

© БАШМАКОВА Е.Е., ФРАНК Л.А., 2024

Башмакова Е.Е., Франк Л.А.

БЕЛОК С МЕЛАНОМА-ИНГИБИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТЬЮ (MIA) КАК МИШЕНЬ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Институт биофизики СО РАН, 660036, Красноярск, Россия

Меланома относится к опухолям, характеризующимся ранним метастазированием и высокой смертностью пациентов. Резистентность клеток меланомы и отсутствие эффективных терапевтических методов существенно осложняют ее лечение. Одним из потенциальных маркеров, указывающих на ее клинические проявления, в частности прогрессирующее и развитие отдаленных метастазов, является белок с меланома-ингибирующей активностью MIA (Melanoma Inhibitory Activity protein). Открытие и изучение механизма действия этого белка были проведены при исследовании меланомы, что предопределило направление последующих работ по оценке его влияния на развитие и течение именно данного заболевания. В данном обзоре приводится информация о структуре и функциях белка MIA, его использовании в качестве диагностической мишени меланомы и индикатора терапевтического ответа на некоторые препараты, применяемые для лечения меланомы. В настоящее время стали появляться работы, в которых уровень MIA оценивают и при других заболеваниях, так, в обзоре представлены данные пока немногочисленных исследований о взаимосвязи MIA с другими типами рака и неонкологическими заболеваниями. Несмотря на очевидную перспективность использования белка MIA в качестве онкомаркера меланомы, значение рекомендованного порогового уровня MIA в сыворотке является пока предметом дискуссии, но при этом MIA может быть удобным инструментом для оценки клинических проявлений меланомы и объектом интереса для создания препаратов, направленных на ингибирование его функции в опухолевых клетках. Поисковая работа была проведена с использованием международных научных баз данных PubMed, ScienceDirect, Scopus, Elsevier, а также библиотек eLibrary.ru.

Ключевые слова: обзор; меланома; белок с меланома-ингибирующей активностью (MIA); диагностика меланомы

Для цитирования: Башмакова Е.Е., Франк Л.А. Белок с меланома-ингибирующей активностью (MIA) как мишень для диагностики и терапии онкологических заболеваний (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (3): 116-124. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-3-116-124>

Для корреспонденции: Башмакова Евгения Евгеньевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории биоллюминесцентных и экологических технологий; e-mail: jeyn_a@bk.ru

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00090.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.12.2023

Принята к печати 26.12.2023

Опубликовано 01.03.2024

Bashmakova E.E., Frank L.A.

MELANOMA INHIBITORY ACTIVITY (MIA) PROTEIN AS A TARGET FOR DIAGNOSTICS AND THERAPY OF ONCOLOGICAL DISEASE (REVIEW OF LITERATURE)

Institute of Biophysics SB RAS, Krasnoyarsk, Russia

Melanoma is a kind of tumor characterized by early metastasis and high patient mortality rates. The resistance of melanoma cells and the lack of effective therapeutic methods significantly complicate its treatment. One of the potential markers capable of revealing melanoma clinical manifestations (in particular, the progression and development of distant metastases) is the protein with melanoma inhibitory activity MIA (Melanoma Inhibitory Activity protein). This protein discovery and study was made while studying melanoma, which predetermined the direction of subsequent researches to assess its effect on the development and course of this disease. This review provides information on the structural and functional features of this protein, its use as a diagnostic target for melanoma and as an indicator of therapeutic response to several drugs used to treat melanoma. Currently, studies are appearing in which the level of MIA is assessed in other diseases, so the review presents data of the yet few studies on the relationship between MIA and other types of cancer and non-cancer diseases. Despite the obvious promise of using the MIA protein as a tumor marker for melanoma, the value of the recommended cut-off level of MIA in serum is still a subject of debate. At the same time, MIA can be a convenient tool for assessing the clinical manifestations of melanoma and an object of interest for the creation of drugs to inhibit its function in tumor cells.

The work was carried out using international scientific databases PubMed, ScienceDirect, Scopus, Elsevier, as well as eLibrary.ru.

Key words: review; melanoma; melanoma inhibitory activity (MIA); melanoma diagnosis.

For citation: Bashmakova E.E., Frank L.A. Melanoma inhibitory activity (MIA) protein as a target for diagnostics and therapy of oncological disease (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (3): 116-124 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-3-116-124>

For correspondence: *Bashmakova E.E.*, Ph.D. in Biology, senior researcher at the Laboratory of bioluminescence and environmental technologies; e-mail: jeyn_a@bk.ru.

Information about authors:

Bashmakova E.E., <https://orcid.org/0000-0002-8951-8599>;

Frank L.A., <https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>.

Acknowledgment. The work was supported by the Russian Science Foundation (Grant No22-74-00090).

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Received 22.12.2023

Accepted 26.12.2023

Published 01.00.2024

Меланома кожи относится к высокозлокачественным опухолям, характеризуется ранним метастазированием и высокой смертностью пациентов. В течение последних 15 лет в России заболеваемость данным типом рака возросла на 70%, а среди злокачественных опухолей кожи меланома дает от 65 до 79% летальных исходов [1]. Данный факт обусловлен тенденцией меланомы к развитию отдаленных метастазов в значительно большей степени, чем к местному рецидивированию [2, 3].

Лечение метастазирующей меланомы зачастую сопряжено с трудностями, среди которых можно отметить резистентность клеток меланомы и недостаточную эффективность современных методов терапии [2]. В связи с этим проводятся поиски биомаркера, способного выявлять как клинически очевидную, так и неявную метастатическую стадию меланомы, а также пригодного для оценки эффективности новых меланома-ингибирующих препаратов [4].

Одним из кандидатов на роль такого биомаркера является белок с меланома-ингибирующей активностью MIA (Melanoma Inhibitory Activity protein). Первоначально предполагалось, что таковой действует как супрессор опухоли, откуда данный белок и получил свое название. Было обнаружено, что добавление очищенного препарата MIA к культуре клеток меланомы *in vitro* вызывало изменение их морфологии, тканевая культура клеток отделялась от пластиковой подложки, ее рост ингибировался [3]. Однако ряд последующих исследований показал, что данный белок связан не с ингибированием меланомы, а с ее прогрессированием и метастазированием [5-8]. MIA экспрессируется преимущественно клетками меланомы, а также некоторыми аденокарциномами, хондроцитами и хондросаркомами, но при этом не наблюдается в нормальных меланоцитах [9]. Помимо корреляции с метастазированием меланомы, показано повышение концентрации MIA в

хрящевых тканях в процессе эмбриогенеза, так как он участвует в роли регулятора дифференцировки хондроцитов [10].

Открытие и изучение механизма действия этого белка были проведены именно при исследовании меланомы, что предопределило направление последующих работ по оценке его влияния на развитие и течение данного заболевания. Однако в настоящее время стали появляться работы, в которых уровень MIA оценивают и при других типах рака, и единичные работы о влиянии MIA на клинические проявления болезни Паркинсона и ревматических заболеваний [11-13].

В данном обзоре приводится информация о белке MIA как потенциальной мишени для диагностики и терапии онкологических заболеваний, преимущественно меланомы.

Структура белка MIA. MIA – растворимый белок, первичный транскрипт которого состоит из 131 аминокислотного остатка, из которых первые 24 – сигнальная последовательность, осуществляющая посттрансляционный транспорт белка во внеклеточный компартмент, с последующим ее отщеплением под действием специфической протеазы. Зрелый MIA состоит из 107 аминокислотных остатков, имеет молекулярную массу 11 кДа [8].

MIA относится к семейству белков, которое состоит непосредственно из белка с меланома-ингибирующей активностью и его гомологов: MIA-2, отораплина (OTOR) и белка, отвечающего за транспорт и организацию комплекса Гольджи TANGO 1 (transport and Golgi organization 1 или MIA-3). Все члены семейства характеризуются высококонсервативным SH3-подобным доменом и гидрофобными N-концевыми секреторными сигнальными последовательностями [14]. MIA представляет собой одноцепочечный глобулярный белок, состоящий из семи β -цепей, двух коротких участков из α -спиралей и нескольких петель (рис. 1).

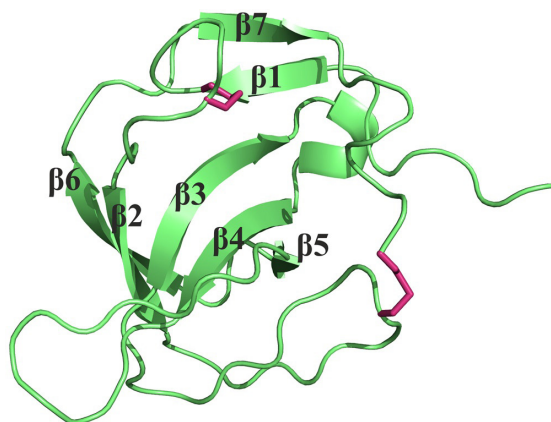


Рис.1. Структура белка MIA с указанием β -цепей (PDB ID: 111J); розовым обозначены дисульфидные связи.

Пять β -цепей ($\beta 2$ - $\beta 6$) и связи между ними образуют SH3-подобный домен [15]. Известно, что SH3 представляют собой небольшие (55-70 аминокислот) некаталитические белковые модули, которые встречаются во многих внутриклеточных сигнальных белках, опосредуют белок-белковые взаимодействия, узнают и связываются с богатыми пролином пептидными последовательностями.

В настоящее время известно более 50 доменов SH3, они идентифицированы в киназах, липазах, гуанозинтрифосфатазах, адаптерных белках, структурных белках и вирусных регуляторных белках, все из которых представляют собой внутриклеточные белки. При этом MIA, предположительно, является первым внеклеточным белком, принимающим в растворе укладку, подобную домену SH3 [16]. MIA также содержит в своей структуре две дисульфидные связи. Сайт-направленным мутагенезом показано, что они критически важны для правильного сворачивания и функционирования белка [17]. Известно также, что MIA взаимодействует с фибронектином. Взаимодействующие с MIA пептидные лиганды, идентифицированные с помощью скрининга фаговым дисплеем, аналогичны консенсусной последовательности повторов фибронектина человека III типа. Было показано, что четыре белка MIA связываются с одной молекулой фибронектина, ингибируют связывание интегринов с фибронектином и тем самым вызывают отслоение клеток от внеклеточного матрикса [18]. Это взаимодействие объясняет роль MIA в метастазировании *in vivo*, о которой будет сказано далее.

Участие белка MIA в развитии и прогрессии меланомы. MIA экспрессируется и секретируется меланоцитарными опухолевыми клетками: при идентификации аутокринных факторов регуляции роста опухоли из супернатанта тканевой культуры линии клеток HTZ-19 (линия, полученная из метастазов меланомы центральной нервной системы человека) он был впервые выделен и очищен [19].

Также известно, что физиологически MIA продуцируется хрящом, играет роль в дифференцировке хон-

дроцитов и имеет альтернативное название CD-RAP (Cartilage-Derived Retinoic Acid-sensitive Protein) [10, 20].

Геномная последовательность MIA человека определена и депонирована в банке генов (X84707). Лocus MIA картирован как ген с одной копией на хромосоме человека 19q13.32-13.33 [21]. Ген состоит из четырех экзонов и его экзон-интронная структура высококонсервативна.

Поскольку MIA высокоспецифично экспрессируется в меланомных клетках, изменения в активности его промотора могут дать представление о механизмах регуляции генов, типичных для злокачественной трансформации меланомы. Было показано, что фрагмент длиной около 1,4 т.п.н., фланкирующий 5'-участок гена MIA человека, обеспечивает экспрессию этого гена только в меланомных клетках, но не в меланоцитах [22].

Делеционный анализ показал, что минимальный промотор гена MIA человека состоит из 212 п.н. (координаты-211/+1), мыши – 230 п.н. (-229/+1), при этом структура и размер промоторов MIA у человека и мыши консервативны и содержат одинаковые элементы, различающиеся своим положением [9]. Сайт связывания транскрипционного фактора pF-kB также высококонсервативен в генах человека и мыши, но имеет разные координаты, а делеция или мутация этого сайта приводит к значительному снижению активности промотора MIA человека в клетках меланомных линий [22].

Молекула MIA высвобождается из клеток экзоцитозом и связывается с клеточными адгезионными факторами (интегрин $\alpha 4\beta 1$, интегрин $\alpha 5\beta 1$) и белками, входящими в состав внеклеточного матрикса, такими как фибронектин, ламинин и тенасцин [8, 23]. Вследствие этого клетки меланомы отрываются от внеклеточного матрикса, мигрируют и вторгаются в окружающие ткани, инициируя процесс метастазирования [24]. Помимо этого, белок MIA за счет связывания с интегрином $\alpha 4\beta 1$, локализованным на поверхности лейкоцитов поддерживает иммуносупрессию в процессе прогрессирования меланомы [25]. Схематичная иллюстрация данного механизма представлена на рис 2.

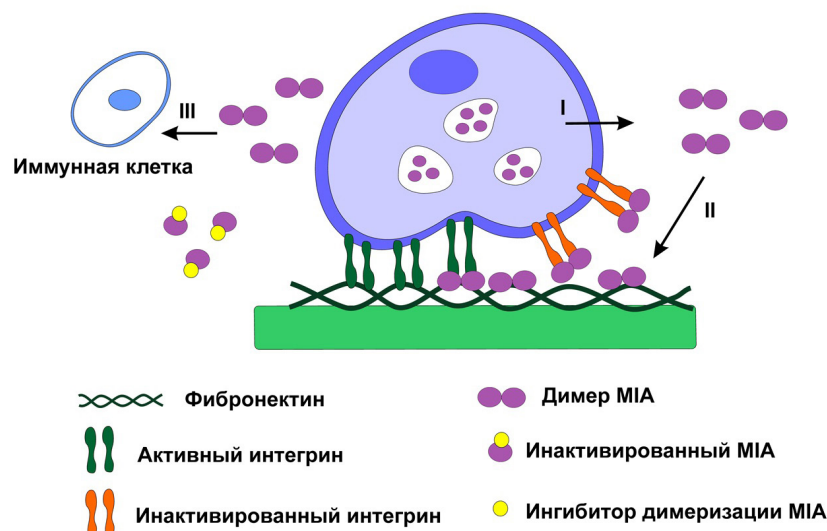


Рис 2. Иллюстрация молекулярного механизма действия белка MIA.

I – транспорт везикул, несущих MIA во внеклеточное пространство, II – связывание гомодимерной молекулы MIA с интегринами на клеточной поверхности и фибронектином на внеклеточном матриксе, приводящее к отслоению меланомной клетки, III – вторичная функция MIA – иммуносупрессия в процессе прогрессирования меланомы. Оба эффекта могут подавляться ингибированием димеризации MIA.

Одним из эффектов, обусловленных воздействием МІА на адгезионные факторы, также является депигментация. В работе М. Bordignon и соавт. [26] сообщается, что МІА присутствует в коже при несегментном витилиго, что по-видимому, вызывает отслоение меланоцитов. Для экспериментов были выбраны пигментированные мыши, у которых физиологический (контрольная группа) или физиологический раствор с белком МІА (исследуемая группа) вводились путем инъекции в хвост.

В исследуемой группе наблюдались четкие зоны полной депигментации в участках инъекции у каждой мыши, с появлением белых пятен с побелением волос и четко очерченным краем, в контрольной группе признаков депигментации не было. Гистологическое исследование в обработанной зоне показало отсутствие меланоцитов, при этом не было каких-либо признаков воспаления кожи.

При изучении механизма действия белка было обнаружено что МІА функционально активен в виде гомодимера. У мышей с введенной в печень линией меланомных клеток значительно снижалось распространение метастазов при внутривенном добавлении пептида AR71, ингибирующего димеризацию МІА, что также уменьшало индуцированную МІА иммуносупрессию, о чем свидетельствовали повышение CD3-лимфоцитов и увеличение индуцированного каспазой-3 апоптоза [23].

Таким образом, дальнейшее изучение механизма действия МІА может привести к разработке стратегий подавления метастазирования меланомы путем ингибирования МІА. Так, К.Т. Уір и соавт. [27] были созданы небольшие молекулы, разрушающие комплекс МІА с фибронектином, которые могут стать основой для лекарств, направленных на терапевтически эффективное лечение меланомы воздействием на комплексобразование. Помимо этого, запатентованы пептиды и антитела, ингибирующие димеризацию МІА, которые в будущем могли бы применяться как ингибиторы функциональной активности этого белка [28].

МІА как диагностический маркер меланомы. Впервые белок МІА как диагностический маркер был описан в 1997 году. По результатам иммуноферментного анализа повышение уровня МІА в сыворотке крови достоверно коррелировало с метастазированием меланомы. Согласно полученным данным, этот маркер со 100% точностью подтверждал меланому у пациентов с III и IV стадией заболевания [5].

Как показывает анализ литературных данных, МІА чаще используют как маркер для оценки прогрессирования, выживаемости и рецидивирования и реже для диагностики заболевания на ранних стадиях (см. таблицу). Обращает внимание существенный разброс между использованными пороговыми значениями концентрации МІА в сыворотке. Очевидно, это объясняется до сих пор не установленными общими условиями проведения анализа, пробоподготовки и аналитических параметров использованных систем. На сегодняшний момент для определения уровня МІА в сыворотке или плазме крови имеются импортные иммуноферментные наборы сэндвич-типа с выявлением мишени с помощью колориметрической детекции (Roche, LSBio, Mybiosource, Sigma Aldrich). Они имеют диапазон определения: от 0,78 нг/мл до 50 нг/

мл, и чувствительность 0,3-0,47 нг/мл. Все эти коммерческие тест-системы не предназначены для клинического применения. Недавно был предложен способ выявления МІА одностадийным твердофазным иммуноанализом конкурентного типа [29]. В качестве репортера был использован оригинальный гибридный белок, включающий домен фотопротеина обелина в качестве сигнального модуля и домен белка МІА в качестве конкурента МІА за связывание с иммобилизованным на поверхности анти-МІА иммуноглобулином. Детектирование формирующихся на поверхности комплексов проводили по биолюминесцентному сигналу обелина, который инициировали добавлением раствора CaCl₂. Испытания, проведенные с использованием модельных растворов, показали зависимость биолюминесцентного сигнала от концентрации МІА в диапазоне 4,5-500 нг/мл [29].

Примечательно, что в литературе нет фиксированного порогового уровня МІА в сыворотке, выше которого образец классифицируется как положительный. Так, в исследовании М.А. Hofmann и соавт. [30] была определена концентрация МІА в сыворотке крови у 1079 пациентов с меланомой на I и II стадиях, при этом анализ проводился повторно через 5 и 30 дней после операции. Авторами был предложен верхний предел нормы МІА (12 нг/мл). Чувствительность теста МІА составила 67,6% для I стадии и 65,6% для II стадии меланомы, специфичность – 76,9% и 66,7% для пациентов I и II стадии, соответственно. Метастазы возникли у 137 пациентов. При пороговом уровне 12 нг/мл МІА был ложноположительным у 27,3% пациентов в течение полного периода наблюдения. Тем не менее, авторы полагают, что исследования по определению МІА на ранних стадиях в сочетании с другими сывороточными маркерами перспективны для достоверной и своевременной диагностики заболевания.

Позже эти же авторы в своей работе определяли уровень МІА в 138 образцах сыворотки от пациентов с меланомой III стадии, для которых чаще характерно рецидивирование. При концентрации МІА в сыворотке более 12 нг/мл риск развития рецидивов был в пять раз выше ($p < 0,0001$). Пациенты с рецидивом заболевания имели более высокое среднее значение МІА (13,76 нг/мл) по сравнению с пациентами без рецидива (7,52 нг/мл) [31].

К сожалению, трудно напрямую сравнивать исследования и ценность разных сывороточных маркеров меланомы, поскольку часто авторы не указывают точное время сбора сыворотки, а также, например, была ли у включенных в исследование пациентов диссекция лимфатических узлов, что может существенно влиять на показатели. Поэтому в ряде исследований при оценке прогрессирования меланомы МІА определяют одновременно с белком S100 и лактатдегидрогеназой [32, 33]. Было показано, что МІА является более точным прогностическим показателем, чем лактатдегидрогеназа, являющаяся стандартным биомаркером меланомы [33].

С. Li и соавторы [34] в своей работе определяли иммуноферментным анализом концентрацию МІА и лактатдегидрогеназы у 22 здоровых доноров и 44 пациентов с акральной злокачественной меланомой. Также исследовали 8 образцов от пациентов с прогрессирующим заболеванием, до и после возникновения метастазирования. В результате были подтверждены

Определение МІА при различных патологиях

Заболевание	Метод	Пороговое значение, нг/мл	Стадия заболевания	Цель исследования	Ссылки
Меланома	ИФА	12	I и II	Диагностическая значимость МІА	[30]
	ИФА	12	III	Первичная диагностика III стадии	[31]
	ИФА	0,9147	I-IV	Оценка выживаемости	[34]
	ИГХ		IIa IIb IIc	Оценка общей и безрецидивной выживаемости	[32]
	ИФА	9	IIIb, IIIc, IV	Оценка выживаемости, сравнение пациентов со здоровыми донорами	[33]
	ИФА	2,5	IV	Определение МІА в экзосомах, оценка выживаемости, сравнение пациентов со здоровыми донорами	[35]
	ИФА	9,4	I и II	Диагностическая значимость МІА, оценка послеоперационного рецидива	[36]
	ИФА	7,32 14,53	Пациенты с метастазами в лимфатические узлы и без метастазов	Оценка ассоциации МІА с метастазированием в лимфатические узлы	[37]
	ИФА	9	IIIc-IV стадия и наличие мутации BRAF V600	МІА для оценки ответа на лечение ингибиторами BRAF	[39]
	ИФА		III, IV	МІА для оценки ответа на терапию сывороткой с дендритными клетками	[41]
Заболевания кожи с показаниями к фототерапии	ИФА	8,8 нг/мл		Влияние фототерапии на концентрацию МІА в крови	[38]
Рак полости рта	ИГХ			Ассоциация уровня экспрессии и клинических характеристик	[43]
Глиома	Количественная ПЦР			Ассоциация прогрессирования с уровнем экспрессии	[44]
Рак пищевода, легких, шейки матки	ИГХ			Ассоциация уровня экспрессии и клинических характеристик	[14]
Рак поджелудочной железы	Количественная ПЦР, ИГХ, ИФА иммуноблотинг			Экспрессия и функциональная роль МІА при раке поджелудочной железы	[45]

Примечание. ИФА – иммуноферментный анализ, ИГХ – иммуногистохимическое исследование.

достоверные отличия концентрации МІА между здоровыми донорами и пациентами, а также показано достоверное повышение концентрации МІА для пациентов III-IV стадии в сравнении с пациентами I-II стадии ($p < 0,001$). Установлено, что пороговое значение МІА $> 0,9147$ нг/мл предсказывает прогрессирование заболевания со специфичностью 86,4% и чувствительностью 95,5%. Это самое низкое пороговое значение концентрации МІА, обнаруженное нами в литературе.

Е. Alegre и соавторы [35] анализировали содержание МІА в экзосомах, выделенных из сыворотки крови, и выявили более короткую медиану выживаемости у пациентов с концентрацией МІА выше 2,5 нг/мл по сравнению с пациентами с более низким уровнем данного белка (4 vs 11 месяцев; $p < 0,05$).

Основываясь на том факте, что повышение МІА связано с худшей выживаемостью пациентов, в работе А. Sandru и соавт. [36] предлагается вести более пристальное наблюдение за пациентами с меланомой, имеющими концентрацию МІА в сыворотке крови выше 9,4 нг/мл. Авторы полагают, что предоперационное определение МІА позволяет выбрать группу пациентов с более высоким риском рецидива, которым может быть полезно адъювантное системное лечение, а также использовать показатель МІА для корректировки послеоперационного лечения.

Помимо связи с риском рецидивирования, повышение концентрации МІА в крови напрямую ассоцииро-

вано с метастазированием в лимфатические узлы, что имеет высокое прогностическое значение для оценки их состояния [37, 31].

В вышеупомянутой работе М.А. Hofmann и соавт. [31] МІА определяли в сыворотке до и через 30 дней после лимфаденэктомии. Уровень белка был достоверно выше при метастазах в лимфоузлах по сравнению с пациентами с непораженными лимфоузлами. Также наблюдалась корреляция повышенного уровня МІА с количеством пораженных лимфоузлов (более, чем три лимфоузла). В данном исследовании авторы отмечают, что проблема диагностики связана с различиями предлагаемых пороговых значений МІА. При использовании более низкого порогового значения можно достичь более высокой чувствительности в сочетании с потерей специфичности. При этом они рекомендуют при уровне МІА более 12 нг/мл проводить повторный анализ МІА, а при концентрации более 15 нг/мл – немедленное тщательное инструментальное обследование пациента [31].

В. Vucetic и соавт. [37] также сравнивали уровень МІА в двух группах пациентов с первичной меланомой, имеющих метастазы в лимфоузлах и без них. При этом было показано, что пациенты с метастазами в сторожевых лимфоузлах (наиболее близко расположенных к первичной опухоли) имели достоверно более высокий уровень МІА [37].

Таким образом, большинство авторов склоняются к тому, что МІА целесообразно применять в качестве по-

лезного маркера для прогноза рецидивов, метастазирования и течения уже подтвержденной меланомы, нежели для ранней диагностики заболевания. Так, в работе E. Datz и соавт. [38] упоминается о присутствии MIA в сыворотке крови выше предложенного порогового значения (8,8 нг/мл) у людей, не имеющих меланомы. В исследовании уровень сывороточного MIA оценивали до и после фототерапии, которая применяется при лечении заболеваний кожи, таких как псориаз и атопический дерматит. Концентрация MIA в сыворотке была повышена (>8,8 нг/мл) у 12 из 67 пациентов через 2-4 недели после начала УФ-терапии. У 3 из 12-ти пациентов уровень MIA был повышен (>8,8 нг/мл) еще до УФ-обработки. Повышение уровня сывороточного MIA после 2-4-х недель фототерапии подтверждает, по мнению авторов, общие опухолевые свойства УФ-излучения при возникновении злокачественной меланомы. Однако в работе не исследовали, носит ли временный характер увеличение уровня MIA после воздействия УФ-излучения, группа пациентов относительно невелика, и обнаруженный эффект требует дальнейшего изучения.

MIA для мониторинга и терапии меланомы. Поскольку злокачественная меланома имеет плохой прогноз после начала метастазирования, MIA может быть полезен как диагностический маркер прогрессирования заболевания при оценке ответа на терапию. Измерение сывороточного уровня MIA может выступать в качестве индикатора прогрессирования или рецидива меланомы, хотя использование только сывороточных маркеров вряд ли полностью заменит рентгенологические исследования [39].

Мутация BRAF V600 наблюдается в более чем в 50% случаев меланомы, и в настоящее время для клинического применения одобрены ингибиторы BRAF – препараты вемурафениб и дабрафениб. Данные ингибиторы назначают, в том числе, при неоперабельной метастатической меланоме для пациентов с мутацией BRAF.

В исследовании M.F. Sanmamed и соавт. [39] MIA, совместно с белком S100 и лактатдегидрогеназой, использовали как маркеры для мониторинга эффективности ингибиторов BRAF. Белки определяли в сыворотке крови до начала лечения и каждые 4-6 недель во время приема препаратов. Исходные концентрации всех опухолевых маркеров коррелировали с опухолевой нагрузкой. Концентрации MIA и S100 значительно снизились через месяц после начала лечения, а по мере прогрессирования их концентрации значительно возросли по сравнению с ранее достигнутыми минимальными уровнями. Концентрации MIA ниже 9 нг/мл и S100 ниже 0,1 нг/мл были связаны с улучшением выживаемости без прогрессирования заболевания.

Также запатентовано применение MIA в качестве индикатора терапевтического ответа при лечении меланомы препаратом сорафениб: препарат считался эффективным, если в ходе лечения концентрация сывороточного MIA снижалась по меньшей мере на 20% от исходной [40].

MIA совместно с белком S100 использовали для мониторинга эффективности иммунотерапии сывороткой с дендритными клетками. Терапию получали 100 пациентов (28 пациентов на III стадии и 72 пациента на IV стадии заболевания). Повышение содержания обоих маркеров указывало на прогрессирование заболевания,

при этом MIA, в сравнении с S100, показал более высокую чувствительность [41].

Как было упомянуто выше, одним из перспективных направлений является создание препаратов, направленных на ингибирование функциональной активности самого белка MIA: ингибиторы димеризации MIA и препараты, разрушающие комплекс MIA с фибронектином [23, 27, 28]. При этом ожидаются минимальные побочные эффекты лечения, поскольку нормальные клетки не экспрессируют MIA и, следовательно, не будут подвергаться воздействию препарата. Известно, что белок MIA экспрессируется в хондроцитах, дифференцирующихся на ранней стадии. У мышей с дефицитом MIA наблюдались лишь незначительные фенотипические изменения в хряще, поэтому можно предположить, что воздействие на эти клетки не будет фатальным [42].

MIA и другие патологии. Работы по определению роли MIA при неонкологических заболеваниях крайне немногочисленны. Тот факт, что MIA участвует в регуляции дифференцировки хондроцитов, а ранее было показано, что уровень MIA повышен в синовиальной ткани и жидкости у больных ревматическими заболеваниями [12], послужил выбором MIA как потенциального антигена в работе N. Yerenko и соавт. [13]. В исследовании приведены результаты о роли MIA как аутоантигена Т-клеток при воспалительном артрите, при этом частота и тяжесть заболевания снижались у мышей с дефицитом MIA по сравнению с контрольной группой [13]. А в работе J. Shen и соавт. [11] измерение MIA вместе с С-реактивным белком и альбумином при мониторинге болезни Паркинсона предлагается как инструмент для оценки риска возникновения когнитивных нарушений.

Роль членов семейства генов MIA в развитии злокачественных новообразований изучена недостаточно детально. Открытие и изучение механизма действия MIA были проделаны в отношении меланомы, однако появляются исследования по определению данного белка при других типах рака. В работе T. Sasahira и соавт. [14] анализировали образцы опухоли иммуногистохимически и оценивали связь экспрессией семейства генов MIA и клинико-патологическими факторами в 66 случаях рака пищевода, 145 случаях рака легких и 126 случаях рака шейки матки. Для каждого из типов рака наблюдалась экспрессия MIA, MIA-2 и TANGO. При анализе взаимосвязи с клиническими характеристиками было показано, что при раке пищевода повышение экспрессии MIA коррелировало с метастазами в лимфоузлах, при раке легкого – с развитием отдаленных метастазов, а при раке шейки матки наблюдалась корреляция со стадией заболевания [14].

При оценке экспрессии гена MIA в образцах пациентов с плоскоклеточным раком полости рта было показано, что экспрессия выше при инвазивной форме, а сверхэкспрессия ассоциирована с узловыми метастазами. Как и в случае меланомы, для рака полости рта была характерна взаимосвязь уровня экспрессии и худшего прогноза заболевания [43].

Для некоторых видов рака обнаружено разное содержание MIA в разных тканях. Так, высокий уровень MIA был обнаружен в 71% гомогенатов ткани глиомы высокой степени злокачественности, но не обнаружен в соответствующих образцах крови тех же пациентов.

При этом наблюдалась обратная корреляция уровней экспрессии MIA со временем прогрессирования у пациентов с глиомой высокой степени злокачественности. У пациентов с низким уровнем экспрессии белка MIA среднее время до прогрессирования составило 20,4 недели ($n=14$; диапазон от 10,9 до 115,6 недель). У пациентов со значительным уровнем MIA среднее время до прогрессирования составило 36,1 недели ($n=10$; диапазон от 25,9 до 63,4 недели). Авторы предполагают, что MIA при глиоме играет особую роль по сравнению со злокачественной меланомой, поскольку способность образовывать отдаленные метастазы, доказанная при меланоме и провоцируемая MIA, не характерна при глиомах высокой степени злокачественности. Ни у одного из 24-х пациентов в данном исследовании не было метастазов в отдаленные органы или инвазии в структуры, прилегающие к мозгу [44].

При раке поджелудочной железы экспрессия мРНК MIA была увеличена в 42 раза по сравнению с нормальными тканями поджелудочной железы ($p < 0,01$). Но при этом уровни MIA в сыворотке существенно не различались у здоровых доноров и пациентов. Было показано, что MIA значительно способствовало инвазивности культивируемых клеток рака поджелудочной железы, не влияя на пролиферацию клеток [45].

В большинстве случаев других типов рака анализ MIA показывает, аналогично случаю меланомы, ассоциацию с метастазированием, худшим прогнозом течения заболевания, метастазами, локализованными в лимфоузлах. Факт отсутствия MIA в сыворотке при раке поджелудочной железы и глиоме указывает на то, что этот белок не может играть роль универсального онкомаркера и его отсутствие не является диагностическим признаком при некоторых типах опухолей.

Заключение. Несмотря на очевидную перспективность использования белка MIA в качестве онкомаркера меланомы, значение рекомендованного порогового уровня MIA в сыворотке является пока предметом дискуссии: диапазон порогового уровня MIA в проанализированных работах для меланомы составляет от 1 до 15 нг/мл.

Тем не менее, MIA представляет собой надежный биомаркер меланомы, который может указывать на наличие заболевания и связанные с ним клинические проявления, выступать в роли раннего индикатора терапевтического ответа для измерения эффективности исследуемых меланома-ингибирующих препаратов и использоваться для оценки состояния лимфатических узлов при метастазировании. В том числе, MIA является объектом интереса в качестве терапевтической мишени, поскольку его функции в опухолевых клетках способствуют развитию заболевания, а ингибирование его активности имеет перспективы как терапевтическая стратегия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Малишевская Н.П., Соколова А.В., Демидов Л.В. Современное состояние заболеваемости меланомой кожи в Российской Федерации и федеральных округах. *Медицинский совет*. 2018; 10:161-5. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-10-161-165.
2. Pleshkan V.V., Zinovyeva M.V., Sverdlov E.D. Melanoma: Surface markers as the first point of targeted delivery of therapeutic genes in

- multilevel gene therapy. *Mol. Biol. (Moscow)*. 2011; 45: 375-91. DOI: 10.1134/S0026893311030149.
3. Bogdahn U., Apfel R., Hahn M., Gerlach M., Behl C., Hoppe J. et al. Autocrine tumor cell growth-inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res*. 1989; 49 (19): 5358-63.
4. Palmer S.R., Erickson L.A., Ichetovkin I., Knauer D.J., Markovic S.N. Circulating serologic and molecular biomarkers in malignant melanoma. *Mayo Clin. Proc.* 2011. 86 (10): 981-90. DOI: 10.4065/mcp.2011.0287.
5. Bosserhoff A.K., Kaufmann M., Kaluza B., Bartke I., Zirngibl H., Hein R. et al. Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res*. 1997; 57(15): 3149-53.
6. Bosserhoff A.K., Lederer M., Kaufmann M., Hein R., Stolz W., Apfel R. et al. MIA, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Anticancer Res*. 1999; 19(4A): 2691-3.
7. Bosserhoff A.K., Dreau D., Hein R., Landthaler M., Holder W.D., Buettner R. Melanoma inhibitory activity (MIA), a serological marker of malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res*. 2001; 158(158): 158-68. DOI: 10.1007/978-3-642-59537-0_16.
8. Riechers A., Bosserhoff A.K. Melanoma inhibitory activity in melanoma diagnostics and therapy - a small protein is looming large. *Exp. Dermatol.* 2014; 23(1): 12-4. DOI: 10.1111/exd.12281.
9. Pleshkan V.V., Alekseenko I.V., Zinovyeva M.V., Vinogradova T.V., Sverdlov E.D. Promoters with cancer cell-specific activity for melanoma gene therapy. *Acta Naturae*. 2011; 3(2):13-21.
10. Tschedschilsuren G., Bosserhoff A.K., Schlegel J., Vollmer D., Anton A., Alt V. et al. Regulation of mesenchymal stem cell and chondrocyte differentiation by MIA. *Exp. Cell Res*. 2006; 312(1): 63-72. DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.09.017.
11. Shen J., Amari N., Zack R., Skrinak R.T., Unger T.L., Posavi M. et al. Plasma MIA, CRP, and albumin predict cognitive decline in Parkinson's Disease. *Ann. Neurol.* 2022; 92(2): 255-69. DOI: 10.1002/ana.26410.
12. Müller-Ladner U., Bosserhoff A.K., Dreher K., Hein R., Neidhart M., Gay S. et al. MIA (melanoma inhibitory activity): a potential serum marker for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 1999; 38(2): 148-54. DOI: 10.1093/rheumatology/38.2.148.
13. Yeremenko N., Härle P., Cantaert T., van Tok M., van Duivenvoorde L.M., Bosserhoff A. et al. The cartilage protein melanoma inhibitory activity contributes to inflammatory arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2014; 53(3): 438-47. DOI: 10.1093/rheumatology/ket382.
14. Sasahira T., Kirita T., Nishiguchi Y., Kurihara M., Nakashima C., Bosserhoff A.K. et al. A comprehensive expression analysis of the MIA gene family in malignancies: MIA gene family members are novel, useful markers of esophageal, lung, and cervical squamous cell carcinoma. *Oncotarget*. 2016; 7(21): 31137-52. DOI: 10.18632/oncotarget.9082.
15. Loughheed J.C., Holton J.M., Alber T., Bazan J.F., Handel T.M. Structure of melanoma inhibitory activity protein, a member of a recently identified family of secreted proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2001; 98(10): 5515-20. DOI: 10.1073/pnas.091601698.
16. Bosserhoff A.K. Role of melanoma inhibitory activity in early development of malignancy. In: Vincent J. Hearing, Stanley P. L. Leong, eds. *From melanocytes to melanoma. The progression to malignancy*. Humana Press; 2006: 475 – 87.
17. Stoll R., Renner C., Buettner R., Voelter W., Bosserhoff A.K., Holak T.A. Backbone dynamics of the human MIA protein studied by 15N NMR relaxation: Implications for extended interactions of SH3 domains. *Protein Sci*. 2003; 12(3): 510-9. DOI: 10.1110/ps.0222603.
18. Stoll R., Renner C., Zweckstetter M., Brüggert M., Ambrosius D., Palme S. et al. The extracellular human melanoma inhibitory activity (MIA) protein adopts an SH3 domain-like fold. *EMBO J*. 2001; 20(3): 340-9. DOI: 10.1093/emboj/20.3.340.
19. Blesch A., Bosserhoff A.K., Apfel R., Behl C., Hessdoerfer B., Schmitt A. et al. Cloning of a novel malignant melanoma-derived growth-regulatory protein, MIA. *Cancer Res*. 1994; 54(21): 5695-5701.
20. Bosserhoff A.K., Buettner R. Establishing the protein MIA (melanoma inhibitory activity) as a marker for chondrocyte differentiation. *Biomaterials*. 2003; 24(19): 3229-34. DOI: 10.1016/s0142-9612(03)00184-4.
21. Koehler M.R., Bosserhoff A., von Beust G., Bauer A., Blesch A., Buettner R. et al. Assignment of the human melanoma inhibitory activity gene (MIA) to 19q13.32-q13.33 by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Genomics*. 1996; 35(1): 265-7. DOI: 10.1006/geno.1996.0352.
22. Bosserhoff A.K., Hein R., Bogdahn U., Buettner R. Structure and Pro-

- moter analysis of the gene encoding the human melanoma-inhibiting protein MIA. *J. Biol. Chem.* 1996; 271(1): 490-5. DOI: 10.1074/jbc.271.1.490.
23. Schmidt J., Riechers A., Stoll R., Amann T., Fink F., Spruss T. et al. Targeting melanoma metastasis and immunosuppression with a new mode of melanoma inhibitory activity (MIA) protein inhibition. *PLoS One.* 2012; 7(5): e37941. DOI: 10.1371/journal.pone.0037941.
 24. Bauer R., Humphries M., Fässler R., Winklmeier A., Craig S.E., Bosserhoff A.K. Regulation of integrin activity by MIA. *J. Biol. Chem.* 2006; 281(17): 11669-77. DOI: 10.1074/jbc.M511367200.
 25. Jachimczak P., Apfel R., Bosserhoff A.K., Fabel K., Hau P., Tschertner I. et al. Inhibition of immunosuppressive effects of melanoma-inhibiting activity (MIA) by antisense techniques. *Int. J. Cancer.* 2005; 113(1): 88-92. DOI: 10.1002/ijc.20549.
 26. Bordignon M., Luisetto R., Valente M.L., Fedrigo M., Castellani C., Angelini A. et al. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) is able to induce vitiligo-like depigmentation in an in vivo mouse model by direct injection in the tail. *Front. Med. (Lausanne).* 2020; 7:430. DOI: 10.3389/fmed.2020.00430.
 27. Yip K.T., Zhong X.Y., Seibel N., Pütz S., Autzen J., Gasper R. et al. Small molecules antagonise the MIA-fibronectin interaction in malignant melanoma. *Sci. Rep.* 2016; 6: 25119. DOI: 10.1038/srep25119.
 28. Bosserhoff A.K., König B., Riechers A., Schmidt J. Peptides or antibodies which bind to melanoma inhibitory activity (MIA) protein. Patent WO2011113604A1; 2011 Sept 22.
 29. Bashmakova E.E., Panamarev N.S., Kudryavtsev A.N., Frank L.A. N-extended photoprotein obelin to competitively detect small protein tumor markers. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2022; 598: 69-73. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.02.011
 30. Hofmann M.A., Gussmann F., Fritsche A., Biesold S., Schicke B., Küchler I. et al. Diagnostic value of melanoma inhibitory activity serum marker in the follow-up of patients with stage I or II cutaneous melanoma. *Melanoma Res.* 2009; 19(1): 17-23. DOI: 10.1097/CMR.0b013e32831bc78c.
 31. Hofmann M.A., Schicke B., Fritsch A., Biesold S., Gussmann F., Küchler I. et al. Impact of lymph node metastases on serum level of melanoma inhibitory activity in stage III melanoma patients. *J. Dermatol.* 2011; 38(9): 880-6. DOI: 10.1111/j.1346-8138.2011.01219.x.
 32. Nikolin B., Djan I., Trifunovic J., Dugandzija T., Novkovic D., Djan V. et al. MIA, S100 and LDH as important predictors of overall survival of patients with stage IIb and IIc melanoma. *J. BUON.* 2016; 21(3): 691-7.
 33. Diaz-Lagares A., Alegre E., Arroyo A., González-Cao M., Zudaire M.E., Viteri S. et al. Evaluation of multiple serum markers in advanced melanoma. *Tumour Biol.* 2011; 32(6): 1155-61. DOI: 10.1007/s13277-011-0218-x.
 34. Li C., Liu J., Jiang L., Xu J., Ren A., Lin Y. et al. The value of melanoma inhibitory activity and LDH with melanoma patients in a Chinese population. *Medicine (Baltimore).* 2021; 100(8): e24840. DOI: 10.1097/MD.00000000000024840.
 35. Alegre E., Zubiri L., Perez-Gracia J.L., González-Cao M., Soria L., Martín-Algarra S. et al. Circulating melanoma exosomes as diagnostic and prognosis biomarkers. *Clin. Chim. Acta.* 2016; 454: 28-32. DOI: 10.1016/j.cca.2015.12.031.
 36. Sandru A., Panaitescu E., Voinea S., Bolovan M., Stanciu A., Cinca S. et al. Prognostic value of melanoma inhibitory activity protein in localized cutaneous malignant melanoma. *J. Skin Cancer.* 2014; 2014: 843214. DOI: 10.1155/2014/843214.
 37. Vucetic B., Rogan S.A., Hrabac P., Hudorovic N., Cupic H., Lukinac L. et al. Biological value of melanoma inhibitory activity serum concentration in patients with primary skin melanoma. *Melanoma Res.* 2008; 18(3): 201-7. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3283021929.
 38. Datz E., Zeman F., Koller M., Szeimies R.M., Berneburg M., Landthaler M. et al. Phototherapy-induced elevation of serum level of melanoma inhibitory activity. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2019; 35(4): 255-60. DOI: 10.1111/phpp.12461.
 39. Sanmamed M.F., Fernández-Landázuri S., Rodríguez C., Lozano M.D., Echeveste J.I., Pérez Gracia J.L. et al. Relevance of MIA and S100 serum tumor markers to monitor BRAF inhibitor therapy in metastatic melanoma patients. *Clin. Chim. Acta.* 2014; 429: 168-74. DOI: 10.1016/j.cca.2013.11.034.
 40. Tan N., Venetsanakos E., Faure M., Heise C. Use of melanoma inhibitory activity (mia) protein as an early indicator for therapeutic response in melanoma. Patent WO2008013912A1; 2008.
 41. Uslu U., Schliep S., Schliep K., Erdmann M., Koch H.U., Parsch H. et al. Comparison of the serum tumor markers S100 and melanoma-inhibitory activity (MIA) in the monitoring of patients with metastatic melanoma receiving vaccination immunotherapy with dendritic cells. *Anticancer Res.* 2017; 37(9): 5033-7. DOI: 10.21873/anticancer.11918.
 42. Schmidt J., Riechers A., Bosserhoff A.K. MIA-a new target protein for malignant melanoma therapy. *Histol. Histopathol.* 2013; 28 (4): 421-6. DOI: 10.14670/HH-28.421.
 43. Sasahira T., Bosserhoff A.K., Kirita T. The importance of melanoma inhibitory activity gene family in the tumor progression of oral cancer. *Pathol. Int.* 2018; 68(5): 278-86. DOI: 10.1111/pin.12672.
 44. Hau P., Ruemmele P., Kunz-Schughart L.A., Doerfelt A., Hirschmann B., Lohmeier A. et al. Expression levels of melanoma inhibitory activity correlate with time to progression in patients with high-grade glioma. *Oncol. Rep.* 2004; 12(6): 1355-64. DOI: 10.3892/or.12.6.1355.
 45. El Fitori J., Kleeff J., Giese N.A., Guweidhi A., Bosserhoff A.K., Büchler M.W. et al. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) increases the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Cancer Cell Int.* 2005; 5(1): 3. DOI: 10.1186/1475-2867-5-3.

REFERENCES

1. Malishevskaya N.P., Sokolova A.V., Demidov L.V. The incidence of skin melanoma in the Russian Federation and federal districts. *Meditsinskiy sovet.* 2018; (10):161-5. DOI: 10.21518/2079-701X-2018-10-161-165. (in Russian)
2. Pleshkan V.V., Zinovyeva M.V., Sverdlov E.D. Melanoma: Surface markers as the first point of targeted delivery of therapeutic genes in multilevel gene therapy. *Mol. Biol. (Mosk).* 2011; 45: 375-91. DOI: 10.1134/S0026893311030149.
3. Bogdahn U., Apfel R., Hahn M., Gerlach M., Behl C., Hoppe J. et al. Autocrine tumor cell growth-inhibiting activities from human malignant melanoma. *Cancer Res.* 1989; 49 (19): 5358-63.
4. Palmer S.R., Erickson L.A., Ichetovkin I., Knauer D.J., Markovic S.N. Circulating serologic and molecular biomarkers in malignant melanoma. *Mayo Clin. Proc.* 2011. 86 (10): 981-90. DOI: 10.4065/mcp.2011.0287.
5. Bosserhoff A.K., Kaufmann M., Kaluza B., Bartke I., Zirngibl H., Hein R. et al. Melanoma-inhibiting activity, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Cancer Res.* 1997; 57(15): 3149-53.
6. Bosserhoff A.K., Lederer M., Kaufmann M., Hein R., Stolz W., Apfel R. et al. MIA, a novel serum marker for progression of malignant melanoma. *Anticancer Res.* 1999; 19(4A): 2691-3.
7. Bosserhoff A.K., Dreau D., Hein R., Landthaler M., Holder W.D., Buettner R. Melanoma inhibitory activity (MIA), a serological marker of malignant melanoma. *Recent Results Cancer Res.* 2001; 158(158): 158-68. DOI: 10.1007/978-3-642-59537-0_16.
8. Riechers A., Bosserhoff A.K. Melanoma inhibitory activity in melanoma diagnostics and therapy - a small protein is looming large. *Exp. Dermatol.* 2014; 23(1): 12-4. DOI: 10.1111/exd.12281.
9. Pleshkan V.V., Alekseenko I.V., Zinovyeva M.V., Vinogradova T.V., Sverdlov E.D. Promoters with cancer cell-specific activity for melanoma gene therapy. *Acta Naturae.* 2011; 3(2):13-21.
10. Tschoudschilsuren G., Bosserhoff A.K., Schlegel J., Vollmer D., Anton A., Alt V. et al. Regulation of mesenchymal stem cell and chondrocyte differentiation by MIA. *Exp. Cell Res.* 2006; 312(1): 63-72. DOI: 10.1016/j.yexcr.2005.09.017.
11. Shen J., Amari N., Zack R., Skrinak R.T., Unger T.L., Posavi M. et al. Plasma MIA, CRP, and albumin predict cognitive decline in Parkinson's Disease. *Ann. Neurol.* 2022; 92(2): 255-69. DOI: 10.1002/ana.26410.
12. Müller-Ladner U., Bosserhoff A.K., Dreher K., Hein R., Neidhart M., Gay S. et al. MIA (melanoma inhibitory activity): a potential serum marker for rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 1999; 38(2): 148-54. DOI: 10.1093/rheumatology/38.2.148.
13. Yeremenko N., Härle P., Cantaert T., van Tok M., van Duivenvoorde L.M., Bosserhoff A. et al. The cartilage protein melanoma inhibitory activity contributes to inflammatory arthritis. *Rheumatology (Oxford).* 2014; 53(3): 438-47. DOI: 10.1093/rheumatology/ket382.
14. Sasahira T., Kirita T., Nishiguchi Y., Kurihara M., Nakashima C., Bosserhoff A.K. et al. A comprehensive expression analysis of the MIA gene family in malignancies: MIA gene family members are novel, useful markers of esophageal, lung, and cervical squamous cell carcinoma.

- Oncotarget*. 2016; 7(21): 31137-52. DOI: 10.18632/oncotarget.9082.
15. Loughheed J.C., Holton J.M., Alber T., Bazan J.F., Handel T.M. Structure of melanoma inhibitory activity protein, a member of a recently identified family of secreted proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98(10): 5515-20. DOI: 10.1073/pnas.091601698.
 16. Bosserhoff A.K. Role of melanoma inhibitory activity in early development of malign chapter. In: Vincent J. Hearing, Stanley P. L. Leong, eds. *From melanocytes to melanoma. The progression to malignancy*. Humana Press; 2006: 475 – 87.
 17. Stoll R., Renner C., Buettner R., Voelter W., Bosserhoff A.K., Holak T.A. Backbone dynamics of the human MIA protein studied by 15N NMR relaxation: Implications for extended interactions of SH3 domains. *Protein Sci*. 2003; 12(3): 510-9. DOI: 10.1110/ps.0222603.
 18. Stoll R., Renner C., Zweckstetter M., Brüggert M., Ambrosius D., Palme S. et.al. The extracellular human melanoma inhibitory activity (MIA) protein adopts an SH3 domain-like fold. *EMBO J*. 2001; 20(3): 340-9. DOI: 10.1093/emboj/20.3.340.
 19. Blesch A., Bosserhoff A.K., Apfel R., Behl C., Hessdoerfer B., Schmitt A. et. al. Cloning of a novel malignant melanoma-derived growth-regulatory protein, MIA. *Cancer Res*. 1994; 54(21): 5695-5701.
 20. Bosserhoff A.K., Buettner R. Establishing the protein MIA (melanoma inhibitory activity) as a marker for chondrocyte differentiation. *Biomaterials*. 2003; 24(19): 3229-34. DOI: 10.1016/s0142-9612(03)00184-4.
 21. Koehler M.R., Bosserhoff A., von Beust G., Bauer A., Blesch A., Buettner R. et.al. Assignment of the human melanoma inhibitory activity gene (MIA) to 19q13.32-q13.33 by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Genomics*. 1996; 35(1): 265-7. DOI: 10.1006/geno.1996.0352.
 22. Bosserhoff A.K., Hein R., Bogdahn U., Buettner R. Structure and Promoter analysis of the gene encoding the human melanoma-inhibiting protein MIA. *J. Biol. Chem*. 1996; 271(1): 490-5. DOI: 10.1074/jbc.271.1.490.
 23. Schmidt J., Riechers A., Stoll R., Amann T., Fink F., Spruss T. et.al. Targeting melanoma metastasis and immunosuppression with a new mode of melanoma inhibitory activity (MIA) protein inhibition. *PLoS One*. 2012; 7(5): e37941. DOI: 10.1371/journal.pone.0037941.
 24. Bauer R., Humphries M., Fässler R., Winklmeier A., Craig S.E., Bosserhoff A.K. Regulation of integrin activity by MIA. *J. Biol. Chem*. 2006; 281(17): 11669- 77. DOI: 10.1074/jbc.M511367200.
 25. Jachimczak P., Apfel R., Bosserhoff A.K., Fabel K., Hau P., Tschertner I. et.al. Inhibition of immunosuppressive effects of melanoma-inhibiting activity (MIA) by antisense techniques. *Int. J. Cancer*. 2005; 113(1): 88-92. DOI: 10.1002/ijc.20549/.
 26. Bordignon M., Luisetto R., Valente M.L., Fedrigo M., Castellani C., Angelini A. et.al. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) is able to induce vitiligo-like depigmentation in an in vivo mouse model by direct injection in the tail. *Front. Med. (Lausanne)*. 2020; 7:430. DOI: 10.3389/fmed.2020.00430.
 27. Yip K.T., Zhong X.Y., Seibel N., Pütz S., Autzen J., Gasper R. et.al. Small molecules antagonise the MIA-fibronectin interaction in malignant melanoma. *Sci. Rep*. 2016; 6: 25119. DOI: 10.1038/srep25119.
 28. Bosserhoff A.K., König B., Riechers A., Schmidt J. Peptides or antibodies which bind to melanoma inhibitory activity (MIA) protein. Patent WO2011113604A1. 2011 Sept 22.
 29. Bashmakova E.E., Panamarev N.S., Kudryavtsev A.N., Frank L.A. N-extended photoprotein obelin to competitively detect small protein tumor markers. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2022; 598: 69-73. DOI: 10.1016/j.bbrc.2022.02.011.
 30. Hofmann M.A., Gussmann F., Fritsche A., Biesold S., Schicke B., Kuchler I. et.al. Diagnostic value of melanoma inhibitory activity serum marker in the follow-up of patients with stage I or II cutaneous melanoma. *Melanoma Res*. 2009; 19(1): 17-23. DOI: 10.1097/CMR.0b013e32831bc78c.
 31. Hofmann M.A., Schicke B., Fritsch A., Biesold S., Gussmann F., Kuchler I. et.al. Impact of lymph node metastases on serum level of melanoma inhibitory activity in stage III melanoma patients. *J. Dermatol*. 2011; 38(9): 880-6. DOI: 10.1111/j.1346-8138.2011.01219.x.
 32. Nikolin B., Djan I., Trifunovic J., Dugandzija T., Novkovic D., Djan V. et.al. MIA, S100 and LDH as important predictors of overall survival of patients with stage IIb and IIc melanoma. *J. BUON*. 2016; 21(3): 691-7.
 33. Díaz-Lagares A., Alegre E., Arroyo A., González-Cao M., Zudaire M.E., Viteri S. et.al. Evaluation of multiple serum markers in advanced melanoma. *Tumour Biol*. 2011; 32(6): 1155-61. DOI: 10.1007/s13277-011-0218-x.
 34. Li C., Liu J., Jiang L., Xu J., Ren A., Lin Y. et.al. The value of melanoma inhibitory activity and LDH with melanoma patients in a Chinese population. *Medicine (Baltimore)*. 2021; 100(8): e24840. DOI: 10.1097/MD.00000000000024840.
 35. Alegre E., Zubiri L., Perez-Gracia J.L., González-Cao M., Soria L., Martín-Algarra S. et.al. Circulating melanoma exosomes as diagnostic and prognosis biomarkers. *Clin. Chim. Acta*. 2016; 454: 28-32. DOI: 10.1016/j.cca.2015.12.031.
 36. Sandru A., Panaitescu E., Voinea S., Bolovan M., Stanciu A., Cinca S. et.al. Prognostic value of melanoma inhibitory activity protein in localized cutaneous malignant melanoma. *J. Skin. Cancer*. 2014; 2014: 843214. DOI: 10.1155/2014/843214.
 37. Vucetic B., Rogan S.A., Hrabac P., Hudorovic N., Cupic H., Lukinac L. et.al. Biological value of melanoma inhibitory activity serum concentration in patients with primary skin melanoma. *Melanoma Res*. 2008;18(3): 201-7. DOI: 10.1097/CMR.0b013e3283021929.
 38. Datz E., Zeman F., Koller M., Szeimies R.M., Berneburg M., Landthaler M. et.al. Phototherapy-induced elevation of serum level of melanoma inhibitory activity. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed*. 2019; 35(4): 255- 60. DOI: 10.1111/phpp.12461.
 39. Sanmamed M.F., Fernández-Landázuri S., Rodríguez C., Lozano M.D., Echeveste J.I., Pérez Gracia J.L. et.al. Relevance of MIA and S100 serum tumor markers to monitor BRAF inhibitor therapy in metastatic melanoma patients. *Clin. Chim. Acta*. 2014; 429: 168-74. DOI: 10.1016/j.cca.2013.11.034.
 40. Tan N., Venetsanakos E., Faure M., Heise C. Use of melanoma inhibitory activity (mia) protein as an early indicator for therapeutic response in melanoma. Patent WO2008013912A1; 2008 Jan 31.
 41. Uslu U., Schliep S., Schliep K., Erdmann M., Koch H.U., Parsch H. et.al. Comparison of the serum tumor markers S100 and melanoma-inhibitory activity (MIA) in the monitoring of patients with metastatic melanoma receiving vaccination immunotherapy with dendritic cells. *Anticancer Res*. 2017; 37(9): 5033-7. DOI: 10.21873/anticancer.11918.
 42. Schmidt J., Riechers A., Bosserhoff A.K. MIA-a new target protein for malignant melanoma therapy. *Histol. Histopathol*. 2013; 28 (4): 421-6. DOI: 10.14670/HH-28.421.
 43. Sasahira T., Bosserhoff A.K., Kirita T. The importance of melanoma inhibitory activity gene family in the tumor progression of oral cancer. *Pathol Int*. 2018; 68(5): 278- 286. DOI: 10.1111/pin.12672.
 44. Hau P., Ruummele P., Kunz-Schughart L.A., Doerfelt A., Hirschmann B., Lohmeier A. et.al. Expression levels of melanoma inhibitory activity correlate with time to progression in patients with high-grade glioma. *Oncol. Rep*. 2004; 12(6): 1355-64. DOI: 10.3892/or.12.6.1355.
 45. El Fitori J., Kleeff J., Giese N.A., Guweidhi A., Bosserhoff A.K., Büchler M.W. et.al. Melanoma Inhibitory Activity (MIA) increases the invasiveness of pancreatic cancer cells. *Cancer Cell Int*. 2005; 5(1): 3. DOI: 10.1186/1475-2867-5-3.