

Эпигенетические механизмы регуляции генной экспрессии в развитии плоскоклеточного рака головы и шеи: терапевтические перспективы

Р.Б. Самсонов¹⁻³, З.А. Раджабова¹, Ю.В. Чебуркин^{1,2}, В.А. Клюге¹, Е.В. Ткаченко¹, А.В. Малек^{1,2}

¹ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России;

Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68;

²ООО «Онко-система»; Россия, 194356 Санкт-Петербург, ул. Хошимина, 11/1;

³ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздрава России;

Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 70

Контакты: Роман Борисович Самсонов Rom_207@mail.ru

Опухоли головы и шеи (ОГШ) — онкологические заболевания носа, ротовой полости, гортани, глотки, шейного отдела пищевода, околоносовых пазух и слюнных желез, которые в большинстве случаев представляют собой плоскоклеточный рак. Несмотря на то что в большинстве случаев новообразования в области головы и шеи доступны визуальному осмотру, 60–70 % больных поступают на лечение с III–IV стадиями заболевания. Оптимизация диагностических алгоритмов и широкое внедрение методов аппаратной диагностики (ультразвуковое исследование, компьютерная томография, волоконная эндоскопия), к сожалению, не приводят к заметному улучшению ситуации. Динамика показателей заболеваемости и смертности от данной патологии в России (рост как абсолютных, так и относительных показателей заболеваемости и смертности за последние 10–12 лет) наглядно демонстрирует его социальную значимость. С учетом эпидемиологических данных очевидна актуальность фундаментальных исследований патогенеза ОГШ и разработка новых патогенетических методов терапии. Наряду с важностью изучения типичных для ОГШ генетических аномалий практическое значение имеют исследования нарушений эпигенетической регуляции работы генома опухолевых клеток.

Целью обзора явился анализ взаимосвязи между различными механизмами эпигенетической регуляции экспрессионной активности генома и оценка этой взаимосвязи в контексте биологии плоскоклеточных эпителиальных ОГШ. С учетом перспектив разработки новых методов терапии важно понимание комплексного характера системы эпигенетического контроля генной экспрессии, так как оно позволяет создавать и реализовывать оптимальные методы медикаментозной коррекции. Например, противоопухолевый эффект масляной кислоты теоретически мог бы быть модифицирован или усилен с помощью ингибиторов миР-17-92а или «мимиков» миР-31. При этом возможность использования одного из применяемых препаратов местно, а другого системно определяет вероятность достижения максимального терапевтического эффекта в ткани опухоли. Основной задачей авторов этого обзора было представление читателям механизмов действия, перспектив разработки и возможностей применения методов эпигенетической терапии ОГШ, которые могут быть предложены клиницистам в обозримом будущем.

Ключевые слова: опухоли головы и шеи, микроРНК, плоскоклеточный рак, эпигенетика, противоопухолевая терапия, ингибиторы деацетилаз гистонов

DOI: 10.17650/2222-1468-2016-6-4-35-44

Epigenetic regulation of gene expression in head and neck squamous cell carcinoma: therapeutic perspectives

R.B. Samsonov¹⁻³, Z.A. Radzhabova¹, Yu.V. Cheburkin^{1,2}, V.A. Klyuge¹, E.V. Tkachenko¹, A.V. Malek^{1,2}

¹N.N. Petrov Research Institute of Oncology, Ministry of Health of Russia;

68 Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia;

²“Onco-system” Ltd; 11/1 Hoshimina St., Saint Petersburg 194356, Russia;

³Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, Ministry of Health of Russia;

70 Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia

Head and neck tumors (HNT) include cancers of nasal cavity, oral cavity, larynx, pharynx, cervical esophagus, paranasal sinuses, and salivary glands; in most of the cases HNT are presented by squamous cell carcinoma. Despite the fact that tumors of head and neck are generally available for visual inspection, about 60–70 % of the patients are diagnosed with it at advanced (III or IV) stages of the disease. Unfortunately, optimization of diagnostic algorithms and wide implementation of instrumental diagnostics (ultrasound examination, computed tomography, fiber endoscopy) do not improve the situation. Current trends in HNT incidence and mortality in Russia (increasing of both absolute and relative figures of incidence and mortality over the last 10–12 years) clearly demonstrate its social importance. Available epidemiological data suggests the obvious need for fundamental studies devoted to HNT pathogenesis as well as for development of novel meth-

ods of pathogenetic therapy. Along with the importance of investigation of typical for HNT genetic abnormalities, we should also stress studying of epigenetic regulation disorders in tumor cells because of its particular practical value.

This review is aimed to analyze the relationship between different mechanisms of epigenetic regulation of gene expression, and to evaluate this relationship in squamous cell HNT. In terms of new therapy methods development it is important to understand the complex nature of epigenetic control of gene expression as soon as it allows to create and implement optimal methods of chemotherapy. For instance, the antitumor effect of butyric acid could be theoretically modified or enhanced by the inhibitors of miR-17-92a or miR-31 mimics. In this case one of the drugs can be administrated locally, and the other one – systemically, this possibility can help to reach maximum therapeutic effect in the tumor tissue. The main aim of this review was to present mechanisms, development prospects and application possibilities of HNT epigenetic therapy, which can be soon offered to clinicians.

Key words: head and neck tumors, microRNAs, squamous cell carcinoma, epigenetics, antitumor therapy, histone deacetylase inhibitors

Введение

Онкологические заболевания носа, ротовой полости, гортани, глотки, шейного отдела пищевода, околоносовых пазух и слюнных желез, составляющие около 20 % в общей структуре онкологической заболеваемости, традиционно определяются термином «опухоли головы и шеи» (ОГШ) [1, 2]. Большинство злокачественных новообразований головы и шеи представлены плоскоклеточным раком. Аденокарциномы встречаются реже и могут развиваться из эпителия слюнных желез, щитовидной железы и придатков кожи. Неэпителиальные новообразования составляют около 18 % от общего количества опухолей данной локализации [2].

Давно установлено наличие причинно-следственной связи между развитием ОГШ и такими факторами, как курение, злоупотребление алкоголем, регулярное употребление слишком горячей пищи и плохая гигиена полости рта. Исследования последних лет указывают на значимую роль онкогенных ДНК-содержащих вирусов (вирус папилломы человека, вирус Эпштейна–Барр, вирус простого герпеса) в этиологии ОГШ [3, 4]. Несмотря на то что в большинстве случаев новообразования в области головы и шеи доступны визуальному осмотру, 60–70 % больных поступают на лечение с III–IV стадиями заболевания. К сожалению, оптимизация диагностических алгоритмов и широкое внедрение методов аппаратной диагностики (ультразвуковое исследование, компьютерная томография, волоконная эндоскопия) не приводят к заметному улучшению ситуации.

Выбор тактики лечения ОГШ определяется такими параметрами, как локализация, распространенность первичной опухоли, наличие регионарных и отдаленных метастазов, онкологический анамнез и соматический статус пациента [5]. Основным методом лечения ОГШ до настоящего времени остается хирургический. Применение неoadъювантной химиотерапии при местно-распространенном процессе позволяет увеличить показатели выживаемости, число органосохраняющих операций и в некоторых случаях перевести первично нерезектабельные опухоли в резектабельное состояние [6, 7]. В лечении ОГШ главным образом применяют препараты платины, фторпиримидины и таксаны.

Лучевую терапию используют в отношении местно-распространенных форм плоскоклеточного рака головы и шеи как в неoadъювантном, так и в адъювантном режиме в сочетании с цитостатиками или таргетными препаратами или в монорежиме [8].

Социальная актуальность данной патологии в нашей стране наглядно отражается динамикой показателей заболеваемости и смертности. Так, распространенность опухолей полости рта возросла с 4,53 до 5,77 случая на 100 тыс. населения за период с 2004 до 2014 г. (прирост 30,09 %). Аналогичные показатели за тот же период наблюдения для опухолей глотки составили 2,86 и 3,44 случая на 100 тыс. населения (прирост 19,46 %). Наблюдался также рост как абсолютных (с 7044 до 7646), так и относительных (с 6,02 до 6,57 на 100 тыс.) показателей смертности, подсчитанных суммарно для опухолей губы, полости рта и глотки [9]. С учетом эпидемиологических данных очевидна актуальность фундаментальных исследований патогенеза ОГШ и разработка новых патогенетических методов терапии. Наряду с важностью изучения типичных для ОГШ генетических аномалий практическое значение имеют исследования нарушений эпигенетической регуляции работы генома опухолевых клеток.

Механизмы и значимость эпигенетических нарушений в процессе развития плоскоклеточного рака головы и шеи

Эпигенетическими называются механизмы обратимого изменения работы генома, не затрагивающие нуклеотидную последовательность ДНК. К числу известных эпигенетических механизмов относят: метилирование ДНК, посттрансляционную модификацию ядерных белков (гистонов) и посттранскрипционную регуляцию стабильности матричных РНК (мРНК) [10]. Нарушение нормальной работы эпигенетических механизмов контроля транскрипционной активности генома играет значимую роль в процессе неопластической трансформации [11]. Детально исследовано участие эпигенетических факторов в регуляции различных клеточных процессов, включая пролиферацию, репарацию «фоновых» повреждений геномной ДНК, апоптоз и межклеточное взаимодействие. Эти механизмы

имеют место и отличаются рядом особенностей в процессе развития ОГШ [12, 13].

Метилирование – обратимая химическая модификация структуры ДНК путем присоединения метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида. Метилирование ДНК является одним из основных механизмов контроля экспрессии генов: изменение структуры цитозина влияет на эффективность связывания транскрипционных факторов с регуляторными участками ДНК. В процессе неопластической трансформации часто наблюдается гиперметилирование цитозина в составе определенных локусов и феномен так называемого глобального гипометилирования, или равномерного снижения степени метилирования всего генома. Так, локальное гиперметилирование может сопровождаться угнетением активности генов-тумор-супрессоров и геномной нестабильностью, а глобальное снижение степени метилирования геномной ДНК сопутствует патологической активации онкогенов и накоплению хромосомных aberrаций. Оба варианта нарушений наблюдаются в клетках ОГШ, причем имеют специфические для данной нозологической формы характер и динамику [14, 15].

Гистоны – это семейство ядерных белков с большой долей положительно заряженных аминокислот. Положительный заряд определяет способность гистонов связывать отрицательно заряженную ДНК вне зависимости от ее нуклеотидной последовательности. Основной функцией гистонов является пространственная организация геномной ДНК. Структура и, соответственно, функциональная активность гистонов регулируются путем их посттрансляционной модификации, например ацетилизацией, метилированием, фосфорилированием, убиквитинированием, рибозилированием определенных аминокислотных остатков. Среди различных вариантов посттрансляционной модификации гистонов наиболее полно изучена обратимая реакция ацетилирования/деацетилирования. Динамическое равновесие между исходной и модифицированной формами белков-гистонов определяется соотношением активности ядерных ферментов: ацетилаз и деацетилаз. Избыточная активность деацетилаз (HDAC, histone deacetylase), катализирующих удаление ацетильной группы ε-N-ацетил-лизина, рассматривается как один из ключевых факторов канцерогенеза [16]. Особенности профиля ацетилирования и триметилирования гистонов коррелируют с клиническими признаками агрессивности ОГШ (размер опухоли, вовлеченность лимфатических узлов, периневральная инвазия), что свидетельствует о значимой патогенетической роли фактора посттрансляционной модификации гистонов [17].

Феномен посттранскрипционной регуляции генной экспрессии короткими регуляторными молекулами РНК (микроРНК) активно исследуется в течение последних

лет. МикроРНК представляют собой короткие одноцепочечные молекулы РНК, комплементарное взаимодействие которых с молекулами информационных РНК (или мессенджерных РНК, mRNA) блокирует синтез соответствующих протеинов. Молекула микроРНК определяет специфичность и инициирует процесс ферментативной дегградации информационной РНК, который осуществляется многокомпонентным протеиновым комплексом (RISC, RNA-induced silencing complex). К настоящему времени описано около 2800–2900 различных молекул микроРНК [18], которые суммарно регулируют экспрессию более 60 % генов, кодирующих белки [19]. Сами микроРНК кодируются соответствующими генами [20]. Изменения профиля экспрессии микроРНК в клетке имеют характерные особенности при различных физиологических и патологических состояниях, включая процесс неопластической трансформации [21]. Попытки выявить специфические изменения профиля микроРНК, сопровождающие развитие ОГШ, были предприняты десятками исследовательских групп [22]. Результаты этих исследований могут найти практическое применение в ранней или дифференциальной диагностике, прогнозировании течения, персонализации режимов радио- и химиотерапии ОГШ [22, 23].

Суммарный вклад эпигенетических нарушений в процесс неопластической трансформации клетки и последующей прогрессии онкологического заболевания многими авторами расценивается как более значимый, чем собственно генетические аномалии [24, 25].

Взаимосвязь между различными механизмами эпигенетической регуляции генной экспрессии

На первый взгляд обсуждаемые механизмы регуляции генной экспрессии имеют мало общего и объединяются термином «эпигенетика» по формальному признаку сохранности последовательности генетического кода. Метилирование пиримидиновых оснований в составе геномной ДНК, модификация гистонов и микроРНК-зависимая инактивация трансляции разделены пространственно и опосредуются различными молекулярными механизмами. Тем не менее идея функциональной взаимосвязи между этими процессами была высказана давно [26]. Р.А. Jones, один из авторов этого предположения, доказал взаимозависимый характер дизрегуляции эпигенетических механизмов контроля генной экспрессии в процессе неопластической трансформации [27] и стал основателем нового лечебного направления – эпигенетической терапии онкологических заболеваний [28, 29]. Принимая во внимание обратимость и принципиальную регулируемость эпигенетических событий, этот новый метод противоопухолевой терапии оценивается как один из наиболее перспективных.

Банальный механизм функциональной взаимосвязи между процессом метилирования остатков цитозина

в составе так называемых CpG-островков и модификацией гистонов можно предположить исходя из молекулярных механизмов каждого из двух феноменов. Так, с одной стороны, синтез генов, кодирующих белки-ферменты, модифицирующие гистоны, может быть ингибирован путем гиперметилирования соответствующих промоторных областей. С другой — экспрессия фермента ДНК-метилтрансферазы зависит от состояния хроматина, регулируемого гистонами [30]. Но в дополнение к каноническим механизмам взаимозависимой регуляции были описаны некоторые примеры непосредственной функциональной связи. Так, например, белок, связывающий метилированные участки CpG-островков, MeCP2 (methyl-CpG-binding protein) и белок, ингибирующий экспрессию генов, препятствуя «посадке» факторов транскрипции, оказались непосредственно вовлечены в процесс модификации гистонов: деацетилирование [31] и метилирование [32]. Другой фермент, участвующий в метилировании ДНК, — Dnmt1 (methyltransferase) — также оказался вовлеченным в процесс деацетилирования гистонов [33]. Эти данные указывают на то, что активность ряда ядерных ферментов может параллельно играть роль как в метилировании CpG-островков, так и в модификации гистонов и определять возможность параллельных и взаимосвязанных эпигенетических событий.

Связь между до- и послетранскрипционными механизмами регуляции генной экспрессии может быть опосредована влиянием микроРНК на стабильность мРНК, кодирующих белки-модификаторы CpG-островков и гистонов, и *vice versa* путем эпигенетической репрессии генов, кодирующих микроРНК [34]. В ряде работ с использованием моделей клеток растений был исследован механизм регуляции и «фокусирования» активности процесса метилирования ДНК с помощью молекул микроРНК [35, 36]. Другим примером взаимодействия двух механизмов эпигенетической регуляции (метилирования промоторного региона ДНК и микроРНК-зависимой блокады трансляции) является угнетение экспрессии E-кадгерина в процессе развития ОГШ [37].

В ряде исследований было показано участие микроРНК в регуляции экспрессии белков группы поликомб (polycomb). Это семейство эпигенетических регуляторов 3D-архитектуры хроматина, функциональная активность которых особенно значима в процессе клеточной дифференцировки [38]. Белки этого семейства функционируют в составе 2 репрессорных комплексов: polycomb repressor complex 1 (PRC1) и polycomb repressor complex 2 (PRC2). Известно, что многие компоненты этих белковых комплексов регулируются на посттранскрипционном уровне с помощью микроРНК [39]. Так, например, экспрессия белка EZH2 — каталитического компонента комплекса PRC2 — активируется в клетках различных опухолей, включая ОГШ

[40]. В нормальных условиях синтез этой молекулы контролируется на посттранскрипционном уровне рядом микроРНК (miR-26a, miR-101, miR-205, miR-630), уровень экспрессии и функциональная активность которых снижаются в ходе трансформации [40–42]. Компонент другого репрессорного комплекса — PRC1, протоонкоген Bmi-1, контролирует статус ряда генов, вовлеченных в поддержание популяции стволовых клеток в различных тканях [43]. Активация экспрессии этого белка характерна для многих онкологических заболеваний, включая рак мочевого пузыря, предстательной железы, яичников, молочной железы и ОГШ [44]. В недавних исследованиях было показано, что экспрессия Bmi-1 контролируется miR-128 [45] и miR-203 [46], и искажение этого регуляторного механизма имеет значение в развитии плоскоклеточных злокачественных новообразований пищевода, головы и шеи.

Участие микроРНК в регуляции экспрессии HDAC было описано в контексте различных онкологических заболеваний [47]. В ряде работ было показано, что в клетках ОГШ уровень ацетилирования белков-гистонов существенно ниже по сравнению с клетками нормального эпителия, что свидетельствует о патологически высокой активности ферментов деацетилаз [48]. Этот феномен формируется разными регуляторными механизмами, включая регуляторный аппарат микроРНК. Например, патологическая взаимосвязь между ферментами HDAC и miR-31, а также роль этой молекулы в канцерогенезе ОГШ исследовались рядом авторов [49, 50].

Принято считать, что микроРНК контролируют синтез около 60 % белков [19]. Эта оценка является результатом статистического расчета возможных регионов взаимодействия молекул мРНК и микроРНК (*in silico*), без учета регуляторных эффектов микроРНК, опосредованных эпигенетическими факторами. С учетом механизмов, описанных выше, роль микроРНК-системы контроля работы генома представляется существенно более комплексной.

Эпигенетический контроль профиля экспрессии микроРНК в клетках опухолей головы и шеи

Работа систем до- и послетранскрипционного эпигенетического контроля является взаимозависимой. В свете исследований последних лет [26, 51–53] метилирование ДНК и модификация гистонов представляются важными, если не основными механизмами контроля экспрессии клеточных микроРНК. Для ряда молекул (let-7a, miR-9, miR-34a, miR-124, miR-137, miR-148 и miR-203), вовлеченных в карциногенез ОГШ, механизмы такой регуляции исследованы достаточно полно.

Например, miR-9 экспрессируется из трех геномных локусов: miR-9-1, miR-9-2 и miR-9-3, которые связаны с CpG-островками. Гиперметилирование этих

островков наблюдается при различных злокачественных процессах, в том числе ОГШ [54–57]. Причем эти изменения могут выявляться на ранних стадиях развития опухоли. Например, при раке молочной железы locus miR-9-1 сильно метилирован не только при инвазивной протоковой карциноме, но и при протоковой карциноме *in situ* [57]. Эти данные позволяют предположить, что эпигенетическое выключение локусов miR-9 является ранним канцерогенным событием. Кроме того, метилирование локусов miR-9 коррелирует с метастатическим статусом онкологических заболеваний [56]. Гены, ответственные за метастазирование, на которые направлено действие зрелых miR-9, пока не определены, однако недавнее исследование показало, что мишенью зрелой miR-9 является ядерный фактор каппа В (NF-κB), играющий важную роль в процессе иммортализации клеток слизистой оболочки носа и глотки [58].

Уровень miR-34 является результатом экспрессии трех отдельных генов *miR-34: miR-34a, miR-34b и miR-34c*. Промоторные области этих локусов содержат сайты связывания белка p53 и регулируются с его помощью. Скорее всего, именно с этим связана экспрессия зрелой miR-34a, вызванная повреждением ДНК и активацией p53, который контролирует клеточный цикл, индуцирует апоптоз и подавляет образование опухоли [59, 60]. «Родительский» ген miR-34a (*FLJ41150*) связан с CpG-островком в сайте инициации транскрипции, который часто метилирован в различных злокачественных опухолях [61]. Эпигенетические механизмы, лежащие в основе регуляции транскрипции miR-34b/c, были подробно описаны Toyota и соавт. [62]. «Родительский» ген miR-34b/c (*BC021736*) содержит CpG-островок на границе 1-го интрона и 2-го экзона. Метилирование этого островка является одним из механизмов эпигенетического подавления экспрессии miR-34 [63], которое повышает инвазивный потенциал клеток плоскоклеточного рака языка [64].

Различные исследования показали, что зрелая miR-124 играет ключевую роль в нейрогенезе и является наиболее представленной микроРНК в мозге взрослого человека [65]. Эпигенетическое выключение 3 локусов miR-124 (miR-124-1/2/3) наблюдается не только в опухолях головного мозга, но и при различных других типах рака, таких как рак толстой кишки (75 % случаев), молочной железы (32–50 %), легких (48 %), лейкозе (36 %) и лимфоме (41 %). В контексте ОГШ рядом авторов был описан антипролиферативный эффект miR-124 [66, 67], что указывает на возможность аналогичного феномена угнетения синтеза этой молекулы в процессе развития плоскоклеточного рака.

miR-137 регулирует процессы эмбриональной и терминальной дифференциации клеток, так же как и miR-124. В эксперименте *in vitro* наблюдалась активация

экспрессии miR-137 нормальными кератиноцитами в процессе репликативного старения [68]. Причем авторами данной работы была проведена функциональная оценка наблюдаемого феномена: эктопическая гиперэкспрессия miR-137 индуцировала «старение» культуры активно делящихся кератиноцитов. Участок геномной ДНК, кодирующей miR-137, непосредственно перекрыт CpG-островком, который специфически гиперметилирован в ткани опухолей различной локализации [55, 69]. Сравнительный анализ степени метилирования промоторного региона miR-137 в клетках нормального эпителия слизистой оболочки рта, очагах красного плоского лишая и плоскоклеточной карциномы полости рта выявил закономерное увеличение доли метилированных оснований (цитозина): 0; 35,0 и 58,3 % соответственно [70]. Эти результаты указывают на связь между феноменом гиперметилирования ДНК, кодирующей miR-124, снижением уровня экспрессии этой молекулы и иммортализацией клеток. Ключевая регуляторная роль метилирования гена *miR-137*, так же как функциональный эффект реактивации экспрессии в клетках плоскоклеточной карциномы полости рта (арест клеточного цикла в фазе G1 и апоптоз), были продемонстрированы в другом исследовании [71]. Как и в случае miR-124, клинические наблюдения и экспериментальные данные указывают на терапевтический потенциал молекулы miR-137.

A. Lujambio и соавт. провели скрининг опухолевых микроРНК, связанных с метастазированием, которые инактивируются эпигенетически и выделили среди них miR-148 [56]. Авторы описали корреляцию степени метилирования геномной ДНК, кодирующей miR-148, с метастатическим потенциалом опухолей различных локализаций. В модели *in vivo* авторами было показано, что стабильная экзогенная экспрессия miR-148 в опухолевых клетках снижает их способность к локальной инвазии и формированию отдаленных метастазов [56]. Кроме того, несколько изоформ ДНК-метилтрансферазы 3b являются мишенями miR-148, что указывает на возможность формирования «регуляторных петель» и участие miR-148 в контроле уровня метилирования геномной ДНК. В недавнем исследовании была показана прогностическая значимость оценки уровня экспрессии этой молекулы в контексте плоскоклеточного рака пищевода [72].

Семейство miR-200 состоит из miR-141, miR-200a/b/c и miR-429, которые образуются из сходных по последовательности геномных локусов, расположенных в непосредственной близости друг от друга. В ряде исследований было установлено, что семейство miR-200 участвует в эпителиально-мезенхимальном переходе (ЭМП). ЭМП проявляется в раковых клетках в виде феномена, при котором опухолевые клетки приобретают фенотипические особенности мезенхимальных клеток (веретенообразная морфология, ак-

тивированная клеточная подвижность и инвазивность). U. Wellner и соавт. показали, что один из активаторов ЭМП, транскрипционный фактор ZEB1 (Zinc finger E-box-binding homeobox 1), подавляет экспрессию miR-200c и в то же время является мишенью супрессивного действия этой молекулы. Этот факт позволяет предположить, что miR-200c и ZEB1 формируют «негативную регуляторную петлю», которая поддерживает феномен ЭМП [73]. Дополнительные исследования показали, что кластеры miR-141/200c и miR-200a/b/429 регулируются эпигенетически [74] и функциональное взаимодействие miR-200 и ZEB1 играет значимую роль в формировании инвазивного фенотипа клеток ОГС [75]. Следовательно, разработка метода «блокады» этого взаимодействия является перспективной стратегией таргетной терапии опухолей данной локализации.

miR-203 регулирует стабильность РНК, транскрибируемой с гена *ABL1* и его онкогенного варианта *BCR-ABL1*, образующегося в результате филадельфийской транслокации [76]. Эпигенетическое «выключение» miR-203 активирует синтез гибридного патологического белка BCR-ABL1, что приводит к ускорению роста опухолевых клеток. Эпигенетическая инактивация miR-203 наблюдается в клетках различных опухолей, включая рак полости рта [71, 77]. Другим потенциальным геном-мишенью miR-203 является *Bmi-1*, член PRC 1 [46, 73], что обсуждалось ранее. Экспериментальное введение в опухолевые клетки молекулы miR-203 индуцирует апоптоз и подавляет рост клеток [77], что, вероятно, является результатом поликомб-опосредованной модификации эпигенетических паттернов и указывает на терапевтический потенциал этой молекулы.

Представленные данные указывают на тот факт, что развитие ОГС сопровождается эпигенетической супрессией многих «антиопухолевых» микроРНК. Восстановление функциональной активности таких молекул, очевидно, представляет собой новую стратегию противоопухолевой терапии. В настоящее время техника направленного терапевтического воздействия на уровень активности молекул микроРНК в опухолевых клетках широко используется в лабораторной практике в условиях *in vitro*. В обозримом будущем технология усовершенствуется и станет возможно ее внедрение в клиническую практику. Кроме того, анализ профиля микроРНК может рассматриваться как метод предсказания цитостатического эффекта существующих эпигенетических модуляторов, например ингибиторов деацетилаз.

Перспективы эпигенетической противоопухолевой терапии

Ингибиторы HDAC – это большая группа различных по химии соединений, которые могут свя-

зывать и ингибировать ферменты деацетилазы. Снижение активности деацетилаз приводит к гиперацетилированию гистонов, что ведет к активации транскрипции, замедлению пролиферации и способствует дифференцировке клеток [78]. С учетом суммарного эффекта ингибиторы HDAC представляют собой перспективный класс противоопухолевых препаратов.

Вальпроевая кислота (ВПК, valproic acid) – хорошо известный противосудорожный препарат, ингибитор HDAC, противоопухолевая активность которого была показана для ряда нозологий, включая ОГС [79, 80]. ВПК изменяет биологию опухолевой клетки за счет активации процессов дифференцировки, апоптоза, торможения пролиферации и снижения метастатического и ангиогенного потенциалов [81, 82]. В настоящее время препарат тестируется как средство терапии острого миелоидного лейкоза [83]. ВПК подавляет миграцию и инвазию клеток рака предстательной железы [84]. В экспериментах с клетками ОГС препарат вызывает как острый, так и хронический цитотоксический эффект [85] и повышает цитотоксичность цисплатина в 3–7 раз [79]. S.H. Lee и соавт. наблюдали снижение пролиферативной активности и способности к дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток после воздействия ВПК [86]. Окончательно механизм такого воздействия не ясен, но, по всей видимости, ВПК подавляет экспрессию генов *ABCC2* и *ABCC6* и активирует опосредованный каспазами апоптоз. Таким образом, применение ВПК в сочетании с терапией цисплатином может быть новой терапевтической стратегией для лечения больных ОГС за счет уничтожения пула опухолевых стволовых клеток [86]. Ряд эффектов ВПК опосредуется молекулами микроРНК (например, miR-124 [87], miR-144/451 [88]). Логичным кажется предположение, что комбинация ВПК с терапевтическими «мимиками» таких микроРНК является перспективным способом оптимизации цитостатического действия препарата.

Еще один ингибитор HDAC – субероиланилид гидроксамовой кислоты (СГК, suberoylanilide hydroxamic acid) – был успешно использован в клинической практике для лечения Т-клеточной лимфомы и тестировался в испытаниях на пациентах с ОГС. J. Datta и соавт. в исследовании на линиях клеток плоскоклеточного рака головы и шеи CAL27 и SCC25 показали, что применение СГК эффективно снижает онкогенный потенциал клеток. Пролiferация клеток ОГС, миграционная способность и способность к образованию колоний угнетались даже при использовании СГК в качестве монотерапии [89]. Авторам этой работы удалось доказать, что эффект СГК опосредуется реактивацией экспрессии ряда тумор-супрессорных микроРНК, в частности miR-107 и miR-138. Ранее было показано, что miR-107 существенно снижала туморогенность клеток ОГС за счет взаимодей-

ствия с генами-мишенями *PKCε*, *HIF1b* и *CDK6*, которые гиперэкспрессированы и играют важную роль в онкогенезе [90, 91]. А miR-138 снижает экспрессию онкогенных сигнальных молекул RhoC и CDK6 [92–94]. Усиленная экспрессия miR-138 в клетках ОГШ подавляла экспрессию 194 белков, из которых 51 являются ключевыми регуляторами пролиферативной и метастатической активности. Эти данные подтверждают выводы, сделанные J. Datta: противоопухолевый эффект SGK является результатом эпигенетической реактивации ряда онкопроторных микроРНК.

Особая роль HDAC III класса сиртуина-3 (sirtuin 3) в канцерогенезе слизистой оболочки ротовой полости была показана T.Y. Alhazzazi и соавт. в экспериментах *in vitro* и *in vivo* [95]. Экспрессия сиртуина-3 в опухолевых клетках оказалась существенно выше, чем в клетках нормального эпителия, а экспериментальная инактивация этой молекулы ингибировала пролиферацию и злокачественный потенциал опухолевых клеток. Кроме этого, снижение уровня сиртуина-3 повышало чувствительность опухолевых клеток к радио- и химиотерапии. Таким образом, использование сиртуина-3 в качестве терапевтической мишени у пациентов с ОГШ и высоким уровнем экспрессии этого белка может иметь самостоятельный эффект или использоваться в качестве адъювантной терапии радио- и химиорезистентных опухолей [95]. Авторами цитируемой работы был синтезирован ингибитор сиртуина-3 – LC-0296 – и исследован эффект этого вещества на пролиферативную активность клеток плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Было показано, что LC-0296 замедляет пролиферацию и индуцирует апоптоз в клетках ОГШ, но не в нормальных кератиноцитах ротовой полости. Помимо этого, LC-0296 повышал чувствительность клеток ОГШ к лучевой терапии и цисплатину [95]. В то же время сиртуин-3 является регуляторной мишенью miR-421, что было показано на модели неалкогольного стеатогепатита [96]. Так, возможность контроля синтеза HDAC сиртуина-3 с помощью miR-421 открывает перспективы разработки новой стратегии лечения ОГШ.

Масляная (бутановая) кислота (butyric acid) – одноосновная насыщенная карбоновая кислота алифатического ряда. Определенное количество этого вещества образуется в толстом кишечнике в результате

активности кишечной микрофлоры. Бутановая кислота является природным ингибитором широкого спектра деацетилаз и оказывает антипролиферативное и проапоптотическое влияние на клетки разных типов. Принято считать, что диета, обогащенная растительной клетчаткой, снижает риск развития колоректального рака, и бутановая кислота опосредует этот профилактический эффект. Однако точный механизм защитного действия бутановой кислоты требует изучения [97]. Рядом исследований, опубликованных в течение последних лет, было показано что бутановая кислота ингибирует экспрессию кластера онкогенных микроРНК: miR-17-92a [98, 99], которые играют роль в развитии многих опухолей, включая ОГШ [100]. В то же время бутановая кислота активирует экспрессию miR-31, которая регулирует процесс клеточного старения и оказывает противоопухолевый эффект [49]. Таким образом, бутановая кислота может по-разному влиять на активность разных микроРНК, которые, в свою очередь, опосредуют комплексное антипролиферативное воздействие на клетки опухоли.

Заключение

Целями данного обзора явились анализ взаимосвязи между различными механизмами эпигенетической регуляции экспрессионной активности генома и оценка этой взаимосвязи в контексте биологии плоскоклеточных эпителиальных опухолей головы и шеи. С учетом перспектив разработки новых методов эпигенетической терапии ОГШ понимание комплексного характера системы эпигенетического контроля генной экспрессии важно, так как оно позволяет создавать и реализовывать оптимальные методы медикаментозной коррекции. Например, противоопухолевый эффект масляной кислоты теоретически мог бы быть модифицирован или усилен с помощью ингибиторов miR-17-92a или «мимиков» miR-31. При этом возможность использования одного из применяемых препаратов местно, а другого системно определяет вероятность достижения максимального терапевтического эффекта в ткани опухоли. Основной задачей авторов настоящего обзора было представление читателям механизмов действия, перспектив разработки и возможностей применения методов эпигенетической терапии ОГШ, которые могут быть предложены клиницистам в обозримом будущем.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Суконко О.Г., Красный С.А. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований. Под ред. О.Г. Суконко, С.А. Красного. Минск, 2012. С. 13–30. [Sukonko O.G., Krasnyy S.A. Algorithms

of diagnostics and treatment of malignant neoplasms. Eds. by O.G. Sukonko, S.A. Krasnyy. Minsk, 2012. Pp. 13–30. (In Russ.).
2. Вельшер Л.З., Матякин Е.Г., Дудицкая Т.К., Поляков Б.И. Онкология. М.: ГЭОТАР-

Медиа, 2009. 512 с. [Vel'sher L.Z., Matyakin E.G., Duditskaya T.K., Polyakov B.I. Oncology. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 512 p. (In Russ.).
3. Bychkov V.A., Nikitina E.G., Ibragimova M.K. et al. Comprehensive meta-analytical

- summary on human papillomavirus association with head and neck cancer. *Exp Oncol* 2016;38(2):68–72.
4. Jalouli J., Jalouli M.M., Sapkota D. et al. Human papilloma virus, herpes simplex virus and epstein barr virus in oral squamous cell carcinoma from eight different countries. *Anticancer Res* 2012;32(2):571–80.
5. Кропотов М.А. Общие принципы лечения больных первичным раком головы и шеи. *Практическая онкология* 2003;4(1):1–8. [Kropotov M.A. General principles of treatment of patients with primary cancer of the head and neck. *Prakticheskaya onkologiya = Practical Oncology* 2003;4(1): 1–8. (In Russ.)].
6. Алферов В.С. Органосохраняющие методы лечения рака гортани. М., 1993. 350 с. [Alferov V.S. Organ-preserving methods of treatment of cancer of the larynx. Moscow, 1993. 350 p. (In Russ.)].
7. Мудунов А.М. Сравнительная оценка эффективности неoadъювантной химиотерапии в комплексном и комбинированном лечении плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта и ротоглотки. Дис. ... канд. мед. наук. М., 2002. 25 с. [Mudunov A.M. Comparative evaluation of neoadjuvant chemotherapy in the complex and combined treatment of squamous cell carcinoma of the mucosa of the oral cavity and oropharynx. Thesis ... of candidate of medicine. Moscow, 2002. 25 p. (In Russ.)].
8. Практические рекомендации по лекарственному лечению опухолей головы и шеи. *Злокачественные опухоли* 2015;(4s):47–54. [Practical recommendations for drug treatment of tumors of the head and neck. *Zlokachestvennyye opukholi = Malignant Tumors* 2015;(4s):47–54. (In Russ.)].
9. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М., 2016. [Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2014 (morbidity and mortality). Eds. by: A.D. Kaprin, V.V. Starinskiy, G.V. Petrova. Moscow, 2016. (In Russ.)].
10. Ванюшин Б.Ф. Эпигенетика сегодня и завтра. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 2013;17(4/2):805–32. [Vanyushin B.F. Epigenetics today and tomorrow. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii = Vavilov Journal of Genetics and Plant Breeding* 2013;17(4/2):805–32. (In Russ.)].
11. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008;358(11):1148–59. DOI: 10.1056/NEJMra072067.
12. Fan C.Y. Epigenetic alterations in head and neck cancer: prevalence, clinical significance, and implications. *Curr Oncol Rep* 2004;6(2):152–61.
13. Bakhtiar S.M., Ali A., Barh D. Epigenetics in head and neck cancer. *Methods Mol Biol* 2015;1238:751–69. DOI: 10.1007/978-1-4939-1804-1_39.
14. Demokan S., Dalay N. Role of DNA methylation in head and neck cancer. *Clin Epigenetics* 2011;2(2):123–50. DOI: 10.1007/s13148-011-0045-3.
15. Shridhar K., Walia G.K., Aggarwal A. et al. DNA methylation markers for oral pre-cancer progression: A critical review. *Oral Oncol* 2016;53:1–9. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2015.11.012.
16. Glozak M.A., Seto E. Histone deacetylases and cancer. *Oncogene* 2007;26(37):5420–32.
17. Chen Y.W., Kao S.Y., Wang H.J., Yang M.H. Histone modification patterns correlate with patient outcome in oral squamous cell carcinoma. *Cancer* 2013;119(24):4259–67. DOI: 10.1002/ncr.28356.
18. URL: <http://www.mirbase.org/>.
19. Gunaratne P.H., Creighton C.J., Watson M., Tennakoon J.B. Large-scale integration of microRNA and gene expression data for identification of enriched microRNA-mRNA associations in biological systems. *Methods Mol Biol* 2010;667:297–315. DOI: 10.1007/978-1-60761-811-9_20.
20. Gulyaeva L.F., Kushlinskiy N.E. Regulatory mechanisms of microRNA expression. *J Transl Med* 2016;14(1):143. DOI: 10.1186/s12967-016-0893-x.
21. Di Leva G., Garofalo M., Croce C.M. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol* 2014;9:287–314. DOI: 10.1146/annurev-pathol-012513-104715.
22. Courthod G., Franco P., Palermo L. et al. The role of microRNA in head and neck cancer: current knowledge and perspectives. *Molecules* 2014;19(5):5704–16. DOI: 10.3390/molecules19055704.
23. John K., Wu J., Lee B.W., Farah C.S. MicroRNAs in Head and Neck Cancer. *Int J Dent* 2013;2013:650218. DOI: 10.1155/2013/650218.
24. Choi J.D., Lee J.S. Interplay between Epigenetics and Genetics in Cancer. *Genomics Inform* 2013;11(4):164–73. DOI: 10.5808/GI.2013.11.4.164.
25. Shen H., Laird P.W. Interplay between the cancer genome and epigenome. *Cell* 2013;153(1):38–55.
26. Chuang J.C., Jones P.A. Epigenetics and microRNAs. *Pediatr Res* 2007;61(5 Pt 2):24R–29R.
27. Sharma S., Kelly T.K., Jones P.A. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 2010;31(1):27–36.
28. Baylin S.B., Jones P.A. Epigenetic Determinants of Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2016;8(9):a019505. DOI: 10.1101/cshperspect.a019505.
29. Yoo C.B., Jones P.A. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(1):37–50.
30. Cedar H., Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nat Rev Genet* 2009;10(5):295–304. DOI: 10.1038/nrg2540.
31. Nan X., Ng H.H., Johnson C.A. et al. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 1998;393(6683):386–9.
32. Fuks F., Hurd P.J., Wolf D. et al. The methyl-CpG-binding protein MeCP2 links DNA methylation to histone methylation. *J Biol Chem* 2003;278(6):4035–40.
33. Fuks F., Burgers W.A., Brehm A. et al. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet* 2000;24(1):88–91.
34. Sato F., Tsuchiya S., Meltzer S.J., Shimizu K. MicroRNAs and epigenetics. *FEBS J* 2011;278(10):1598–609. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2011.08089.x.
35. Wu L., Mao L., Qi Y. Roles of dicer-like and argonaute proteins in TAS-derived small interfering RNA-triggered DNA methylation. *Plant Physiol* 2012;160(2):990–9. DOI: 10.1104/pp.112.200279.
36. Wu L., Zhou H., Zhang Q. et al. DNA methylation mediated by a microRNA pathway. *Mol Cell* 2010;38(3):465–75. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.03.008.
37. Wong T.S., Gao W., Chan J.Y. Interactions between E-cadherin and microRNA deregulation in head and neck cancers: the potential interplay. *Biomed Res Int* 2014;2014:126038. DOI: 10.1155/2014/126038.
38. Entrevan M., Schuettengruber B., Cavalli G. Regulation of Genome Architecture and Function by Polycomb Proteins. *Trends Cell Biol* 2016;26(7):511–25. DOI: 10.1016/j.tcb.2016.04.009.
39. Simon J.A., Kingston R.E. Mechanisms of polycomb gene silencing: knowns and unknowns. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009;10(10):697–708. DOI: 10.1038/nrm2763.
40. Li X., Lin Y., Yang X. et al. Long noncoding RNA H19 regulates EZH2 expression by interacting with miR-630 and promotes cell invasion in nasopharyngeal carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;473(4):913–9. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.03.150.
41. Sander S., Bullinger L., Klapproth K. et al. MYC stimulates EZH2 expression by repression of its negative regulator miR-26a. *Blood* 2008;112(10):4202–12. DOI: 10.1182/blood-2008-03-147645.
42. Varambally S., Cao Q., Mani R.S. et al. Genomic loss of microRNA-101 leads to overexpression of histone methyltransferase EZH2 in cancer. *Science* 2008;322(5908):1695–9. DOI: 10.1126/science.1165395.
43. Siddique H.R., Saleem M. Role of BMI1, a stem cell factor, in cancer recurrence and chemoresistance: preclinical and clinical

- evidences. *Stem Cells* 2012;30(3):372–8.
DOI: 10.1002/stem.1035.
44. Lundberg M., Renkonen S., Haglund C. et al. Association of BMI-1 and p16 as prognostic factors for head and neck carcinomas. *Acta Otolaryngol* 2016;136(5):501–5.
DOI: 10.3109/00016489.2015.1122227.
45. Hauser B., Zhao Y., Pang X. et al. Functions of MiRNA-128 on the regulation of head and neck squamous cell carcinoma growth and apoptosis. *PLoS One* 2015;10(3):e0116321.
DOI: 10.1371/journal.pone.0116321.
46. Yu X., Jiang X., Li H. et al. miR-203 inhibits the proliferation and self-renewal of esophageal cancer stem-like cells by suppressing stem renewal factor Bmi-1. *Stem Cells Dev* 2014;23(6):576–85.
DOI: 10.1089/scd.2013.0308.
47. Swierczynski S., Kliesser E., Illig R. et al. Histone deacetylation meets miRNA: epigenetics and post-transcriptional regulation in cancer and chronic diseases. *Expert Opin Biol Ther* 2015;15(5):651–64.
DOI: 10.1517/14712598.2015.1025047.
48. Le J.M., Squarize C.H., Castilho R.M. Histone modifications: Targeting head and neck cancer stem cells. *World J Stem Cells* 2014;6(5):511–25.
DOI: 10.4252/wjsc.v6.i5.511.
49. Cho J.H., Dimri M., Dimri G.P. MicroRNA-31 is a transcriptional target of histone deacetylase inhibitors and a regulator of cellular senescence. *J Biol Chem* 2015;290(16):10555–67.
DOI: 10.1074/jbc.M114.624361.
50. Koumangoye R.B., Andl T., Taubenslag K.J. et al. SOX4 interacts with EZH2 and HDAC3 to suppress microRNA-31 in invasive esophageal cancer cells. *Mol Cancer* 2015;14:24.
DOI: 10.1186/s12943-014-0284-y.
51. Taby R., Issa J.P. Cancer epigenetics. *CA Cancer J Clin* 2010;60(6):376–92.
DOI: 10.3322/caac.20085.
52. Berdasco M., Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. *Dev Cell* 2010;19(5):698–711.
DOI: 10.1016/j.devcel.2010.10.005.
53. Guil S., Esteller M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41(1):87–95.
DOI: 10.1016/j.biocel.2008.09.005.
54. Roman-Gomez J., Agirre X., Jiménez-Velasco A. et al. Epigenetic regulation of microRNAs in acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2009;27(8):1316–22.
DOI: 10.1200/JCO.2008.19.3441.
55. Bandres E., Agirre X., Bitarte N. et al. Epigenetic regulation of microRNA expression in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2009;125(11):2737–43.
DOI: 10.1002/ijc.24638.
56. Lujambio A., Calin G.A., Villanueva A. et al. A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(36):13556–61.
DOI: 10.1073/pnas.0803055105.
57. Lehmann U., Hasemeier B., Christgen M. et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa-mir-9-1 in human breast cancer. *J Pathol* 2008;214(1):17–24.
58. Zhu D.D., Zhang J., Deng W. et al. Significance of NF-kappaB activation in immortalization of nasopharyngeal epithelial cells. *Int J Cancer* 2016;138(5):1175–85.
DOI: 10.1002/ijc.29850.
59. He L., He X., Lim L.P. et al. A microRNA component of the p53 tumour suppressor network. *Nature* 2007;447(7148):1130–4.
60. Chang T.C., Wentzel E.A., Kent O.A. et al. Transactivation of miR-34a by p53 broadly influences gene expression and promotes apoptosis. *Mol Cell* 2007;26(5):745–52.
61. Lodygin D., Tarasov V., Epanchintsev A. et al. Inactivation of miR-34a by aberrant CpG methylation in multiple types of cancer. *Cell Cycle* 2008;7(16):2591–600.
62. Saito Y., Liang G., Egger G. et al. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell* 2006;9(6):435–43.
63. Toyota M., Suzuki H., Sasaki Y. et al. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008;68(11):4123–32.
DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0325.
64. Jia L.F., Wei S.B., Mitchelson K. et al. miR-34a inhibits migration and invasion of tongue squamous cell carcinoma via targeting MMP9 and MMP14. *PLoS One* 2014;9(9):e108435.
DOI: 10.1371/journal.pone.0108435.
65. Cao X., Pfaff S.L., Gage F.H. A functional study of miR-124 in the developing neural tube. *Genes Dev* 2007;21(5):531–6.
66. Cheng Y., Li Y., Nian Y. et al. STAT3 is involved in miR-124-mediated suppressive effects on esophageal cancer cells. *BMC Cancer* 2015;15:306.
DOI: 10.1186/s12885-015-1303-0.
67. Peng X.H., Huang H.R., Lu J. et al. MiR-124 suppresses tumor growth and metastasis by targeting Foxq1 in nasopharyngeal carcinoma. *Mol Cancer* 2014;13:186.
DOI: 10.1186/1476-4598-13-186.
68. Shin K.H., Pucar A., Kim R.H. et al. Identification of senescence-inducing microRNAs in normal human keratinocytes. *Int J Oncol* 2011;39(5):1205–11.
DOI: 10.3892/ijo.2011.1111.
69. Ando T., Yoshida T., Enomoto S. et al. DNA methylation of microRNA genes in gastric mucosae of gastric cancer patients: its possible involvement in the formation of epigenetic field defect. *Int J Cancer* 2009;124(10):2367–74.
DOI: 10.1002/ijc.24219.
70. Dang J., Bian Y.Q., Sun J.Y. et al. Micro RNA-137 promoter methylation in oral lichen planus and oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med* 2013;42(4):315–21.
DOI: 10.1111/jop.12012.
71. Kozaki K., Imoto I., Mogi S. et al. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res* 2008;68(7):2094–105.
DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5194.
72. Hezova R., Kovarikova A., Srovnal J. et al. Diagnostic and prognostic potential of miR-21, miR-29c, miR-148 and miR-203 in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of esophagus. *Diagn Pathol* 2015;10:42.
73. Wellner U., Schubert J., Burk U.C. et al. The EMT-activator ZEB1 promotes tumorigenicity by repressing stemness-inhibiting microRNAs. *Nat Cell Biol* 2009;11(12):1487–95.
74. Wiklund E.D., Bramsen J.B., Hulf T. et al. Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer. *Int J Cancer* 2011;128(6):1327–34.
DOI: 10.1002/ijc.25461.
75. Tamagawa S., Beder L.B., Hotomi M. et al. Role of miR-200c/miR-141 in the regulation of epithelial-mesenchymal transition and migration in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Mol Med* 2014;33(4):879–86.
DOI: 10.3892/ijmm.2014.1625.
76. Bueno M.J.1, Pérez de Castro I., Gómez de Cedrón M. et al. Genetic and epigenetic silencing of microRNA-203 enhances ABL1 and BCR-ABL oncogene expression. *Cancer Cell* 2008;13(6):496–506.
DOI: 10.1016/j.ccr.2008.04.018.
77. Furuta M., Kozaki K.I., Tanaka S. et al. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2010;31(5):766–76.
DOI: 10.1093/carcin/bgp250.
78. Carew J.S., Giles F.J., Nawrocki S.T. Histone deacetylase inhibitors: mechanisms of cell death and promise in combination cancer therapy. *Cancer Lett* 2008;269(1):7–17.
79. Erlich R.B., Rickwood D., Coman W.B. et al. Valproic acid as a therapeutic agent for head and neck squamous cell carcinomas. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009;63(3):381–9.
DOI: 10.1007/s00280-008-0747-1.
80. Starkova J., Madzo J., Cario G. et al. The identification of (ETV6)/RUNX1-regulated genes in lymphopoiesis using histone deacetylase inhibitors in ETV6/RUNX1-positive lymphoid leukemic cells. *Clin Cancer Res* 2007;13(6):1726–35.
81. Cinatl J. Jr, Cinatl J., Driever P.H. et al. Sodium valproate inhibits in vivo growth of human neuroblastoma cells. *Anticancer Drugs* 1997;8(10):958–63.
82. Blaheta R.A., Michaelis M., Driever P.H., Cinatl J. Jr. Evolving anticancer drug valproic acid: insights into the mechanism and clinical studies. *Med Res Rev* 2005;25(4):383–97.
83. Hrebackova J., Hrabeta J., Eckschlagler T. Valproic acid in the complex therapy of malig-

- nant tumors. *Curr Drug Targets* 2010;11(3):361–79.
84. Witt D., Burfeind P., von Hardenberg S. et al. Valproic acid inhibits the proliferation of cancer cells by re-expressing cyclin D2. *Carcinogenesis* 2013;34(5):1115–24. DOI: 10.1093/carcin/bgt019.
85. Gan C.P., Hamid S., Hor S.Y. et al. Valproic acid: growth inhibition of head and neck cancer by induction of terminal differentiation and senescence. *Head Neck* 2012;34(3):344–53. DOI: 10.1002/hed.21734.
86. Lee S.H., Nam H.J., Kang H.J. et al. Valproic acid suppresses the self-renewal and proliferation of head and neck cancer stem cells. *Oncol Rep* 2015;34(4):2065–71. DOI: 10.3892/or.2015.4145.
87. Oikawa H., Goh W.W., Lim V.K. et al. Valproic acid mediates miR-124 to down-regulate a novel protein target, GNAI1. *Neurochem Int* 2015;91:62–71. DOI: 10.1016/j.neuint.2015.10.010.
88. Trécul A., Morceau F., Gaigneaux A. et al. Valproic acid regulates erythro-megakaryocytic differentiation through the modulation of transcription factors and microRNA regulatory micro-networks. *Biochem Pharmacol* 2014;92(2):299–311. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.07.035.
89. Datta J., Islam M., Dutta S. et al. Suberoylanilide hydroxamic acid inhibits growth of head and neck cancer cell lines by reactivation of tumor suppressor microRNAs. *Oral Oncol* 2016;56:32–9. DOI: 10.1016/j.oraloncology.2016.02.015.
90. Datta J., Smith A., Lang J.C. et al. microRNA-107 functions as a candidate tumor-suppressor gene in head and neck squamous cell carcinoma by downregulation of protein kinase C ϵ . *Oncogene* 2012;31(36):4045–53. DOI: 10.1038/onc.2011.565.
91. Piao L., Zhang M., Datta J. et al. Lipid-based nanoparticle delivery of Pre-miR-107 inhibits the tumorigenicity of head and neck squamous cell carcinoma. *Mol Ther* 2012;20(6):1261–9. DOI: 10.1038/mt.2012.67.
92. Jiang L., Liu X., Kolokythas A. et al. Downregulation of the Rho GTPase signaling pathway is involved in the microRNA-138-mediated inhibition of cell migration and invasion in tongue squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2010;127(3):505–12. DOI: 10.1002/ijc.25320.
93. Song T., Zhang X., Wang C. et al. MiR-138 suppresses expression of hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) in clear cell renal cell carcinoma 786-O cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011;12(5):1307–11.
94. Liu X., Wang C., Chen Z. et al. MicroRNA-138 suppresses epithelial-mesenchymal transition in squamous cell carcinoma cell lines. *Biochem J* 2011;440(1):23–31. DOI: 10.1042/BJ20111006.
95. Alhazzazi T.Y., Kamarajan P., Joo N. et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a novel potential therapeutic target for oral cancer. *Cancer* 2011;117(8):1670–8. DOI: 10.1002/encr.25676.
96. Cheng Y., Mai J., Hou T., Ping J. MicroRNA-421 induces hepatic mitochondrial dysfunction in non-alcoholic fatty liver disease mice by inhibiting sirtuin 3. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;474(1):57–63. DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.04.065.
97. Sengupta S., Muir J.G., Gibson P.R. Does butyrate protect from colorectal cancer? *J Gastroenterol Hepatol* 2006;21(1 Pt 2):209–18.
98. Humphreys K.J., Cobiac L., Le Leu R.K. et al. Histone deacetylase inhibition in colorectal cancer cells reveals competing roles for members of the oncogenic miR-17-92 cluster. *Mol Carcinog* 2013;52(6):459–74. DOI: 10.1002/mc.21879.
99. Hu S., Liu L., Chang E.B. et al. Butyrate inhibits pro-proliferative miR-92a by diminishing c-Myc-induced miR-17-92a cluster transcription in human colon cancer cells. *Mol Cancer* 2015;14:180. DOI: 10.1186/s12943-015-0450-x.
100. Chen H.C., Chen G.H., Chen Y.H. et al. MicroRNA deregulation and pathway alterations in nasopharyngeal carcinoma. *Br J Cancer* 2009;100(6):1002–11. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604948.