

© Авторы, 2014

© ЗАО «Издательство Радиотехника», 2014

Молекулярные механизмы опухолевого роста

Кушлинский Н.Е.¹, Немцова М.В.²

¹ — Лаборатория клинической биохимии, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН; Москва, Каширское ш., 24; e-mail: biochimia@mtu-net.ru

² — ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последиplomного образования Минздрава РФ, 123995, Москва, ул. Баррикадная, д.2/1

Формирование свойств, способствующих злокачественной трансформации, происходит еще до появления опухолевых клеток, на уровне воспалительных и предопухолевых процессов. В основе формирования этих свойств лежит нестабильность генома опухолевой клетки. Генетическая нестабильность проявляется как генетическими, структурными изменениями, к которым можно отнести мутационный процесс, так и эпигенетическими нарушениями. Эпигенетические изменения связаны с метилированием ДНК, модификацией гистонов и хроматина, появлением новых молекул РНК, что определяет специфическую регуляцию и экспрессию генов в опухолевом поле. В результате генетической нестабильности формируются и функционируют механизмы, способствующие злокачественной трансформации клетки и опухолевому росту. Одним из основных механизмов является способность поддерживать хроническую пролиферацию. В опухоли сигнальная система изменяется, и стимуляция роста и деления клеток происходит при отсутствии внешних сигналов. Исследования генома опухолевой клетки показали, что соматические мутации вносят свой вклад в активацию сигнальных систем. Гены-супрессоры опухолевого роста являются центральными регуляторами клеточного контроля и связаны с активацией программы физиологического старения и апоптоза. В опухолевых клетках существуют механизмы, которые позволяют игнорировать системы подавления клеточной пролиферации генами-супрессорами. Программируемая клеточная смерть, апоптоз, служат естественным барьером для развития опухоли. Опухолевые клетки используют разные возможности для ограничения или обхода апоптоза, известны несколько стратегий, которые используют опухолевые клетки, чтобы избежать апоптоза. Неограниченный потенциал репликации необходим злокачественным клеткам для получения адекватного количества клеток, из которых формируются макроскопические опухоли. Это свойство отличает их от нормальных клеток, которые имеют ограниченное число циклов деления. Сокращение длины теломера является механизмом, который ограничивает репликативный потенциал нормальных клеток и нарушается в клетках опухоли. Еще одним механизмом, способствующим опухолевому росту является неоваскуляризация, образование сети новых кровеносных сосудов. При прогрессии опухоли ангиогенез всегда активирован, происходит образование новых кровеносных сосудов, что помогает поддерживать рост новообразования. Опухоли прогрессируют в патологически высокую степень злокачественности, что отражается в локальной инвазии и отдаленных метастазах. Опухолевые клетки со временем обычно не только изменяют свою форму, но и теряют связь с другими клетками и внеклеточным матриксом. В результате возникает многоступенчатый процесс инвазии и метастазирования, который часто называют каскадом инвазии/метастазирования. В последние годы достигнут значительный прогресс в понимании сложных механизмов инвазии и метастазирования опухолей, идентифицированы регулирующие их гены. Основным регулятором инвазии и метастазирования сегодня считается механизм эпителиально-мезенхимального перехода, который связан с трансформацией эпителиальных клеток, и приобретением ими способности к инвазии, резистентности, апоптозу и диссеминации. Процесс метастазирования имеет две основные фазы: диссеминация клеток к отдаленным тканям, и адаптация этих клеток к микроокружению чужой ткани, результатом которой является рост микрометастазов в макроскопические опухоли. В последующее десятилетие интенсивные исследования связей между воспалением и канцерогенезом показали участие иммунных клеток в неопластической прогрессии. Воспаление обнаруживается на ранних стадиях неопластической прогрессии и, очевидно, способствует развитию зарождающейся неоплазии в полноценный рак. При хронической неконтролируемой пролиферации клеток, происходит также и перестройка энергетического метаболизма для питания клеток в процессе роста и деления. Достижения молекулярной онкологии последних лет позволяют выявить и оценить приведенные в этой статье механизмы, способствующие злокачественной трансформации и опухолевому росту, хотя многое еще остается неясным.

Ключевые слова: молекулярные механизмы, опухолевый рост, пролиферация, гены-супрессоры, апоптоз, теломера, эпителиально-мезенхимальный переход, инвазия, метастазирование, воспаление

Введение

На протяжении последних лет исследователи пытаются выделить основные механизмы, которые на клеточном и молекулярном уровне способствуют приобретению клеткой характерных отличительных свойств и последующему опухолевому росту.

Формирование свойств, способствующих злокачественной трансформации, происходит еще до появления опухолевых клеток, на уровне воспалительных и предопухолевых

процессов. В основе формирования этих свойств лежит нестабильность генома, которая возникает на фоне дисплазий 2–3 степени и увеличивается при опухолевом росте. Спектр геномных повреждений, который можно назвать молекулярным патогенезом, определяет не только появление опухоли, но и ее дальнейшее клиническое поведение.

Нестабильность генома проявляется как генетическими, структурными изменениями, к которым можно отнести мутационный процесс, так и эпигенетическими нару-

шениями, связанными с метилированием ДНК, модификацией гистонов и хроматина, что определяет специфическую регуляцию и экспрессию генов в опухолевом поле.

Сегодня доказано, что эпигенетические изменения играют значительную роль в формировании механизмов, определяющих злокачественную трансформацию [1]. Однако функционально значимые эпигенетические изменения присущи не только опухолевым клеткам, но и клеткам стромы, связанной с опухолью.

Одним из основных признаков злокачественного новообразования является способность формировать взаимодействие с «микроокружением». Опухоли — сложные ткани, состоят из различных типов клеток, взаимодействующих как друг с другом, так и с нормальными клетками и формируют опухоль-ассоциированную строму. Клетки стромы являются активными участниками канцерогенеза и вносят свой вклад в формирование и проявление отличительных признаков новообразования. Необходимо отметить, что для опухоли характерны не только эпителиально-стромальные клеточные взаимодействия, но и взаимодействия между клетками с различными генетическими свойствами, которые формируют внутриопухолевые клоны. Такого рода взаимодействия также способствуют формированию и закреплению признаков злокачественности. Следовательно, опухоль больше не воспринимается как простое скопление злокачественных клеток, при этом важную роль в канцерогенезе играет вклад микроокружения опухоли и клonalная гетерогенность.

Обеспечение постоянной пролиферации опухолевой клетки

Способность поддерживать хроническую пролиферацию является основным свойством опухолевых клеток. В нормальных тканях процессы роста тщательно контролируются, что обеспечивает необходимое количество клеток и соответствующую архитектуру ткани, для обеспечения функции. Стимуляция к делению нормальной клетки осуществляется факторами роста, которые связываются с рецептором на поверхности клетки, имеющий внутриклеточный домен с тирозинкиназной активностью. Активация тирозинкиназного домена приводит к активации внутриклеточных путей, которые регулируют клеточный цикл, клеточный рост и другие биологические свойства клетки, например, энергетический метаболизм.

В опухоли сигнальная система изменяется, и стимуляция роста и деления клеток происходит при отсутствии внешних сигналов. Инициация клеточного деления в опухолевых клетках может осуществляться различными путями.

Во-первых, опухолевые клетки могут сами вырабатывать факторы роста, в результате амплификации или мутации в генах, кодирующих ростовые факторы. Также клетки опухоли могут сами посылать сигнал, стимулируя нормальные клетки опухоль-ассоциированной стромы к выработке различных, необходимых для них факторов роста. Увеличение концентрации факторов роста приводит к стимуляции пролиферации.

Во-вторых, к изменению сигнальной системы в опухолевых клетках может привести увеличение уровня рецепторных белков, расположенных на их поверхности, что приводит такие клетки в гиперчувствительное состояние по отношению фактору роста.

В-третьих, аналогичные последствия могут быть вызваны мутациями или перестройками в генах, кодирую-

щих рецепторы факторов роста, что приведет к изменениям в молекуле рецептора. Мутантный рецептор может иметь постоянно активированный тирозинкиназный домен или находиться в комплексе с другими молекулами, что приведет к запуску системы либо независимо от наличия ростового фактора, либо при взаимодействии с неспецифическим лигандом.

Кроме того, активация компонентов сигнальной системы опухолевой клетки может возникать независимо от факторов роста и их рецепторов — на нижестоящих уровнях регуляции, исключая необходимость в их стимуляции путем образования комплекса лиганд-рецептор.

В последние годы исследования генома опухолевой клетки показали, что соматические мутации вносят свой вклад в активацию сигнальных систем с участием рецепторов фактора роста. Известно, что примерно 40% меланом человека связаны с активирующими мутациями гена *B-RAF*, что приводит к нарушению структуры его белка, в результате чего активация MAP-киназного каскада осуществляется посредством *RAF* [2]. В некоторых типах опухолей выявлены мутации в гене каталитической субъединицы изоформы фосфоинозитил-3-киназы (PI3-киназа), что приводит к гиперактивации сигнального каскада с участием PI3-киназы [3].

Известно, что мутации и перестройки различных генов приводят к активации сигнальных систем, как на уровне факторов роста и их рецепторов, так и на нижестоящем уровне передачи сигнала по каскаду белков в клеточное ядро. В качестве примера можно рассмотреть регуляцию сигнальной системы с участием RAS-онкобелка. Молекула RAS относится к малым GTP-зависимым молекулам, которые активируются при образовании комплекса с молекулой GTP и участвуют в передаче сигнала. Онкогенный эффект обусловлен тем, что стандартные мутации, гена *RAS*, изменяют структуру его белка, не допуская диссоциации этого активного комплекса. Таким образом, независимо от участия лиганда и рецептора происходит активация сигнальной системы на нижестоящем уровне.

Многие исследователи показали важность систем отрицательной обратной связи, которые направлены на ослабление действия различных сигналов. Дефекты в механизмах отрицательной обратной связи способны повышать пролиферативную активность сигналов. Активация mTOR-киназы обеспечивает повышение синтеза белка при получении клеткой митогенного или антиапоптогического сигнала. В некоторых культурах опухолевых клеток активация mTOR-киназы приводит к ингибированию сигнала PI3-киназы. Это объясняется тем, что при фармакологическом ингибировании mTOR-киназы, например, рапамицином, нарушается отрицательная обратная связь. Это приводит к увеличению активности PI3-киназы и, следовательно, к снижению эффекта ингибирования mTOR-киназы [4].

Аналогичные нарушения механизмов отрицательной обратной связи имеются во многих узлах сигнальной системы пролиферации. Такие нарушения широко распространены среди опухолевых клеток человека и служат важным средством, с помощью которого клетки могут получать пролиферативную независимость. Кроме того, изменение и/или нарушение этапов, ослабляющих сигнальные системы, может способствовать развитию адаптивной резистентности по отношению к лекарствам, мишенями которых являются митогенные сигналы.

При исследовании онкогенов было показано, что чем выше уровень их экспрессии и чем больше в клетке сигнальных белков, тем интенсивнее пролиферация клеток и, соответственно, рост опухоли. Однако, существует мнение, что высокий уровень сигнальных онкобелков RAS, MYC и RAF может вызывать противоположный ответ клеток, специфически индуцируя их старение и/или апоптоз. Культура клеток с высокой степенью экспрессии онкобелка RAS может превращаться в непролиферативную, но жизнеспособную культуру с физиологическими признаками старения. И, наоборот, клетки с низким уровнем экспрессии этого белка могут избежать физиологического старения и пролиферировать [5].

Такие парадоксальные эффекты, вероятно, отражают механизмы внутренней защиты, которые необходимы для уничтожения клеток, экспрессирующих чрезмерный уровень регуляторных сигналов.

Уклонение от супрессии опухолевого роста

В опухолевых клетках существуют механизмы, которые позволяют игнорировать системы подавления клеточной пролиферации, многие из которых зависят от генов-супрессоров опухоли. Гены-супрессоры опухолевого роста, ограничивающие рост и пролиферацию, обнаружены в результате стойкой инактивации их функции в различных опухолях человека и животных. Два основных опухолевых супрессора кодируют RB1- и TP53-белки. Они являются центральными регуляторами клеточного контроля, и действуют в пределах двух ключевых систем клеточного цикла, которые связаны с активацией пролиферации клетки и, наоборот, активацией программы физиологического старения и апоптоза.

Белок RB интегрирует сигналы из внеклеточных и внутриклеточных источников и блокирует цикл роста и деления клеток [6]. Следовательно, в клетках с дефектами функции RB отсутствует критический сторож прогрессии клеточного цикла, в результате наблюдается устойчивая клеточная пролиферация. Ген TP53 контролирует сигналы, поступающие в клетку при стрессовых ситуациях, если уровень повреждения генома чрезмерный, или уровень сигналов роста, глюкозы или кислорода ниже оптимальных, то TP53 блокирует клеточный цикл, пока указанные показатели внутри клетки не нормализуются. При значительных или необратимых нарушениях внутриклеточных систем, TP53 может запускать апоптоз.

Оба супрессора пролиферации TP53 и RB1 по отдельности очень важны для регуляции клеточной пролиферации, однако на различных клеточных линиях показано, что каждый из них является частью большой сети, в которую они объединены для осуществления своей функции. Например, мыши, у которых имелись клетки, лишённые гена *Rb-1*, неожиданно оказались свободными от пролиферативных аномалий, несмотря на то, что потеря функции *Rb-1* должна была способствовать запуску клеточного деления у этих клеток и их потомков. Более того, некоторые клоны клеток у модельных мышей (*Rb-*), которые должны были прогрессировать в неоплазию, участвовали в морфогенезе нормальных тканей в организме. В более поздние периоды жизни у таких животных была обнаружена единственная неоплазия при развитии опухоли гипофиза [7]. Аналогично, мыши, имеющие нок-аут гена *Trp53* развивались нормально, у них был в основном правильный клеточный и тканевый гомеостаз, однако в дальнейшем развились аномалии в виде

лейкемии и саркомы [8]. Оба примера указывают на существование дополнительных механизмов, ограничивающих репликацию клеток, лишённых ключевых супрессоров.

Многочисленные исследования показали, что в культуре с высокой плотностью нормальных клеток, между клетками работают контактные механизмы подавления клеточной пролиферации, что приводит к ограничению роста. Важно отметить, что такое «контактное ингибирование» наблюдается в культуре клеток различного типа, и этот механизм действует *in vitro*, а *in vivo* обеспечивает нормальный тканевый гомеостаз, и исчезает при развитии опухоли. Только в настоящее время становятся понятными детали механизма контактного ингибирования.

Один механизм связан с действием продукта гена супрессора опухолей *NF2*, его отсутствие ассоциировано с развитием нейрофибром у человека. Продукт гена *NF2*, белок *мерлин*, локализованный в цитоплазме, регулирует контактное ингибирование посредством связывания адгезивных молекул поверхности клетки, например, E-кадгерина, с трансмембранным доменом EGFR. В присутствии мерлина усиливается кадгерин-опосредованное взаимодействие между клетками, а также мерлин ограничивает действие митогенного сигнала EGF [9].

Второй механизм контактного ингибирования связан с эпителиальным полярным белком LKB1, который способствует сохранению эпителиальной структуры и поддерживает целостность ткани. При ингибировании экспрессии гена *LKB1*, который является геном-супрессором опухолевого роста, целостность эпителиального слоя нарушается, а разрозненные эпителиальные клетки становятся мишенями *Мус*-индуцированной трансформации, таким образом экспрессия LKB1 может снижать митогенный эффект онкогена *Мус* [10]. Еще предстоит выяснить, насколько часто эти два механизма сочетаются при канцерогенезе, вероятно, будут открыты и другие механизмы контактного ингибирования клеточной пролиферации. Очевидно, что механизмы, подобные этим, позволяют клеткам создавать и поддерживать сложную архитектуру тканей.

Противостояние клеточной смерти

Исследования последних десятилетий позволили утверждать, что программируемая клеточная смерть служит естественным барьером для развития опухоли. В результате изучения сигнальных систем, контролирующих апоптоз, показано, что он запускается в ответ на различные физиологические стрессы, которые клетки испытывают при канцерогенезе или в результате противоопухолевой терапии. Самыми заметными среди факторов, индуцирующих апоптоз, являются нарушение баланса при повышении уровня онкогенных сигналов и повреждение ДНК, обусловленное гиперпролиферацией. Показано также, что апоптоз ослабляется в опухолях высокого уровня злокачественности и при резистентности к терапии [11].

Регуляция апоптоза имеет два уровня: верхний уровень включает непосредственно регуляторы апоптоза, а нижний — эффекторные компоненты [11]. Регуляторы, в свою очередь, можно разделить на две большие группы. Одна группа, внешняя, осуществляет прием и передачу внеклеточных сигналов, индуцирующих апоптоз, например, Fas-лиганд/Fas-рецептор. Вторая группа, внутренняя, распознает и интегрирует сигналы внутриклеточного происхождения. В результате действия этих групп каспазы 8 и 9 запускают каскад протеолиза, с вовлечением эф-

факторных каспаз, участие которых необходимо на конечном этапе апоптоза. Конечные продукты распада клетки поглощаются соседними клетками и специальными фагоцитарными клетками.

Механизм, запускающий апоптоз, который передает сигналы между регуляторами и эффекторами, контролируется равновесием между проапоптотическими и антиапоптотическими регуляторными белками, составляющими семейство Bcl-2 [11]. Белок Bcl-2 и родственные белки (Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, A1) являются ингибиторами апоптоза и подавляют активность двух проапоптотических белков — Bax и Bak, непосредственно связываясь с ними. Белки Bax и Bak встроены в наружную мембрану митохондрий.

Диссоциируя из комплекса с антиапоптотическими белками, свободные Bax и Bak нарушают целостность наружных мембран митохондрий. Это приводит к высвобождению из мембраны проапоптотических сигнальных белков, наиболее важный из которых — цитохром *c*. Свободный цитохром *c* активирует каспазы, которые действуют специфически как пептидазы, что приводит к множеству внутриклеточных изменений, связанных с программой апоптоза.

В настоящее время условия, при которых запускается программа апоптоза, достаточно хорошо охарактеризованы, однако некоторые клеточные элементы, которые играют ключевую роль в развитии опухолей, остаются неидентифицированными [11]. Наиболее важными можно считать повреждения ДНК, что связано с участием гена-супрессора опухоли *TP53* [12]. *TP53* индуцирует апоптоз, стимулируя экспрессию белков Noxa и Puma в ответ на определенный уровень повреждений ДНК и хромосомных аномалий. С другой стороны, недостаточный уровень факторов выживания, например, IL-3 в лимфоцитах или инсулиноподобных факторов (IGF1 и IGF2) в эпителиальных клетках, может вызвать апоптоз только с участием белка Bcl-2. Однако имеются и другие условия, которые приводят к смерти клетки. Они связаны с гиперактивацией системы некоторыми онкобелками, такими, как Muc, который запускает апоптоз, взаимодействуя с белком Bim или с другими Bcl-2-белками, если их действие не уравновешивается антиапоптотическими факторами [12].

Опухолевые клетки используют разные возможности для ограничения или обхода апоптоза. Наиболее часто ингибируется функция *TP53*, что устраняет этот критический фактор из схемы индуцированного апоптоза. Кроме того, опухоли могут увеличивать экспрессию антиапоптотических регуляторов (Bcl-2, Bcl-xL) и сигналов выживания (IGF1 и IGF2) или снижать уровень проапоптотических факторов (Bax, Bim, Puma), или даже ингибировать апоптоз, который стимулируется внешним лигандом.

Результаты исследований апоптотического аппарата, а также программ и стратегий, используемых раковыми клетками, чтобы избежать апоптоза, по достоинству оценены в последнее десятилетие. Однако наиболее значимые успехи в исследовании этой проблемы были достигнуты после изучения других форм клеточной смерти, которые расширили понятие «программированная клеточная смерть». Одной из таких форм принято считать аутофагию, последняя, как и апоптоз, в норме работает на базальном уровне в клетках, но может быть значительно индуцирована в определенных условиях клеточного стресса, наиболее очевидными из которых является дефи-

цит питательных веществ [13]. К другой форме клеточной гибели относят некроз. Хотя некроз по многим параметрам рассматривался как смерть организма, т.е. как форма общего истощения и разрушения, в настоящее время понятие концептуально изменилось: в некоторых случаях клеточная смерть в результате некроза несомненно находится под генетическим контролем, а не является случайным и неуправляемым процессом [14].

Увеличение времени жизни

Известно, что опухолевым клеткам необходим неограниченный потенциал репликации для получения адекватного количества клеток, формирующих макроскопические опухоли. Это свойство резко отличает их от нормальных клеток, которые имеют ограниченное число циклов деления. При размножении клеток в культуре, циклы деления приводят, в первую очередь, к индукции физиологического старения, а клетки, успешно обошедшие это ограничение, переходят в фазу кризиса, в которой большинство клеток в популяции погибает. В редких случаях клетки, пережившие состояние кризиса, приобретают способность к неограниченной репликации. Такие клетки способны пролиферировать в культуре без признаков физиологического старения.

Многие исследования показывают, что теломеры являются ДНК-структурами, которые защищают концы хромосом, эти структуры связаны со способностью клетки к неограниченной репликации [15]. Теломеры состоят из tandemно повторяющихся последовательностей (–TTTAGGG–)_n, и с каждым делением постепенно укорачиваются в обычных клетках, в результате чего теряется способность защищать концы хромосом от соединения друг с другом. Такое соединение создает нестабильные перестроенные хромосомы, в результате происходит дестабилизация кариотипа, которая угрожает жизнеспособности клетки. Соответственно, длина теломер в клетке определяет количество поколений ее потомства, прежде чем произойдет разрушение теломер и будут утрачены их защитные функции.

Теломераза — специфическая ДНК-полимераза, которая добавляет теломерные повторы на конце теломерной ДНК. Функция этого белка почти отсутствует в обычных клетках, но его экспрессия повышена в подавляющем большинстве (примерно 90%) бессмертных клеток, включая опухолевые клетки человека.

Теломераза удлинняет теломерную ДНК, чем противостоит разрушению теломер. Наличие теломеразной активности в клетках культуры, специально сконструированных для изучения экспрессии этого фермента, связано с устойчивостью к физиологическому старению, и наоборот, инактивация теломеразы приводит к укорочению теломер и активации антипролиферативной функции.

Физиологическое старение и апоптоз обуславливают противоопухолевую защиту клеток. Такая программа генетически заложена в клетки, и она работает, чтобы препятствовать росту неопластических клонов.

Возможное бессмертие клеток, которые формируют опухоль, объясняется их способностью поддерживать определенную длину теломерной ДНК, которая позволяет избегать запуск физиологического старения или апоптоза. Сокращение длины теломер рассматривается как часовая механизм, который ограничивает репликативный потенциал нормальных клеток и, следовательно, нарушается в клетках опухоли.

В настоящее время имеется свидетельство того, что клоны молодых предопухолевых клеток часто сталкиваются с кризисом, вызванным потерей теломер, относительно рано из-за их неспособности экспрессировать необходимое количество теломеразы. Экспериментально показано значительное укорачивание теломер, а также слияние хромосомных концов в предопухолевых образованиях [16]. Можно предположить, что такие клетки прошли через большое число нормальных делений с укорачиванием теломер. Следовательно, развитие некоторых неоплазий человека можно предотвратить, индуцируя сокращение теломер.

Важность временного недостатка теломерных последовательностей показана также при сравнительном анализе пренеопластических и злокачественных поражений молочной железы человека [17]. В предраковых образованиях не отмечено заметной экспрессии теломеразы, но обнаружены укорачивания теломер и хромосомные нарушения. Наоборот, в карциномах обнаружена повышенная экспрессия теломеразы, реконструкция длины теломер и нарушения кариотипа, которые, по-видимому, образовывались до появления повышенной теломеразной активности. Обнаруженные факты показывают, что задержка теломеразной активности способствует появлению мутаций в опухолевых клетках, в то время как ее активация стабилизирует мутантный геном и способствует неограниченной репликации, которая необходима клеткам опухоли для возникновения клинически определяемых новообразований.

Исследования теломеразы предполагали, что основная функция фермента состоит в удлинении и сохранении теломерной ДНК. Однако в последние годы стало ясно, что теломераза необходима для пролиферации клетки. При исследованиях на мышцах и в культурах клеток обнаружена дополнительная роль теломеразы, в частности, ее белковой субъединицы TERT. Белковая субъединица теломеразы TERT может быть кофактором комплекса β -катенин/фактор транскрипции LEF, усиливая сигналы Wnt-пути [18]. Теломераза, независимо от действия на теломеры, повышает пролиферацию клеток и/или устойчивость к апоптозу, участвует в исправлении повреждений ДНК и в реакции РНК-зависимой РНК-полимеразы [19]. В дополнение к этому, TERT может связываться с хроматином на множественных сайтах, расположенных по всей длине хромосом, а не только с теломерами [18].

Индукция неоангиогенеза

Опухолям, как и нормальным тканям для жизни, необходимы питательные вещества и кислород, а также удаление продуктов метаболизма и углекислого газа. Этим потребностям отвечает неоваскуляризация, образование сети новых кровеносных сосудов в опухоли. В эмбриогенезе развитие сосудистой сети связано с образованием новых эндотелиальных клеток, их агрегацией в трубочки (васкулогенез), и образованием новых сосудов (ангиогенез). После такого морфогенеза нормальная сосудистая сеть приходит к состоянию покоя.

Во взрослом организме ангиогенез имеет место только временно, как часть физиологических процессов, например, при заживлении ран или женском репродуктивном цикле. Напротив, при прогрессии опухоли ангиогенез всегда активирован, стимулируя к образованию новых сосудов, что помогает поддерживать рост новообразования.

Убедительно показано, что ангиогенные регуляторы являются сигнальными белками, которые связываются

с рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток сосудов. Хорошо известны индукторы и ингибиторы ангиогенеза, такие как эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF-A) и тромбоспондин (TSP-1).

Ген *VEGF-A* кодирует лиганды, которые регулируют рост новых кровеносных сосудов в эмбриональном и постнатальном развитии, а у взрослых — гомеостатическую выживаемость эндотелиальных клеток при физиологических и патологических состояниях. Сигнальная молекула VEGF взаимодействует с тремя тирозинкиназными рецепторами (VEGFR-1, 2, 3), и это взаимодействие регулируется на многих уровнях. Экспрессия гена VEGF-A может повышаться как при гипоксии, так и при действии онкогенов [20]. Кроме того, VEGF-лиганды могут существовать в латентных формах во внеклеточном матриксе, которые активируются действием протеаз внеклеточного матрикса (например, MMP-9) [21]. Другие проангиогенные молекулы, члены семейства факторов роста фибробластов (FGF), связаны с поддержкой опухолевого ангиогенеза, если их экспрессия хронически повышена [22].

Сосуды внутри опухолей хронически активированы, но процессы ангиогенеза в опухолях отличны от нормальных тканей. При опухолевой неоваскуляризации отмечается ранний рост капилляров, изогнутость и избыточное ветвление сосудов, рыхлость, их деформация и увеличение, неустойчивый кровоток, микрокровотечения, необычный уровень пролиферации эндотелиальных клеток и их апоптоз [23].

При многоступенчатом развитии инвазивного рака ангиогенез индуцируется рано как на модельных животных, так и у людей. При гистологическом анализе предопухолевых неинвазивных повреждений, включая дисплазии, а также при карциномах *in situ*, обнаруживают раннее нарушение ангиогенеза [24].

При активации ангиогенеза в опухолях характер неоваскуляризации может быть различный. В некоторых опухолях, например, в протоковых аденокарциномах поджелудочной железы, новых сосудов образуется мало, в них много стромальных участков, в которых отсутствуют сосуды, а другие опухоли, включая опухоли почек, высоко ангиогенны и, следовательно, в них развита плотная сосудистая сеть [25].

Большинство регуляторов ангиогенеза — это белки, которые образуются в результате протеолитического расщепления других структурных белков, не относящихся к ангиогенезу. Некоторые из эндогенных ингибиторов ангиогенеза могут быть обнаружены в крови нормальных людей и животных. Удаление генов, кодирующих некоторые эндогенные ингибиторы ангиогенеза, не оказывает физиологического влияния, как показано на соответствующих модельных животных, однако, как следствие, усиливает рост аутогенных и имплантированных опухолей [26]. Наоборот, если уровень циркулирующих эндогенных ингибиторов у трансгенных мышшей увеличивался, рост опухоли замедлялся [26].

В настоящее время ясно, что почти весь спектр клеток, источником которых является костный мозг, играет решающую роль в развитии патологического ангиогенеза [27]. Клетки иммунной системы, макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки и предшественники миелоидных клеток инфильтрируют предопухолевые образования и прогрессирующие опухоли и располагаются на границе этих поражений. Окружающие опухоль воспалительные клетки запускают ангиогенез в тканях, ранее находившихся в покое, а

также поддерживают постоянный ангиогенез, связанный с ростом опухоли, чем способствуют локальной инвазии. Кроме того, они могут способствовать защите сосудистой сети от действия лекарств, мишенью которых являются эндотелиальные сигнальные клетки [28].

Сосудистая сеть опухолей испытывает значительный недостаток в перичитах, которые выполняют важную механическую и физиологическую роль для эндотелиальных клеток в сосудистой сети нормальных тканей.

Активация инвазии и метастазирования

До недавнего времени механизмы инвазии и метастазирования понимали недостаточно. Было ясно, что карциномы прогрессируют в патологически высокую степень злокачественности, что отражается в локальной инвазии и отдаленных метастазах, а опухолевые клетки со временем обычно не только изменяют свою форму, но и теряют связь с другими клетками и внеклеточным матриксом. Такие изменения видны при потере клетками опухоли E-кадгерина, ключевой молекулы клеточной адгезии. С помощью E-кадгерина формируются плотные контакты между эпителиальными клетками, что обуславливает образование слоев и неподвижность клеток внутри этих слоев. Показано, что повышенная экспрессия E-кадгерина является антагонистом инвазии и метастазирования, в то время как снижение его экспрессии способствует приобретению этих фенотипов. Часто наблюдаемое подавление активности E-кадгерина и его случайная инактивация в карциномах человека убедительно доказывает роль E-кадгерина как ключевого супрессора инвазии и метастазирования [29].

Кроме того, в высоко агрессивных опухолях изменяется экспрессия генов, кодирующих молекулы адгезии между клетками, а также между клетками и матриксом. Экспрессия адгезионных белков, обеспечивающих плотный контакт между эпителиальными клетками, значительно снижается, в то же время уровень молекул адгезии, стимулирующих миграцию клеток в эмбриогенезе и при воспалении, напротив, повышается. При снижении экспрессии E-кадгерина повышается уровень N-кадгерина, который в норме экспрессируется в мигрирующих нейронах и мезенхимальных клетках при органогенезе.

Многоступенчатый процесс инвазии и метастазирования, который часто называют каскадом инвазии/метастазирования, можно представить как последовательность отдельных этапов. Сначала происходят клеточно-биологические изменения, связанные с локальной инвазией. Затем следует инвазия опухолевых клеток в соседние кровяные и лимфатические сосуды. После переноса клеток лимфатической и кровеносной системой в отдаленные районы происходит выход опухолевых клеток из сосудов в паренхиму удаленных тканей (экстравазация) и формирование микрометастазов. И, наконец, рост микрометастазов в макроскопические опухоли, эта последняя стадия называется «колонизацией».

За последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в понимании сложных механизмов инвазии и метастазирования опухолей, идентифицированы регулирующие их гены. Это стало возможным благодаря разработке и внедрению современных методов молекулярно-биологических исследований и улучшению экспериментальных моделей.

Основным регулятором инвазии и метастазирования сегодня считается механизм эпителиально-мезенхималь-

ного перехода (ЭМП). Исследования механизма ЭМП тесно связаны с изучением трансформированных эпителиальных клеток, которые приобретают способность к инвазии, резистентность к апоптозу и диссеминации [30]. Наряду с его участием в процессах, связанных с разными стадиями эмбрионального морфогенеза и заживлением ран, которые необходимы для нормального функционирования организма, клетки могут приобретать злокачественные свойства, способствующие инвазии и метастазированию. Механизм ЭМП может активироваться, как кратковременно, так и на продолжительное время, в зависимости от степени инвазии и метастазирования раковых клеток.

ЭМП и родственные процессы миграции при эмбриогенезе регулируют ряд совместно действующих транскрипционных факторов, в числе которых Snail, Slug, Twist и Zeb1/2. Эти транскрипционные регуляторы экспрессируются в различных типах злокачественных опухолей. В экспериментальных моделях формирования карциномы показана их значимость для механизма инвазии, а при метастазах обнаружена эктопическая гиперэкспрессия некоторых из них [31]. Эти транскрипционные факторы вызывают ряд биологических изменений, к которым относятся потеря адгезионных контактов, изменение морфологической формы клетки из полигональной/эпителиальной в веретенообразную/фибробластическую форму, экспрессия ферментов, разрушающих внеклеточный матрикс, повышение подвижности клетки и резистентность к апоптозу. Все эти процессы характерны для опухолевой инвазии и метастазирования. Некоторые из этих транскрипционных факторов могут прямо подавлять экспрессию гена E-кадгерина, тем самым лишая неопластические эпителиальные клетки этого ключевого супрессора подвижности и инвазивности [32].

Также показано, что ослабленное взаимодействие опухолевых клеток со стромальными клетками, может индуцировать экспрессию фенотипов злокачественных клеток, которые, как известно, регулируются этими, одним или более, транскрипционными факторами [33]. Опухолевые клетки, расположенные на инвазивных краях карцином, могут в большей степени подвергаться действию механизма ЭМП. Вероятно, эти клетки испытывают влияния микроокружения, которые отличаются от стимулов, действующих на клетки, расположенные в глубине этих новообразований.

Становится все более очевидным, что взаимосвязь между злокачественными клетками и клетками стромы обуславливает приобретение способности к инвазивному росту и метастазированию [27]. Сигнальный механизм может действовать как на одни, так и другие клетки и изменять их специфические свойства. Например, мезенхимальные стволовые клетки, которые присутствуют в стромах опухоли, могут секретировать CCL5/RANTES в ответ на сигналы клеток опухоли, а CCL5, в свою очередь, действует на раковые клетки, стимулируя инвазивное поведение последних [33].

Макрофаги периферии опухоли могут способствовать локальной инвазии, активируя металлопротеиназы и цистеин-катепсиновые протеазы — ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс [26].

На экспериментальной модели метастазирующего рака молочной железы показано, что ассоциированные с опухолью макрофаги обеспечивают злокачественные клетки молочной железы эпидермальным фактором роста (EGF),

а те, в свою очередь, стимулируют макрофаги. Такое взаимодействие опухолевых клеток и макрофагов приводит к попаданию клеток опухоли в циркулирующую систему и их последующей метастатической диссеминации [27].

До сих пор неизвестно, нужны ли дополнительные мутации в клетках опухоли, для того чтобы преодолеть большинство стадий каскада инвазии-метастазирования, или для этого достаточно тех мутаций, которые были необходимы для образования первичной опухоли.

Пластичность программы инвазивного роста

Клетки, диссеминированные из первичной опухоли в отдаленную ткань, больше не получают поддержку от активированной стромы. При отсутствии сигналов, индуцируемых инвазией/ЭМП, на новом месте опухолевые клетки могут переходить в неинвазивное состояние. Клетки, которые подверглись воздействию ЭМП в начальной стадии инвазии и метастатической диссеминации, могут подвергаться обратному процессу, который назван *мезенхимально-эпителиальным переходом* (МЭП). Такая пластичность приводит к образованию новых колоний опухолевых клеток, которые имеют гистопатологические свойства, сходные с клетками первичной опухоли, которые не подвергались действию ЭМП [34]. Возможно, представление, что все клетки опухоли обычно проходят через все стадии ЭМП, является упрощенным. Напротив, во многих случаях, они могут проходить стадии механизма ЭМП только частично, тем самым приобретая новые мезенхимальные свойства, хотя эпителиальные черты полностью не исчезают.

Нужно отметить, что механизм ЭМП регулирует только определенный тип инвазии, который назван *мезенхимальным*. Однако в инвазии злокачественных клеток идентифицированы две другие формы инвазии [35]. *Общая инвазия* представляет собой массовое распространение опухолевых клеток в окружающие ткани, что характерно, например, для клеток сквамозной карциномы. Такие опухоли редко метастазируют, вероятно, при этой форме инвазии отсутствуют определенные функциональные признаки, облегчающие метастазирование. Другая форма инвазии называется *амебодной формой* [36]. При этой форме у отдельных клеток наблюдается морфологическая пластичность, позволяющая проникать через промежутки в экстрацеллюлярном матриксе, а не просто расчищать путь для себя, как при мезенхимальных и общих формах инвазии. В настоящее время не понятно, являются ли эти механизмы независимыми, или компоненты механизма ЭМП участвуют в общей или амебодной формах инвазии раковых клеток.

Обсуждается и другое предположение, что инвазию опухолевых клеток облегчают воспалительные клетки, которые собираются на границах опухолей и вырабатывают факторы, разрушающие экстрацеллюлярный матрикс и индуцирующие инвазивный рост [21, 27].

Сложность процессов метастатической колонизации

Процесс метастазирования можно разделить на две основные фазы: *диссеминация* клеток от первичной опухоли к отдаленным тканям, и *адаптация* этих клеток микроокружению чужой ткани, результатом которой является рост микрометастазов в макроскопические опухоли.

Многие этапы диссеминации, по-видимому, являются частью механизмов ЭМП и сходным образом действующих

механизмов миграции. Колонизация клеток не всегда связана с диссеминацией, о чем свидетельствует наличие у пациентов множественных микрометастазов, которые успешно диссеминированы, но никогда не прогрессируют в макроскопические метастатические опухоли [37].

Показано, что при некоторых типах рака первичная опухоль может постоянно секретировать сдерживающие факторы супрессии, которые переводят такие микрометастазы в состояние покоя. Для таких опухолей клинически показан взрывной рост метастазов вскоре после резекции первичной опухоли. Однако в других случаях, таких как рак молочной железы и меланома, макроскопические метастазы могут активироваться через десятилетия после хирургического удаления или фармакологического разрушения первичной опухоли. Рост таких метастатических опухолей, очевидно, обусловлен находящимися в покое метастазами, которые активизируются после преодоления множества проблем, связанных с колонизацией ткани.

Из приведенных биологических данных можно заключить, что у микрометастазов могут отсутствовать специфические признаки, которые необходимы для интенсивного роста, как и способность к активации ангиогенеза. Неспособность определенных, экспериментально созданных, «молчащих» микрометастазов образовывать макроскопические опухоли объясняют их неспособностью активировать опухолевый ангиогенез [38]. Недавно показано, что голодание может стимулировать интенсивную аутофагию, которая приводит к тому, что раковые клетки сжимаются и переходят с состояния обратимого покоя. Если изменяется тканевое микроокружение и повышается доступ питательных веществ, то такие клетки могут выходить из этого состояния и возобновлять активный рост и пролиферацию [39]. Другие механизмы микрометастатического состояния покоя могут быть связаны с антиростовыми сигналами, которые вырабатываются внеклеточным матриксом нормальных тканей и супрессорным действием иммунной системы [38].

Большинство диссеминированных раковых клеток, вероятно, плохо приспособляются к микроокружению тканей, в которые они попали. Следовательно, каждому типу диссеминированных опухолевых клеток необходимо решать проблемы ассимиляции в микроокружении чужеродной ткани. Для такой адаптации необходимы различные программы колонизации, и каждая программа зависит от типа диссеминированной клетки и от природы микроокружения.

Метастатическую диссеминацию долго представляли как последнюю стадию многоступенчатой прогрессии первичной опухоли. Однако, недавние исследования человека и модельных животных показали, что опухолевые клетки могут диссеминировать на ранних стадиях [40]. Микрометастазы также могут распространяться из первичной опухоли, которая еще не является инвазивной, но уже лишена целостности сосудов. Хотя раковые клетки могут свободно диссеминировать при начальных стадиях опухолевого процесса и обсеменять костный мозг и другие ткани, их способность к колонизации этих тканей и развитию в макрометастазы остается недоказанной.

Вне зависимости от времени диссеминации, остается неясным, на каком этапе у опухолевых клеток развивается способность к колонизации чужеродных тканей для превращения их в макроскопические опухоли. Эта способность может возникать как результат специфического пути развития опухоли, при которой клетки первичной

опухоли, входящие в кровоток, случайно приобретают способность колонизировать участки удаленной ткани [37]. Или же способность к колонизации специфичных тканей развивается в ответ на селективное влияние на уже диссеминированные раковые клетки, чтобы приспособить их к росту в микроокружении чужеродной ткани. Одна из гипотез, широко обсуждаемых в последнее время, гипотеза «метастатической ниши». Предполагается, что часть диссеминированных клеток, попадая в другую ткань, способна сформировать метастатическую нишу, которая затем послужит источником колонизации. Диссеминированная опухолевая клетка, попадая в чужеродную ткань, изменяет свое микроокружение, приспособивая его к потребностям будущей опухоли, перестраивая белковый спектр и формируя стромальные клеточные взаимодействия. Вероятно, не все опухолевые клетки имеют способность к формированию подобной ниши, поэтому не все диссеминированные клетки способны к образованию макрометастазов [41].

Показано, что клетки в метастатических колониях могут диссеминировать далее не только в новые участки тела, но и возвращаться в первичные опухоли. Следовательно, программы тканевой колонизации, которые имеют место между клетками внутри первичной опухоли, могут также инициировать возврат диссеминированных клеток. Такое повторное обсеменение показано для метастазов рака поджелудочной железы человека [42].

Из этого процесса самообсеменения возникает сообщение, что поддерживающая строма первичной опухоли, которая способствует приобретению злокачественных черт, может сама обеспечить соответствующее место в ткани для обратного обсеменения и колонизации циркулирующими раковыми клетками из метастатических очагов поражения.

Следовательно, для колонизации почти наверняка требуется образование соответствующего микроокружения опухоли, которое состоит из важных поддерживающих стромальных клеток. По этой причине процесс колонизации, вероятно, охватывает большое число клеточно-биологических процессов, которые все вместе значительно более сложны и разнообразны, чем предыдущие стадии метастатической диссеминации.

Генетическая нестабильность опухолевых клеток

Все свойства опухолевой клетки зависят от изменений в ее геноме. Мутантные генотипы предоставляют выборочные преимущества субклонам опухолевых клеток, способствуют их росту и доминированию среди других субклонов. Соответственно, многоступенчатую прогрессию опухоли можно представить как следствие клональной экспансии, каждая из которых запускается случайным образом, в результате полученной мутации. Наследуемые фенотипы, например, инактивация генов супрессоров опухоли, могут появляться и через эпигенетические механизмы, такие как метилирование ДНК и модификации гистонов [1].

Факт, что в норме частоты спонтанных мутаций в каждом поколении клеток низкие, объясняется свойством обнаруживать и устранять дефекты ДНК, что поддерживает целостность генома. Для получения большего количества мутаций в генах, необходимых для обеспечения канцерогенеза, частота мутаций в злокачественных клетках повышена [43]. Способность к накоплению мутаций достигается

благодаря увеличению чувствительности к мутагенам или в результате повреждения системы стабильности генома. Накопление мутаций ускоряется при нарушении системы контроля, которая в норме отвечает за целостность генома и стимулирует генетически поврежденные клетки к физиологическому старению и апоптозу [44]. При этом роль гена-супрессора *TP53* считается центральной, из-за чего он назван «стражем генома».

Известен целый ряд генов, отвечающих за стабильность ДНК [45]. У генов, контролирующих стабильность генома, функции довольно разнообразны, они связаны:

- 1) с обнаружением поврежденных ДНК и активацией системы репарации;
- 2) с непосредственным восстановлением поврежденной ДНК;
- 3) с инактивацией или блокированием мутагенных молекул до повреждения ДНК [43].

С точки зрения генетики эти гены ведут себя как гены-супрессоры опухоли, они теряют свои функции по мере прогрессии опухоли, и эти потери связаны с инактивирующими мутациями или с эпигенетической репрессией. Введение этих мутантных генов в мышинные модели приводило к повышению случаев развития опухолей, что подтверждает потенциальные возможности этого механизма [46].

Как отмечалось, потеря теломерной ДНК в опухоли приводит к развитию нестабильности кариотипа и появлению хромосомных перестроек. С этой точки зрения фермент теломеразу, которая сохраняет целостность теломерной ДНК, можно рассматривать не только как инструмент неограниченного потенциала для репликации, но и с точки зрения генов, которые обеспечивают целостность генома.

Успехи в молекулярно-генетическом анализе генома злокачественных клеток дали возможность убедительно показать возникновение мутаций и геномной нестабильности при прогрессировании опухоли. При использовании сравнительной геномной гибридизации, показаны численные и структурные изменения большого числа генов и хромосомных фрагментов в геноме опухолевой клетки. Эти многочисленные нарушения четко указывают на отсутствие контроля над геномной целостностью, а также на то, что измененные участки генома содержат гены, изменения которых способствуют неопластической прогрессии [47]. Повторяющиеся генетические изменения в определенном типе опухоли могут указывать на роль конкретных мутаций как причину опухолевого роста.

Воспаление, стимулирующее опухоль

Некоторые опухоли инфильтрированы иммунными клетками и демонстрируют присутствие воспаления, которое возникает в нормальных тканях. С появлением маркеров для точной идентификации различных типов клеток иммунной системы, стало ясно, что почти каждое неопластическое образование содержит иммунные клетки, которые имеют различную плотность, от едва различимой инфильтрации до крупного воспаления [48]. Сначала полагали, что таким образом иммунная система воздействует на опухоль, с целью ее удаления, и действительно имеется ряд данных, которые указывают на противоопухолевый ответ.

В 2000-х годах впервые предположили, что связанное с опухолью воспаление усиливает опухолеобразование и прогрессию. В последующее десятилетие интенсивные

исследования связей между воспалением и канцерогенезом убедительно показали стимуляцию опухоли иммунными клетками и неопластическую прогрессию [27].

Воспаление играет большую роль в опухолевом развитии. При его участии происходит выработка биологически активных молекул в опухолевом микроокружении, включая факторы роста, которые поддерживают пролиферацию. Воспаление активирует факторы выживания, проангиогенные факторы, ферменты, модифицирующие клеточный матрикс и способствующие ангиогенезу, инвазии и метастазированию, а также индуктивные сигналы, которые активируют ЭМП [27].

Воспаление обнаруживается на ранних стадиях неопластической прогрессии и, очевидно, способствует развитию зарождающейся неоплазии в полноценный рак [27]. Воспалительные клетки могут выделять активные формы кислорода, которые являются сильными мутагенами для близлежащих клеток, что ускоряет их генетическую трансформацию в состояние повышенной злокачественности [49].

Перепрограммирование энергетического метаболизма

При хронической и часто неконтролируемой пролиферации клеток происходит также и перестройка энергетического метаболизма для питания клеток в процессе роста и деления. В аэробных условиях нормальные клетки превращают глюкозу вначале в пируват в ходе гликолиза, а потом, в митохондриях, пируват — в углекислый газ. В анаэробных условиях гликолизу отдается предпочтение, и в митохондрии поступает недостаточно пирувата. Отто Варбург первым описал аномальные характеристики энергетического метаболизма раковых клеток. Он отметил, что даже в присутствии кислорода опухолевые клетки изменяют метаболизм глюкозы, и выработка ими энергии ограничивается, в основном, гликолизом, что приводит к состоянию клеток, которое называется «аэробный гликолиз».

Показано, что снабжение энергией в результате гликолиза связано с активацией онкогенов *RAS*, *MYC* и мутацией в гене-супрессоре *TP53*, что приводит клетку к отклонению от цитостатического контроля и ослаблению апоптоза [50]. Условия гипоксии, которые имеют место внутри многих опухолей, усиливают преимущество гликолиза. В ответ на гипоксию система повышает уровень переносчиков глюкозы и многих ферментов гликолитического пути [50]. Кроме того, гипоксия и активация онкогена *Ras* могут независимо повышать уровни транскрипционных факторов, индуцированных гипоксией, *HIF1 α* и *HIF2 α* , которые, в свою очередь, усиливают гликолиз [51].

Доказано, что измененный энергетический метаболизм широко распространен в раковых клетках.

Уклонение от разрушения иммунной системой

По давно принятой теории иммунного контроля предполагается, что клетки и ткани постоянно тестируются иммунной системой, и такой контроль позволяет распознавать и устранять подавляющее большинство зарождающихся раковых клеток и, следовательно, возникающих опухолей.

Таким образом, очевидно, солидные опухоли каким-то образом смогли избежать обнаружения иммунной системой или уклоняются от уничтожения.

Роль иммунного контроля опухолей, подтверждается увеличением частоты некоторых типов рака у лиц с нару-

шениями иммунной системы. В последние годы, появляется больше данных, полученных как на генетически модифицированных мышах, так и из клинической эпидемиологии, которые позволяют предположить, что иммунная система является значительным барьером для формирования и прогрессирования опухолей, по крайней мере, для некоторых форм рака, не индуцированных вирусами.

Если мышей с дефицитом разных компонентов иммунной системы оценивали по развитию индуцированных опухолей, то оказалось, что у иммунодефицитных мышей опухоли вырастали чаще и/или росли быстрее по сравнению с иммунокомпетентными мышами.

В частности, недостатки в развитии функций цитотоксических Т-лимфоцитов CD8⁺ (ЦТЛ), хелперных Т-клеток CD4⁺Th1 или клеток натуральных киллеров (NK) приводили к заметному повышению опухолей в каждом случае. Более того, мыши с комбинированным иммунным дефицитом по Т- и NK-клеткам были еще более восприимчивы к развитию рака. Эти результаты показывают, по крайней мере, в экспериментальных моделях, что как врожденный, так и приобретенный статус иммунной системы имеет принципиальное значение для иммунного контроля и, следовательно, для уничтожения опухоли.

Опыты по трансплантации показали, что опухолевые клетки, которые первоначально выросли в организме иммунодефицитных мышей, не вызывают опухолей при пересадке в организм иммунокомпетентных хозяев. В то же время раковые клетки из опухолей, выросших в организме иммунокомпетентных мышей, одинаково эффективно инициируют трансплантированные опухоли в организме обоих типов мышей [52]. Это можно объяснить тем, что высокоиммуногенные клоны раковых клеток обычно сразу элиминируются в организме иммунокомпетентных хозяев в процессе, который называют «иммунным редактированием». Оставшиеся типы клеток являются слабо иммуногенными, поэтому они растут и образуют солидные опухоли у иммунодефицитных и иммунокомпетентных животных.

Клиническая эпидемиология также поддерживает факт наличия антиопухолевого иммунного ответа при некоторых формах опухолей человека [53]. Например, пациенты с опухолями ободочной кишки и яичников, которые были усиленно инфильтрированы иммунными клетками, ЦТЛ и NK, имели лучший прогноз, чем пациенты, у которых не было такого избытка лимфоцитов-киллеров [48]. Кроме того, показано, что в иммуносупрессированных трансплантированных органах у реципиентов развиваются злокачественные опухоли донорского происхождения. Это позволяет предположить, что свободные от опухолей доноры имеют опухолевые клетки, которые находятся под контролем иммунной системы, в инертном состоянии [54].

Тем не менее, как было отмечено выше, у пациентов с хронической иммуносупрессией не обнаруживается значительного увеличения случаев основных невирусных форм рака человека.

На самом деле, обсуждение иммунологии рака сводится к упрощенному иммунологическому взаимодействию опухоль—хозяин, поскольку высокоиммуногенные раковые клетки могут успешно уклоняться от иммунного разрушения, блокируя компоненты иммунной системы, которые предназначены для их уничтожения. Например, раковые клетки могут парализовать инфильтрацию ЦТЛ и NK клеток, вырабатывая TGF- β или другие факторы иммуносупрессии [55]. Более тонкие механизмы действуют при активации воспалительных

клеток — активных иммуносупрессоров, к которым относятся регуляторные Т-клетки и клетки-супрессоры миелоидного происхождения. И те, и другие могут супрессировать действие цитотоксических лимфоцитов [56].

Приведенные рассуждения и доказательства того, что противоопухолевый иммунитет является барьером для формирования опухоли и ее прогрессии у людей, дают основание полагать, что уклонение от иммунного действия является еще одним отличительным признаком опухолей.

Заключение

Приведенные в этой статье, а также в работах других авторов [57, 58] механизмы, способствующие опухолевому росту, не считаются окончательными. Достижения молекулярной онкологии последних лет позволяют выявить и оценить эти механизмы, но многое еще остается неясным. Понятно, что генетические и эпигенетические изменения генома, которые лежат в основе злокачественной трансформации клетки, генетически детерминируют изменение процессов ее жизнедеятельности. Однако современные открытия новых эпигенетических регуляторов экспрессии генов в нормальной и опухолевой клетке позволяют говорить о появлении новых механизмов злокачественной трансформации клетки.

Список литературы

- Berdasco M., Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: How cellular identity goes awry // *Dev. Cell.* — 2010. — Vol. 19. — P. 698–711.
- Davies M.A., Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma // *Oncogene.* — 2010. — Vol. 29. — P. 5545–5555.
- Jiang B.H., Liu L.Z. PI3K/PTEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis // *Adv. Cancer Res.* — 2009. — Vol. 102. — P. 19–65.
- Sudarsanam S., Johnson D.E. Functional consequences of mTOR inhibition // *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* — 2010. — Vol. 13. — P. 31–40.
- Collado M., Serrano M. Senescence in tumours: evidence from mice and humans // *Nat. Rev. Cancer.* — 2010. — Vol. 10. — P. 51–57.
- Burkhardt D.L., Sage J. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene // *Nat. Rev. Cancer.* — 2008. — Vol. 8. — P. 671–682.
- Lipinski M.M., Jacks T. The retinoblastoma gene family in differentiation and development // *Oncogene.* — 1999. — Vol. 18. — P. 7873–7882.
- Ghebranian N., Donehower L.A. Mouse models in tumor suppression // *Oncogene.* — 1998. — Vol. 17. — P. 3385–3400.
- Curto M., Cole B.K., Lallemand D. et al. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin // *J. Cell Biol.* — 2007. — Vol. 177. — P. 893–903.
- Partanen J.I., Nieminen A.I., Klefstrom J. 3D view to tumor suppression: Lkb1, polarity and the arrest of oncogenic c-Myc // *Cell Cycle.* — 2009. — Vol. 8. — P. 716–724.
- Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy // *Oncogene.* — 2007. — Vol. 26. — P. 1324–1337.
- Junttila M.R., Evan G.I. p53—a Jack of all trades but master of none // *Nat. Rev. Cancer.* — 2009. — Vol. 9. — P. 821–829.
- Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease // *Cell.* — 2010. — Vol. 132. — P. 27–42.
- Galluzzi L., Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis // *Cell.* — 2008. — Vol. 135. — P. 1161–1163.
- Blasco M.A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond // *Nat. Rev. Genet.* — 2005. — Vol. 6. — P. 611–622.
- Kawai T., Hiroi S., Nakanishi K., Meeker A.K. Telomere length and telomerase expression in atypical adenomatous hyperplasia and small bronchioloalveolar carcinoma of the lung // *Am. J. Clin. Pathol.* — 2007. — Vol. 127. — P. 254–262.
- Raynaud C.M., Hernandez J., Llorca F.P. et al. Nucleofore. DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer // *Am. J. Clin. Oncol.* — 2010. — Vol. 33. — P. 341–345.
- Park J.I., Venteicher A.S., Hong J.Y., Choi et al. Telomerase modulates Wnt signalling by association with target gene chromatin // *Nature.* — 2009. — Vol. 460. — P. 66–72.
- Maida Y., Yasukawa M., Furuchi M., Lassmann T. et al. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA // *Nature.* — 2009. — Vol. 461. — P. 230–235.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2009. — Vol. 29. — P. 789–791.
- Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment // *Cell.* — 2010. — Vol. 141. — P. 52–67.
- Baeriswyl V., Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis // *Semin. Cancer Biol.* — 2009. — Vol. 19. — P. 329–337.
- Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C. et al. Heterogeneity of the tumor vasculature // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2010. — Vol. 36. — P. 321–331.
- Raica M., Cimpean A.M., Ribatti D. Angiogenesis in pre-malignant conditions // *Eur. J. Cancer.* — 2009. — Vol. 45. — P. 1924–1934.
- Zee Y.K., O'Connor J.P., Parker G.J., Jackson A., Clamp A.R., Taylor M.B., Clarke N.W., Jayson G.C. Imaging angiogenesis of genitourinary tumors // *Nat. Rev. Urol.* — 2010. — Vol. 7. — P. 69–82.
- Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review // *Leuk. Res.* — 2009. — Vol. 33. — P. 638–644.
- Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis // *Cell.* — 2010. — Vol. 141. — P. 39–51.
- Ferrara N. Pathways mediating VEGF-independent tumor angiogenesis // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 2010. — Vol. 21. — P. 21–26.
- Berx G., van Roy F. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* — 2009. — Vol. 1. — P. a003129.
- Polyak K., Weinberg R.A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits // *Nat. Rev. Cancer.* — 2009. — Vol. 9. — P. 265–273.
- Taube J.H., Herschkowitz J.I., Komurov K. et al. Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin-low and metaplastic breast cancer subtypes // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2010. — Vol. 107. — P. 15449–15454.
- Peinado H., Marin F., Cubillo E. et al. Snail and E47 repressors of E-cadherin induce distinct invasive and angiogenic properties in vivo // *J. Cell Sci.* — 2004. — Vol. 117. — P. 2827–2839.
- Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P. et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis // *Nature.* — 2007. — Vol. 449. — P. 557–563.
- Hugo H., Ackland M.L., Blick T. et al. Epithelial-mesenchymal and mesenchymal-epithelial transitions in carcinoma progression // *J. Cell. Physiol.* — 2007. — Vol. 213. — P. 374–383.
- Friedl P., Wolf K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model // *J. Cell Biol.* — 2010. — Vol. 188. — P. 11–19.
- Madsen C.D., Sahai E. Cancer dissemination—Lessons from leukocytes // *Dev. Cell.* — 2010. — Vol. 19. — P. 13–26.
- Talmadge J.E., Fidler I.J. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective // *Cancer Res.* — 2010. — Vol. 70. — P. 5649–5669.
- Aguirre-Ghiso J.A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy // *Nat. Rev. Cancer.* — 2007. — Vol. 7. — P. 834–846.
- Kenific C.M., Thorburn A., Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 2010. — Vol. 22. — P. 241–245.
- Coghlin C., Murray G.I. Current and emerging concepts in tumour metastasis // *J. Pathol.* — 2010. — Vol. 222. — P. 1–15.
- Sleeman J.P. The metastatic niche and stromal progression // *Cancer Metastasis Rev.* — 2012. — Vol. 31. — P. 429–440.
- Yachida S., Jones S., Bozic I. et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer // *Nature.* — 2010. — Vol. 467. — P. 1114–1117.
- Negrini S., Gorgoulis V.G., Halazonetis T.D. Genomic instability — an evolving hallmark of cancer // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* — 2010. — Vol. 11. — P. 220–228.
- Jackson S.P., Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease // *Nature.* — 2009. — Vol. 461. — P. 1071–1078.
- Kinzler K.W., Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers // *Nature.* — 1997. — Vol. 386. — P. 761–763.
- Barnes D.E., Lindahl T. Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells // *Ann. Rev. Genet.* — 2004. — Vol. 38. — P. 445–476.
- Korkola J., Gray J.W. Breast cancer genomes — form and function // *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 2010. — Vol. 20. — P. 4–14.

48. Pages F., Galon J., Dieu-Nosjean M.C. et al. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored // *Oncogene*. — 2010. — Vol. 29. — P. 1093–1102.

49. Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M. Immunity, inflammation, and cancer // *Cell*. — 2010. — Vol. 140. — P. 883–899.

50. Jones R.G., Thompson C.B. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth // *Genes Dev*. — 2009. — Vol. 23. — P. 537–548.

51. Semenza G.L. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate // *J. Clin. Invest*. — 2008. — Vol. 118. — P. 3835–3837.

52. Teng M.W.L., Swann J.B., Koebel C.M. et al. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer // *J. Leukoc. Biol*. — 2008. — Vol. 84. — P. 988–993.

53. Bindea G., Mlecnik B., Fridman et al. Natural immunity to cancer in humans // *Curr. Opin. Immunol*. — 2010. — Vol. 22. — P. 215–222.

54. Strauss D.C., Thomas J.M. Transmission of donor melanoma by organ transplantation // *Lancet Oncol*. — 2010. — Vol. 11. — P. 790–796.

55. Yang L., Pang Y., Moses H.L. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression // *Trends Immunol*. — 2010. — Vol. 31. — P. 220–227.

56. Mouggiakakos D., Choudhury A., Lladser A. et al. Regulatory T cells in cancer // *Adv. Cancer Res*. — 2010. — Vol. 107. — P. 57–117.

57. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. The next generation // *Cell*. — 2011. — Vol. 144, №4. — P. 646–674.

58. Кушлинский Н.Е., Гершейн Е.С. Матриксные металлопротеиназы и компоненты системы активации плазминогена в патогенезе и клиническом течении рака толстой кишки // *Патогенез*. — 2013. — №3. — С. 4–12.

Поступила 13.11.2013

Molecular mechanisms of tumor growth

Kushlinskii N.E.¹, Nemtsova M.V.²

¹ — N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center.

Moscow, Kashirskoye Shosse, 24; e-mail: biochimia@mtu-net.ru

² — Russian Medical Academy of Postgraduate Education,

123995, Moscow, Barrikadnaya Str., 2/1

Formation of properties promoting malignant transformation occurs even before the appearance of tumor cells at the level of inflammatory and precancerous processes. And the background of this formation is tumor cell's genomic instability. Genetic instability manifests itself both in genetic structural changes that can be described as mutational process, and in epigenetic disturbances. Epigenetic changes are associated with DNA methylation, histone and chromatin modification, appearance of new RNA molecules, and determine specific regulation and expression of genes in tumor area. As a result of genetic instability, mechanisms promoting malignant transformation of cells and tumor growth are formed and functioning. One of the main mechanisms is the ability to maintain chronic proliferation. Signaling system is changed in the tumor, and stimulation of cell growth and division occurs in the absence of external signals. Investigations of tumor cell's genome demonstrated that somatic mutations do contribute to the activation of signaling systems. Tumor suppressor genes are the central regulators of cellular control and are associated with the activation of physiological aging and apoptosis program. Mechanisms allowing to ignore cellular proliferation suppression systems by suppressor genes do exist in tumor cells. Programmed cell death — apoptosis — acts as a natural barrier for tumor development. Tumor cells employ various opportunities for restricting and overcoming apoptosis, and several strategies employed by tumor cells for avoiding apoptosis are known. Unlimited replication potential is necessary for malignant cells in order to obtain cell number adequate for macroscopic tumor formation. This feature distinguishes them from normal cells that have limited number of division cycles. Decrease of telomeres length is the mechanism that restricts the replicative potential of normal cells and is disturbed in tumor cells. Another mechanism promoting tumor growth is neovascularization — formation of new blood vessels. In the course of tumor progression angiogenesis is always activated, and new blood vessels are formed that help to maintain the neoplasm's growth. Tumors are transformed to pathologically high malignancy grade that is reflected in local invasion and distant metastasis. In time course tumor cells usually not only change their shape, but also lose the connection with other cells and extracellular matrix. As a result, multistep process of invasion and metastasizing often called invasion/metastasizing cascade arises. In the last years significant progress was achieved in the understanding of complicated invasion and metastasizing mechanisms, and genes regulating these processes were identified. The mechanism of epithelial-mesenchymal transition associated with epithelial cells transformation and acquiring of ability to invasion, apoptosis resistance and dissemination is now regarded to be one of the main regulators of invasion and metastasizing. Metastasizing process has two main phases: dissemination of cells to distant tissues, and adaptation of these cells to foreign tissue environment resulting in micrometastasis development to macroscopic tumors. In further decades intensive studies of the associations between inflammation and cancerogenesis revealed involvement of immune cells in neoplastic progression. Inflammation is found at early stages of neoplastic progression and apparently promotes the transition of incipient neoplasia to full-blown cancer. During chronic uncontrolled cell proliferation rearrangement of energetic metabolism for cell nutrition in the course of growth and division also occurs. The last years' achievements of molecular oncology allow to reveal and evaluate the mechanisms promoting malignant transformation and tumor growth described in this paper, though many aspects still remain unclear.

Key words: molecular mechanisms, tumor growth, proliferation, suppressor genes, apoptosis, telomere, epithelial-mesenchymal transition, invasion, metastasis, inflammation