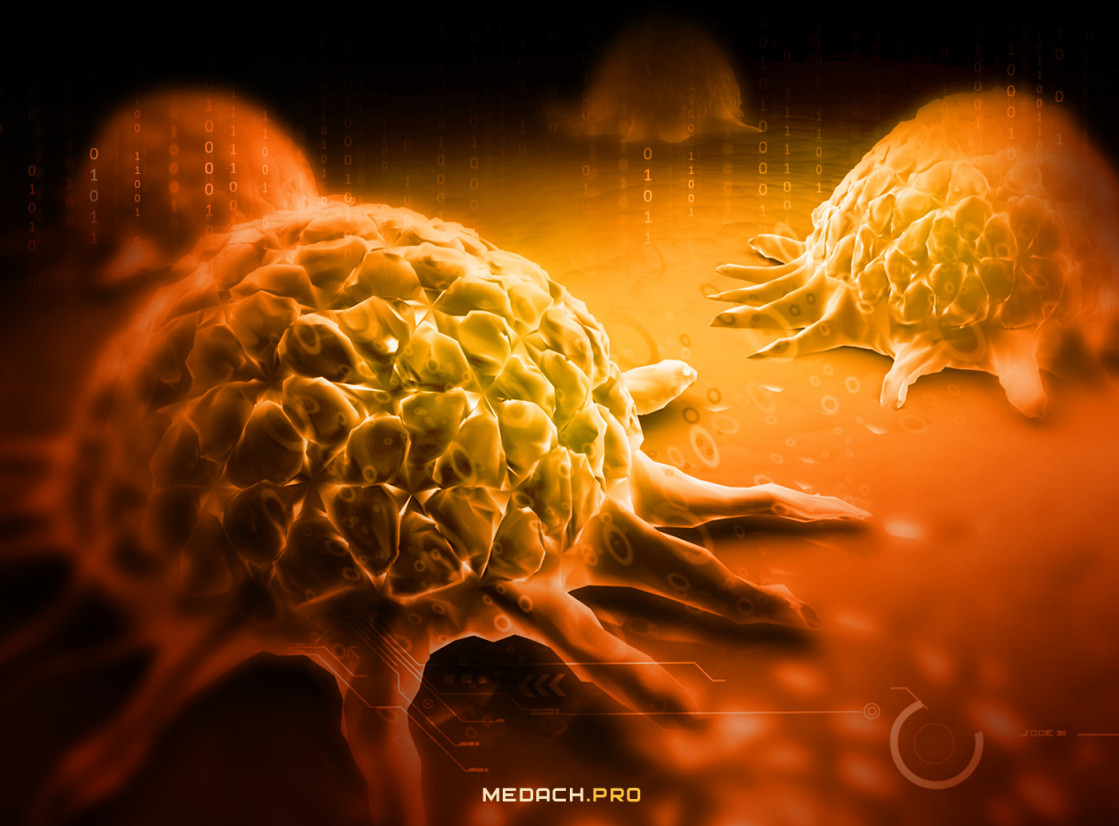


П О Л Н Ы Й П Е Р Е В О Д

HALLMARKS OF CANCER

Н О В Ы Й В З Г Л Я Д



КЛЮЧЕВЫЕ ПРИЗНАКИ РАКА: НОВЫЙ ВЗГЛЯД

Перевод: Виктория Соколикова

Редакция: Рита Савицкая, Елена Попова, Александра Далина

Оформление: Никита Родионов

Верстка: Cornu Ammonis

[Оригинал](#)

Разработка концепции ключевых признаков рака — это эвристический инструмент для систематизации огромного количества фенотипов и генотипов злокачественных новообразований в предварительный набор основополагающих принципов. По мере того, как совершенствовалось понимание механизмов канцерогенеза, уточнялись и другие ключевые признаки онкологических заболеваний. Из этой статьи вы узнаете, что фенотипическая пластичность и нарушение дифференцировки являются отдельными характерными свойствами опухолевых клеток, а немутационное эпигенетическое перепрограммирование и влияние микробиома — это отличительные особенности, которые облегчают приобретение клетками ключевых признаков рака. Кроме того, стареющие клетки различного происхождения могут играть важную роль в микроокружении опухоли.

Значимость исследования: Онкологические заболевания обескураживают размахом своего разнообразия. Это разнообразие охватывает генетику, клеточную и тканевую биологию, патогенез и терапевтический патоморфоз опухолей. Все более мощные экспериментальные и вычислительные технологии обеспечивают огромный поток «больших данных» о бесчисленных проявлениях онкологических заболеваний. Интегративный подход, воплощенный в цикле статей «Ключевые признаки рака», помогает превратить набор сложностей в логичное и упорядоченное научное знание. Потенциальные новые грани этих процессов, предлагаемые к рассмотрению в данном обзоре, могут повысить ценность этого подхода, что позволит лучше представлять/понимать биологию канцерогенеза и злокачественной прогрессии и применять эти знания в практической медицине.

ВВЕДЕНИЕ

Ключевые признаки рака были предложены как набор функциональных возможностей, приобретаемых клетками организма человека по мере того, как они проходят путь от нормального состояния к проявлению признаков неопластического роста, а точнее — тех самых свойств, которые играют ключевую роль в их способности формировать злокачественные опухоли. В своих известных статьях «The hallmarks of cancer (2000)» и «Hallmarks of cancer: the next generation (2011)» [1, 2] Боб Вайнберг и Дуглас Ханакан перечислили общие черты, объединяющие все типы опухолевых клеток на основе их клеточного фенотипа. Цель работы состояла в том, чтобы предоставить концептуальную основу, которая позволила бы упорядочить сложные фенотипы различных вариантов опухолей с точки зрения общего набора клеточных параметров. Первоначально авторы планировали описать шесть взаимодополняющих ключевых признаков рака, а позже увеличили это число до восьми. На это повлияло признание того факта, что развитие опухолей в организме человека может быть результатом многоступенчатого процесса и приобретение определенных функциональных характеристик и возможностей может быть сопоставлено с различными стадиями патогенеза опухоли. Безусловно, множество типов опухолей и растущее число подтипов обусловлено разнообразием патогенеза, при котором возникают различные абберрации/отклонения и клетки приобретают определенные свойства. Это происходит в результате необходимости преодолевать различные барьеры, специфические для разных типов тканей, что происходит в каждом конкретном случае канцерогенеза. Авторы понимают, что знание таких специализированных механизмов может обладать огромной ценностью, но авторы решили ограничить список ключевых признаков трансформированной клетки свойствами, играющими роль в развитии широкого спектра онкологических заболеваний.

В настоящее время восемь ключевых признаков рака включают в себя (Рис. 1, слева) способности поддерживать пролиферативный сигналинг, уклоняться от онкосупрессоров и сопротивляться клеточной гибели, репликативное бессмертие, способности к индукции ангиогенеза, инвазии и метастазированию, а также перепрограммирование клеточного метаболизма и уклонение от иммунного ответа. В самой последней концептуализации ключевых признаков рака [2] дерегуляция клеточного метаболизма и предотвращение иммунного повреждения были выделены как «предполагаемые ключевые признаки», но теперь, одиннадцать лет спустя, очевидно, что их, как и первоначально

чальные шесть, безусловно, можно считать полноправными (Рис. 1, слева).

Как отмечали в то время авторы, ключевые признаки рака сами по себе не в состоянии прояснить сложности его патогенеза — в частности, те молекулярные и клеточные механизмы, которые позволяют эволюционирующим пренеопластическим клеткам развиваться и приобретать aberrантные фенотипические свойства в ходе развития опухоли и злокачественной прогресс-



Рисунок 1 | Резюме Ключевых признаков рака версии 2022 г.

Слева: ключевые признаки рака в настоящее время включают восемь отличительных свойств и две вспомогательные характеристики. В дополнение к шести приобретенным свойствам, предложенным еще в 2000 г. [1], в 2011 г. [2] были введены два предварительных «новых признака» — клеточный энергетический обмен (теперь описываемый в широком смысле как «перепрограммирование клеточного метаболизма») и «уклонение от иммунного ответа». Они успешно подтверждены и могут стать частью классического списка признаков. Учитывая более глубокое понимание того, что опухоли могут достаточно кровоснабжаться либо за счет активации ангионеогенеза, либо за счет задействования нормальных тканевых сосудов [128], этот признак также определяется в более широком смысле как способность индуцировать ангиогенез или иным образом получать доступ к кровоснабжению для инвазии и метастазирования, что поддерживает рост опухоли. Продолжение 2011 г. включает «воспаление, способствующее развитию опухоли» в качестве второй характеристики, которая дополняет всеобъемлющие «нестабильность и мутации генома». Вместе они вовлечены в активацию восьми характерных признаков, необходимых для роста и прогрессии опухоли.

Последняя версия данного обзора включает в себя дополнительные отличительные черты и благоприятные для канцерогенеза характеристики. Среди них — «фенотипическая пластичность», «немутационное эпигенетическое перепрограммирование», «влияние полиморфных микробиомов» и «старение клеток».

сии. Соответственно, авторы добавили к обсуждению еще одну концепцию, описанную как «благоприятные характеристики». Это последствия аберрантного состояния при неоплазии, которые обеспечивают те самые свойства, с помощью которых клетки и, соответственно, опухоли могут приобретать свои особые функциональные характеристики. Таким образом, эти признаки отражают не сами восемь упомянутых ключевых свойств раковой клетки, а молекулярные и клеточные механизмы, позволяющие ей их приобрести. Эти два благоприятных для канцерогенеза процесса - нестабильность генома и воспаление, способствующее развитию опухоли.

Авторы также отмечают, что в настоящее время широко признается неотъемлемая роль микроокружения опухоли (tumour microenvironment, TME) в канцерогенезе и злокачественной прогрессии. В данной статье постулируется, что микроокружение опухоли состоит из гетерогенных и взаимодействующих популяций опухолевых и стволовых клеток, а также из множества рекрутированных стромальных клеток — трансформированной паренхимы и связанной с ней стромы.

Учитывая постоянный интерес к этим положениям и решительное намерение авторов поощрять постоянное обсуждение и уточнение ключевых признаков рака, уместно рассмотреть часто задаваемый вопрос: существуют ли дополнительные особенности для этой концептуальной модели, которые можно было бы в нее включить, учитывая, что они широко применимы ко всему спектру онкологических заболеваний человека? Авторы предполагают существование некоторых, пока не регламентированных отличительных черт и характеристик, которые со временем могут стать ключевыми признаками рака. Этими признаками могут стать разблокировка фенотипической пластичности, не приводящее к мутациям эпигенетическое перепрограммирование, полиморфные микробиомы и сенесцентные (стареющие) клетки (Рис. 1, справа). Важно отметить, что примеры, представленные в поддержку этих утверждений, являются иллюстративными, но ни в коем случае не исчерпывающими, поскольку о каждом из них появляется все больше убедительных публикаций.

ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ

В ходе органогенеза развитие, детерминирование и организация клеток в ткани, необходимые для выполнения специфических функций, спрово-

ждается терминальной дифференцировкой. В то же самое время, к моменту завершения этих процессов прогениторные клетки прекращают делиться — иногда необратимо. Поэтому итог дифференцировки клеток в большинстве случаев является антипролиферативным. Это представляет собой явную преграду для увеличения числа клеток, необходимого для неоплазии. Появляется все больше данных, что развитие ограниченной в норме способности к фенотипической пластичности для уклонения от терминальной дифференцировки или выхода из этого состояния является одним из ключевых компонентов канцерогенеза [3]. Фенотипическая пластичность может иметь несколько проявлений (Рис. 2). Таким образом, опухолевые клетки, ведущие начало от нормальных клеток, полностью дифференцированных или близких к терминальной дифференцировке, могут обратно дедифференцироваться до состояния, характерного для прогениторных клеток. И наоборот, опухолевые клетки, возникающие из прогениторных клеток, которые движутся к терминальной стадии дифференцировки, могут замыкать этот порочный круг, поддерживая делящиеся неопластические клетки в частично дифференцированном состоянии, характерном для самих прогениторных клеток. Другим вариантом может быть трансдифференцировка, при которой клетка, находясь на одном пути дифференцировки клеток, переключается на совершенно отличную программу и приобретает новые тканеспецифичные черты, не характерные для клеток ткани, к которой она изначально принадлежала. В пользу того, что различные формы клеточной пластичности в совокупности представляют собой один из ключевых функциональных признаков раковой клетки, говорят следующие примеры.

Дедифференцировка

Канцерогенез колоректального рака является ярким примером нарушения дифференцировки, поскольку для зарождающихся опухолевых клеток существует целесообразная необходимость сойти с конвейерной ленты терминальной дифференцировки и гибели. В целом это может происходить путем дедифференцировки эпителиоцитов толстой кишки, которые еще не дифференцировались полностью, или путем блокирования дифференцировки стволовых или прогениторных клеток крипт, дающих начало эпителиоцитам. Как дифференцированные, так и стволовые клетки могут быть клетками-предшественницами колоректального рака [4–6]. Два транскрипционных фактора, гомеобоксный белок *HOXA5* и белок *SMAD4*, участвующий в BMP-зависимой

Фенотипическая
пластичность

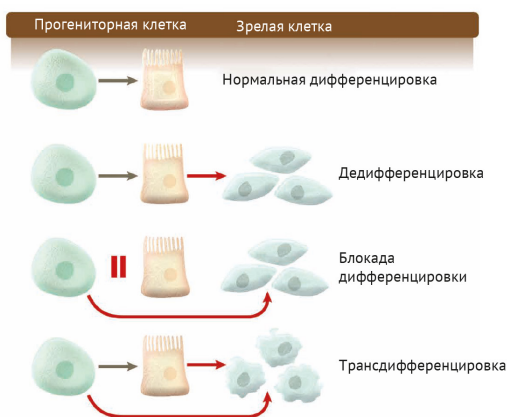


Рисунок 2 | Фенотипическая пластичность

Слева: возможно, что фенотипическая пластичность — это приобретенная отличительная черта, которая делает возможными различные нарушения клеточной дифференцировки. Это (а) дедифференцировка из зрелых состояний в состояние прогениторных клеток, (б) заблокированная (терминальная) дифференцировка прогениторных клеток и (в) трансдифференцировка в клетки других линий развития. Справа показаны три основных механизма нарушения дифференцировки, являющихся неотъемлемой частью канцерогенеза. Различные дефекты нормальной дифференцировки прогениторных клеток в зрелые клетки способствуют канцерогенезу и злокачественной прогрессии.

сигнализации, высокоэкспрессированы в дифференцирующихся эпителиоцитах толстой кишки. Оба фактора обычно утрачиваются при прогрессирующих карциномах, в которых экспрессируются характерные маркеры прогениторных и стволовых клеток. Исследования на мышиных моделях показали, что усиленная экспрессия *HOXA5* в клетках колоректального рака восстанавливает маркеры дифференцировки, супрессирует стволовые клетки и тормозит процесс инвазии и метастазирования, что объясняет потерю экспрессии этого фактора в опухолевых клетках [7, 8]. Ген *SMAD4*, напротив, способствует дифференцировке и таким образом подавляет *Wnt*-зависимую пролиферацию, что было показано в экспериментах с подавлением экспрессии *SMAD4*. Потеря экспрессии этого фактора способствует дедифференцировке и впоследствии индукции *Wnt*-зависимой пролиферации [5]. Примечательно, что потеря обоих этих «супрессоров дифференцировки» с последующей дедифференцировкой клетки связана с появлением других ключевых признаков рака, что усложняет выделение этой характеристики в отдельный независимый признак.

Еще одно доказательство — это подавление экспрессии главного регулятора дифференцировки меланоцитов MITF. По-видимому, MITF участвует в канцерогенезе наиболее агрессивных форм меланомы. Потеря этого транскрипционного фактора связана не только с реактивацией генов, экспрессия которых характерна для прогениторных клеток нервного гребня, но и с подавлением экспрессии генов, характерной для нормальных меланоцитов. Экспрессия генов нервного гребня указывает на возвращение клеток к прогениторному состоянию, из которого в процессе развития возникают меланоциты.

Кроме того, с помощью трейсинга клеточных популяций (lineage tracing) были изучены клетки меланомы с мутацией онкогена BRAF, и было установлено, что зрелые меланоциты с пигментом претерпевают дедифференцировку в ходе канцерогенеза. Следует отметить, что мутантный онкоген BRAF, который обнаруживается более чем в половине меланом кожи, индуцирует гиперпролиферацию. Вызываемая BRAF гиперпролиферация предшествует дедифференцировке, возникающей из-за подавления MITF, и, следовательно, эти процессы происходят по отдельности. В другой работе было показано, что повышение содержания транскрипционного фактора ATF2 в мышинной и человеческой меланоме, который косвенно подавляет MITF1, сопровождается злокачественной прогрессией дедифференцирующихся клеток меланомы [10]. И наоборот, экспрессия в меланомах мутантных форм ATF2, которые не способны супрессировать MITF, приводит к развитию высокодифференцированных меланом [11].

Кроме того, недавнее исследование [12] связывает дедифференцировку со злокачественной прогрессией неопластических клеток островков Лангерганса в склонные к метастазированию карциномы поджелудочной железы.

Происхождение нейроэндокринных клеток и производных от них опухолевых клеток существенно отличается от происхождения экзокринных и протоковых эпителиоцитов железы, из которых обычно развивается аденокарцинома. Это две разные клеточные линии. Примечательно, что многоступенчатый каскад дифференцировки прогениторных клеток островков Лангерганса в зрелые β -клетки был очень хорошо описан [13]. Сравнительное профилирование транскриптомов (оценка экспрессии транскрибируемых генов) показывает, что аденомоподобные опухоли из островковых клеток наиболее сходны с незрелыми, но дифференцированными инсулинпродуцирующими β -клетками, тогда как инвазивные карциномы — с эмбриональными

ми предшественниками островковых клеток. Переход к низкодифференцированным карциномам включает в себя первый этап дедифференцировки, который изначально не предусматривает усиление пролиферации или супрессию апоптоза по сравнению с высокодифференцированными аденомами — оба этих процесса возникают позже. Таким образом, каждый этап дедифференцировки не может быть обусловлен известными признаками злокачественности - постоянной пролиферацией и нарушенным апоптозом. При терминальной дифференцировке β -клеток синтез микроРНК уменьшается. Повышенная же экспрессия микроРНК не только поддерживает островковые клетки в прогениторном состоянии, но и управляет дедифференцировкой при злокачественной прогрессии [12].

Блокировка дифференцировки

Приведенные выше примеры иллюстрируют, как подавление экспрессии факторов дифференцировки может способствовать канцерогенезу. В одних случаях это позволяет более дифференцированным клеткам возвращаться к состоянию прогениторных. В других — не полностью дифференцированные прогениторные клетки могут подвергаться регуляторным изменениям, которые активно блокируют их дальнейшее развитие в полностью дифференцированные, как правило, не способные к пролиферации, клетки.

Давно подтверждено, что острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ) возникает в результате хромосомной транслокации, при которой происходит слияние локуса PML с геном, кодирующим α -ядерный рецептор ретиноевой кислоты (RAR α). Миелоидные прогениторные клетки, несущие в себе такие транслокации, по-видимому, неспособны продолжать свой обычный путь дифференцировки в гранулоциты, что приводит к застреванию клеток на стадии пролиферативных промиелоцитов-предшественников [14]. Состоятельность этой идеи была подтверждена экспериментами на клеточных культурах и мышинных моделях ОПЛ, включавших в себя обработку ретиноевой кислотой — лиганда RAR α . Аналогичные данные были также получены в случае пациентов. Ретиноевая кислота индуцирует дифференцировку неопластических клеток ОПЛ в состояние, подобное зрелым непролиферирующим гранулоцитам, что помогает прервать их продолжающуюся пролиферацию [14–16].

Дальнейшие исследования на эту тему касаются другой формы острого миелоидного лейкоза с транслокацией t(8;21), которая приводит к синтезу химерного (слитого) белка AML1-ETO. Этот белок может сам по себе транс-

формировать миелоидные предшественники, по крайней мере частично, блокируя их дифференцировку. Терапия ингибитором хроматин-модифицирующей гистоновой деацетилазы (HDAC) у мышей и людей возобновляет дифференцировку клеток миелоидного лейкоза в клетки с более зрелой морфологией, характерной для нормальных миелоидных клеток.

Сопутствующим эффектом является снижение пролиферативной активности, что тем самым затрудняет прогрессирование данного типа лейкоза [17, 18].

В качестве третьего примера можно рассмотреть роль транскрипционного фактора SOX10 в развитии меланомы. SOX10 участвует в эмбриональном развитии и в норме подавляется в ходе дифференцировки меланоцитов. Были проведены эксперименты по изменению, усилению и потере функции гена (gain- and loss-of-function research) на модели меланомы, вызванной мутацией гена BRAF, у рыбок *Danio rerio*. Было установлено, что поддержание aberrантной/измененной экспрессии SOX10 блокирует дифференцировку нейтральных прогениторных клеток в меланоциты. Это позволяет развиваться меланомам, обусловленным мутацией в гене BRAF [19].

Еще один пример модулятора дифференцировки — метаболит альфа-кетоглутарат (αКГ). Это необходимый кофактор для целого ряда ферментов, модифицирующих хроматин, который, очевидно, поддерживает определенные состояния дифференцированных клеток. При раке поджелудочной железы опухолевый супрессор p53 стимулирует выработку αКГ, поддерживая более дифференцированное состояние клеток. В то же время первоначальная утрата функции p53 приводит к снижению уровней αКГ и последующей дедифференцировке клеток, что, в свою очередь, способствует злокачественной прогрессии [20].

При определенной форме рака печени мутация гена изоцитратдегидрогеназы (*IDH1/2*) приводит к выработке не индуцирующего дифференцировку αКГ, а родственного ему «онкометаболита» — D-2-гидроксиглутерата (D2ГГ). D2ГГ, как было показано в исследованиях, блокирует дифференцировку гепатоцитов из соответствующих прогениторных клеток с помощью D2ГГ-опосредованной репрессии HNF4a. Ядерный фактор HNF4a — это главный регулятор дифференцировки гепатоцитов и их перехода в состояние покоя. Опосредованное D2ГГ подавление функции HNF4a вызывает пролиферативную экспансию клеток-предшественниц гепатоцитов, которые становятся

ся восприимчивыми к злокачественной трансформации при последующей мутационной активации онкогена *KRAS*. Это способствует прогрессии холангиокарциномы печени [21]. Мутация гена *IDH1/2* и онкометаболит D2ГГ действуют подобным образом при различных типах миелоидных и других солидных опухолей. D2ГГ в этих случаях ингибирует αКГ-зависимые диоксигеназы, необходимые для метилирования гистонов и ДНК. Диоксигеназы изменяют структуру хроматина во время дифференцировки клеток, тем самым поддерживая перерождающиеся опухолевые клетки в состоянии соответствующих прогениторных клеток [22, 23].

Еще одним родственным понятием является так называемый «обход дифференцировки», когда частично дифференцированные или же вовсе не дифференцированные клетки выходят из клеточного цикла. Располагаясь в защитных нишах, клетки переходят в неактивное состояние, но при этом обладают способностью к повторной инициации пролиферативной экспансии [24] - несмотря на то, что они все еще находятся под эволюционным селективным давлением, так или иначе нарушающим их запрограммированную дифференцировку.

Трансдифференцировка

Концепция трансдифференцировки давно признана патологами на примере тканевой метаплазии. При трансдифференцировке клетки определенного фенотипа меняют свою морфологию, становясь дифференцированными клетками другого типа. Один из ярких примеров этого явления — пищевод Барретта. Хроническое воспаление индуцирует трансдифференцировку многослойного плоского эпителия пищевода в цилиндрический эпителий, который характерен для кишечника. Это способствует последующему развитию аденокарцином, а не плоскоклеточного рака, который ожидаемо возникает из изначального плоского эпителия [3]. В настоящее время понимание молекулярных особенностей позволяет выявить механизмы трансдифференцировки при различных видах рака — как для случаев, когда имеет место массивная тканевая метаплазия, так и для тех, где она менее очевидна. Это показывают следующие примеры.

В качестве дополнительной иллюстрации авторы описывают роль трансдифференцировки при канцерогенезе протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (ПАПЖ). Одна из участвующих клеток — ацинарная клетка поджелудочной железы — включается в канцерогенез и может приобрести

фенотип протокового эпителиоцита. Два фактора транскрипции — PTF1a и MIST1 — за счет самоподдерживающихся петель прямой и обратной связи управляют спецификацией и поддержанием дифференцированного состояния ацинарных клеток поджелудочной железы [25]. Экспрессия этих транскрипционных факторов часто подавляется во время канцерогенеза и злокачественной прогрессии ПАПЖ, как было отмечено в исследованиях на мышиных моделях и у пациентов. Исследования функций генов у мышей и культивируемых клеток ПАПЖ человека продемонстрировали, что экспрессия PTF1a нарушает KRAS-индуцированную трансдифференцировку и пролиферацию, а также может вызывать повторную дифференцировку клеток с неопластическими признаками в фенотип покоящихся ацинарных клеток [26]. И наоборот, подавление экспрессии *PTF1a* вызывает ацинарно-протоковую метаплазию — а именно трансдифференцировку. Это повышает чувствительность клеток с фенотипом протоковых эпителиоцитов к злокачественной трансформации под действием мутаций гена *KRAS*, что ускоряет последующее развитие инвазивного ПАПЖ [27]. Аналогично, усиление экспрессии MIST1 в поджелудочной железе, где экспрессируется KRAS, блокирует трансдифференцировку и предотвращает канцерогенез. В ходе канцерогенеза формируется все больше участков протоковой интраэпителиальной неоплазии (pancreatic intraepithelial neoplasia, PanIN). Делеция гена *MIST1* в неопластических клетках увеличивает количество таких участков, что в итоге приводит к индуцированной KRAS неопластической прогрессии [28]. Потеря экспрессии либо PTF1, либо MIST1 в процессе канцерогенеза связана с повышенной экспрессией другого регуляторного фактора транскрипции, SOX9, который обычно участвует в спецификации протоковых эпителиоцитов [27, 28]. Было также показано, что суперэкспрессия SOX9, устраняющая необходимость подавления PTF1a и MIST1, стимулирует трансдифференцировку ацинарных клеток в протоковые эпителиоциты, чувствительные к индуцированной KRAS неоплазии [29]. Это делает SOX9 в ключевым функциональным эффектором снижения экспрессии PTF1a и MIST1 при развитии ПАПЖ у человека. Таким образом, три транскрипционных фактора, которые регулируют дифференцировку клеток поджелудочной железы, могут изменяться по-разному, чтобы привести к трансдифференцированному состоянию, которое облегчает — в контексте мутационной активации KRAS — опухолевую трансформацию, инициацию канцерогенеза и приводит к злокачественной прогрессии.

Другие белки семейства SOX - ассоциированных с хроматином регуляторных факторов - часто ассоциированы как со спецификацией клеток, так и с переключением различных путей дифференцировки [30], с одной стороны, и с другой стороны — с множеством фенотипов, ассоциированных с опухолью [31]. Другой характерный пример трансдифференцировки, регулируемой SOX, — это механизм лекарственной устойчивости карцином предстательной железы. В данном случае потеря онкосупрессоров RB (белка ретинобластомы) и транскрипционного фактора p53 (у нейроэндокринных опухолей эти онкосупрессоры отсутствуют) в ответ на антиандрогенную терапию является необходимой, но не достаточной для часто наблюдаемого перехода клеток высокодифференцированного рака простаты в клетки карциномы, происходящих из гистогенетического ряда с молекулярными и гистологическими чертами нейроэндокринных клеток, не экспрессирующих рецепторы к андрогенам. В дополнение к потере RB и p53 приобретенная резистентность к антиандрогенной терапии требует повышенной экспрессии регуляторного гена SOX2, который, очевидно, играет важную роль в индукции трансдифференцировки реагирующих на терапию клеток аденокарциномы в клетки, которые находятся в нейроэндокринном состоянии и устойчивы к терапии [32].

Еще один пример также показывает трансдифференцировку как стратегию, используемую клетками карциномы для избегания элиминации с помощью специфической терапии. Речь идет о лечении базальноклеточного рака кожи (БРК) фармакологическим ингибитором онкогенного сигнального пути Hedgehog-Smoothed (HH/SMO), который, как известно, управляет неопластической трансформацией клеток [33]. Устойчивые к лечению опухолевые клетки посредством обширных эпигенетических изменений в специфических доменах хроматина и изменения доступности двух суперэнхансеров переключаются на родственный, но все же отличающийся тип клеток. Приобретенное фенотипическое состояние клеток БРК способствует поддержанию в них экспрессии компонентов онкогенного сигнального пути Wnt. Это, в свою очередь, позволяет им обрести независимость от подавляемого при лечении пути HH/SMO [34]. Как можно ожидать, при данной трансдифференцировке транскриптомный профиль меняется: генная сигнатура, характерная для дающих начало базальноклеточному раку кожи стволовых клеток волосяного фолликула, сменяются на сигнатуру, характерную для базальной стволовой клетки в межфолликулярном эпителии. Этот путь трансдифференцировки, обеспечивающий лекарственную устойчивость, все чаще

описывается при различных формах рака [35].

Пластичность дифференцировки также, по-видимому, преобладает среди основных подтипов карцином легких. А именно — среди нейроэндокринных карцином (относятся к мелкоклеточному раку легкого) и аденокарцином и аденосквамозных карцином (немелкоклеточный рак легкого). Секвенирование РНК единичных клеток выявило поразительно динамичное и гетерогенное взаимопревращение между этими подтипами, а также их различные вариации на этапах канцерогенеза, последующего злокачественного прогрессирования и ответа на терапию [36–38]. Таким образом, вместо простой концептуализации чистого клонального переключения с одной линии на другую, вышеперечисленные исследования рисуют гораздо более сложную картину динамически взаимопревращающихся субпопуляций раковых клеток, демонстрирующих характеристики множества линий развития и стадий дифференцировки. Регуляторные детерминанты этой динамической фенотипической пластичности тоже постепенно начинают определяться [37, 39, 40].

Резюме

Анализируя три класса механизмов, описанных выше, можно выделить селективные регуляторы клеточной пластичности, которые, по крайней мере, частично отличны от основных онкогенных драйверов и других ключевых признаков. Кроме того, большое число данных позволяет связать многие формы рака с нарушениями дифференцировки. Им сопутствует приобретение транскриптомных сигнатур и других фенотипов (например, гистологической морфологии), характерных для прогениторных или стволовых клеток, наблюдаемых в соответствующих нормальных тканях или в более отдаленных клеточных типах и поколениях [41–43]. Таким образом, три подкласса фенотипической пластичности — дедифференцировка зрелых клеток до прогениторных клеток, остановка дифференцировки для сохранения развивающихся клеток в прогениторных/стволовых состояниях и трансдифференцировка в альтернативные клеточные линии — по-видимому, действуют при многих типах рака во время образования первичной опухоли, злокачественной прогрессии и/или при ответе на лечение. Однако есть еще два важных соображения. Во-первых, дедифференцировка и остановка дифференцировки, вероятно, настолько взаимосвязаны, что их нельзя отличить друг от друга во многих типах опухолей, развивающихся из клетки, про которую мы не можем точно сказать, какой она была: зрелой или прогенитор-

ной/стволовой. Во-вторых, приобретение или поддержание прогениторного фенотипа и потеря дифференцированных признаков в большинстве случаев неточно отражает нормальную стадию развития и находятся в одной среде с другими характерными изменениями в опухолевой клетке, которые отсутствуют в естественно развивающихся клетках. Кроме того, еще одна форма фенотипической пластичности включает клеточное старение (сенесенс) и более подробно рассматривается ниже. Опухолевые клетки готовятся к необратимому старению, но способны избежать его и продолжить пролиферативную экспансию [44]. Наконец, как и в случае с другими ключевыми признаками опухолевых клеток, клеточная пластичность — это не эксклюзивное новшество или отклонение. Скорее, это искажение латентных, потенциально активируемых способностей, которые различные нормальные клетки используют для поддержания гомеостаза, восстановления и регенерации [45].

Вместе эти примеры побуждают рассмотреть предположения о том, что клеточная пластичность приводит к различным нарушениям дифференцировки и представляет собой отдельный ключевой признак, отличающийся по регуляции и клеточному фенотипу от хорошо известных основных ключевых признаков рака (Рис. 2).

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ

Геномная нестабильность и мутации — фундаментальные компоненты патогенеза и формирования опухолей. В настоящее время несколько международных консорциумов каталогизируют мутации в геномах опухолевых клеток человека практически при каждом типе опухоли на разных стадиях злокачественной прогрессии, включая метастатические поражения, и при формировании адаптивной резистентности к терапии. Одним из результатов является широко распространенное в настоящее время понимание того, что мутации в генах, которые организуют, моделируют и поддерживают определенную архитектуру хроматина и, таким образом, глобально регулируют экспрессию генов, выявляются все чаще и функционально связаны с ключевыми признаками рака [46–48].

Кроме того, необходимо сказать о еще одном, по-видимому, независимом способе перепрограммирования генома, который включает эпигенетически регулируемые изменения экспрессии генов, что можно охарактеризовать как немутационное эпигенетическое перепрограммирование (Рис. 3). Действи-

тельно, предположение о немутационной эволюции опухолей и исключительно эпигенетическом программировании ключевых признаков было выдвинуто почти десятилетие назад [49] и все чаще обсуждается в последнее время [46, 50–52]. Концепция немутационной эпигенетической регуляции экспрессии генов, конечно, хорошо известна как центральный механизм, регулирующий эмбриональное развитие, дифференцировку клеток и органогенез [53–55]. У взрослых, например, механизмы формирования долговременной памяти включают изменения в модификации генов и гистонов, структуры хроматина и в запуске переключателей экспрессии генов, которые стабильно поддерживаются с течением времени за счет механизмов положительной и отрицательной обратной связи [56, 57]. Растущее количество данных поддерживает предположение, что аналогичные эпигенетические изменения могут способствовать приобретению ключевых признаков опухоли во время канцерогенеза и злокачественной прогрессии. Ниже приводится несколько примеров в поддержку этой гипотезы.

Механизмы эпигенетического перепрограммирования в микроокружении опухоли

Каким образом, кроме онкогенных мутаций, может перепрограммироваться геном опухолевой клетки? Растущее количество данных указывает на то, что аномальные свойства микроокружения опухоли могут вызывать изменения



Рисунок 3 | Немутационное эпигенетическое перепрограммирование

Регуляторные генные сети и цепи играют важную роль не только в эмбриогенезе, тканевой дифференцировке и поддержании гомеостаза, но и при канцерогенезе. Появляется все больше данных о том, что на регуляторные генные сети в опухолевых клетках могут влиять множество поврежденных и взаимосвязанных механизмов, которые не зависят ни от нестабильности генома, ни от генных мутаций.

в эпигеноме. Изменения, полезные для фенотипического отбора, могут привести к клональной экспансии клеток опухоли с повышенной способностью к пролиферации. Общая характеристика опухолей (или областей внутри опухолей) — наличие гипоксии из-за недостаточной васкуляризации. Гипоксия, например, снижает активность ТЕТ-деметилаз, что приводит к существенным изменениям в метиломе, в частности к гиперметилированию ДНК [58]. Недостаточная васкуляризация, вероятно, также ограничивает биодоступность критически важных питательных веществ, переносимых кровью. Например, было показано, что дефицит питательных веществ влияет на контроль транскрипции, следовательно, делает фенотип клеток опухоли молочной железы более злокачественным [59].

Убедительный пример влияния эпигенетической регуляции, обусловленной гипоксией — одна из форм неизбежно летальной эпендимомы у детей. Как и во многих эмбриональных опухолях, в эпендимоме отсутствуют повторяющиеся мутации, в частности, драйверные мутации в онкогенах и опухолевых супрессорах. Скорее, гипоксия запускает генную регуляторную программу, которая вызывает аномальный рост опухолевых клеток эпендимомы [60, 61]. Примечательно, что предполагаемая исходная клетка этой опухоли находится в изначально гипоксических условиях, что, вероятно, повышает чувствительность располагающихся там клеток к инициации онкогенеза с помощью еще неизвестных кофакторов.

Другой ряд доказательств эпигенетической регуляции, опосредованной микроокружением, включает способность опухолевых клеток к инвазивному росту. Классический пример — обратимая индукция инвазивности опухолевых клеток на краях многих солидных опухолей, управляемая программой регуляции развития, известной как эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП; см. ссылки 62–64). Примечательно, что недавно было показано, как основной регулятор ЭМП, ZEB1, приводит к экспрессии гистоновой метилтрансферазы SETD1B, которая, в свою очередь, способствует экспрессии ZEB1. Эта положительная обратная связь поддерживает способность клеток, претерпевающих ЭМП, к инвазии [65]. Предыдущее исследование аналогичным образом показало, что индукция ЭМП за счет повышенной экспрессии родственного транскрипционного фактора, SNAIL1, вызывала заметные изменения в хроматиновом ландшафте клеток. Это результат синтеза модификаторов хроматина, активность которых явно необходима для поддержания соответствующего фенотипического состояния [66]. Кроме того, ряд условий

и факторов, которые действуют на краевые опухолевые клетки, включая гипоксию и цитокины, секретируемые стромальными клетками, очевидно, могут индуцировать ЭМП и, в свою очередь, инвазивность [67, 68].

Не связанный с ЭМП, на первый взгляд, характерный пример программирования микроокружения опухоли — аутокринная активация нейронной сигнальной цепи, включающей секретируемый глутамат и его рецептор NMDAR, за счет давления интерстициальной жидкости [69, 70]. Примечательно, что существенная перестройка внеклеточного матрикса (ВКМ), окружающего клетки внутри опухоли, зачастую придает жесткость структуре многих солидных опухолей и оказывает широкое влияние на инвазивность и другие фенотипические характеристики опухолевых клеток. По сравнению с ВКМ исходной нормальной ткани ВКМ опухоли обычно характеризуется повышенным числом поперечных сшивок и плотностью, ферментативными модификациями и измененным молекулярным составом. В совокупности эти изменения обеспечивают — частично через интегриновые рецепторы — передачу сигналов и экспрессию генов, которые позволяют приобретать как инвазивность, так и другие характерные признаки [71].

Помимо описанных выше регуляторных механизмов, обусловленных физическим микроокружением опухоли, существует паракринная сигнализация с участием растворимых факторов, высвобождаемых во внеклеточную среду различными типами клеток, входящими в состав солидных опухолей. Паракринный сигналинг также может способствовать индукции нескольких морфологически различных программ инвазивного роста [72], только одна из которых, названная «мезенхимальной», по-видимому, включают вышеупомянутый механизм эпигенетической регуляции ЭМП.

Эпигенетическая регуляторная гетерогенность

Растущий объем знаний повышает понимание важности внутриопухолевой гетерогенности в создании фенотипического разнообразия, когда наиболее приспособленные для пролиферативной экспансии и инвазии клетки перерастают своих «собратьев» и, следовательно, становятся мишенью для злокачественной прогрессии. Конечно, один из аспектов этой фенотипической гетерогенности основан на хронической или эпизодической нестабильности генома и, как следствие, генетической гетерогенности клеток, составляющих опухоль. Кроме того, становится все более очевидным, что может существовать эпигенетическая гетерогенность, не основанная на мутациях. Яркий

пример — линкерный гистон H1.0, который динамически экспрессируется и репрессируется в субпопуляциях опухолевых клеток в пределах ряда опухолей, обеспечивая или, наоборот, устраняя доступность доменов ДНК длиной в миллионы пар оснований [73]. Примечательно, что популяции опухолевых клеток с репрессией H1.0, как было обнаружено, приобретают характеристики стволовых клеток, повышенную способность к канцерогенезу и ассоциированы с неблагоприятным прогнозом у пациентов.

Другой пример эпигенетически регулируемой пластичности был описан при плоскоклеточном раке полости рта, где опухолевые клетки на краях инвазии обладают фенотипом, характерным для частичного эпителиально-мезенхимального перехода (ч-ЭМП). При частичном ЭМП в клетках отсутствуют упомянутые мезенхимальные транскрипционные факторы, однако присутствует экспрессия других генов, которые не экспрессируются в центральном ядре опухоли [74]. У клеток с ч-ЭМП, очевидно, не наблюдается клональная компартиментализация, которая присутствует у мутантных клеток.

Первичная культура клеток, выделенных из опухоли, содержала смесь клеток с разными фенотипами: как ч-ЭМП^{high}, так и ч-ЭМП^{low}. (Индексы low и high обозначают интенсивность экспрессии генов у данного фенотипа). После того, как клетки обоих фенотипов были отобраны с помощью проточной цитометрии и культивированы, они возвращались к смешанным популяциям ч-ЭМП^{high} и ч-ЭМП^{low} в течение четырех дней. Более того, несмотря на то, что паракринные сигналы от окружающей стромы можно рассматривать как необходимые для фенотипа ч-ЭМП^{high}, стабильное присутствие двух эпигенетических состояний в культуре клеток свидетельствует в пользу наличия у опухолевых клеток определенного внутреннего механизма. Примечательно, что этот вывод подтверждается анализом 198 клеточных линий клеток 22 типов онкологических заболеваний, включая плоскоклеточный рак полости рта, где 12 стабильно гетерогенных эпигенетических паттернов (включая частичный ЭМП при плоскоклеточном раке полости рта) по-разному проявлялись в моделях клеточных линий, а также в соответствующих им первичных опухолях [75]. Опять же, гетерогенные фенотипические состояния не могли быть связаны с обнаруживаемыми генетическими различиями, и в нескольких случаях было показано, что клетки с определенным паттерном, полученные с помощью проточной цитофлуориметрии, динамически уравниваются при культивировании, воспроизводя стабильный баланс между гетерогенными состояниями, наблюдаемыми в исходных клеточных линиях.

Кроме того, технологии полногеномного профилирования различных характеристик — помимо последовательности ДНК и ее мутантных вариаций — проливают свет на важные элементы организации генома опухолевых клеток, которые коррелируют с клиническим прогнозом и все чаще связаны с ключевыми признаками рака [76–78]. Эпигеномная гетерогенность выявляется с помощью все более мощных технологий для профилирования полногеномного метилирования ДНК [79, 80], модификации гистонов [81], доступности хроматина [82], а также посттранскрипционной модификации и трансляции РНК [83, 84]. Рассматриваемое здесь предположение ставит следующую задачу: установить, какие модификации эпигенома в конкретных типах опухолей (а) имеют регулирующее значение и (б) представляют собой немутационное перепрограммирование, в отличие от тех, которые обусловлены мутациями и, таким образом, могут быть объяснены нестабильностью генома.

Эпигенетическая регуляция стромальных клеток, составляющих микроокружение опухоли

Если говорить в целом, проонкогенная активность вспомогательных клеток в опухолевом микроокружении, которые способствуют приобретению тех самых ключевых признаков, не объясняется генетической нестабильностью или признаками мутационного перепрограммирования. Скорее предполагается, что эти клетки — ассоциированные с опухолью фибробласты, клетки врожденного иммунитета, эндотелиоциты и перициты опухолевой сосудистой сети — эпигенетически перепрограммируются растворимыми и физическими факторами, определяющими микроокружение солидной опухоли [2, 85]. Ожидается, что мультиомные технологии, применяемые в настоящее время для профилирования опухолевых клеток, будут все чаще использоваться для исследования вспомогательных (стромальных) клеток в опухолях, чтобы выяснить, как меняются нормальные клетки для функционального поддержания развития и прогрессии опухоли. Например, недавнее исследование [86] предполагает, что подобный процесс может включать модификации эпигенома в дополнение к индуктивному обмену цитокинами, хемокинами и факторами роста, которые изменяют внутриклеточные сигнальные сети во всех этих типах клеток: при экспериментальном лечении легочных метастазов на мышинных моделях с применением комбинации ингибитора ДНК-метилтрансферазы (5-азацитидина) и ингибитора модификации гистонов (HDAC), было обнаружено, что инфильтрирующие миелоидные клетки

перешли из незрелого (стимулирующего опухоль) состояния в клетки, напоминающие зрелые интерстициальные (опухолевые антагонисты) макрофаги, которые, в отличие от их аналогов в необработанных опухолях, были неспособны поддерживать характерные черты, необходимые для успешной метастатической колонизации [86]. Можно предположить, что мультиомное профилирование и фармакологические воздействия сыграют важную роль в исследованиях измененного эпигенетического состояния в подобных миелоидных клетках, а также в других типах вспомогательных клеток, населяющих микроокружение опухоли.

Резюме

В совокупности вышеперечисленные примеры подтверждают предположение, что немутационное эпигенетическое репрограммирование будет восприниматься как характеристика, облегчающая приобретение ключевых признаков рака (Рис. 3), отдельно от генетической нестабильности и мутаций геномной ДНК. Примечательно, что может оказаться, что немутационное эпигенетическое репрограммирование окажется неотъемлемым элементом обеспечения обсуждавшейся выше фенотипической пластичности, в частности, являясь движущей силой динамической транскриптомной гетерогенности, которая все чаще отмечается в опухолевых клетках и популяции клеток ЭМП. В перспективе развитие технологий мультиомного профилирования отдельных клеток поможет осветить соответствующий вклад и взаимодействие между управляемой мутацией и немутационной эпигенетической регуляцией эволюции опухолей во время канцерогенеза и метастазирования.

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОБИОМОВ

Благодаря освещению разнообразия и изменчивости множества микроорганизмов, собирательно называемых микробиотой, которые симбиотически связаны с барьерными тканями тела, подверженными воздействию внешней среды, — эпидермисом и слизистой оболочкой, в частности, желудочно-кишечного тракта, а также легких, молочной железы и мочеполовой системы, открываются все новые пространства для развития биомедицины. Растет понимание того, что экосистемы, созданные резидентными бактериями и грибами — микробиомы — оказывают глубокое влияние как на здоровье, так и на развитие заболеваний [87], что подкрепляется возможностью контроли-

ровать популяцию микробов с использованием секвенирования нового поколения и биоинформационных технологий. Что касается онкозаболеваний, то все более убедительными становятся данные о том, что полиморфизм микробиомов среди людей в популяции может оказывать глубокое влияние на фенотипы опухолей [88, 89]. Ассоциативные исследования у людей и эксперименты на мышах выявляют определенные микроорганизмы, главным образом, бактерии (но не только их), которые могут оказывать либо защитное, либо усугубляющее воздействие на канцерогенез, злокачественную прогрессию и ответ на терапию. То же самое можно сказать и о глобальной сложности и составе тканевого микробиома в целом. Действительно, хотя кишечный микробиом был пионером на новом рубеже исследований, многие ткани и органы имеют связанные микробиомы, которые обладают отличительными характеристиками в отношении динамики популяций и разнообразия микробных видов. Признание важности полиморфно изменчивых микробиомов для поддержания здоровья и развития заболеваний, в свою очередь, ставит закономерный вопрос: является ли микробиом дискретной характеристикой, которая в целом влияет — как положительно, так и отрицательно — на приобретение отличительных способностей опухолей? Авторы приводят свои размышления об этой возможности ниже, иллюстрируя их имеющимися данными о некоторых известных тканевых микробиомах, связанных с ключевыми признаками рака (Рис. 4), начиная с наиболее заметного и явно наиболее влиятельного микробиома — микробиома желудочно-кишечного тракта.

Разнообразные модулирующие эффекты кишечного микробиома

Давно известно, что кишечный микробиом имеет фундаментальное значение в работе толстой кишки, участвуя в переваривании и транспорте питательных веществ в организм в процессе метаболического гомеостаза, и что нарушения в микробных популяциях — дисбиоз — в толстой кишке могут вызывать целый спектр разнообразных заболеваний [87]. Существовало подозрение, что кишечный микробиом влияет на развитие и патогенез колоректального рака (КРР), а также восприимчивость к нему. В последние годы ряд исследований фекальных трансплантатов от пациентов и мышей с опухолями толстой кишки, перенесенных мышам-реципиентам, которые предрасположены к развитию КРР, установили следующий принцип: существуют микробиомы, защищающие от развития онкологического процесса, и ми-

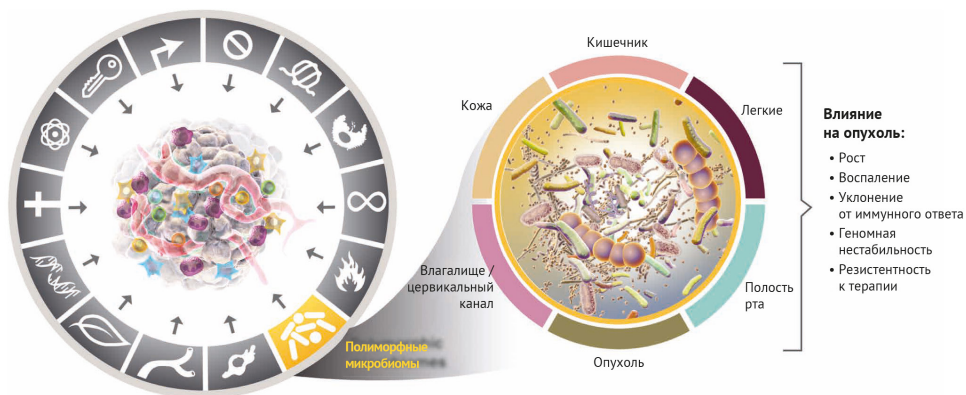


Рисунок 4 | Полиморфные микробиомы

Слева: действие благоприятных для развития опухоли признаков пересекается между собой. Среди таких признаков — не только воспаление, способствующее развитию опухоли, геномная нестабильность и мутации, но и влияние полиморфных микробиомов. Появляется все больше оснований для вывода о том, что полиморфные микробиомы оказывают влияние на ключевые признаки рака. Микробиомы толстой кишки, других слизистых оболочек и связанных с ними органов или самих опухолей, могут по-разному влиять на опухоль у разных людей, либо способствуя, либо препятствуя появлению ключевых признаков рака. Таким образом, они потенциально являются значимой и, можно сказать, независимой переменной в пока еще нерешенном уравнении того, как опухоль развивается, прогрессирует и реагирует на терапию. Действительно, множество тканевых микробиомов участвует в изменении фенотипов опухолей. Помимо широко изученного кишечного микробиома, другие характерные тканевые микробиомы, а также микробиом самой опухоли помогают или препятствуют приобретению ключевых признаков в различных типах опухолей.

микробиомы, способствующие развитию опухоли, с участием определенных видов бактерий, которые могут модулировать канцерогенез опухолей толстой кишки [90].

Механизмы модулирующей функции микробиоты все еще исследуются, но для микробиомов, способствующих развитию опухолей, и в некоторых случаях — для конкретных видов бактерий все более четко устанавливаются два общих принципа. Одним из них является мутация эпителия толстой кишки в результате продукции бактериальных токсинов и других молекул, которые либо повреждают ДНК напрямую, либо разрушают системы, поддерживающие целостность генома, либо подвергают клетки стрессу иным

образом, что в итоге нарушает точность репликации и репарации ДНК. Показательным примером является *E. coli*, несущая локус PKS, который обладает мутагенным действием для генома человека и участвует в передаче мутаций, обеспечивающих канцерогенез [91].

Кроме того, сообщалось, что бактерии связываются с поверхностью эпителиоцитов толстой кишки и продуцируют миметики лигандов, которые стимулируют пролиферацию, внося свой вклад в характерное для опухолевых клеток усиление пролиферативных сигнальных путей [88]. Другой механизм, с помощью которого определенные виды бактерий способствуют канцерогенезу, включает продукцию бутирата; численность вырабатывающих его бактерий повышена у пациентов с КРР [92]. Образование метаболитов бутирата приводит к комплексным физиологическим эффектам, включая индукцию старения эпителиоцитов и фибробластов. На мышинных моделях канцерогенеза опухолей толстой кишки, населенной бактериями, продуцирующими бутират, развилось больше опухолей, чем у мышей, лишенных таких бактерий. Связь между вызванным бутиратом старением и усилением канцерогенеза в толстой кишке была продемонстрирована при использовании сенолитического препарата, убивающего стареющие клетки, которые притормаживают рост опухоли [92]. Кроме того, вырабатываемый бактериями бутират оказывает плейотропное и парадоксальное действие на дифференцированные и недифференцированные (стволовые) клетки в эпителии толстой кишки в условиях, когда кишечный барьер нарушен (при дисбиозе), а бактерии являются инвазивными. Это влияет, например, на клеточный гомеостаз и метаболизм, модификацию гистонов, клеточный цикл и воспаление, запускаемое системой врожденного, которое подавляет адаптивный иммунный ответ и стимулирует рост опухоли [93].

В самом деле, широкий спектр разнообразных эффектов полиморфных микробиомов подразумевает модуляцию адаптивной и врожденной иммунной системы различными путями, включая выработку бактериями «иммуномодулирующих» факторов, которые активируют сенсоры повреждения на эпителиоцитах или резидентных иммунных клетках, что приводит к экспрессии разнообразных хемокинов и цитокинов, которые могут формировать соответствующие характеристики иммунных клеток, населяющих эпителий толстой кишки и лежащую в ее основе строму и лимфатические узлы. Кроме того, некоторые бактерии могут разрушать как защитную биопленку, так и слизь, которые выстилают эпителий толстой кишки, и продолжать разъеди-

нять плотные контакты эпителиоцитов, которые в совокупности поддерживают целостность физического барьера, в норме отграничивающего кишечный микробиом. После проникновения в строму бактерии могут приводить к развитию как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа, вызывая секрецию цитокинов и хемокинов. Одним из проявлений подобных свойств может быть возникновение иммунного микроокружения, способствующего развитию опухоли или же противодействующего ей, что, соответственно, благоприятствует онкогенезу и злокачественной прогрессии или наоборот, защищает от них. Соответственно, влияние микробиома у отдельных пациентов на приобретение свойств, (а) приводящих к воспалению, которое способствует канцерогенезу, и б) способствующих избеганию (адаптивного) иммунного ответа может быть связана не только с прогнозом, но также с ответом или устойчивостью к иммунотерапии, включающей ингибиторы иммунных контрольных точек, а также другие терапевтические методы [89, 94–96]. Предварительное подтверждение концепции было получено в результате недавних исследований, в ходе которых у пациентов с меланомой, прогрессирующей во время предшествующего лечения ингибиторами иммунных контрольных точек, восстанавливалась эффективность иммунотерапии после трансплантации фекальной микробиоты от пациентов, реагировавших на терапию [97, 98].

Продолжающиеся исследования связаны с молекулярными механизмами, с помощью которых определенные компоненты кишечного микробиома модулируют активность адаптивной иммунной системы, либо усиливая противоопухолевые иммунные реакции, вызванные блокадой иммунных контрольных точек, либо, что более вероятно, вызывая системную или локальную (внутриопухолевую) иммуносупрессию. Недавнее исследование прояснило: некоторые штаммы энтерококков (и других бактерий) экспрессируют пептидогликангидролазу, называемую SagA, высвобождающую мукопептиды из бактериальной стенки, которые затем могут циркулировать по системному кровотоку и активировать паттерн-распознающий рецептор NOD2, который, в свою очередь, усиливает T-клеточные ответы и эффективность иммунотерапии ингибиторами контрольных точек [99]. Другие молекулы, продуцируемые определенными бактериями, все еще изучаются, включая, например, инозин — метаболит, лимитирующий T-клеточную активность [100]. Эти и другие примеры начинают отображать молекулярные механизмы, с помощью которых микробиомы прямо и косвенно модулируют имму-

нобиологию опухоли наряду с иммунными ответами, возникающими в результате прямого взаимодействия бактерий с иммунной системой [101, 102].

Помимо причинно-следственных связей с КРР и меланомой, демонстрируемая способность кишечного микробиома вызывать экспрессию иммуномодулирующих хемокинов и цитокинов, которые попадают в системный кровоток, очевидно, также может влиять на канцерогенез и ответ на терапию в опухолях других локализаций [94, 95]. Наглядным примером служит развитие холангиокарциномы печени: дисбиоз кишечника позволяет бактериям проникать и транспортировать бактериальные продукты через воротную вену в печень, где активируется TLR4, экспрессируемый на гепатоцитах, что впоследствии индуцирует экспрессию хемокина CXCL1, который рекрутирует CXCR2-экспрессирующие гранулоцитарные миелоидные клетки (gMDSC). Эти клетки служат для подавления клеток — натуральных киллеров, чтобы избежать развития иммунного ответа [103], и, скорее всего, обладают рядом других свойств [85]. Таким образом, кишечный микробиом однозначно рассматривается как важная характеристика, которая может как способствовать канцерогенезу различных видов опухолей, так и предотвращать его.

За пределами кишечника: роль характерных микробиомов в других барьерных тканях

Практически все ткани и органы, прямо или косвенно подвергающиеся воздействию внешней среды, также являются местами обитания комменсальных микроорганизмов [104]. В отличие от кишечника, где симбиотическая роль микробиома в обмене веществ хорошо известна, значение резидентной микробиоты других локализаций все еще активно изучается. Очевидно, существуют специфические для органов/тканей различия в строении ассоциированных с ними микробиомов при гомеостазе, старении и канцерогенезе, со своими отличительными особенностями по сравнению с толстой кишкой [104, 105]. Более того, исследования геномных ассоциаций предоставляют все больше данных, что подобно кишечному микробиому, локальные «противоопухолевые» микробиомы и проонкогенные микробиомы могут модулировать патогенез и восприимчивость к терапии человеческих опухолей, возникающих в соответствующих органах [106–109].

Влияние внутриопухолевой микробиоты

Наконец, патологами давно уже признано, что бактерии могут обнаружи-

ваться в солидных опухолях, и теперь это наблюдение подтверждено с помощью сложных технологий микробиомного профилирования. Например, при обследовании 1526 новообразований, охватывающих семь типов опухолей человека (опухоль кости, мозга, молочной железы, легких, меланома, опухоли яичника и поджелудочной железы), каждый тип характеризовался определенным микробиомом, который в основном был локализован среди опухолевых и иммунных клеток, а в пределах каждого типа опухоли можно было обнаружить особые вариации микробиома и сделать вывод, что они связаны с клинико-патологическими особенностями заболевания [110]. Аналогичным образом микробиота была исследована в генно-инженерных мышинных моделях рака легких и поджелудочной железы *de novo*, и отсутствие микробиоты у стерильных мышей и/или ее разрушение антибиотиками действительно может нарушать процесс канцерогенеза, функционально представив микробиом в качестве фактора, способствующего развитию опухоли, воспаления и злокачественной прогрессии [111, 112]. Ассоциативные исследования аденокарциномы протоков поджелудочной железы человека и функциональные тесты с фекальными трансплантатами у мышей с опухолью установили, что вариации микробиома опухоли и связанного с ним микробиома кишечника могут влиять на иммунные фенотипы и выживаемость [113]. Важная задача на будущее будет заключаться в распространении этих выводов на другие типы опухолей и размежевании потенциально различных вкладов изменчивости микробиома опухоли в микробиом кишечника (и других органов и тканей), возможно, с выявлением специфических микробных видов, оказывающих функциональное влияние в той или иной локализации.

Резюме

Среди интригующих вопросов будущего — может ли микробиота, обитающая в различных тканях или заселяющая зарождающиеся новообразования, способствовать или препятствовать приобретению других ключевых признаков, помимо иммуномодуляции и мутации генома, тем самым влияя на развитие и прогрессию опухоли? Имеются сведения о том, что определенные виды бактерий могут напрямую стимулировать пролиферативные сигнальные пути, например, в эпителии толстой кишки [88], и модулировать подавление роста путем изменения активности опухолевых супрессоров в различных отделах кишечника [114], в то время как прямое воздействие на другие свойства злокачественных опухолей, такие как иммортализация, ангиогенез

и стимуляция инвазии и метастазирования, остаются неясными, как и возможность обобщения этих наблюдений для множества видов опухолей человека. Тем не менее, появляется все больше убедительных аргументов в пользу того, что полиморфная изменчивость микробиомов кишечника и других органов — отдельная характеристика, способствующая приобретению ключевых признаков рака (Рис. 4), несмотря на то, что она пересекается с нестабильностью генома, мутациями и опухолевым воспалением и дополняет их.

СТАРЕЮЩИЕ (СЕНЕСЦЕНТНЫЕ) КЛЕТКИ

Клеточное старение — это обычно необратимая форма прекращения пролиферации, которая, скорее всего, развилась как защитный механизм для поддержания тканевого гомеостаза. Вероятно, клеточное старение — механизм, комплементарный программируемой клеточной гибели, который инактивирует и элиминирует поврежденные, дисфункциональные или другие ненужные клетки. В дополнение к остановке клеточного цикла программа старения изменяет морфологию и метаболизм клеток и, что наиболее важно, придает клетке секреторный фенотип, ассоциированный со старением (senescence-associated secretory phenotype, SASP). Он сопровождается высвобождением множества биоактивных белков, в том числе хемокинов, цитокинов и протеаз, спектр которых зависит от типа клеток и тканей, из которых возникает сенесцентная клетка [115–117]. Старение клеток может быть вызвано различными условиями, в том числе стрессами в микроокружении, такими как дефицит питательных веществ и повреждение ДНК, а также повреждением органелл, нарушением их взаимодействий и дисбалансом в клеточных сигнальных сетях [115, 117], ассоциированных с наблюдаемым увеличением количества стареющих клеток в различных органах при общем старении организма [118, 119].

Клеточное старение долгое время рассматривалось как защитный механизм против канцерогенеза, при котором опухолевые клетки уходят в сенесценс [120]. Большинство вышеупомянутых факторов, запускающих программу старения, связаны со злокачественными новообразованиями, в частности — с повреждением ДНК в результате аномальной гиперпролиферации, так называемым онкоген-индуцированным старением из-за гиперактивации сигнальных путей и индуцированным химиотерапией и лучевой терапией старением в результате клеточного и геномного повреждения. Действительно, существуют хорошо известные примеры, демонстрирующие защит-

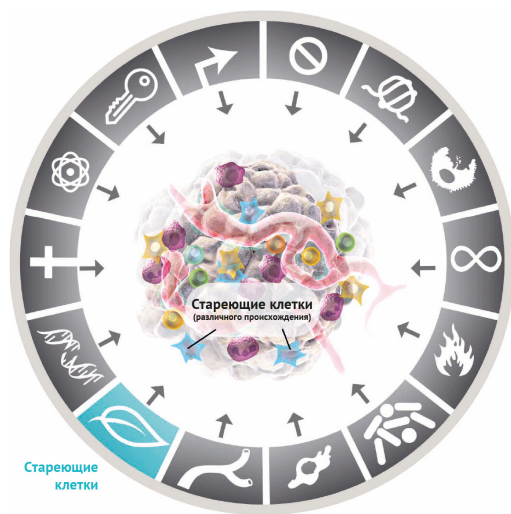


Рисунок 5 | Старение клеток

Гетерогенные подтипы раковых и стромальных клеток функционально интегрируются, обуславливая проявления опухолей как «незаконных» органов. Последние данные все чаще указывают на то, что стареющие клетки составляют немалую часть микроокружения опухоли. А их переменные секреторные фенотипы, ассоциированные со старением (senescence-associated secretory phenotype, SASP) влияют на ключевые признаки и последующие фенотипы опухолей.

ные свойства процесса старения для ограничения злокачественной прогрессии [118, 119]. Однако, наоборот, все больше данных говорит об обратном: в определенных контекстах стареющие клетки по-разному стимулируют развитие опухоли и иницируют злокачественную прогрессию [119, 121]. В одном тематическом исследовании у мышей были фармакологически удалены стареющие клетки — в частности те, в которых экспрессировался ингибитор клеточного цикла p16-INK4a: элиминация стареющих клеток у мышей не только оказалась способна отсрочить появление признаков старения, но и снизила число случаев спонтанного канцерогенеза и летальных исходов от злокачественных опухолей [122].

Считается, что основным механизмом, с помощью которого стареющие клетки могут способствовать формированию опухолевого фенотипа, является SASP. Сенесцентные клетки способны паракринным путем передавать сигнальные молекулы (и протеазы, которые активируют и/или деактивируют их) близлежащим опухолевым клеткам, а также другим клеткам в опухолевом микроокружении, обеспечивая развитие ключевых признаков рака. Таким образом, как было показано в различных экспериментах, стареющие раковые клетки по-разному способствуют пролиферативному сигналингу: избегая апоптоза, индуцируя ангиогенез, стимулируя инвазию и метастазирование и подавляя противоопухолевый иммунный ответ [116, 118, 120, 121].

Еще один аспект воздействия стареющих злокачественных клеток на фенотипы опухолей — это обратимый транзиторный сенесенс опухолевых клеток. Стареющие клетки уклоняются от SASP-обусловленной экспрессии, возобновляют пролиферацию и обладают свойствами полностью жизнеспособных онкогенных клеток [44]. Такой тип старения наиболее широко описан в случаях онкологических заболеваний, резистентных к терапии [44], и представляет собой своего рода состояние покоя, что позволяет опухоли избегать терапевтического воздействия на пролиферирующие раковые клетки. Однако вполне возможно, что транзиторный сенесенс может выполнять более разнообразные функции на разных стадиях опухолеобразования, злокачественной прогрессии и метастазирования.

Более того, способность стареющих клеток к приобретению опухолевых признаков не ограничивается одними лишь опухолевыми клетками. Было показано, что фибробласты, ассоциированные с опухолью (ФАО), в опухолях тоже стареют, становясь сенесцентными ФАО, которые способствуют канцерогенезу благодаря передаче опухолевых свойств клеткам в микроокружении опухоли [115, 116, 121]. Более того, стареющие фибробласты в нормальных тканях, появляющиеся в том числе в результате естественного старения или воздействия окружающей среды, аналогичным образом участвуют в ремоделировании тканевого микроокружения, посредством паракринной регуляции поддерживая как локальную инвазию (так называемые «эффекты поля»), так и развитие отдаленных метастазов [116]. Кроме того, отмечено, что стареющие фибробласты кожи способны рекрутировать клетки врожденного иммунитета, которые одновременно подавляют адаптивный противоопухолевый иммунный ответ, связанный с CD8+ Т-лимфоцитами, и стимулируют рост опухолей кожи [123]. Последний эффект говорит о возможном вкладе в развитие других характерных признаков рака паракринной регуляции, осуществляемой клетками врожденного иммунитета (миелоидных клеток, в том числе нейтрофилов и макрофагов).

Также предполагается, хотя и не установлено точно, что другие стромальные клетки, населяющие микроокружение опухоли, тоже уходят в сенесенс и, таким образом, модулируют свойства злокачественных клеток и последующие опухолевые фенотипы. Например, опухолевые эндотелиоциты, уходящие в вызванной терапией сенесенс, могут усиливать пролиферацию, инвазию и метастазирование в моделях рака молочной железы [124, 125].

Конечно, чтобы сделать подобные выводы, необходимо исследовать других типы опухолей и оценить, насколько широк спектр опухолей, в которых старение фибробластов, эндотелиоцитов и других стромальных клеток играет роль движущей силы эволюции опухоли. Также в настоящее время неизвестны регуляторные механизмы и функциональные детерминанты, с помощью которых конкретный тип стареющих клеток в микроокружении той или иной опухоли приводит к возникновению SASP, способствующего развитию опухоли, а не антагонистичного по отношению к опухоли SASP. Он, по-видимому, может быть по-разному индуцирован в одном и том же типе стареющих клеток — возможно, в зависимости от характеристик физиологического или неопластического микроокружения.

Резюме

Ключевая идея онкопатогенеза состоит в том, что опухоли состоят из генетически трансформированных клеток, взаимодействующих с рекрутированными и эпигенетически/фенотипически измененными стромальными клетками. Соображения, которые обсуждаются выше, описанные в обзорах и исследованиях, приведенных в этой статье (как и в других источниках), убедительно доказывают, что стареющие клетки любого происхождения следует добавить в список функционально значимых клеток в микроокружении опухоли (Рис. 5). Таким образом, при исследованиях канцерогенеза нужно не забывать о стареющих клетках. Кроме того, осознание их важности мотивирует терапевтически воздействовать на стареющие клетки, способствующие развитию опухоли, любыми методами, будь то путем лекарственного или иммунологического уничтожения или же перепрограммирования SASP в противоопухолевые варианты [115, 121, 126].

ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНЫЕ КОММЕНТАРИИ

В то время как восемь признаков рака и две их благоприятные для его развития характеристики доказали свою ценность для концептуализации онкологических заболеваний, соображения, представленные выше, позволяют предположить, что здесь могут быть выявлены новые аспекты и, следовательно, представлено более полное понимание сложностей, механизмов и проявлений онкологических заболеваний. Учитывая заметную - если не полную - независимость четырех обсуждавшихся свойств от десяти основных признаков, можно утверждать, что они вполне могут быть интегрированы

ми в классическую схему ключевых признаков рака - при условии дальнейшего подтверждения и обобщения другими тематическими исследованиями (Рис. 6). Таким образом, клеточная пластичность может дополнить список отличительных особенностей. Примечательно, что в то время как восемь изначальных ключевых признаков концептуально различимы, аспекты их регуляции, по крайней мере частично, взаимосвязаны в некоторых и, возможно, во многих видах опухолей. Например, в некоторых типах опухолей классические онкогенные факторы (см. ниже) скоординированно модулируют целый ряд признаков. Это в том числе:

- KRAS (cancer.sanger.ac.uk/cosmic/census-page/KRAS),
- MYC (cancer.sanger.ac.uk/cosmic/census-page/MYC),
- NOTCH (cancer.sanger.ac.uk/cosmic/census-page/NOTCH1),
- TP53 (cancer.sanger.ac.uk/cosmic/census-page/TP53).

Это подчеркивает необходимость более полно осветить регуляторные сигнальные пути, которые участвуют в приобретении клеткой обсуждавшихся свойств.

Аналогично тому, как клеточную пластичность можно внести в список основных характеристик, к механистическим детерминантам, своего рода благоприятным факторам, способствующим приобретению характерных опухолевых свойств, можно отнести эпигенетическое перепрограммирование и полиморфные вариации в микробиомах органов/тканей и проонкогенное воспаление (которое само по себе частично связан с микробиомом) - не говоря о мутациях и других абберациях, которые приводят к появлению признаков раковой клетки.

Наконец, стареющие (сенесцентные) клетки различного происхождения, включая опухолевые и различные стромальные клетки, которые функционально способствуют развитию и злокачественной прогрессии опухоли - хотя и заметно отличаясь в этом от зрелых клеток - могут также быть включены в число базовых компонентов опухолевого микроокружения. Предполагается, что эти предварительные характеристики будут стимулировать дебаты, дискуссии и дальнейшие экспериментальные исследования, чтобы определить концептуальные параметры биологии опухолей, их генетики и патогенеза.



Рисунок 6 | Ключевые признаки рака: новый взгляд

На изображении — как известные, так и предполагаемые дополнения к «Ключевым признакам рака». Цель данной работы — стимулировать широкое обсуждение и экспериментальные разработки. Это повышает вероятность, что некоторые или все четыре новых признака, будут признаны ключевыми для множества форм онкологических заболеваний человека и, следовательно, включены в основную концептуализацию «Ключевых признаков рака».

