intratumoral heterogeneity, and immune response across cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019;116(18):9020–9029. DOI: 10.1073/pnas.1818210116.
5. Litviakov N., Ibragimova M., Tsyganov M., Kazantseva P., Deryusheva I., Pevzner A. et al. Amplifications of stemness genes and the capacity of breast tumors for metastasis. *Oncotarget.* 2020;11:1988–2001. DOI: 10.18632/oncotarget.27608.
6. Hatina J., Kripnerová M., Houdek Z., Pešta M., Tichánek F. Pluripotency stemness and cancer: more questions than answers. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2022;1376:77–100. DOI: 10.1007/5584_2021_663.
7. Almairac F., Turchi L., Sakakini N., Debruyne D.N., Elkeurti S., Gjernes E. et al. ERK-mediated loss of miR-199a-3p and induction of EGR1 act as a “Toggle Switch” of GBM cell differentiation into NANOG- and OCT4-positive cells. *Cancer Res.* 2020;80(16):3236–3250. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0855.
8. Liu K., Xie F., Gao A., Zhang R., Zhang L., Xiao Z. et al. SOX2 regulates multiple malignant processes of breast cancer development through the SOX2/miR-181a-5p, miR-30e-5p/TUSC3 axis. *Mol. Cancer.* 2017;16(1):62. DOI: 10.1186/s12943-017-0632-9.
9. Zhou X., Yue Y., Wang R., Gong B., Duan Z. MicroRNA-145 inhibits tumorigenesis and invasion of cervical cancer stem cells. *Int. J. Oncol.* 2017;50(3):853–862. DOI: 10.3892/ijo.2017.3857.
10. Jiao X., Qian X., Wu L., Li B., Wang Y., Kong X. et al. MicroRNA: the impact on cancer stemness and therapeutic resistance. *Cells.* 2019;9(1):8. DOI: 10.3390/cells9010008.
11. Cho Y., Kang H.G., Kim S.J., Lee S., Jee S., Ahn S.G. et al. Post-translational modification of OCT4 in breast cancer tumorigenesis. *Cell Death Differ.* 2018;25(10):1781–1795. DOI: 10.1038/s41418-018-0079-6.
12. Leis O., Eguirra A., Lopez-Arribillaga E., Alberdi M.J., Hernandez-Garcia S., Elorriaga K. et al. Sox2 expression in breast tumours and activation in breast cancer stem cells. *Oncogene.* 2012;31(11):1354–1365. DOI: 10.1038/ncr.2011.338.
13. Fallah Y., Brundage J., Allegakoen P., Shajahan-Haq A.N. MYC-driven pathways in breast cancer subtypes. *Biomolecules.* 2017;7(3):53. DOI: 10.3390/biom7030053.
14. Lu X., Mazur S.J., Lin T., Appella E., Xu Y. The pluripotency factor nanog promotes breast cancer tumorigenesis and metastasis. *Oncogene.* 2014;33(20):2655–2664. DOI: 10.1038/ncr.2013.209.
15. Santini R., Pietrobono S., Pandolfi S., Montagnani V., D’Amico M., Penachioni J.Y. et al. SOX2 regulates self-renewal and tumorigenicity of human melanoma-initiating cells. *Oncogene.* 2014;33(38):4697–4708. DOI: 10.1038/ncr.2014.71.
16. Silva C.T.X., Saddi V.A., Silva K.S.F.E., Sugita D.M., Guillo L.A. Expression of the cancer stem cell marker OCT4 is associated with worse prognosis and survival in cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2021;31(5):439–448. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000767.
17. Lin X., Sun R., Zhao X., Zhu D., Zhao X., Gu Q. et al. C-myc overexpression drives melanoma metastasis by promoting vasculogenic mimicry via c-myc/snail/Bax signaling. *J. Mol. Med. (Berl.).* 2017;95(1):53–67. DOI: 10.1007/s00109-016-1452-x.
18. Basu-Roy U., Seo E., Ramanathapuram L., Rapp T.B., Perry J.A., Orkin S.H. et al. Sox2 maintains self renewal of tumor-initiating cells in osteosarcomas. *Oncogene.* 2012;31(18):2270–2282. DOI: 10.1038/ncr.2011.405.

19. Feng W., Dean D.C., Hornicek F.J., Spentzos D., Hoffman R.M., Shi H. et al. Myc is a prognostic biomarker and potential therapeutic target in osteosarcoma. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2020;12:1758835920922055. DOI: 10.1177/1758835920922055.
20. Yan G.N., Tang X.F., Zhang X.C., He T., Huang Y.S., Zhang X. et al. TSSC3 represses self-renewal of osteosarcoma stem cells and Nanog expression by inhibiting the Src/Akt pathway. *Oncotarget.* 2017;8(49):85628–85641. DOI: 10.18632/oncotarget.20429.
21. Lee S.H., Oh S.Y., Do S.I., Lee H.J., Kang H.J., Rho Y.S. et al. SOX2 regulates self-renewal and tumorigenicity of stem-like cells of head and neck squamous cell carcinoma. *Br. J. Cancer.* 2014;111(11):2122–2130. DOI: 10.1038/bjc.2014.528.
22. Lin S.H., Wang H.K., Yeh K.T., Tai H.C., Wang H.Y., Huang L.R. et al. c-MYC expression in T (III/IV) stage oral squamous cell carcinoma (OSCC) patients. *Cancer Manag. Res.* 2019;11:5163–5169. DOI: 10.2147/CMAR.S20194.
23. Pedregal-Mallo D., Hermida-Prado F., Granda-Díaz R., Montoro-Jiménez I., Allonca E., Pozo-Agundo E. et al. Prognostic significance of the pluripotency factors NANOG, SOX2, and OCT4 in head and neck squamous cell carcinomas. *Cancers (Basel).* 2020;12(7):1794. DOI: 10.3390/cancers12071794.
24. Lundberg I.V., Edin S., Eklöf V., Öberg Å., Palmqvist R., Wikberg M.L. SOX2 expression is associated with a cancer stem cell state and down-regulation of CDX2 in colorectal cancer. *BMC Cancer.* 2016;16:471. DOI: 10.1186/s12885-016-2509-5.
25. He W.L., Weng X.T., Wang J.L., Lin Y.K., Liu T.W., Zhou Q.Y. et al. Association Between c-Myc and Colorectal Cancer Prognosis: A Meta-Analysis. *Front. Physiol.* 2018;9:1549. DOI: 10.3389/fphys.2018.01549.
26. Roudi R., Barodabi M., Madjd Z., Roviello G., Corona S.P., Panahei M. Expression patterns and clinical significance of the potential cancer stem cell markers OCT4 and NANOG in colorectal cancer patients. *Mol. Cell Oncol.* 2020;7(5):1788366. DOI: 10.1080/23723556.2020.1788366.
27. Liu X.F., Yang W.T., Xu R., Liu J.T., Zheng P.S. Cervical cancer cells with positive Sox2 expression exhibit the properties of cancer stem cells. *PLoS One.* 2014;9(1):e87092. DOI: 10.1371/journal.pone.0087092.
28. Kim B.W., Cho H., Choi C.H., Ylaya K., Chung J.Y., Kim J.H. et al. Clinical significance of OCT4 and SOX2 protein expression in cervical cancer. *BMC Cancer.* 2015;15:1015. DOI: 10.1186/s12885-015-2015-1.
29. Herreros-Villanueva M., Zhang J.S., Koenig A., Abel E.V., Smyrk T.C., Bamlet W.R. et al. SOX2 promotes dedifferentiation and imparts stem cell-like features to pancreatic cancer cells. *Oncogenesis.* 2013;2(8):e61. DOI: 10.1038/oncsis.2013.23.
30. Gzil A., Zarębska I., Bursiewicz W., Antosik P., Grzanka D., Szyłberg Ł. Markers of pancreatic cancer stem cells and their clinical and therapeutic implications. *Mol. Biol. Rep.* 2019;46(6):6629–6645. DOI: 10.1007/s11033-019-05058-1.
31. Schneider G., Wirth M., Keller U., Saur D. Rationale for MYC imaging and targeting in pancreatic cancer. *EJNMMI Res.* 2021;11(1):104. DOI: 10.1186/s13550-021-00843-1.
32. Tian T., Zhang Y., Wang S., Zhou J., Xu S. Sox2 enhances the tumorigenicity and chemoresistance of cancer stem-like cells derived from gastric cancer. *J. Biomed. Res.* 2012;26(5):336–345. DOI: 10.7555/JBR.26.20120045.
33. Calcagno D.Q., Leal M.F., Assumpcao P.P., Smith M.A., Burbano R.R. MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis. *World. J. Gastroenterol.* 2008;14(39):5962–5968. DOI: 10.3748/wjg.14.5962.
34. Chen B., Zhu Z., Li L., Ye W., Zeng J., Gao J. et al. Effect of overexpression of Oct4 and Sox2 genes on the biological and oncological characteristics of gastric cancer cells. *Oncotargets Ther.* 2019;12:4667–4682. DOI: 10.2147/OTT.S209734.
35. Lin T., Ding Y.Q., Li J.M. Overexpression of Nanog protein is associated with poor prognosis in gastric adenocarcinoma. *Med. Oncol.* 2012;29(2):878–885. DOI: 10.1007/s12032-011-9860-9.
36. Annovazzi L., Mellai M., Caldera V., Valente G., Schiffer D. SOX2 expression and amplification in gliomas and glioma cell lines. *Cancer Genomics Proteomics.* 2011;8(3):139–147.
37. Auffinger B., Spencer D., Pytel P., Ahmed A.U., Lesniak M.S. The role of glioma stem cells in chemotherapy resistance and glioblastoma multiforme recurrence. *Expert. Rev. Neurother.* 2015;15(7):741–752. DOI: 10.1586/14737175.2015.1051968.
38. Rothenberg S.M., Concannon K., Cullen S., Boulay G., Turke A.B., Faber A.C. et al. Inhibition of mutant EGFR in lung cancer cells triggers SOX2-FOXO6-dependent survival pathways. *Elife.* 2015;4:e06132. DOI: 10.7554/eLife.06132.
39. Piva M., Domenici G., Iriando O., Rábano M., Simões B.M., Comaills V. et al. Sox2 promotes tamoxifen resistance in breast cancer cells. *EMBO Mol. Med.* 2014;6(1):66–79. DOI: 10.1002/emmm.
40. Keysar S.B., Le P.N., Miller B., Jackson B.C., Eagles J.R., Nieto C. et al. Regulation of head and neck squamous cancer stem cells by PI3K and SOX2. *J. Natl. Cancer Inst.* 2016;109(1):djjw189. DOI: 10.1093/jnci/djjw189.
41. Rasti A., Mehrazma M., Madjd Z., Abolhasani M., Saeednejad Zanjani L., Asgari M. Co-expression of cancer stem cell markers OCT4 and NANOG predicts poor prognosis in renal cell carcinomas. *Sci. Rep.* 2018;8(1):11739. DOI: 10.1038/s41598-018-30168-4.
42. Gao S., Pan Y., Song L., Dong L., Weng L.I., Wang P. et al. Nanog predicts poor prognosis in human pancreatic cancer and is downregulated by oingyihuaJi formula in pancreatic cancer stem cells. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2016;2016:7028289. DOI: 10.1155/2016/7028289.
43. Zhang Q., Han Z., Zhu Y., Chen J., Li W. The Role and Specific Mechanism of OCT4 in Cancer Stem Cells: A Review. *Int. J. Stem Cells.* 2020;13(3):312–325. DOI: 10.15283/ijsc20097.
44. Jing N., Gao W.Q., Fang Y.X. Regulation of formation, stemness and therapeutic resistance of cancer stem cells. *Front. Cell Dev. Biol.* 2021 9:641498. DOI: 10.3389/fcell.2021.641498.
45. Ibragimova M., Tsyganov M., Litviakov N. Tumour stem cells in breast cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(9):5058. DOI: 10.3390/ijms23095058.
46. Cabrera M.C., Hollingsworth R.E., Hurt E.M. Cancer stem cell plasticity and tumor hierarchy. *World J. Stem Cells.* 2015;7(1):27–36. DOI: 10.4252/wjsc.v7.i1.27.
47. Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B., Eaves C.J., Jamieson C.H. Jones D.L. et al. Cancer stem cells – perspectives on current status and future directions: AACR Workshop on can-

- cer stem cells. *Cancer Res.* 2006;66(19):9339–9344. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3126.
48. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat. Rev. Cancer.* 2005;5(4):275–284. DOI: 10.1038/nrc1590.
 49. Han X., Fang X., Lou X., Hua D., Ding W., Foltz G. et al. Silencing SOX2 induced mesenchymal-epithelial transition and its expression predicts liver and lymph node metastasis of CRC patients. *PLoS One.* 2012;7(8):e41335. DOI: 10.1371/journal.pone.0041335.
 50. Mukherjee P., Gupta A., Chattopadhyay D., Chatterji U. Modulation of SOX2 expression delineates an end-point for paclitaxel-effectiveness in breast cancer stem cells. *Sci. Rep.* 2017;7:9170. DOI: 10.1038/s41598-017-08971-2.
 51. Liu L., Zhu H., Liao Y., Wu W., Liu L., Liu L. et al. Inhibition of Wnt/ β -catenin pathway reverses multi-drug resistance and EMT in Oct4+/Nanog+ NSCLC cells. *Biomed. Pharmacother.* 2020;127:110225. DOI: 10.1016/j.biopha.2020.110225.
 52. Fumagalli A., Oost K.C., Kester L., Morgner J., Bornes L., Bruens L. et al. Plasticity of Lgr5-negative cancer cells drives metastasis in colorectal cancer. *Cell Stem Cell.* 2020;26(4):569–578.e7. DOI: 10.1016/j.stem.2020.02.008.
 53. Iftikhar H., Carney G.E. Evidence and potential *in vivo* functions for biofluid miRNAs: from expression profiling to functional testing: potential roles of extracellular miRNAs as indicators of physiological change and as agents of intercellular information exchange. *Bioessays.* 2016;38:367–378. DOI: 10.1002/bies.201500130.
 54. Bartel D.P. Metazoan microRNAs. *Cell.* 2018;173(1):20–51. DOI: 10.1016/j.cell.2018.03.006.
 55. Gebert L.F.R., MacRae I.J. Regulation of microRNA function in animals. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019;20(1):21–37. DOI: 10.1038/s41580-018-0045-7.
 56. Thomson D.W., Dinger M.E. Endogenous microRNA sponges: evidence and controversy. *Nat. Rev. Genet.* 2016;17(5):272–283. DOI: 10.1038/nrg.2016.20.
 57. Van Rooij E., Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age. *EMBO Mol. Med.* 2014;6(7):851–864. DOI: 10.15252/emmm.201100899.
 58. Nakanishi K. Anatomy of RISC: how do small RNAs and chaperones activate Argonaute proteins? *Wiley Interdiscip. Rev. RNA.* 2016;7(5):637–660. DOI: 10.1002/wrna.1356.
 59. Croce C.M. Causes and consequences of microRNA dysregulation in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 2009;10(10):704–714. DOI: 10.1038/nrg2634.
 60. Hanahan D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer Discovery.* 2022;12(1):31–46. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059.
 61. Bartel D.P. MicroRNAs. *Cell.* 2004;116:281–297. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5.
 62. Krek A., Grün D., Poy M.N., Wolf R., Rosenberg L., Epstein E.J. et al. Combinatorial microRNA target predictions. *Nat. Genet.* 2005;37(5):495–500. DOI: 10.1038/ng1536.
 63. Chen P., Liao K., Xiao C. MicroRNA says no to mass production. *Nat. Immunol.* 2018;19(10):1040–1042. DOI: 10.1038/s41590-018-0215-y.
 64. Mohammadi-Yeganeh S., Paryan M., Arefian E., Vasei M., Ghanbarian H., Mahdian R. et al. MicroRNA-340 inhibits the migration, invasion, and metastasis of breast cancer cells by targeting Wnt pathway. *Tumour Biol.* 2016;37(7):8993–9000. DOI: 10.1007/s13277-015-4513-9.
 65. Xie F., Yuan Y., Xie L., Ran P., Xiang X., Huang Q. et al. miRNA-320a inhibits tumor proliferation and invasion by targeting c-Myc in human hepatocellular carcinoma. *Onco. Targets Ther.* 2017;10:885–894. DOI: 10.2147/OTT.S122992.
 66. Lü M., Ding K., Zhang G., Yin M., Yao G., Tian H. et al. MicroRNA-320a sensitizes tamoxifen-resistant breast cancer cells to tamoxifen by targeting ARPP-19 and ERR γ . *Sci. Rep.* 2015;5:8735. DOI: 10.1038/srep08735.
 67. Azmi A.S., Li Y., Muqbil I., Aboukameel A., Senapedis W., Baloglu E. et al. Exportin 1 (XPO1) inhibition leads to restoration of tumor suppressor miR-145 and consequent suppression of pancreatic cancer cell proliferation and migration. *Oncotarget.* 2017;8(47):82144–82155. DOI: 10.18632/oncotarget.19285.
 68. Gibori H., Eliyahu S., Krivitsky A., Ben-Shushan D., Epshtein Y., Tiram G. et al. Amphiphilic nanocarrier-induced modulation of PLK1 and miR-34a leads to improved therapeutic response in pancreatic cancer. *Nat. Commun.* 2018;9(1):16. DOI: 10.1038/s41467-017-02283-9.
 69. Zhou L., Zhao L.C., Jiang N., Wang X.L., Zhou X.N., Luo X.L. et al. MicroRNA miR-590-5p inhibits breast cancer cell stemness and metastasis by targeting SOX2. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017;21(1):87–94.
 70. Chang Z. Downregulation of SOX2 may be targeted by miR-590-5p and inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in non-small-cell lung cancer. *Exp. Ther. Med.* 2019;18(2):1189–1195. DOI: 10.3892/etm.2019.7642.
 71. Wang J., Zeng H., Li H., Chen T., Wang L., Zhang K. et al. MicroRNA-101 Inhibits Growth, Proliferation and Migration and Induces Apoptosis of Breast Cancer Cells by Targeting Sex-Determining Region Y-Box 2. *Cell Physiol. Biochem.* 2017;43:717–732. DOI: 10.1159/000481445.
 72. Zeng H., Wang L., Wang J., Chen T., Li H., Zhang K. et al. MicroRNA-129-5p suppresses Adriamycin resistance in breast cancer by targeting SOX2. *Arch. Biochem. Biophys.* 2018;651:52–60. DOI: 10.1016/j.abb.2018.05.018.
 73. Han M.L., Wang F., Gu Y.T., Pei X.H., Ge X., Guo G.C. et al. MicroR-760 suppresses cancer stem cell subpopulation and breast cancer cell proliferation and metastasis: By down-regulating NANOG. *Biomed. Pharmacother.* 2016;80:304–310. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.03.024.
 74. Mansoori B., Duijf P.H.G., Mohammadi A., Safarzadeh E., Ditzel H.J., Gjerstorff M.F. et al. MiR-142-3p targets HMGA2 and suppresses breast cancer malignancy. *Life Sci.* 2021;276:119431. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.119431.
 75. Niu C.S., Yang Y., Cheng C.D. MiR-134 regulates the proliferation and invasion of glioblastoma cells by reducing Nanog expression. *Int. J. Oncol.* 2013;42(5):1533–1540. DOI: 10.3892/ijo.2013.1844.
 76. Jin M., Zhang T., Liu C., Badeaux M.A., Liu B., Liu R. et al. miRNA-128 suppresses prostate cancer by inhibiting BMI-1 to inhibit tumor-initiating cells. *Cancer Res.* 2014;74(15):4183–4195. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0404.
 77. El-Osaily H.H., Ibrahim I.H., Essawi M.L., Salem S.M. Impact of miRNAs expression modulation on the methylation status

- of breast cancer stem cell-related genes. *Clin. Transl. Oncol.* 2021;23(7):1440–1451. DOI: 10.1007/s12094-020-02542-0.
78. Fujii T., Shimada K., Tatsumi Y., Fujimoto K., Konishi N. Syndecan-1 responsive microRNA-126 and 149 regulate cell proliferation in prostate cancer. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015;456(1):183–189. DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.11.056.
 79. Ma Y., Yan F., Wei W., Deng J., Li L., Liu L. et al. MicroRNA-598 inhibits the growth and maintenance of gastric cancer stem-like cells by down-regulating RRS1. *Cell Cycle.* 2019;18(20):2757–2769. DOI: 10.1080/15384101.2019.1657338.
 80. Göhring A.R., Reuter S., Clement J.H., Cheng X., Theobald J., Wölfl S. et al. Human microRNA-299-3p decreases invasive behavior of cancer cells by downregulation of Oct4 expression and causes apoptosis. *PLoS One.* 2017;12(4):e0174912. DOI: 10.1371/journal.pone.0174912.
 81. Yin R., Zhang S., Wu Y., Fan X., Jiang F., Zhang Z. et al. microRNA-145 suppresses lung adenocarcinoma-initiating cell proliferation by targeting OCT4. *Oncol. Rep.* 2011;25(6):1747–1754. DOI: 10.3892/or.2011.1252.
 82. Hosseini F., Soltani B.M., Baharvand H., Hosseinkhani S. Hsa-miR-3658 down-regulates OCT4 gene expression followed by suppressing SW480 cell proliferation and migration. *Biochem. J.* 2020;477(12):2281–2293. DOI: 10.1042/BCJ20190619.
 83. Chen Y., Wang X. miRDB: an online database for prediction of functional microRNA targets. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D127–D131. DOI: 10.1093/nar/gkz757.
 84. Moradi S., Kamal A., Aboulkheyr Es.H., Farhadi F., Ebrahimi M., Chitsaz H. et al. Pan-cancer analysis of microRNA expression profiles highlights microRNAs enriched in normal body cells as effective suppressors of multiple tumor types: A study based on TCGA database. *PLoS One.* 2022;17(4):e0267291. DOI: 10.1371/journal.pone.0267291.
 85. Clément T., Salone V., Rederstorff M. Dual luciferase gene reporter assays to study miRNA function. *Methods Mol. Biol.* 2015;1296:187–198. DOI: 10.1007/978-1-4939-2547-6_17.
 86. Tomasello L., Cluts L., Croce C.M. Experimental Validation of MicroRNA Targets: Luciferase Reporter Assay. *Methods Mol. Biol.* 2019;1970:315–330. DOI: 10.1007/978-1-4939-9207-2_17.
 87. Arya M., Shergill I.S., Williamson M., Gommersall L., Arya N., Patel H.R. Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2005;5(2):209–219. DOI: 10.1586/14737159.5.2.209.
 88. Mahmood T., Yang P.C. Western blot: technique, theory, and trouble shooting. *N. Am. J. Med. Sci.* 2012;4(9):429–434. DOI: 10.4103/1947-2714.100998.
 89. Kumar P., Nagarajan A., Uchil P.D. Analysis of cell viability by the MTT assay. *Cold Spring Harb. Protoc.* 2018;2018(6). DOI: 10.1101/pdb.prot095505.
 90. Kamiloglu S., Sari G., Ozdal T., Capanoglu E. Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers.* 2020;1(3):332–349. DOI: 10.1002/fft2.44.
 91. Salic A., Mitchison T.J. A chemical method for fast and sensitive detection of DNA synthesis *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008;105(7):2415–2420. DOI: 10.1073/pnas.0712168105.
 92. Türker Şener L., Albeniz G., Dinç B., Albeniz I. iCELLigence real-time cell analysis system for examining the cytotoxicity of drugs to cancer cell lines. *Exp. Ther. Med.* 2017;14(3):1866–1870. DOI: 10.3892/etm.2017.4781.
 93. Franken N.A., Rodermond H.M., Stap J., Haveman J., van Bree C. Clonogenic assay of cells *in vitro*. *Nat. Protoc.* 2006;1(5):2315–2319. DOI: 10.1038/nprot.2006.339.
 94. Telford W.G. Multiparametric analysis of apoptosis by flow cytometry. *Methods Mol. Biol.* 2018;1678:167–202. DOI: 10.1007/978-1-4939-7346-0_10.
 95. Kim K.H., Sederstrom J.M. Assaying cell cycle status using flow cytometry. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* 2015;111:28.6.1–28.6.11. DOI: 10.1002/0471142727.mb2806s111.
 96. Walcher L., Kistenmacher A.K., Suo H., Kitte R., Dluczek S., Strauß A. et al. Cancer stem cells-origins and biomarkers: perspectives for targeted personalized therapies. *Front. Immunol.* 2020;11:1280. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01280.
 97. Pijuan J., Barceló C., Moreno D.F., Maiques O., Sisó P., Marti R.M. et al. *In vitro* cell migration, invasion, and adhesion assays: from cell imaging to data analysis. *Front. Cell Dev. Biol.* 2019;7:107. DOI: 10.3389/fcell.2019.00107.
 98. Bailey P.C., Lee R.M., Vitolo M.I., Pratt S.J., Ory E., Chakrabarti K. et al. Single-cell tracking of breast cancer cells enables prediction of sphere formation from early cell divisions. *Iscience.* 2018;8P:29–39. DOI: 10.1016/j.isci.2018.08.015.
 99. Lombardo Y., de Giorgio A., Coombes C.R., Stebbing J., Castellano L. Mammosphere formation assay from human breast cancer tissues and cell lines. *JoVE (Journal of Visualized Experiments).* 2015;97:e52671. DOI: 10.3791/52671.
 100. Yousefnia S., Ghaedi K., Seyed Forootan F., Nasr Esfahani M.H. Characterization of the stemness potency of mammospheres isolated from the breast cancer cell lines. *Tumor Biology.* 2019;41(8). DOI: 10.1177/1010428319869101.
 101. Du F., Zhao X., Fan D. Soft agar colony formation assay as a hallmark of carcinogenesis. *Bio. Protoc.* 2017;7(12):e2351. DOI: 10.21769/BioProtoc.2351.
 102. Khalili M., Vasei M., Khalili D., Alimoghaddam K., Sadeghizadeh M., Mowla S.J. Downregulation of the genes involved in reprogramming (SOX2, c-MYC, miR-302, miR-145, and P21) in gastric adenocarcinoma. *J. Gastrointest. Cancer.* 2015;46(3):251–258. DOI: 10.1007/s12029-015-9695-2.
 103. Lopez-Bertoni H., Lal B., Li A., Caplan M., Guerrero-Cázares H., Eberhart C.G. et al. DNMT-dependent suppression of microRNA regulates the induction of GBM tumor-propagating phenotype by Oct4 and Sox2. *Oncogene.* 2015;34(30):3994–4004. DOI: 10.1038/onc.2014.334.
 104. Chen T.Y., Lee S.H., Dhar S.S., Lee M.G. Protein arginine methyltransferase 7-mediated microRNA-221 repression maintains Oct4, Nanog, and Sox2 levels in mouse embryonic stem cells. *J. Biol. Chem.* 2018;293(11):3925–3936. DOI: 10.1074/jbc.RA117.000425.
 105. Beh-Pajoo A., Cantz T. The role of microRNAs in embryonic and induced pluripotency. *J. Stem. Cells Regen. Med.* 2018; 14 (1): 3–9. DOI: 10.46582/jsrm.1401002.
 106. McCubrey J.A., Lertpiriyapong K., Steelman L.S., Abrams S.L., Yang L.V., Murata R.M. et al. Effects of resveratrol, curcumin, berberine and other nutraceuticals on aging, cancer development, cancer stem cells and microRNAs. *Aging (Albany NY).* 2017;9(6):1477–1536. DOI: 10.18632/aging.101250.

Информация об авторах

Першина Александра Геннадьевна – канд. биол. наук, зав. центром биологических исследований и биоинженерии, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, allsysz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7604-9722>

Невская Ксения Владимировна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, центр биологических исследований и биоинженерии, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ, г. Томск, nevskayaksenia@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1659-8812>

Морозов Константин Русланович – студент, СибГМУ, г. Томск, morozov.tom@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-1847-2685>

Литвяков Николай Васильевич – д-р биол. наук, профессор РАН, науч. сотрудник, лаборатория генетических технологий, Центральная научно-исследовательская лаборатория, СибГМУ; зав. лабораторией онковирусологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, nvlitv72@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0714-8927>

(✉) **Невская Ксения Владимировна**, nevskayaksenia@gmail.com

Поступила в редакцию 05.09.2022;
одобрена после рецензирования 19.09.2022;
принята к публикации 26.09.2022.