

Н.Е. Кушлинский<sup>1</sup>, М.В. Немцова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Российская Федерация

## Молекулярно-биологические характеристики злокачественных новообразований

*В обзоре представлены основные и дополнительные признаки, отличающие опухолевую клетку от клетки нормальной ткани. Эти признаки включают в себя поддержание постоянной пролиферативной сигнализации, уклонение от действия опухолевых супрессоров, избегание апоптоза, увеличение времени жизни клетки, стимуляцию ангиогенеза, и активацию инвазии и метастазирования. Основу для формирования этих признаков предоставляет нестабильность опухолевого генома. Опухоли — это сложные ткани, которые состоят из различных типов клеток, взаимодействующих как друг с другом, так и с нормальными клетками. Важной характеристикой опухолевой клетки является способность к взаимодействию с клеточным микроокружением и формирование опухолевой стромы.*

**Ключевые слова:** сигнальные пути, нестабильность генома, пролиферация, апоптоз, ангиогенез, инвазия, метастазирование, опухолевое микроокружение, опухолевая строма.

(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 5–15)

На протяжении многих десятилетий и до настоящего времени исследователи пытаются выделить основные характеристики злокачественных новообразований, которые на клеточном и молекулярном уровне отличают опухолевые клетки от нормальных. К настоящему времени сформулированы основные и дополнительные признаки, однако эти характеристики изменяются и дополняются в результате значительного прогресса, достигнутого в последние годы в области экспериментальной онкологии, молекулярной генетики и биохимии.

Среди основных отличительных признаков, определяющих злокачественный рост, можно выделить:

- изменение сигнальной системы клетки для обеспечения постоянной пролиферации;
- снижение или полное отсутствие клеточного ответа на факторы, супрессирующие рост и деление;
- инактивацию апоптоза в клетке;
- приобретение клеткой свойств, увеличивающих время жизни;
- стимулирование неоангиогенеза;
- активацию в клетке инвазивных свойств и метастазирования.

Помимо основных отличий некоторые исследователи выделяют дополнительные признаки, характерные для опухолевого роста:

- генетическую нестабильность;
- изменение энергетического метаболизма для удовлетворения потребности в росте и делении;
- отсутствие иммунного контроля.

Все вышеуказанные признаки являются результатом нестабильности генома опухолевой клетки, которая формируется в течение времени и способствует приобретению этих признаков и их закреплению.

Появление свойств, которые в дальнейшем будут способствовать развитию опухоли, начинается задолго до образования опухолевых клеток, еще на уровне воспалительных и предопухолевых процессов. Нестабильность генома определяется не только генетическими изменениями, к которым можно отнести мутационный процесс, но и эпигенетическими нарушениями, связанными с метилированием ДНК, модификацией гистонов и хроматина, что определяет специфическую регуляцию и экспрессию генов в опухолевом поле.

При этом эпигенетические изменения участвуют в формировании как основных, так и дополнительных

5

N.E. Kushlinskii<sup>1</sup>, M.V. Nemtsova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation

## Molecular Biological Characteristics of Cancer

*The review presents the main and additional features that distinguish tumor cells from normal tissue cells. They include sustained proliferative signaling, evasion from growth suppressors, resisting cell death, enabling replicative immortality, angiogenesis induction, and invasion and metastasis activation. Basis for the formation of these features is provided by tumor genome instability. Tumors are complex tissues that consist of different cell types interacting with each other as well as with normal cells. An important characteristic of tumor cells is the ability to interact with the tumor microenvironment and the formation of tumor stroma.*

**Key words:** signaling pathways, genomic instability, proliferation, apoptosis, angiogenesis, invasion, metastasis, tumor microenvironment, tumor stroma.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 5–15)

отличительных признаков, определяющих злокачественный рост [1]. Однако функционально значимые эпигенетические изменения присущи не только опухолевым клеткам, но и клеткам стромы, связанным с опухолью. В настоящее время недостаточно четко определено место эпигенетических механизмов в приобретении отличительных признаков. Неизвестно, приведет их участие к существенным изменениям способов, благодаря которым формируются отличительные характеристики, или просто добавит дополнительную деталь в схему регуляции уже известных механизмов контроля.

Дополнительным признаком злокачественного новообразования, отличающим его от нормальной ткани, является способность формировать взаимодействие с «микросредой опухоли». Опухоли — сложные ткани, состоящие из различных типов клеток, взаимодействующих как друг с другом, так и с нормальными клетками, и формирующие опухольассоциированную 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 образуют внутриопухолевые клоны. Такого рода взаимодействия также способствуют возникновению и закреплению признаков злокачественности. Следовательно, опухоль больше не воспринимается как простое скопление злокачественных клеток, при этом важную роль в канцерогенезе играет вклад микросреды опухоли и клonalная гетерогенность.

В то же время некоторые исследователи считают, что основополагающими можно считать только первые 6 из указанных отличительных признаков опухоли, и эти признаки могут стать основой развития неопластических заболеваний [2].

### Изменение сигнальной системы опухолевой клетки для обеспечения ее постоянной пролиферации

Фундаментальной чертой опухолевых клеток является их способность поддерживать хроническую пролиферацию. В нормальных тканях процессы роста и клеточный цикл тщательно контролируются, что обеспечивает необходимое число клеток и соответствующую архитектуру ткани для обеспечения ее функции. В нормальной клетке стимуляция к делению осуществляется факторами роста, которые связываются с рецептором на поверхности клетки, имеющим 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 указанная сигнальная система нарушена, и стимуляция роста и деления клеток происходит при отсутствии внешних стимулов: опухоль сама становится «хозяйкой своей судьбы». При этом стимулирование 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 опухольассоциированной 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 содержания рецепторных белков, расположенных на их поверхности, что приводит такие клетки в гиперчувствительное состояние по отношению к фактору роста.

**В-третьих**, аналогичные последствия могут быть вызваны мутациями или перестройками в генах, кодирующих 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 индуцирует либо запуск системы вне зависимости от наличия ростового фактора, либо ее запуск при взаимодействии с неспецифическим лигандом.

Кроме того, активация компонентов сигнальной системы опухолевой клетки может происходить 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 опухоли клетки показали, что соматические мутации вносят свой вклад в активацию сигнальных систем с участием рецепторов фактора роста. Известно, что примерно 40% меланом человека связано с активирующими мутациями гена *B-RAF*, что приводит к нарушению структуры его белка, в результате чего регуляция осуществляется по пути с участием *RAF* и направлена на активацию MAP-киназного каскада [3]. В некоторых типах опухолей обнаружены мутации в гене каталитической субъединицы изоформы фосфоинозитид-3-киназы (PI3-киназа), которые приводят к гиперактивации сигнального каскада с участием PI3-киназы [4].

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. Пример связан с системой активации mTOR-киназы, которая выполняет важнейшую функцию, обеспечивая необходимое повышение интенсивности синтеза белка при получении клеткой митогенного или антиапоптотического сигнала. В некоторых культурах опухолевых клеток активация mTOR-киназы приводит к ингибированию сигнала PI3-киназы. Таким образом, при фармакологическом ингибировании mTOR-киназы, например, рапамицином нарушается отрицательная обратная связь, что приводит к увеличению активности PI3-киназы и, следовательно, к снижению антипролиферативного эффекта ингибирования mTOR-киназы [5].

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.

Уже на ранних этапах исследований действия 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 в действительности не все так однозначно. Существует мнение, что высокое содержание 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 непродлиферативную, но жизнеспособную культуру с физиологическими признаками старения. И наоборот: клетки с низким уровнем экспрессии этого белка могут избежать физиологического старения и пролиферировать [6].

Такие парадоксальные эффекты, вероятно, отражают механизмы внутренней защиты, которые необходимы для уничтожения клеток, чрезмерно экспрессирующих регуляторные сигналы. Следовательно, интенсивность онкогенных сигналов в опухолевых клетках является компромиссом между максимальной митогенной стимуляцией и возможностью избежать антипролиферативной защиты. С другой стороны, некоторые клетки могут адаптироваться к высоким уровням онкогенных сигналов, блокируя индуцированные механизмы старения и апоптоза.

### Уклонение опухолевой клетки от супрессии опухолевого роста

Помимо специфической возможности индуцировать и поддерживать действие сигналов, стимулирующих рост, 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 вне- и внутриклеточных источников и блокирует цикл роста и деления клеток [7]. Следовательно, в клетках с дефектами функции RB отсутствует критический «сторож» прогрессии клеточного цикла, в результате чего наблюдается устойчивая клеточная пролиферация. Ген TP53 контролирует сигналы, поступающие в клетку при стрессовых ситуациях; если уровень повреждения генома чрезмерный, или уровни сигналов роста, глюкозы или кислорода ниже оптимальных, то TP53 блокирует клеточный цикл до тех пор, пока указанные показатели внутри клетки не нормализу-

ются. 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 [8]. Аналогично мыши, нокаутные по гену *Trp53*, развивались нормально: у них в основном имел место правильный клеточный и тканевый гомеостаз, однако в дальнейшем развились аномалии в виде лейкемии и саркомы [9]. Оба примера указывают на наличие дополнительных механизмов, которые ограничивают репликацию клеток, лишённых ключевых супрессоров.

Многочисленные исследования показали, что в культуре с высокой плотностью нормальных клеток между ними работают контактные механизмы подавления клеточной пролиферации, что приводит к ограничению клеточного роста. Важно отметить, что это т.н. 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 кадхеринопосредованное взаимодействие между клетками, а также он ограничивает действие митогенного сигнала EGF [10].

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 *Myc*-индуцированной трансформации. Таким образом, экспрессия LKB1 может снижать митогенный эффект онкогена *Myc* [11]. 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 опухолевой клетки клеточной смерти

Результаты исследований, проведенных в последние десятилетия, позволяют утверждать, что программ-

руемая 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 интенсивности онкогенных сигналов и повреждение ДНК, обусловленное гиперпролиферацией. Показано также, что апоптоз ослабляется в опухолях высокого уровня злокачественности и при резистентности к терапии [12].

Регуляция апоптоза имеет 2 уровня: верхний уровень включает непосредственно регуляторы апоптоза, а нижний — эффекторные компоненты [12]. Регуляторы, в свою очередь, можно разделить на 2 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 эффекторных каспаз, участие которых необходимо на конечном этапе апоптоза. Конечные продукты распада клетки поглощаются соседними и специальными фагоцитарными клетками.

Механизм, запускающий апоптоз (триггерный механизм), который передает сигналы между регуляторами и эффекторами, контролируется равновесием между про- и антиапоптотическими регуляторными белками, составляющими семейство Bcl-2 [12]. Белок Bcl-2 и родственные ему 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 важным из которых является цитохром С. Свободный цитохром С активирует каспазы, которые действуют специфически как пептидазы, что приводит к множеству внутриклеточных изменений, связанных с программой апоптоза.

В настоящее время условия, при которых запускаются программы апоптоза, достаточно хорошо охарактеризованы, однако некоторые клеточные элементы, которые играют ключевую роль в развитии опухолей, остаются неидентифицированными [12]. Наиболее важными можно считать повреждения ДНК, что связано с участием гена-супрессора опухоли *TP53* [13]. *TP53* индуцирует апоптоз, стимулируя экспрессию белков Noxa и Puma в ответ на определенный уровень повреждений ДНК и хромосомных аномалий. С другой стороны, недостаточное содержание факторов выживания, например интерлейкина (IL) 3 в лимфоцитах или инсулиноподобных факторов (ИФР-1 и -2) 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 Myc, который запускает апоптоз, взаимодействуя с белком Bim или другими Bcl-2-белками, если их действие не уравновешивается антиапоптотическими факторами [13].

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 уровень экспрессии антиапоптотических регуляторов (Bcl-2, Bcl-xL) и сигналов выживания (ИФР-1 и -2), снижать концентрацию 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 с целью избежать апоптоза, были по достоинству оценены в течение последнего десятилетия. Однако наиболее значимые успехи в исследовании этой проблемы достигнуты после изучения других форм клеточной смерти, которые расширили понятие «программированной клеточной смерти». Одной из таких форм принято считать аутофагию, которая, как и апоптоз, в норме работает на базальном уровне в клетках. Аутофагия может быть индуцирована в определенных условиях клеточного стресса, наиболее очевидным из которых является дефицит питательных веществ [14]. К другой форме клеточной гибели относят некроз. Хотя некроз по многим параметрам рассматривали как смерть организма, т.е. как форму 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 [15].

### Приобретение опухолевой клеткой свойств, увеличивающих время жизни

К концу XX в. стало известно, что опухолевыми клетками необходим неограниченный потенциал репликации для получения адекватного числа клеток, формирующих макроскопические опухоли. Это свойство резко отличается от такового для нормальных клеток в организме, которые имеют ограничения на число циклов деления. При размножении клеток в культуре циклы деления в первую очередь приводят к индукции физиологического старения, а клетки, успешно обошедшие это ограничение, переходят в фазу кризиса, в которой большая часть популяции погибает. В редких случаях клетки, пережившие состояние кризиса, приобретают способность к неограниченной репликации. Такие клетки способны пролиферировать в культуре без признаков физиологического старения.

Во многих исследованиях показано, что теломеры являются ДНК-структурами, которые защищают концы хромосом. Эти структуры связаны со способностью клетки к неограниченной репликации [16]. 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 сращения друг с другом. Такое сращивание создает нестабильные перестроенные хромосомы, в результате происходит дестабилизация кариотипа, которая угрожает жизнеспособности клетки. Соответственно, длина теломер в клетке определяет число 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 в 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 — к укорочению теломер и активации антипролиферативной функции.

Физиологическое старение и апоптоз обуславливают противоопухолевую защиту клеток. Такая программа ге­нетически заложена в клетке, 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 рассматривают как часовой 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 ввиду их неспособности экспрессировать необходимое количество теломеразы. Экспериментально показано значительное укорачивание теломер, а также слияние хромосомных концов в предопухолевых обра­зованиях [17]. 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 [18]. В предраковых образо­ваниях не отмечено заметной экспрессии теломеразы, но обнаружены укорачивания теломер и хромосомные нарушения. Наоборот, в карциномах обнаружены повы­шенная экспрессия теломеразы, реконструкция длины теломер и нарушения кариотипа, которые, по-видимому, образовывались до появления повышенной теломеразной активности. Эти факты демонстрируют, 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.

При исследовании 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 мышах 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 [19]. Теломераза независимо от влияния на теломеры повышает пролиферацию кле­ток и/или устойчивость к апоптозу, участвует в исправ­лении повреждений ДНК и в реакции РНК-зависимой РНК-полимеразы [20]. В дополнение TERT может связываться с хроматином на множественных сайтах, расположенных по всей длине хромосом, а не только с теломерами [11].

### Индукция ангиогенеза опухолевой клеткой

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 [21]. Кроме того, VEGF-лиганды могут существовать в латентных формах во внеклеточном матриксе, которые активируются под действием протеаз внеклеточного матрикса, например матричной металло­протеиназы (MMP) 9 [22]. Другие проангиогенные мо­лекулы, члены семейства факторов роста фибробластов (FGF), связаны с поддержкой опухолевого ангиогенеза, если их экспрессия хронически повышена [23].

Сосуды внутри опухолей хронически активированы, но процессы ангиогенеза в опухолях отличны от таковых в нормальных тканях. 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 [24].

При многоступенчатом развитии инвазивного рака ангиогенез индуцируется рано как у модельных живот­ных, так и у людей. При гистологическом анализе пред­опухолевых неинвазивных повреждений, включая диспла­зии, а также при карциномах *in situ* обнаруживают раннее нарушение ангиогенеза [25].

При активации ангиогенеза в опухолях характер не­оваскуляризации может быть различным. В некоторых опухолях (к примеру, в протоковых аденокарциномах поджелудочной железы) новых сосудов образуется мало, в них много стромальных участков, в которых отсутству­ют сосуды, а другие опухоли (в частности, опухоли почек) высокоангиогенны, и следовательно, в них развита плот­ная сосудистая сеть [26].

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 на соответствующих модельных животных, однако, как следствие, усиливает рост аутогенных и имплантированных опухолей [27]. Наоборот, если уровень циркулирующих эндогенных ингибиторов у трансгенных мышей увеличивается, рост опухоли замедляется [27].

В настоящее время очевидно, что почти весь спектр клеток, источником которых является костный мозг, играет решающую роль в развитии патологического ангиогенеза [28]. 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 благоприятствуют локальной инвазии. Кроме того, они могут способствовать защите сосудистой сети от действия лекарственных средств, мишенью которых являются эндотелиальные сигнальные клетки [29].

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

#### **Активация инвазии и метастазирования опухолевой клеткой**

До недавнего времени механизмы инвазии и метастазирования понимали недостаточно полно. 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. При помощи 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 доказывают роль E-кадгерина как ключевого супрессора инвазии и метастазирования [30].

Кроме того, в высокоагрессивных 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 часто называют каскадом инвазии / метастазирования, и его можно представить как последовательность отдельных этапов. Сначала происходят клеточно-биоло-

гические изменения, связанные с локальной инвазией. Затем следует инвазия опухолевых клеток в соседние кровеносные 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, далее происходит рост микрометастазов в макроскопические опухоли, так называемая стадия колонизации.

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-мезенхимального перехода (ЭМП). Исследования механизма ЭМП тесно связаны с изучением трансформированных эпителиальных клеток, которые приобретают способность к инвазии, резистентность к апоптозу и диссеминации [31]. Наряду с участием ЭМП 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 регулирует 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 [32]. Эти транскрипционные факторы вызывают ряд биологических изменений, к которым относится 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 подвижности и инвазивности [33].

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 [34]. Опухолевые клетки, расположенные на инвазивных краях карцином, могут в большей степени подвергаться действию механизма ЭМП. Вероятно, эти клетки испытывают влияние микроокружения, которое отличается от стимулов, действующих на клетки, расположенные в глубине новообразований.

Становится все более очевидным, что взаимосвязь между злокачественными клетками и клетками стромы обуславливает приобретение способности к инвазивному росту и метастазированию [28]. Сигнальный механизм

может действовать как на одни, так и на другие клетки и изменять их специфические свойства. Например, мезенхимальные стволовые клетки, которые присутствуют в строме опухоли, могут секретировать CCL5/RANTES в ответ на сигналы клеток опухоли, а CCL5, в свою очередь, действует на раковые клетки, стимулируя инвазивное поведение последних [34].

Макрофаги периферии опухоли могут способствовать локальной инвазии, активируя MMP и цистеин-катепсиновые протеазы — ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс [34]. 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 [28].

До сих пор неизвестно, нужны ли дополнительные мутации в клетках опухоли для того, чтобы преодолеть большинство стадий каскада инвазии-метастазирования, или же 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, клетки карциномы могут переходить в неинвазивное состояние. Таким образом, клетки карциномы, которые подверглись воздействию ЭМП в начальной стадии инвазии и метастатической диссеминации, могут подвергаться обратному процессу, который назван мезенхимально-эпителиальным переходом. Такая пластичность приводит к образованию новых колоний опухолевых клеток, имеющих гистопатологические свойства, сходные с клетками первичной опухоли, которые не подвергались действию ЭМП [35]. Возможно, представление о том, что раковые клетки обычно проходят через все стадии ЭМП, является упрощенным. Напротив, во многих случаях раковые клетки могут проходить стадии механизма ЭМП только частично, тем самым приобретая новые мезенхимальные свойства, хотя полностью не исчезают и эпителиальные черты.

Следует отметить, что механизм ЭМП регулируется только определенным типом инвазии, который назван мезенхимальным. Однако существуют и другие типы инвазии [36]. Среди них, в частности, амeboидная инвазия [37], при которой у отдельных раковых клеток наблюдается морфологическая пластичность, позволяющая им распространяться в экстрацеллюлярном матриксе. В настоящее время механизмы этих форм инвазии раковых клеток до конца не изучены.

Кроме того, в качестве еще одного механизма инвазии раковых клеток обсуждают способность клеток воспаления, кумулирующих на границах опухолей, вырабатывать факторы, разрушающие экстрацеллюлярный матрикс и индуцирующие инвазивный рост [22, 28].

### Сложность процессов метастатической колонизации

Процесс метастазирования можно разделить на 2 основных фазы: диссеминация раковых клеток от пер-

вичной опухоли к отдаленным тканям и адаптация этих клеток к микроокружению чужой ткани, результатом чего 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 [38].

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 активизироваться через десятилетия после хирургического удаления или фармакологического разрушения первичной опухоли. Рост таких метастатических опухолей, очевидно, обусловлен находящимися в покое метастазами, которые становятся активными 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 [39]. Недавно было установлено, что голодание может стимулировать интенсивную аутофагию, которая приводит к тому, что раковые клетки сжимаются и переходят в состояние 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 [40]. Другие механизмы микрометастатического состояния покоя могут быть связаны с антиростовыми сигналами, которые индуцируются внеклеточным матриксом нормальных тканей и под супрессорным влиянием иммунной системы [39].

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 зависит от типа диссеминированной клетки и 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 [41]. 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 развива-

ется 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 [38], 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, активно обсуждаемых в последнее время, — это 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, приспособляя 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 [42].

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 [43].

Из этого процесса самообсеменения возникает соображение, 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.

### **Дополнительные характеристики опухолевой клетки и уточняющие отличительные признаки опухолей**

Опухоли приобретают функциональные особенности, которые позволяют злокачественным клеткам выживать, пролиферировать и диссеминировать, используя различные механизмы при многостадийном канцерогенезе. Наиболее известным свойством опухолевых клеток является генетическая нестабильность, которая обусловлена изменением и повреждением генетического аппарата клетки в процессе злокачественного роста. Изменения имеют различную форму: от случайных мутаций в отдельных генах до перестройки и перегруппировки хромосом. Однако среди них редко встречаются такие изменения, которые могут приводить к появлению определенных наследуемых признаков. Другая характеристика обусловлена наличием воспаления в опухолях и предопухолевых процессах, которое находится под контролем клеток иммунной системы и способствует прогрессии опухоли.

Предложены и другие признаки, функционально значимые для развития злокачественного новообразования, которые характеризуют опухолевые клетки и могут быть добавлены в основной список особенностей [44]. Один из них связан с перепрограммированием клеточного энергетического метаболизма, направленного на поддержание постоянного роста клеток и пролиферации. При этом изменяется метаболическая программа, которая имеет место в большинстве нормальных тканей и энергетически поддерживает физиологические процессы массива клеток. Второй признак связан с активным уклонением опухолевых клеток от действия иммунной системы. Это свойство подчеркивает двойную роль иммунной системы, которая как противостоит, так и способствует развитию и прогрессии опухоли.

### **Генетическая нестабильность опухолевых клеток**

Приобретение опухолью вышеперечисленных признаков в большей степени зависит от изменений в геноме неопластических клеток. Определенные мутантные генотипы предоставляют выборочные преимущества субклонам опухолевых клеток, способствуют их росту и доминированию среди других субклонов. Соответственно, многоступенчатую прогрессию опухоли можно представить как следствие клональных экспансий, 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 частоты спонтанных мутаций в каждом поколении клеток обычно очень низки, объясняется замечательным свойством, поддерживающим целостность генома, обнаруживать и устранять дефекты ДНК. Для получения большего числа мутаций в генах, необходимых для обеспечения канцерогенеза, частота мутаций в злокачественных клетках повышена [44]. 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 [45]. При этом роль гена-супрессора *TP53* считается центральной, из-за чего он был назван стражем генома.

Известен ряд генов, отвечающих за стабильность ДНК [46]. У генов, контролирующих стабильность генома, функции довольно разнообразны. Они связаны:

- с обнаружением повреждений ДНК и активацией системы репарации;
- непосредственным восстановлением поврежденной ДНК;
- инактивацией или блокированием мутагенных молекул до повреждения ДНК [44].

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 мутантных генов в мышинные модели приводило к учащению случаев развития опухолей, что подтверждает потенциальные возможности этого механизма [47].

Еще до характеристики специфических признаков опухолей были известны некоторые причины, приводящие к нестабильности опухолевого генома. Как упо-



миналось, 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 показана амплификация и делеция большого числа генов и хромосомных фрагментов в геноме опухолевой клетки. Эти многочисленные нарушения четко указывают на отсутствие контроля геномной целостности, а также на то, что измененные участки генома содержат гены, нарушение строения которых способствует неопластической прогрессии [48]. Повторяющиеся генетические изменения в определенном типе опухоли могут указывать на роль конкретных мутаций как на причину опухолевого роста.

### Воспаление, стимулирующее опухоль

Давно установлено, что некоторые опухоли инфильтрированы иммунными клетками и демонстрируют присутствие воспалительного процесса, который 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 очага воспаления) [49]. Сначала полагают, что таким образом иммунная система воздействует на опухоль с целью ее удаления, и действительно, имеется ряд данных, указывающих на противоопухолевый ответ.

В 2000-х гг. впервые предположили, что связанное с опухолью воспаление усиливает опухолеобразование и прогрессию. В последующее десятилетие интенсивные исследования связей между воспалением и канцерогенезом убедительно продемонстрировали стимуляцию опухоли иммунными клетками и неопластическую прогрессию [28].

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 [28].

Воспаление обнаруживается на ранних стадиях неопластической прогрессии и, очевидно, способствует развитию зарождающейся неоплазии в полноценный рак [28]. Воспалительные клетки могут выделять активные формы кислорода, которые являются сильными мутагенами для близлежащих клеток, что ускоряет их генетическую трансформацию в состояние повышенной злокачественности [50].

### Перепрограммирование энергетического метаболизма

При хронической (и часто — неконтролируемой) пролиферации клеток происходит также и перестройка энер-

гетического метаболизма для питания клеток в процессе роста и деления. В аэробных условиях нормальные клетки превращают глюкозу сначала 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. О. 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 в основном ограничивается гликолизом, что приводит к состоянию клеток, который называют «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 уклонению от цитостатического контроля и ослаблению апоптоза [51]. Условия гипоксии, которые имеют место внутри многих опухолей, усиливают преимущество гликолиза. В ответ на гипоксию система повышает содержание переносчиков глюкозы и многих ферментов гликолитического пути [51]. Кроме того, гипоксия и активация онкогена *Ras* могут независимо повышать уровни транскрипционных факторов, индуцированных гипоксией (*HIF1α* и *2α*), которые в свою очередь усиливают гликолиз [52].

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, солидные опухоли, по всей видимости, каким-то образом способны избежать обнаружения иммунной системой или уклониться от уничтожения.

Роль иммунного контроля опухолей подтверждается повышением частоты развития некоторых типов рака у лиц с нарушениями 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 мышам с дефицитом разных компонентов иммунной системы оценивали по развитию индуцированных опухолей, то оказалось, что у иммунодефицитных мышам опухоли вырастали чаще и/или росли быстрее по сравнению с иммунокомпетентными мышами.

В частности, недостатки в развитии функций цитотоксических Т-лимфоцитов CD8<sup>+</sup> (ЦТЛ), хелперных Т-клеток CD4<sup>+</sup>Th<sub>1</sub> или клеток натуральных киллеров (NK) приводили к заметному повышению частоты развития опухолей в каждом случае. Более того, мышам с комбинированным иммунным дефицитом по Т и NK клеткам были еще более восприимчивы к заболеванию раком. По крайней мере, в экспериментальных моделях эти результаты доказывают, 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 время как раковые клетки из опухолей, выросших в организме иммунокомпетентных мышей, одинаково эффективно инициируют трансплантированные опухоли в организме обоих типов мышей [53]. 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 слабоиммуногенными, 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 у человека [54]. Так, к примеру, пациенты с опухолями ободочной кишки и яичников, которые были сильно инфильтрованы иммунными клетками, ЦТЛ и НК, имели лучший прогноз, чем пациенты, у которых не имелось такого избытка лимфоцитов-киллеров [49]. Кроме того, показано, что в иммуносупрессированных трансплантированных органах у реципиентов развиваются злокачественные опухоли донорского происхождения. Это позволяет предположить, что свободные от опухолей доноры имели опухолевые клетки, которые находятся под контролем иммунной системы в инертном состоянии [55].

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

На самом деле, обсуждение иммунологии рака сводится к упрощенному иммунологическому взаимодей-

ствию 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 НК клеток, вырабатывая трансформирующий фактор роста (TGF) или другие факторы иммуносупрессии [56]. 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 подавлять действие цитотоксических лимфоцитов [57].

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

Представленные в статье признаки, отличающие опухолевую и неопухольевую клетку, хотя и выдержали испытание временем, тем не менее не являются окончательными. Достижения молекулярной онкологии последних лет позволяют оценить отличительные признаки опухолевой клетки таким образом, однако возникает ряд вопросов при их разделении на основные и дополнительные. Уже в настоящее время ясно, что генетические и эпигенетические изменения генома, лежащие в основе злокачественной трансформации клетки, являются одним из основных отличительных признаков опухолевой клетки, генетически детерминирующих изменение процессов ее жизнедеятельности. Однако открытие новых классов регулирующих РНК и роли конформации хроматина как эпигенетических регуляторов экспрессии генов в нормальной и опухолевой клетке, сделанное в последние годы, позволяет говорить о появлении у опухолевой клетки новых признаков.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Berdasco M., Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: How cellular identity goes awry. *Dev. Cell.* 2010; 19: 698–711.
- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. The next generation. *Cell.* 2011; 144 (4): 646–674.
- Davies M.A., Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene.* 2010; 29: 5545–5555.
- Jiang B.H., Liu L.Z. PI3K/PDEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv. Cancer Res.* 2009; 102: 19–65.
- Sudarsanam S., Johnson D.E. Functional consequences of mTOR inhibition. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2010; 13: 31–40.
- Collado M., Serrano M. Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nat. Rev. Cancer.* 2010; 10: 51–57.
- Burkhardt D.L., Sage J. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat. Rev. Cancer.* 2008; 8: 671–682.
- Lipinski M.M., Jacks T. The retinoblastoma gene family in differentiation and development. *Oncogene.* 1999; 18: 7873–7882.
- Ghebranious N., Donehower L.A. Mouse models in tumor suppression. *Oncogene.* 1998; 17: 3385–3400.
- Curto M., Cole B.K., Lallemand D., Liu C.H., McClatchey A.I. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J. Cell Biol.* 2007; 177: 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; 8: 716–724.
- Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene.* 2007; 26: 1324–1337.
- Junttila M.R., Evan G.I. p53 — a Jack of all trades but master of none. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 821–829.
- Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell.* 2008; 132: 27–42.
- Galluzzi L., Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis. *Cell.* 2008; 135: 1161–1163.
- Blasco M.A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 2005; 6: 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; 127: 254–262.
- Raynaud C.M., Hernandez J., Llorca F.P. Nuciforo P., Mathieu M.C., Commo F., Delalogue S., Sabatier L., Andre F., Soria J.C. DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer. *Am. J. Clin. Oncol.* 2010; 33: 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; 460: 66–72.
- Maida Y., Yasukawa M., Furuuchi M., Lassmann T., Possemmato R., Okamoto N., Kasim V., Hayashizaki Y., Hahn W.C., Masutomi K. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA. *Nature.* 2009; 461: 230–235.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29: 789–791.
- Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. *Cell.* 2010; 141: 52–67.
- Baeriswyl V., Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.* 2009; 19: 329–337.

24. Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C., Dvorak A.M., Dvorak H.F. Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin. Thromb. Hemost.* 2010; 36: 321–331.
25. Raica M., Cimpian A.M., Ribatti D. Angiogenesis in pre-malignant conditions. *Eur. J. Cancer.* 2009; 45: 1924–1934.
26. 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; 7: 69–82.
27. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. *Leuk. Res.* 2009; 33: 638–644.
28. Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell.* 2010; 141: 39–51.
29. Junttila M.R., Evan G.I. p53 — a Jack of all trades but master of none. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 821–829.
30. Berx G., van Roy F. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009; 1: 003129.
31. Polyak K., Weinberg R.A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 265–273.
32. Taube J.H., Herschkowitz J.I., Komurov K., Zhou A.Y., Gupta S., Yang J., Hartwell K., Onder T.T., Gupta P.B., Evans K.W. 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; 107: 15449–15454.
33. Peinado H., Marin F., Cubillo E., Stark H.J., Fusenig N., Nieto M.A., Cano A. Snail and E47 repressors of E-cadherin induce distinct invasive and angiogenic properties *in vivo*. *J. Cell Sci.* 2004; 117: 2827–2839.
34. Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P., Sullivan A., Brooks M.W., Bell G.W., Richardson A.L., Polyak K., Tubo R., Weinberg R.A. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature.* 2007; 449: 557–563.
35. Hugo H., Ackland M.L., Blick T., Lawrence M.G., Clements J.A., Williams E.D., Thompson E.W. Epithelial – mesenchymal and mesenchymal – epithelial transitions in carcinoma progression. *J. Cell. Physiol.* 2007; 213: 374–383.
36. Friedl P., Wolf K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. *J. Cell Biol.* 2010; 188: 11–19.
37. Madsen C.D., Sahai E. Cancer dissemination — Lessons from leukocytes. *Dev. Cell.* 2010; 19: 13–26.
38. Talmadge J.E., Fidler I.J. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 2010; 70: 5649–5669.
39. Aguirre-Ghiso J.A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat. Rev. Cancer.* 2007; 7: 834–846.
40. Kenific C.M., Thorburn A., Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2010; 22: 241–245.
41. Coghlin C., Murray G.I. Current and emerging concepts in tumour metastasis. *J. Pathol.* 2010; 222: 1–15.
42. Sleeman J.P. The metastatic niche and stromal progression. *Cancer Metastasis Rev.* 2012; 31: 429–440.
43. Yachida S., Jones S., Bozic I., Antal T., Leary R., Fu B., Kamiyama M., Hruban R.H., Eshleman J.R., Nowak M.A. et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature.* 2010; 467: 1114–1117.
44. Negrini S., Gorgoulis V.G., Halazonetis T.D. Genomic instability — an evolving hallmark of cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11: 220–228.
45. Jackson S.P., Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature.* 2009; 461: 1071–1078.
46. Kinzler K.W., Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature.* 1997; 386: 761–763.
47. Barnes D.E., Lindahl T. Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Ann. Rev. Genet.* 2004; 38: 445–476.
48. Korkola J., Gray J.W. Breast cancer genomes — form and function. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2010; 20: 4–14.
49. Pages F., Galon J., Dieu-Nosjean M.C., Tartour E., Saute's-Fridman C., Fridman W.H. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene.* 2010; 29: 1093–1102.
50. Grivnennikov S.I., Greten F.R., Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010; 140: 883–899.
51. Jones R.G., Thompson C.B. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev.* 2009; 23: 537–548.
52. Semenza G.L. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 3835–3837.
53. Teng M.W.L., Swann J.B., Koebel C.M., Schreiber R.D., Smyth M.J. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84: 988–993.
54. Bindea G., Mlecnik B., Fridman W.H. Natural immunity to cancer in humans. *Curr. Opin. Immunol.* 2009; 22: 215–222.
55. Strauss D.C., Thomas J.M. Transmission of donor melanoma by organ transplantation. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 790–796.
56. 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; 31: 220–227.
57. Mougiakakos D., Choudhury A., Lladser A., Kiessling R., Johansson C.C. Regulatory T cells in cancer. *Adv. Cancer Res.* 2010; 107: 57–117.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кушлинский Николай Евгеньевич**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий лабораторией клинической биохимии РОНЦ им. Н.Н. Блохина

Адрес: 115446, Москва, Каширское ш., д. 23А, тел.: (499) 324-11-79, e-mail: biochimia@mtu-net.ru

**Немцова Марина Вячеславовна**, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской генетики ГБОУ ДПО «РМАПО» МЗ РФ

Адрес: 123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел.: (495) 622-96-35, e-mail: nemtsova\_m\_v@mail.ru