

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

*Понимание природы
опухолевого роста стало
принимать более
очерченные формы лишь
в течение двух последних
десятилетий прошлого
века, благодаря
взрывоподобному
развитию молекулярной
онкологии.*

ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ: НАИБОЛЕЕ ПРИМЕЧАТЕЛЬНЫЕ СОБЫТИЯ 2004 ГОДА

Е.Н. Имянитов, К.П.Хансон

Введение: современные представления о механизмах злокачественной трансформации

Несмотря на более чем 100-летнюю историю теоретической онкологии, дать универсальное определение опухолевому процессу представляется довольно затруднительной задачей, вследствие комплексного характера этого патологического явления. Тем не менее, попытаемся выделить главные признаки новообразования. Во-первых, опухолью считается процесс, сопровождающийся прибавлением клеточной массы (в медицине данный феномен часто называют «плюс-тканью»). Следует оговориться, что само по себе явление «+ ткани» наблюдается не только при онкологических, но и при ряде других патологий, например при воспалении, поэтому оно не может считаться достаточным для описания опухоли. Во-вторых, для новообразований характерен автономный характер роста. В норме количество клеток регулируется посредством точной балансировки двух противоположных процессов – клеточного деления и клеточной элиминации. В случае онкологического заболевания прибавление клеточной массы опережает клеточную гибель, либо за счёт активации процессов пролиферации, либо вследствие угнетения процессов апоптоза, а чаще всего – за счёт сочетанного нарушения обоих этих процессов. Существенно, что дисбаланс регуляции количества клеток вызван неспособностью трансформированного клона реагировать на внешние сигналы; таким образом, объём клеточной массы перестает зависеть от потребностей организма, что и подразумевается под понятием «автономность». Остальные признаки опухолевого роста, часто упоминающиеся в литературе, такие как инвазия и метастазирование, блок дифференцировки, клеточная атипия, нарушенный гликолиз и т.д. зачастую действительно сопутствуют онкологическому перерождению тканей, но не являются необходимыми для его проявления.

До самого последнего времени количество «теорий рака» измерялось сотнями. К наиболее значимым следует отнести вирусные, иммунологические, канцерогенные и гормонально-метаболические концепции, ставшие предметом горячих споров в середине XX столетия. Понимание природы опухолевого роста стало принимать более очерченные формы лишь в течение двух последних десятилетий прошлого века, благодаря взрывоподобному развитию молекулярной онкологии. Первый серьёзный прорыв произошёл в 70-х годах, в процессе изучения молекулярных основ вирусного канцерогенеза. При проведении серии экспериментов, направленных на идентификацию «онкологически-значимых» фрагментов генома вируса саркомы Рауса выяснилось, что за всю картину злокачественной трансформации отвечает всего лишь один единственный ген, который был назван онкогеном src. Позже было установлено, что подобный принцип характерен для большинства известных онкогенных вирусов. Однако значение опытов на вирусах лимитировалось тем фактом, что данная разновидность опухолевого патогенеза наблюдалась только у животных (мышей, крыс, птиц), в то время как причастности вирусов к опухолям у человека доказать не удавалось. Разработка метода гибридизации нуклеиновых кислот привела к новому революционному открытию: оказалось, что все вирусные онкогены имеют гомологов в составе человеческого генома. Более того, данные гомологи являются необходимым компонентом клеточной жизнедеятельности; они отвечают за такие важнейшие процессы, как пролиферация, дифференцировка и т.д. Венцом примерно 10-летней серии экспериментов стало доказательство факта активации онкогенов в опухолях (вследствие увеличения количества копий и/или функциональной модификации). К середине 80-х годов онкогенная теория рака приобрела удивительную

стройность. Её основные положения можно упрощённо сформулировать следующим образом:

1. Онкогеном называется ген, который а) в норме оказывает активирующее влияние на процессы пролиферации и/или препятствует клеточной гибели; б) активируется в опухолях; в) проявляет трансформирующие свойства в экспериментах по трансфекции.

2. Онкогены необходимы для нормального функционирования (обновления) тканей; их работа находится под строгим контролем сигнальных систем организма. Соматическая мутация в онкогене приводит к независимости клетки от внешних регулирующих влияний, т.е. клеточный клон, находясь в условиях аутоstimуляции, приобретает способность к неконтролируемому размножению. Генетические повреждения в онкогенах могут возникать вследствие случайного мутационного процесса, однако, вероятность мутаций существенно повышается при увеличении канцерогенной нагрузки.

3. При вирусном канцерогенезе у животных вирус содержит уже активированную версию онкогена, и, таким образом, является лишь транспортной формой последнего. У человека, напротив, большинство опухолей возникает за счёт активации (мутации) эндогенных онкогенов.

4. Активация одного онкогена почти всегда компенсируется. Процесс злокачественной трансформации требует сочетанных нарушений в нескольких онкогенах.

Удивительно, что несмотря на кибернетическую очевидность причастности к данной проблеме противоположно направленных процессов, т.е. механизмов сдерживания клеточного роста, молекулярные основы негативной регуляции количества клеток почти не обсуждались вплоть до открытия антионкогенов. Антионкогеном (супрессорным геном) называется ген, который а) в норме оказывает инактивирующее влияние на процессы пролиферации и/или способствует клеточной гибели; б) инактивируется в опухолях; в) осуществляет реверсию злокачественного фенотипа в экспериментах по трансфекции. К концу 80-х годов было установлено, что практически каждая опухоль содержит множественные мутации в антионкогенах, выражающиеся как в виде делеций, так и в форме микромутаций. Вероятно, инактивирующие повреждения супрессорных генов встречаются существенно чаще, чем активирующие мутации в онкогенах, что соответствует бытовой логике «ломать – не строить». В целом, открытие антионкогенов послужило очень заметным этапом в истории молекулярной онкологии, добавив целостности и логичности к имеющимся до этого воззрениям.

Современная наука полагает, что для возникновения трансформированного клеточного клона необходимо как минимум 5–9 мутаций в разных онкогенах и антионкогенах. Если взять в расчёт скорость мутационных процессов, подобное накопление мутаций в одной и той же клетке представляется почти невероятным событием. По-видимому, на каком-то из промежуточных этапов трансформации опухолевый клон приобретает способность к ускоренному мутагенезу, т.е. свойство «геномной

нестабильности». Факт геномной нестабильности экспериментально подтверждается тем, что наряду со «значимыми» мутациями в онкогенах и антионкогенах, в опухолях наблюдается огромное количество «побочных», относительно нейтральных повреждений генома. Феномен генетической нестабильности опухолей привлек внимание экспериментаторов в середине 90-х годов и продолжает интенсивно изучаться в настоящее время [12].

Таким образом, молекулярная онкология вошла в XXI век с достаточно чёткими представлениями о патогенезе новообразований. Суть молекулярно-генетических изменений в опухолях сводится к трём компонентам: 1) активирующие мутации в онкогенах; 2) инактивирующие мутации в антионкогенах; 3) геномная нестабильность. Спектр генетических повреждений в неоплазмах характеризуется удивительным разнообразием. К таковым относятся амплификации (увеличение копийности генов), делеции, инсерции, транслокации, микромутации (точковые замены, микроделеции, микроинсерции) и т.д. В последнее время большое внимание уделяется наследуемым изменениям в уровне экспрессии генов, что связано с аномальным метилированием их промоторов [12].

Определённую стройность приобрели представления не только о молекулярных, но и о более видимых, феноменологических компонентах опухолевой трансформации. Среди десятков особенностей, отличающих опухоль от нормальной ткани и упоминаемых в литературе тридцатилетней давности, удалось выделить и классифицировать несколько чётких, подкреплённых молекулярно-генетическими данными тенденций. Наиболее ясное обобщение этих признаков представлено в работе основоположников молекулярной онкологии D. Hanahan и R. Weinberg, появившейся на страницах первого номера журнала «Cell» за 2000 г. [5]. Несмотря на небольшую давность этой публикации, упомянутый обзор уже приобрёл статус «классического». По мнению авторов, все или почти все опухоли характеризуются следующими чертами:

1) самодостаточность в отношении сигналов пролиферации, связанная с аутопродукцией факторов роста, соответствующих рецепторов или других компонентов сигнального промитотического каскада;

2) потеря чувствительности к сигналам, сдерживающих процесс пролиферации, обусловленная инактивацией супрессорных (антимитотических) белков;

3) замедление процессов программируемой клеточной гибели, опосредованное дисбалансом биохимической регуляции процессов апоптоза;

4) неограниченный репликативный потенциал клеток (преодоление «лимита Хэйфлика»), сопряжённый с реактивацией экспрессии фермента теломеразы, и, как следствие, отсутствием физиологического укорачивания теломер;

5) стимуляция процессов ангиогенеза в опухоли, вызванная экспрессией трансформированными клетками ангиогенных факторов и направленная на удовлетворение повышенных потребностей быстроделющихся неопластических компонентов в оксигенации;

6) способность к инвазии и метастазированию, ассоциированная с продукцией опухолью гистолитических ферментов (протеаз), а также факторов, угнетающих локальный иммунитет;

7) геномная нестабильность, опосредованная инактивацией систем репарации ДНК и нарушениями в молекулярном контроле клеточного цикла;

8) перестройка стромальных компонентов, создающая более благоприятные условия для эволюции злокачественного клона.

Подобная «диссекция» ключевых признаков опухолевого роста имеет существенное практическое значение. Мы являемся свидетелями переходного периода в области разработок новых методов противоопухолевой терапии. Эмпирический подход, сопряжённый со случайным перебором тысяч биологически активных химикатов, постепенно замещается научно обоснованным, молекулярно-направленным поиском действительно специфических противораковых средств, направленных на активацию или инактивацию ключевых биохимических компонентов опухолевой трансформации. Первые подобные средства (герцептин, мабтера, гливек) уже внедрены в практическую медицину. По-видимому, их количество увеличится в ближайшие годы в десятки раз, что приведёт к существенному улучшению результатов противоопухолевой терапии.

Роль стромальных компонентов в инициации и прогрессии опухолей

Многочисленные «классические» работы экспериментальной онкологии XX века убедительно доказали, что трансформированная клетка является центральным, и, в целом, самодостаточным компонентом опухолевого роста. Так как в большинстве случаев онкологическая тематика подразумевает приоритетное изучение «рака», т.е. опухолей эпителиального происхождения, то при рассмотрении данного вопроса принято употреблять термины «эпителиальный компонент», под которым подразумеваются сами опухолевые клетки, и «стромальный компонент», включающий в себя окружающие ткани. «Приоритетность» эпителиального компонента подтверждается целым рядом экспериментальных наблюдений, наиболее показательным из которых является возможность прививать опухоли подопытным животным посредством инокуляции трансформированных клеточных культур. Первые сомнения в непогрешимости подобных воззрений зародились в середине 90-х годов прошлого века, когда было установлено, что опухолевые клетки секретируют специфические факторы ангиогенеза, обеспечивающие управляемую васкуляризацию опухолей; эти наблюдения оказались в достаточной мере сенсационными, так как ранее считалось, что прорастание опухоли сосудами представляет из себя пассивный, в определённой степени второстепенный процесс. Другая серия неожиданных открытий происходит сейчас, на наших глазах. Некоторые эксперименты демонстрируют, что населяющие опухоль фибробласты отличаются от сво-

их «нормальных» гомологов и также играют активную роль в канцерогенезе [2]. Например, иммортализованные клетки гиперпластического эпителия предстательной железы подвергаются дальнейшей злокачественной трансформации лишь в том случае, если они ко-культивируются с фибробластами, полученными из опухоли; напротив, ко-культивация этих же эпителиоцитов с «нормальными» фибробластами не сопровождается их малигнизацией. Одним из механистических объяснений данного феномена является продукция «опухолевыми» фибробластами целого ряда ростовых факторов, обеспечивающих паракринную стимуляцию роста неоплазии. Существенно, что в стромальных клетках опухоли иногда удаётся выявить соматические мутации, причём, спектр этих мутаций отличается от такового в эпителиоцитах [7]. Создаётся ощущение, что опухолевый процесс может начинаться не только с иницирующих мутаций в клетках эпителиального роста, но и с мутаций в фибробластах; в последнем случае аномальные стромальные клетки создают среду, благоприятную для возникновения и развития карциноматозного клона.

Иерархия клеток опухоли? Стволовые клетки опухоли?

Проблема стволовых клеток стала популярной темой в современной медицине. Под стволовыми клетками подразумеваются плюрипотентные клетки, которые сочетают практически неограниченный потенциал к самовоспроизводству с возможностью к разнообразной специализации посредством дифференцировки. Понимание механизмов жизнедеятельности стволовых клеток имеет большое прикладное значение, так как деликатное управление их размножением и функционированием может позволить восстанавливать органы, утраченные в результате тех или иных патологических процессов. Представления о стволовых клетках наиболее разработаны применительно к кроветворной ткани, тогда как поведение подобных «ростковых» компонентов в поддержании и обновлении структурно-оформленных органов изучено значительно меньше. Тем не менее, сама концепция существования тканеспецифических стволовых клеток, предназначенных для поддержания функционального равновесия между появлением новых и отмиранием старых органосоставляющих компонентов, представляется интуитивно логичной. На этом фоне выглядят сенсационными экспериментальные данные, которые свидетельствуют, что этот же принцип используется не только нормальными тканями и органами, но и опухолями. Весьма вероятно, что опухолевые массы функционально неоднородны, при этом их гетерогенность обусловлена не столько высокой фенотипической изменчивостью трансформированных клеток, сколько жёсткой иерархией и дифференцировкой внутри опухолевого клона. Создаётся ощущение, что, по крайней мере, некоторые новообразования имеют собственные стволовые клетки, которые и обеспечивают столь устойчивое поддержание и прирост размеров неоплазии. Эти стволовые клетки