

НИИ онкологии
им. Н.Н. Петрова,
Санкт-Петербург

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ В 2014 ГОДУ: ОБЗОР НАИБОЛЕЕ ИНТЕРЕСНЫХ ОТКРЫТИЙ

Е.Н. Имянитов

*В 2014 году продолжилось
стремительное развитие
фундаментальной
онкологической науки.*

Циркулирующие опухолевые клетки формируют кластеры для образования гематогенных метастазов

Присутствие циркулирующих опухолевых клеток в кровотоке онкологических больных было продемонстрировано достаточно давно. Следует заметить, что даже у пациентов с диссеминированным метастатическим процессом соотношение трансформированных клеток и клеток крови составляет не более чем один на миллиард. Циркуляция жизнеспособных эпителиальных клеток сама по себе является патологическим явлением: в норме изолированные клетки эпителиального происхождения достаточно быстро погибают, причём эта гибель является самостоятельным биологическим процессом и даже имеет специфическое название – аноиксис (anoikis). Недавно Aceto et al. [2] обнаружили интересное явление: они установили, что циркулирующие опухолевые клетки карцином молочной железы могут образовывать кластеры. Примечательно, что эти кластеры формируются за счёт контактов между разными клетками, а не за счёт деления единой клетки-предшественника. За образование кластеров отвечает хорошо известный белок, участвующий в процессах межклеточных взаимодействий – плакоглобин. Именно кластеры, а не единичные клетки, обладают способностью порождать гематогенные метастазы, причём метастатический потенциал опухоли напрямую зависит от уровня экспрессии плакоглобина. Ожидается, что модуляция активности плакоглобина может оказаться перспективным подходом для предотвращения диссеминации злокачественных новообразований.

«Синонимичные» нуклеотидные замены могут принимать участие в молекулярном патогенезе рака

Генетический код характеризуется интересным свойством – «вырожденностью». Действительно, четыре нуклеотида – аденин, тимин, цитозин и гуанин – могут сформировать 64 различных триплета, однако кодируют эти триплеты «всего» 21 биологический сигнал – 20 аминокислот и стоп-кодон. Соответственно, одна и та же аминокислота может кодироваться несколькими триплетами, поэтому некоторые нуклеотидные замены в кодирующей последовательности ДНК не влияют на структуру белка. В «классической» генетике считается аксиомой, что подобные «синонимичные» («молчащие») мутации не несут никакой функциональной нагрузки. Именно поэтому обнаружение подобных генетических событий в опухолях рассматривалось не более как проявление «мутационного шума». Однако, применение систематического полногеномного анализа опухолевой ДНК обнаружило неожиданный факт – оказалось, что молчащие мутации составляют около 6-8% всех соматических нуклеотидных замен, причём их причастность к прогрессии опухолевых клонов не вызывает никаких сомнений. Например, синонимичные мутации влияют на взаимодействие гена с микроРНК, модулируют процессы сплайсинга, а также могут иметь отношение к регуляции стабильности РНК-транскрипта [26].

Молчащие мутации нельзя путать с мутациями, затрагивающими некодирующие регуляторные области гена и напрямую влияющими на его экспрессию. Внедрение методов полногеномного сканирования выявило целый ряд таких нарушений, наиболее известными из которых являются мутации в гене теломеразы (TERT). По-видимому, список мутаций этой категории заметно расширится в недалёком будущем [10, 28, 31].

Применение секвенирования нового поколения для ранней диагностики и мониторинга опухолей

Попытки диагностики и мониторинга опухолевого процесса на основе выявления специфических маркеров в доступных для исследования средах организма формируют отдельную область экспериментальной и клинической онкологии. В качестве наиболее известного теста можно привести анализ уровня простатического антигена, применяемый для скрининга и контроля лечения рака предстательной железы. Практически все доступные на сегодняшний день «маркерные» тесты отличаются недостаточной чувствительностью и специфичностью. В своё время большие ожидания связывали с появлением полимеразной цепной реакции (ПЦР). Действительно, ПЦР обладает способностью выявлять даже единичные копии мутированного гена в присутствии избытка нормальных последовательностей ДНК, а мутации в онкогенах и антионкогенах являются более специфическими событиями по сравнению с изменением экспрессии тех или иных белков. Тем не менее, классические ПЦР-тесты себя не оправдали: все они обладают ограниченным спектром генов-мишеней, т.е. недостаточной информативностью. В настоящее время активно испытываются новые модификации ПЦР, обладающие более совершенными техническими характеристиками и ориентированные на анализ мультигенных панелей [5].

Внедрение массивного параллельного секвенирования открыло новые перспективы в данной области. С одной стороны, секвенирование нового поколения (next generation sequencing, NGS) способно выявлять не только мутации в отдельных генах, но и учитывать генетический статус всего генома. С другой стороны, многократное прочтение одной и той же последовательности, положенное в основу метода, позволяет достигать сопоставимой с ПЦР чувствительности. Именно поэтому в последние годы возобновляется интерес к анализу т.н. циркулирующей опухолевой ДНК – её появление в плазме связано как с естественным распадом трансформированных клеток, так и с некоторыми особенностями физиологии опухолей. Работы последних лет указывают, что NGS обладает значительным потенциалом для своевременного обнаружения опухолей, а также для идентификации ранних признаков приобретённой резистентности новообразований к проводимому лечению [22, 24].

В 2014 г. были также опубликованы исключительно интересные работы, которые основывались на полноэкзомном анализе ДНК периферических лейкоцитов крови здоровых людей. Было установлено, что присутствие клеточных клонов, содержащих соматические мутации, наблюдается преимущественно у лиц пожилого возраста. Эти наблюдения согласуются с представлениями о накоплении соматических мутаций на протяжении жизни, а также об ускорении процессов мутагенеза в ходе старения организма. Существенно, что при проспектив-

ном наблюдении за большими когортами пациентов присутствие клональных мутаций в онкогенах и антионкогенах коррелировало с последующим развитием злокачественных заболеваний крови [1, 12, 14, 29].

Роль иннервации в патогенезе опухолей

Миелопролиферативные заболевания принято подразделять на 2 категории, причём исторически эта классификация основывалась на наличии или отсутствии т.н. Филадельфийской хромосомы. К первой группе относится хронический миелолейкоз – болезнь, ассоциированная с транслокацией BCR-ABL. Вторую группу составляют миелопролиферативные расстройства, при которых данная транслокация не обнаруживается, – эссенциальный тромбоцитоз (essential thrombocythosis), истинная полицитемия (polycythemia vera) и миелофиброз (myelofibrosis). Причина последних трёх заболеваний крови была установлена ещё в 2005 г.: оказалось, что в основе аномальной миелопролиферации лежит мутационная активация киназы JAK2, индуцирующая размножение гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Интересно, что контроль за ГСК осуществляет другая группа стволовых клеток – мезенхимальных (МСК), причём функционирование последних напрямую опосредуется нервной системой. В работе, опубликованной в журнале Nature, Arranz et al. [4] продемонстрировали, что одним из компонентов прогрессии миелопролиферативных заболеваний является нарушение иннервации костного мозга. В свою очередь, назначение нейропротекторов или симпатомиметиков предотвращало экспансию JAK2-мутантных клонов.

Другое исследование подобного рода выполнено на модели рака желудка [30]. Zhao et al. [30] установили, что хирургическая и фармакологическая денервация желудка замедляет возникновение и прогрессию опухолей у экспериментальных мышей. Монолатеральная ваготомия или топическое применение ботулинового токсина предотвращали канцерогенез только на денервированной части желудка. Анализ группы онкологических пациентов выявил корреляцию между уровнем иннервации опухолевой ткани и стадией заболевания.

Роль простагландинов в поддержании жизнеспособности опухоли

В настоящее время общепринятым подходом является циклическое применение цитостатической терапии: максимально переносимые дозы противоопухолевых препаратов обычно назначаются с определёнными интервалами, необходимыми для восстановления костного мозга. К сожалению, в промежутках между циклами химиотерапии также наблюдается репопуляция опухолевых клеток, при этом через несколько месяцев почти неизбежно формируется резистентный к лечению клон. Считается, что данный процесс опосредуется особой категорией трансформированных клеток – т.н. стволовыми клетками опухолей. Kurtova et al. [16] сообщили

о крайне интересных наблюдениях, полученных в экспериментах с карциномой мочевого пузыря. Они установили, что привлечение стволовых клеток опухолей к процессам репопуляции осуществляется за счёт воздействия простагландина E₂; этот процесс успешно угнетается хорошо известным ингибитором синтеза простагландинов – циклооксигеном. Помимо участия в сохранении объёма малигнизированной ткани, простагландину E₂ также приписывается роль в локальном подавлении противоопухолевого иммунного ответа [21].

Простагландины представляют из себя биологически активные производные жирных кислот, вовлечённые в регуляцию функционирования гладкой мускулатуры, процессов тромбообразования, различных аспектов воспаления, болевых реакций и т.д. Синтез простагландинов регулируется ферментами-циклооксигеназами 1 и 2 (cyclooxygenases, COX). Ингибиторы циклооксигеназ широко применяются в медицине: к ним, в частности, относят аспирин и другие нестероидные противовоспалительные препараты. В течение прошедшего десятилетия большую популярность получили избирательные ингибиторы COX2; именно к этой категории лекарственных средств относится упомянутый выше циклооксигеном – он используется в качестве современного анальгетика, средства контроля хронических аутоиммунных заболеваний, а также для лечения семейного полипоза толстой кишки [25]. Циклооксигеном испытывался как дополнительный компонент схем противоопухолевой терапии в нескольких десятках клинических испытаний, однако его назначение проводилось, как правило, без учёта экспрессии COX2 и не основывалось на каких-либо сведениях о динамике клеточного состава и/или потенциальной иммуногенности опухолей [3, 9, 19, 23]. По-видимому, публикации Kurtova et al. [16] и Motz et al. [21] возродят интерес к использованию циклооксигеном для лечения онкологических пациентов [27].

МТН1: новая мишень для противоопухолевой терапии?

МТН1 (NUDT1) представляет из себя фермент, участвующий в элиминации химически повреждённых нуклеотидов. Таким образом, активность МТН1 необходима для поддержания нормальной структуры ДНК. Опухолевые клетки характеризуются резко увеличенной продукцией активных форм кислорода и, как следствие, многократным повышением концентрации аномальных оснований ДНК. Именно поэтому утрата активности МТН1 совместима с жизнедеятельностью нормальных клеток, но оказывается губительной для опухолей: трансформированные клетки, утратившие функцию МТН1, накапливают многочисленные повреждения в своём генетическом аппарате за счёт использования при синтезе ДНК «неправильных» нуклеотидов и погибают вследствие индукции апоптоза. Многие специалисты полагают, что химическая нестабильность пула нуклеотидов характерна для опухолевых клеток даже в большей степени, чем нестабильность цельной ДНК; следовательно, применение нук-

леотид-повреждающих агентов может иметь определённые преимущества по сравнению со ставшим традиционным использованием ДНК-повреждающих препаратов. Действительно, ингибиторы МТН1, ТН287 и ТН588 эффективно сдерживают рост опухолевых ксенографтов у мышей [11]. Интересно, что МТН1-ингибирующим действием обладает стереоизомер хорошо известного ALK-ингибитора кризотиниба ((R)-кризотиниба) – (S)-кризотиниб [13].

Ренессанс витамина С?

Идея широкого использования высоких доз витамина С (аскорбиновой кислоты) для профилактики и лечения различных заболеваний принадлежит лауреату Нобелевской премии Лайнусу Полингу. Первые клинические испытания, проведённые в 1970-х гг. и предусматривающие инфузионное введение витамина С, показали обнадеживающие результаты [6, 7]. К сожалению, последующие исследования, базировавшиеся на пероральном приёме препарата, не подтвердили противоопухолевых эффектов аскорбиновой кислоты [8, 20]. Дальнейшее изучение фармакокинетики и фармакодинамики витамина С привело к убеждению, что пероральный приём *de facto* не позволяет достичь высокой концентрации препарата в плазме, поэтому конфликт между «положительными» и «негативными» испытаниями может быть связан не с биологическими причинами как таковыми, а с особенностями организации клинических испытаний. В недавно опубликованном исследовании Ma et al. [18] продемонстрировали синергизм высоких доз инфузионного витамина С с действием карбоплатина и паклитаксела на опухоли у мышей. В исследованиях на пациентах применение витамина С сопровождалось достоверным снижением выраженности побочных эффектов от химиотерапии.

Потенциальная эффективность ингибиторов IGF1R у пациентов с активацией киназы ALK

Коллектив одного из самых известных исследователей рака лёгкого – профессора William Pao – сообщил о необычном случае, наблюдавшемся в ходе клинических испытаний новых противоопухолевых препаратов. У одной из пациенток с карциномой лёгкого, включённых в клиническое исследование терапевтического антитела к рецептору инсулиноподобного фактора роста (IGF1R), отмечался необычно выраженный и длительный (17 мес.) эффект от лечения. Ретроспективный молекулярный анализ опухоли установил, что данный случай рака вызван транслокацией гена ALK, причём последующее назначение больной кризотиниба сопровождалось хорошим эффектом. Известно, что различные рецепторные тирозинкиназы зачастую утилизируют одни и те же сигнальные молекулы. В частности, Lovly et al. [17] обнаружили, что как IGF1R, так и ALK могут использовать в качестве адаптора один и тот же белок – IRS1 (insulin receptor substrate 1). Сочетанное ингибирование ALK и IGF1R