

С.П. Осинский, д.м.н., профессор, Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

# Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия. Факторы стромального микроокружения

**В** предыдущей публикации обсуждались основные факторы патофизиологического и метаболического микроокружения опухолевых клеток, которые могут рассматриваться в качестве своеобразных направляющих в формировании и функционировании элементов стромального и иммунологического микроокружения. Элементы одного из них обсуждаются в настоящей статье.

## Стромальное микроокружение опухолевых клеток и краткая история его изучения

К факторам стромального микроокружения относятся:

- неопухолевые клетки: эндотелиальные, перициты, гладкомышечные, фибробласты, миофибробласты;
- внеклеточные молекулы (неклассические элементы стромы): молекулы адгезии, факторы роста, гормоны, протеазы и другие ферменты, метаболиты;
- внеклеточный матрикс (ВКМ): элементы соединительной ткани, включающие коллагеновые, эластические и аргирофильные волокна, а также нервы. ВКМ является своеобразным каркасом опухоли, в пределах которого осуществляется взаимодействие опухолевых и неопухолевых клеток.

Факторы стромального микроокружения в своей совокупности являются стромой опухоли, подобной имеющейся в любом паренхиматозном органе строме. Она состоит из элементов соединительной ткани с расположенными в ней клетками и волокнами, а также проходящими кровеносными и лимфатическими сосудами. В морфоанатомическом аспекте к клеткам стромы относятся и иммунокомпетентные клетки. Однако при рассмотрении микроокружения опухолевых клеток иммунокомпетентные клетки целесообразно представить отдельно, учитывая их важное значение для роста опухоли и ее прогрессии.

Согласно гипотезе Dvorak и соавт. (2011), можно считать, что подобно нормальным тканям опухоли состоят из двух дискретных интерактивных компартментов – паренхимы и стромы. В новообразованиях опухолевые клетки являются паренхимой, а строма состоит из смеси неопухолевых клеток и элементов соединительной ткани. Формирование стромы опухоли во многом сходно с наблюдающимся при заживлении ран, но последнее обычно самолимитировано, тогда как рост опухоли и формирование стромы опухоли не ограничены во времени. Фактически, по образному выражению тех же авторов (1986), строма опухоли сравнима с «раной, которая никогда не заживает».

Как уже упоминалось, стромальные элементы включают кровеносные и лимфатические сосуды, а также фибробласты и клетки воспаления. Кроме того, строма содержит различные внеклеточные макромолекулы, которые служат для обеспечения структурной поддержки, в том числе коллаген, фибронектин, фибрин, различные протеогликаны и гиалуронат.

Интерес к изучению соединительной ткани, являющейся основным компонентом стромы любого органа, и ее роли в развитии злокачественных опухолей возник довольно давно. Начало было положено во второй половине XIX столетия в споре ряда исследователей с Virchow, который утверждал, что «все неоплазмы, включая карциномы, происходят

из пролиферирующих клеток соединительной ткани». Thiersch, оппонировавший Virchow, в 1865 г. установил, что в случае опухолей эпителиальной природы клетки происходят из предсуществующего эпителия, иными словами, он показал эпителиальную природу раковых опухолей. Это положение было подтверждено Waldeyer, продемонстрировавшим в 1872 г., что карциномы различной локализации связаны с эпителиальными структурами. Данные, полученные Cornil, поддерживали это положение. Работа же Conheim, опубликованная в 1882 г., в которой было показано, что сегментоядерные лейкоциты появляются в опухолях благодаря миграции через рез сосудистую стенку, в совокупности с исследованиями упомянутых выше авторов полностью ниспровергла доминировавшую тогда доктрину Virchow.

В то же время трудно было объяснить явление инвазии опухолевых клеток эпителиального происхождения в окружающие ткани. Conheim и частично Ribbert высказали предположение, что инвазия эпителия возможна в тех случаях, когда имеет место первичное изменение соединительной ткани, элементы которой окружают опухоль. Эти работы способствовали формированию положения о том, что строма во многом определяет злокачественный рост в данном органе. Необходимо отметить, что Thiersch первым высказал идею о роли соединительной ткани в патогенезе рака, принимая во внимание способность соединительной ткани противостоять инвазии эпителия. Несколько позднее Coats и Sutherland (1900) выдвинули гипотезу, поддерживающую точку зрения Thiersch о причинах возникновения рака. Их гипотеза базировалась на различиях между доброкачественными и злокачественными опухолями. В случае доброкачественной опухоли нормальные ткани способны препятствовать пенетрации опухоли в окружающие ткани, тогда как в случае злокачественной опухоли прилегающие ткани оказываются неспособными сформировать барьер на пути «продвижения» опухоли. В 1902 г. Borst поднял дискуссию, сформулировав взгляд на взаимоотношение «опухоль – строма».

Таким образом, отправным пунктом в признании роли соединительной ткани в развитии патологического процесса можно считать предположение Thiersch (1865) о том, что «в развитии рака играет роль потеря соединительной тканью способности противодействовать врастанию эпителия». К.П. Улезко-Строганова впервые на III съезде акушеров-гинекологов в 1909 г., обсуждая вопрос о самопроизвольном излечении онкологических больных, высказала положение о значении соединительной ткани и ее регуляторной роли при возникновении и развитии опухолей. В том же году Н.Н. Финогенов писал, что «воспалительная реакция соединительной ткани является видимым проявлением общего тонуса противодействия организма развитию и разрастанию раковой клетки и

может до известной степени служить его критерием».

Развивая эту идею, А.А. Богомолец в 1924 г. предложил концепцию физиологической системы соединительной ткани и сформулировал положение, согласно которому «рак не может получить клинического развития в организме, физиологическая система соединительной ткани которого сохранила нормальную сопротивляемость». Интересным было его замечание: «Независимо от меня и почти одновременно та же мысль была высказана рядом советских ученых, а также и во Франции. Там создано даже новое название *maladie de cicatrice* (рак – рубцовая болезнь)».

Согласно выдвинутой концепции, соединительная ткань играет важную роль в развитии многих патологических процессов, включая злокачественный рост. А.А. Богомолец писал в 1926 г., что «рак едва ли может возникнуть в организме, ретикулоэндотелиальная система которого обнаруживает достаточную сопротивляемость». В этом отношении интересно его высказывание, что «для того чтобы возникший в организме зачаток раковой опухоли превратился в злокачественное новообразование и вызвал клиническое заболевание раком, нужен ряд условий, из которых складывается понятие ракового диатеза, т.е. предрасположения организма к развитию в нем раковой опухоли» (из монографии Р.Е. Кавецкого «Опухоль и организм», 1962). Примечательно, что в 1900 г. Coats и Sutherland предложили термины «дискразия» и «диатез» для обозначения состояния организма, предрасположенного к инициации и формированию злокачественной опухоли. Активно разрабатывая эту проблему, А.А. Богомолец пришел к отрицанию автономности опухоли (т.е. независимости ее клеток от организма) и пониманию того, что происходящие в организме нарушения метаболизма и защитных реакций являются крайне важными событиями для развития различных патологических процессов.

В учебнике А.А. Богомольца «Патологическая физиология» (1923) глава, посвященная опухолям, содержит подразделы, сфокусированные на местных и общих эффектах влияния опухоли на организм хозяина и реакция организма при развитии опухоли. Важно заметить, что ученый, рассматривая соединительную ткань как физиологическую систему, предположил, что внутренняя среда организма с ее клеточными и внеклеточными компонентами обладает не только пластическими, но и трофическими и защитными функциями. В то же время А.А. Богомолец рассматривал рак как патологический процесс, неспособный развиваться в организме с нормальной резистентностью соединительной ткани.

Идеи А.А. Богомольца об активной мезенхиме как факторе, вовлеченном в подавление опухолевого роста, были



С.П. Осинский

плодотворно развиты его последователем Р.Е. Кавецким, основателем украинской школы онкологов-патофизиологов. В 1937 г. была опубликована монография Р.Е. Кавецкого «Роль активной мезенхимы в резистентности и диспозиции организма к злокачественным новообразованиям», в которой было сформулировано базисное положение о том, что «в основе канцерогенеза лежат два связанных между собой процесса: 1) местный процесс образования опухолевого зачатка, превращающегося затем в настоящую, растущую путем инфильтрации злокачественную опухоль; 2) общие изменения в организме (опухолевая диспозиция), обуславливающие возможность превращения первичного опухолевого зачатка в настоящую опухоль с дальнейшим распространением ее по организму путем метастазирования».

Это положение включает в себя единство процессов злокачественной трансформации клеток и общей диспозиции организма к инициации опухолевого роста, «которые сообща содействуют развитию злокачественной опухоли в организме». Интересно в этой связи предположение Б.Н. Могильниченко, представленное им в известной монографии «Физиологическая система соединительной ткани» (1941), что «активная соединительная ткань, «мезенхимальный запас» Максимова (гистиоциты, ретикулоциты и эндотелиальные клетки, гемопоэтические элементы, а также их производные – лейкоциты и моноциты, клетки Гортга в мозге) является одной из наиболее мощных систем в организме животных и людей при физиологическом и патологическом его состоянии».

## Современное состояние проблемы изучения стромы опухоли

В настоящее время стромальное микроокружение опухолевых клеток постепенно становится одним из главных объектов исследований в области онкологии и ключевой темой на многих научных форумах. Liotta и Kohn (2001), вероятно, первыми в XXI в., богатом достижениями молекулярной биологии, высказали точку зрения, что злокачественность является результатом взаимодействия элементов микроокружения опухоли и организма, в котором последний участвует в индукции, селекции и экспансии неопластических клеток. В 2005 г. Zigrino и соавт. опубликовали работу, в которой определили значительную роль взаимодействия опухолевых клеток с элементами стромы во время



опухоловой прогрессии, сфокусировав внимание на способности клеток новообразования модифицировать строму путем изменения прилегающей соединительной ткани и модулирования клеточного метаболизма хозяина. В таких условиях формируется строма, которая является «более комфортной» для реализации агрессивного потенциала опухолевых клеток. В том же году появилась работа Sivridis и соавт., в которой был предложен новый термин – «строматогенез», подразумевающий формирование в опухоли новой стромы под влиянием опухолевых клеток. Важным является тот факт, что в уникальный процесс вовлекаются перитуморальные фибробласты хозяина. Опухолевые клетки при этом индуцируют активацию фибробластов и эндотелиальных клеток, обуславливая тем самым строматогенез. Активированные фибробласты стимулируют образование новых кровеносных сосудов и способствуют глубокой трансмуральной инвазии опухолевых клеток. Опухолевые клетки могут «проживать» в строме и модифицировать ее, изменяя окружающую соединительную ткань и модулировать метаболизм резидентных клеток, приводя таким образом к формированию стромы, наиболее выгодной для их выживания.

Примечательно также, что новая строма формируется и в местах опухолевой инвазии, включая участки отдаленного метастазирования. Образование новой стромы в месте активной инвазии раковых клеток является общим событием опухолевой прогрессии. В местах инвазии и метастазирования после активации и пролиферации перитуморальных фибробластов нарушается способность нормальной ткани препятствовать инвазии опухолевых клеток, что, кстати, отличает процесс строматогенеза от обычного реактивного фиброза, который формируется с целью воспрепятствовать инфильтрации клеток новообразования. Можно говорить об образовании новой, специфической, опухоль-ассоциированной стромы как интегральной части опухолевой инвазии, управляемой неопластическими клетками. Эта новая строма отличается от предсуществовавшей: например, она богата коллагеном III типа, но характеризуется недостатком коллагена I типа и фибронектина. Галектин-1, отсутствующий в нормальных тканях, часто накапливается в строме опухоли. Внешний домен V фибронектина экспрессирован в строме большинства солидных опухолей, но не выявляется в строме нормальных тканей.

Следует также подчеркнуть, что измененные физиологические условия, имеющиеся в опухоли, прежде всего гипоксия и кислотность, могут влиять на активацию перитуморальных фибробластов и усиливать агрессивность опухоли. Предполагается, в частности, что участие перитуморальных фибробластов в повышенной агрессивности, активной инвазии и метастазировании колоректальных опухолей, реализующееся путем взаимодействия с опухолевыми клетками, во многом определяется изменениями условий метаболического микроокружения, прежде всего выраженными гипоксией и внеклеточной кислотностью.

В контексте вышесказанного примечательна недавняя публикация Kerkauf и Restifo (2012), декларирующая понятие «стромальная сеть» (stromal network), которое должно стать в центре исследований в области онкологии. Авторы пишут, что многие годы ученые фокусировали усилия преимущественно на трансформированных клетках солидной опухоли, полагая, что расшифровка биологических

свойств этих клеток позволит полностью объяснить процесс образования злокачественной опухоли. И хотя многие исследователи продолжают придерживаться этой точки зрения, сегодня имеются весомые доказательства того, что клеточные компоненты стромы опухолевого зачатка и опухолевого узла вносят значительный вклад в канцерогенез, опухолевую прогрессию и метастазирование. И это вполне понятно, особенно если учесть, что, например, 60-90% массы гастроинтестинальных опухолей занимает строма.

В качестве определенного итога многолетних исследований, посвященных расшифровке механизмов злокачественного роста, можем рассматривать высказывание Sleeman и соавт. (2012) о том, что формирование первичной опухоли зависит не только от прогрессивных генетических изменений в трансформирующихся и затем в раковых клетках, но и от развития воспалительной стромы формирующегося новообразования.

#### **Неопухоловые клетки — составляющие стромального микроокружения (эндотелиальные клетки, перициты, гладкомышечные клетки, адипоциты, фибробласты, миофибробласты)**

Эндотелиальные клетки участвуют, главным образом, в формировании сосудистой сети опухоли, которая необходима для обеспечения опухолевых клеток питательными веществами. Эндотелиальные клетки подразделяются на две группы в зависимости от нахождения их в кровеносных или лимфатических сосудах и различаются по типу рецептора к фактору роста эндотелия сосудов (VEGFR). В эндотелиальных клетках кровеносных сосудов сигналы передаются через 2-й рецептор (VEGFR-2), тогда как в эндотелиальных клетках лимфатических сосудов — через 3-й рецептор (VEGFR-3). Пролиферация эндотелиальных клеток «запускается» фактором роста эндотелия сосудов (VEGF) или основным фактором роста фибробластов (bFGF). Эти ростовые факторы продуцируются как самими опухолевыми клетками, так и стромальными фибробластами или макрофагами, ассоциированными с опухолью. Заметную роль в этом процессе играет фермент циклооксигеназа-2 (COX-2), активность которого заметно возрастает в опухолевых и эндотелиальных клетках во время опухолевой прогрессии, что сопровождается усилением адгезии, распространения и миграции эндотелиальных клеток.

Перициты локализуются в базальной мембране артериол, капилляров и посткапиллярных венул. Они покрывают эндотелиальные клетки и считаются важными элементами стабилизации сосудистой стенки и регуляции кровотока в микроциркуляции. Принимают участие в созревании эндотелиальных клеток, их пролиферации, выживаемости, миграции, а также в сосудистой проницаемости. В перицитах покоящихся тканей экспрессируются PDGF $\beta$ , NG2 и десмин, в то время как отсутствует экспрессия  $\alpha$ -актина гладких мышц ( $\alpha$ -SMA). Перициты опухоли характеризуются более свободным фенотипом, но в основном они характеризуются коэкспрессией десмина и  $\alpha$ -SMA. Установлена роль перицитов в метастазировании опухолевых клеток: в частности, показано усиление метастазирования спонтанной опухоли островков поджелудочной железы у мышей, у которых был генетический дефект, связанный с перицитами. Природа перицитов в опухоли и их значение для злокачественного роста окончательно не выяснены.

Гладкомышечные клетки сосудов являются незаменимым компонентом сосудистой сети. Если перициты окружают капилляры и незрелые сосуды, то гладкомышечные клетки обеспечивают покрытие всех больших и зрелых сосудов и играют заметную роль в регуляции кровотока. Естественно, что благодаря подобным функциям гладкомышечные клетки не могут не участвовать в формировании стромы опухоли и опухолевой прогрессии.

Фибробласты и миофибробласты составляют большинство стромальных элементов злокачественных опухолей, особенно в карциномах с десмопластической реакцией. Как известно, десмоплазия — характерный патологический признак многих типов солидных опухолей человека, включая опухоли поджелудочной железы, толстого кишечника, предстательной железы; но все еще не ясно, является ли десмопластическая реакция механизмом, который стимулирует рост опухоли или же она отражает защитные механизмы организма, призванные ограничить экспансию опухоли.

Фибробласты в норме — медленно движущиеся покоящиеся клетки с низкой подвижностью. Они являются одним из главных компонентов соединительной ткани, выполняя функцию своеобразной структурной рамки путем секреции компонентов ВКМ. Покоящиеся фибробласты подвергаются активации во время заживления ран и формирования фиброза, процессов, требующих ремоделирования ткани, и становятся при этом миофибробластами (Gabbiani, 1971; Cirri, Chiarugi, 2011).

В противоположность покоящимся фибробластам, ассоциированным с опухолью (ФАО), обладают активированным фенотипом и характеризуются экспрессией виментина, десмина,  $\alpha$ -SMA и белка активации фибробластов. ФАО продуцируют факторы роста, белки ВКМ, что способствует усилению пролиферации и выживаемости опухолевых клеток. Весьма примечательно, что по сравнению с трансформированными клетками ФАО более генетически гомогенны и, таким образом, представляют собой привлекательную мишень для противоопухолевой терапии.

Резидентные ФАО первично образуются путем активации локальных фибробластов факторами роста, производимыми опухолевыми клетками. Вторым источником являются мезенхимальные стволовые клетки — производные костного мозга. Третий источник ФАО — эпителиальные клетки, которые через эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) приобретают свойства мезенхимальных клеток и становятся фибробластами. Кроме того, ФАО могут возникать непосредственно из опухолевых клеток вследствие ЭМП. Примечательно, что ФАО не удаляются апоптозом и их активация не является обратимой.

Интересно участие ФАО в опухолевом росте. Они способны тормозить опухолевую прогрессию на ранних стадиях. Позднее ФАО активируются некоторыми факторами, секретруемыми опухолью, и усиливают как рост, так и прогрессию опухоли. Они непосредственно стимулируют пролиферацию опухолевых клеток с помощью производимых ими факторов роста, гормонов и цитокинов. Природа ФАО может варьировать как в опухолях различного гистогенеза, так и в индивидуальных опухолях.

ФАО участвуют в инвазии и метастазировании опухолей путем индукции ЭМП опухолевых клеток путем секреции трансформирующего фактора роста  $\beta$

(TGF- $\beta$ ) и фактора роста гепатоцитов (HGF). Кроме того, ФАО являются источником различных типов ферментов, обладающих протеазной активностью, включая матриксные металлопротеиназы (ММП) и активаторы плазминогена. Формирование предметастатической ниши также связано с активацией фибробластов, которая является здесь ключевым событием и инициируется секретруемым опухолью ферментом лизилоксидазой (LOX).

Одним из наиболее информативных иммуногистохимических маркеров ФАО является  $\alpha$ -SMA. Экспрессия белкового продукта гена PGP9.5 — убиквитин-карбокситерминальной гидролазы 1.1 — найдена в фибробластах *in vitro* и *in vivo*, в частности, в культуре фибробластов кожи и в кожных ранах человека в поздней фазе восстановления. Активация белка установлена при лейкемии, раке пищевода, колоректальном раке, раке поджелудочной, грудной железы, раке легкого и в ряде новообразований мезенхимального происхождения, в частности в миофибробластических и сосудистых опухолях.

Белок, активирующий фибробласты, гиперэкспрессируется в большинстве ФАО и усиливает рост клеток в экспериментальных системах. Высокое содержание этого белка в опухолях человека коррелирует с низкими показателями выживаемости. Экспрессия белка, активирующего фибробласты (FAP), найдена в аденокарциномах желудка. При этом показано, что 5-летняя безрецидивная выживаемость значительно ниже у больных с FAP-позитивными опухолями (22 против 34%), а экспрессия FAP связана с сосудистой инвазией.

ФАО являются наиболее представленным видом клеток в строме многих типов злокачественных новообразований, наиболее заметны они в карциномах грудной, предстательной и поджелудочной железы. ФАО являются также доминирующим компонентом стромы в опухолях толстого кишечника. В аденокарциноме легкого и холангиокарциноме ФАО ассоциированы с плохим прогнозом заболевания. Получены данные о значительной корреляции между экспрессией стромального  $\beta$ -рецептора PDGF и прогнозом рака грудной и предстательной железы. В этой связи примечателен вывод, сделанный Strell и соавт. (2012), о том, что прогноз рака во многом определяется характеристикой элементов стромы, в частности фибробластов.

Морфологически фибробласты выглядят одинаково с миофибробластами, но функционально эти два типа клеток весьма гетерогенны. Фибробласты экспрессируют белок виментин, но не  $\alpha$ -SMA. Фибробласты могут трансдифференцироваться в миофибробласты, характеризующиеся экспрессией  $\alpha$ -SMA, в ответ на стимуляцию TGF- $\beta$  и PDGF и при канцерогенезе.

Миофибробласты, которые, по сути, являются активированными фибробластами, отражают группу ФАО с комбинированными свойствами фибробластов и гладкомышечных клеток. Миофибробласты экспрессируют  $\alpha$ -SMA, виментин и десмин. Миофибробласты, экспрессирующие виментин, отнесены к миофибробластам V типа, тогда как экспрессирующие миозин — к VM типу; экспрессирующие виментин, десмин и  $\alpha$ -SMA — к VAD типу; экспрессирующие только виментин и  $\alpha$ -SMA — к VA типу. Миофибробласты необходимы для дифференцировки нормального эпителия. Они могут усиливать барьерные функции и модулировать секрецию хлорида

Продолжение на стр. 38.



# Микроокружение опухолевых клеток и опухолевая прогрессия. Факторы стромального микроокружения

Продолжение. Начало на стр. 36.

в эпителиальных клетках тонкого кишечника. При инфицировании *H. pylori* увеличивается количество миофибробластов в подслизистом слое желудка.

Миофибробласты являются главным источником компонентов ВКМ, продуцируя большое количество стромально-клеточного фактора-1 (SDF-1), который усиливает рост опухоли и метастазирование через рецептор CXCR4. Миофибробласты в отличие от фибробластов секретируют инсулиноподобный фактор роста (IGF-1), HGF, VEGF, IL-6 – компоненты, которые способствуют значительному усилению способности опухолевых клеток к инвазии. Продукция HGF является хорошим примером тесного взаимодействия опухолевых клеток со стромальными элементами: опухолевые клетки производят IL-1, bFGF, PDGF, которые индуцируют секрецию HGF миофибробластами, в то время как HGF потенцирует инвазивность опухолевых клеток.

Отдельно необходимо выделить звездчатые клетки (stellate cells) поджелудочной железы, которые участвуют в формировании стромы рака поджелудочной железы. Известно, что аденокарцинома протоков поджелудочной железы (PDAC) является экстремально склерозной и гипоксической опухолью благодаря как фиброгенным эффектам звездчатых клеток, так и антиангиогенным эффектам опухолевых клеток. Хотя звездчатые клетки являются основными продуцентами VEGF и усиливают рост эндотелиальных клеток *in vitro*, их роль в прогрессии рака поджелудочной железы оказалась негативной для организма (Erkan et al., 2009). Показано, что звездчатые клетки активно участвуют в формировании фиброзной ткани и гипоксической среды в опухолях поджелудочной железы благодаря аномальным эффектам ВКМ, в частности влиянию избыточно продуцируемых белков ВКМ на периаццинарное пространство и постоянной активности звездчатых клеток при гипоксии, которые ослабляют при этом локальные проангиогенные свойства. Предполагается, что эти механизмы определенным образом объясняют, почему антиангиогенная терапия в целом терпит неудачу при опухолях поджелудочной железы, и указывают на необходимость поиска терапевтических мишеней во взаимодействии «опухоль – строма».

**Внеклеточные молекулы (молекулы адгезии, факторы роста, гормоны, протеазы и другие ферменты, метаболиты) – составляющие стромального микроокружения**

Рассмотрим лишь некоторые из перечисленных молекул, имеющих непосредственное отношение к рассматриваемой теме.

Молекулы клеточной адгезии – белки поверхностных мембран, которые участвуют в сцеплении клеток друг с другом или с ВКМ. Они являются типичными трансмембранными рецепторами, большинство из которых входит в состав 4 семейств: иммуноглобулинов (IgSF), интегринов, кадгеринов и селектинов. Особое внимание привлекают к себе интегрины. Они обеспечивают важнейшие связи между внеклеточным окружением

и внутриклеточными сигнальными путями, опосредуя протекание таких процессов, как пролиферация, дифференцировка клеток, апоптоз, миграция. Показано их участие в злокачественной трансформации клеток. Интегрины присутствуют на опухолевых клетках, клетках крови, эндотелиальных клетках и клетках стромы. Опухолевые клетки характеризуются экспрессией интегринов  $\alpha v \beta 3$ ,  $\alpha v \beta 5$ ,  $\alpha 5 \beta 1$  и  $\alpha 6 \beta 4$ , что коррелирует с метастатической активностью таких новообразований, как меланома, рак грудной, предстательной и поджелудочной железы, рак легкого. Известно, что формирование метастатической ниши зависит от рекрутирования клеток – производных костного мозга. При этом оказалось, что хоминг циркулирующих клеток-предшественников в опухоль происходит при участии интегринов  $\alpha 4 \beta 1$ . Учитывая столь активную роль в опухолевом процессе, интегрины рассматриваются в качестве привлекательных терапевтических мишеней для лечения не только первичной опухоли, но и метастазов.

Кадгерины являются кальцийзависимыми гликопротеинами. Классические кадгерины (E-, N- and P-) относятся к числу промежуточных филаментов, связанных с сетью актина с помощью белков-катенинов. Каждый из кадгеринов обладает тканевой специфичностью: известны эпителиальные (E-cadherins), плацентарные (P-cadherins), нейральные (N-cadherins), ретиальные (R-cadherins), мозговые (B-cadherins и T-cadherins) и мышечные (M-cadherins) кадгерины. Однако многие типы клеток могут экспрессировать различные кадгерины.

Селектины – молекулы адгезии сосудистых клеток, которые объединяются в 3 семейства: E-селектин (эндотелиальный), L-селектин (лейкоцитарный) и P-селектин (тромбоцитарный). Повышенная экспрессия селектинов обнаружена в опухолях толстого кишечника, желудка, легкого, почки и грудной железы, в клетках меланомы, что коррелирует с опухолевой прогрессией и плохим прогнозом заболевания.

Хемокины – хемотаксические цитокины, индуцирующие прямую миграцию лейкоцитов в участки воспаления и в опухоль. Показано, что распространение опухолевых клеток в отдаленные ткани усиливается хемокинами. Известно, что опухолевые клетки в условиях гипоксии, столь характерной для злокачественных новообразований, секретируют хемокины, изменяющие функции клеточных элементов стромы, обеспечивая тем самым свои жизненные потребности. Фактически хемокины способны формировать новую оригинальную строму, которая будет полностью поддерживать рост опухоли и ее прогрессию. Изменения в нормальных взаимодействиях «мезенхима – эпителий» могут приводить к нерегулируемому росту клеток и инициации метастатической активности опухолевых клеток.

Интересна способность хемокинов индуцировать ЭМП, представляющий собой сложный процесс изменения эпителиальными клетками эпителиального фенотипа на мезенхимальный. ЭМП активен в процессе эмбрионального развития, при заживлении ран, формировании

фиброзной ткани, опухолевой прогрессии (в частности, при инвазии и метастазировании в отдаленные органы и ткани). Среди ключевых феноменов ЭМП выделяются подавление экспрессии гена E-кадгерина; усиление экспрессии генов, ответственных за мезенхимальный фенотип, в частности виментина, актина, фибронектина; повышение клеточной подвижности (реорганизация цитоскелета); усиление экспрессии генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы.

Важным медиатором взаимодействия «опухоль – строма» является система HGF/Met. c-Met – белок, который кодируется протоонкогеном c-Met и известен как рецептор фактора роста гепатоцитов (hepatocyte growth factor receptor – HGF/R). MET – мембранный рецептор, который незаменим при эмбриональном развитии и заживлении ран. HGF является его лигандом. Если MET в норме экспрессируется клетками эпителиальной природы, то экспрессия HGF ограничена клетками мезенхимальной природы. MET экспрессируется также на эндотелиальных клетках, нейронах, гепатоцитах, кровяных клетках, меланоцитах. Аномальная активация MET в опухолях ассоциируется с усилением роста опухоли и коррелирует с плохим прогнозом. Она приводит к образованию новых кровеносных сосудов и метастазированию, что показано для опухолей почки, печени, желудка, грудной железы, ЦНС. Примечательно, что активация системы HGF/c-Met происходит в весьма гипоксическом раке поджелудочной железы, являясь основой для проявления инвазивных свойств, характерных для этой опухоли.

Интересна гипотеза об участии хоминг-эффекта («эффект дома») в отдаленном метастазировании. Хоминг-эффект заключается в том, что при отсутствии кислорода клетки ряда опухолей перемещаются в новые, более «благополучные» места, в которых, в частности, нет гипоксии. Staller и соавт. (2003), обнаружив активацию гена CXCR4 в отсутствие кислорода, предположили, что белковый продукт этого гена индуцирует миграцию опухолевых клеток в отдаленные органы, способствуя тем самым выживанию опухолевых клеток. Показано, что у больных раком поджелудочной железы, клетки которого характеризуются высоким уровнем экспрессии CXCR4, показатели общей выживаемости значительно хуже, чем у больных с низким уровнем экспрессии этого белка.

## Элементы ВКМ и их взаимодействие с опухолевыми клетками

К элементам ВКМ относятся различные типы коллагена, протеогликаны, эластин, фибронектин, ламинин, витронектин, тенасцин, энтактин, остеонектин, остеопонтин, тромбоспондин и протеолитические ферменты (ММП, гепариназа), которые продуцируются паренхиматозными и стромальными клетками. ВКМ опухоли должен рассматриваться не только как своеобразная поддерживающая структура и барьер для инвазии опухолевых клеток, но и как «резервуар» для различных факторов роста и белков, связывающих клетки и влияющих на биологические свойства паренхимы опухоли.

Характерным признаком ряда злокачественных опухолей (рака поджелудочной железы, желчных путей, грудной железы, толстого кишечника, желудка) является «обильная» соединительная ткань. В формировании подобной стромы участвует ряд факторов роста, таких как TGF- $\beta_1$ , фактор роста соединительной ткани, PDGF и др. В строме солидных опухолей накапливаются фибриноген и фибрин, которые играют важную роль не только в свертывании крови, но и в ряде клеточных и матриксных взаимодействиях.

Десмопластическая реакция, иными словами, фиброзная реакция стромы, характерная для многих опухолей, сопровождается отложением фибриллярного коллагена I, III и V типа. В десмопластической строме рака поджелудочной железы содержание коллагена в 3 раза больше, чем в нормальной ткани железы. Показано, что развитие фиброза коррелирует с неблагоприятным прогнозом при ряде новообразований, в частности при раке грудной железы. Развитие фиброза наблюдается и в отдаленных метастазах. Обнаружено, что взаимодействие коллагена с LOX, экспрессия которой увеличивается при гипоксии, может быть ключевой детерминантой на поздней стадии развития злокачественных опухолей.

Клетки некоторых злокачественных новообразований могут синтезировать эластин, и в этих опухолях (рак грудной железы, желудка) эластическая ткань часто является характерным признаком. Необходимо при этом заметить, что эластическая ткань участвует в ангиогенезе.

Зависимость опухолевых клеток от стромы весьма существенна. Так, отсутствие ключевых элементов стромы в очаге метастазирования может стать причиной неспособности большинства, если не всех раковых клеток, к выживанию либо перехода в состояние «спячки». Следует отметить, что важную роль в организации ВКМ в метастатической нише играет ММП-2.

Гематопозитические клетки-предшественники, экспрессирующие рецептор VEGFR-1, мобилизуются на раннем этапе формирования метастатической ниши. Они экспрессируют интегрин  $\alpha 4 \beta 1$  (поверхностный рецептор фибронектина), который опосредует их рекрутирование в микроокружение, богатое фибрином, где формируется предметатическая ниша. Интересно, что при этом ремоделирование ВКМ опосредуется ММП-9.

Гипоксическое микроокружение рекрутирует VEGFR-1- и CD11b-позитивные клетки, имеющие костномозговое происхождение. VEGFR-1-позитивные клетки участвуют в экспрессии ММП-9 вместе с резидентными эндотелиальными клетками. Как VEGFR-1-, так и CD11b-позитивные клетки могут включаться в «опухоль» эндотелий и участвовать в сосудистом ремоделировании, ангиогенезе и васкулогенезе. Кластеры VEGFR-1-позитивных клеток отмечены в предполагаемых местах формирования метастазов у больных раком грудной железы.

VEGFR-1-позитивные клетки и фибробласты продуцируют SDF-1,

который, в свою очередь, рекрутирует CXCR-4-позитивные опухолевые клетки в предметастатическую нишу. Важно, что гипоксия в метастатической нише может поддерживать метастатический рост, «выращивая» опухолевые стволовые клетки, инициирующие развитие метастазов. Структура ниши может усиливать выживаемость диссеминированных опухолевых клеток и в то же время поддерживать их в состоянии «спячки».

Рецептор плазминогенной урокиназы uPAR активирует  $\beta$ -содержащие интегрин, позволяя им взаимодействовать с фибронектином, выводя тем самым опухолевые клетки из «спячки». Оценка количества в крови клеточных компонентов метастатической ниши, таких как циркулирующие VEGFR-1- или CD11b-позитивные клетки, может быть информативной для прогноза течения заболевания.

ММП участвуют не только в деградации ВКМ, необходимой для инвазии и метастазирования, но и в туморогенезе, миграции, ангиогенезе и селекции апоптозрезистентных субпопуляций. Система uPAR также принимает участие в опухолевой прогрессии путем ремоделирования ВКМ. Активация каскада uPAR-uPA-MMP-2 необходима для метастазирования опухоли. Показано, что стромальные фибробласты участвуют в усилении метастазирования рака поджелудочной железы путем активации именно этого каскада. uPAR, гиперэкспрессия которого отмечается во многих типах опухолей, рассматривается в качестве потенциальной мишени для противоопухолевой терапии.

Помимо известной желатинозной функции ММП-2 проявляет интерстициальную коллагенолитическую активность, что имеет отношение к лимфангиогенезу и образованию новых лимфатических сосудов. Другая желатиназа, ММП-9, играет критическую роль в опухоли-ассоциированном ангиогенезе путем реализации VEGF.

В связи с изучением роли ММП в опухолевом росте интересны данные, обобщенные Noë и соавт. (2012). На протяжении многих лет ММП рассматривались как протуморогенные ферменты, однако ряд наблюдений позволил по-новому взглянуть на их роль в злокачественном росте. Было установлено, что у мышей с дефицитом ММП-8, подвергавшихся действию канцерогенных веществ, отмечалось заметное увеличение частоты появления опухолей по сравнению с соответствующим показателем у мышей «дикого» типа. Снижение активности ММП-8 увеличивало метастатический потенциал у неметастатических мышей. Эти исследования явились первым доказательством защитной роли представителей семейства ММП в опухолевой прогрессии. Высокий уровень ММП-8 в опухолях человека коррелирует с низкой частотой метастазирования и лучшим прогнозом у больных раком грудной железы и раком ротовой полости. ММП-9 в зависимости от типа клеток, где она экспрессируется, может играть двойную роль – или усиления, или подавления туморогенеза.

#### Взаимодействие между опухолевыми клетками и клетками стромы в условиях постоянного влияния факторов патофизиологического микроокружения

Взаимодействия между опухолевыми и стромальными клетками происходят во внеклеточном компартменте, подчиняясь паракринной регуляции. В то же время нужно четко понимать, что внеклеточное пространство опухоли является своеобразной средой со своими физико-химическими параметрами, из которых наиболее важны напряжение кислорода, величина pH и давление интерстициальной жидкости. Хорошо известно, что эти параметры могут влиять на ход как химических, так и биохимических реакций. Sivridis и соавт. (2005) показали, что гипоксия и кислотность могут активировать перитуморальные фибробласты,

повышая агрессивность опухоли, в частности колоректального рака. Низкий pH и повышенный уровень лактата могут стимулировать экспрессию проангиогенных генов в макрофагах, ассоциированных с опухолью. Примечательно, что в доступной литературе отсутствуют данные о торможении под влиянием стромы гликолиза опухолевых клеток или блокировании ионных обменников, что могло бы привести к увеличению внеклеточного pH опухоли. Интересно, что, несмотря на активное участие стромы в стимуляции ангиогенеза и улучшении доставки в опухоль кислорода, не обнаружено увеличения величины напряжения кислорода в опухолевой ткани.

При гипоксии и повышенной внеклеточной кислотности в опухоли создается фактически «новая» строма, во многом отличающаяся от стромы органа, в котором был инициирован опухолевый рост. Показано прогностическое значение отношения количества эпителиальных клеток к количеству стромальных клеток в колоректальном раке (Mesker, 2007). Установлено также, что величина апоптоза стромальных клеток, находящихся в опухоли, может служить независимым фактором прогноза общей и безрецидивной выживаемости этих больных (Koelink, 2009).

Основываясь на вышеприведенных данных, можно представить общие механизмы влияния факторов стромального микроокружения на опухолевую прогрессию: в гипоксическом окружении опухолевые клетки продуцируют субстанции, которые помогают им выживать, и вынуждают окружающие неопухолевые резидентные клетки (стромальные) работать на опухоль. Кроме того, гипоксическая опухоль секретирует в кровеносное русло факторы, рекрутирующие клетки костного мозга и направляющие их в опухоль, и эти клетки также начинают работать на опухоль. Все перечисленные события, естественно с нюансами клеточных и молекулярных механизмов, запускают опухолевую прогрессию (рис.).

#### Строма опухоли как мишень для профилактики и лечения

В ряде работ приведены данные о противоопухолевой эффективности различных агентов, способных подавлять функцию стромальных клеток опухоли. Одним из объектов являются ФАО. Cigli и Chiarugi (2011) приводят основные причины, побудившие активно разрабатывать эту терапевтическую мишень: ФАО генетически стабильны по сравнению с опухолевыми клетками, что гарантирует сохранение ими чувствительности к препаратам; ФАО являются главными факторами, отвечающими за поддержание структуры ВКМ, затрудняющей диффузию противоопухолевых препаратов в солидных опухолях, поэтому воздействие на них может изменить эту неблагоприятную ситуацию; взаимодействие между ФАО и опухолевыми клетками способствует выживаемости опухолевых клеток, что указывает на необходимость разрушения такой связи.

Предлагаются и другие мишени, связанные со стромой. В частности, ими могут быть миофибробласты, являющиеся ключевой детерминантой стромального микроокружения, факторы роста и цитокины, которые опосредуют взаимосвязи между опухолевыми и стромальными клетками. Интересны данные о том, что воздействие против ФАО может применяться при утрате эффекта ингибиторов VEGF. Предполагается также, что перспективным может оказаться влияние на строму в местах отдаленного метастазирования, иными словами, ликвидация предметастатической ниши. Высказано предположение о том, что таргетная терапия стромы может быть эффективной в торможении роста и прогрессии опухолей в комбинации с существующими противоопухолевыми препаратами. Следует отметить, что исходя из механизмов действия ряда препаратов, таких как ингибиторы рецепторов факторов роста, ангиогенеза (целекоксиб, сунитиниб, сорафениб и некоторые другие), можно считать тактику воздействия на строму опухоли уже реализуемой в клинике.

Можно процитировать высказывание Albin (2008), что рост опухоли, инвазия и метастазирование обеспечиваются за счет сформировавшегося «коварного сообщества между раковыми клетками и клетками хозяина», компоненты которого могут рассматриваться как новые и клинически эффективные мишени не только для терапии, но и для профилактики. Автор полагает, что, создавая противоопухолевые агенты, направленные на стромальные факторы, мы входим в новую эру лечения злокачественных опухолей.

Полностью поддерживая этот тезис, уместно снова вспомнить и подчеркнуть, что еще в начале XX в. ученые, не имевшие возможность использовать молекулярные технологии, предлагали при лечении онкологических больных воздействовать на строму опухоли. Весьма примечательно, что одними из первых в данном вопросе были отечественные онкологи, в частности Н.Н. Финигонов (1909) и А.А. Богомолец (1938). Н.Н. Финигонов показал, что путем усиления функции соединительной ткани и ее активации можно не только замедлить рост опухоли, но и вызвать ее обратное развитие. А.А. Богомолец в 1938 г. на I съезде онкологов Украинской ССР заявил, что «в плоскости восстановления нормальной реактивности клеток соединительной ткани следует в первую очередь искать путей для терапии и профилактики рака».

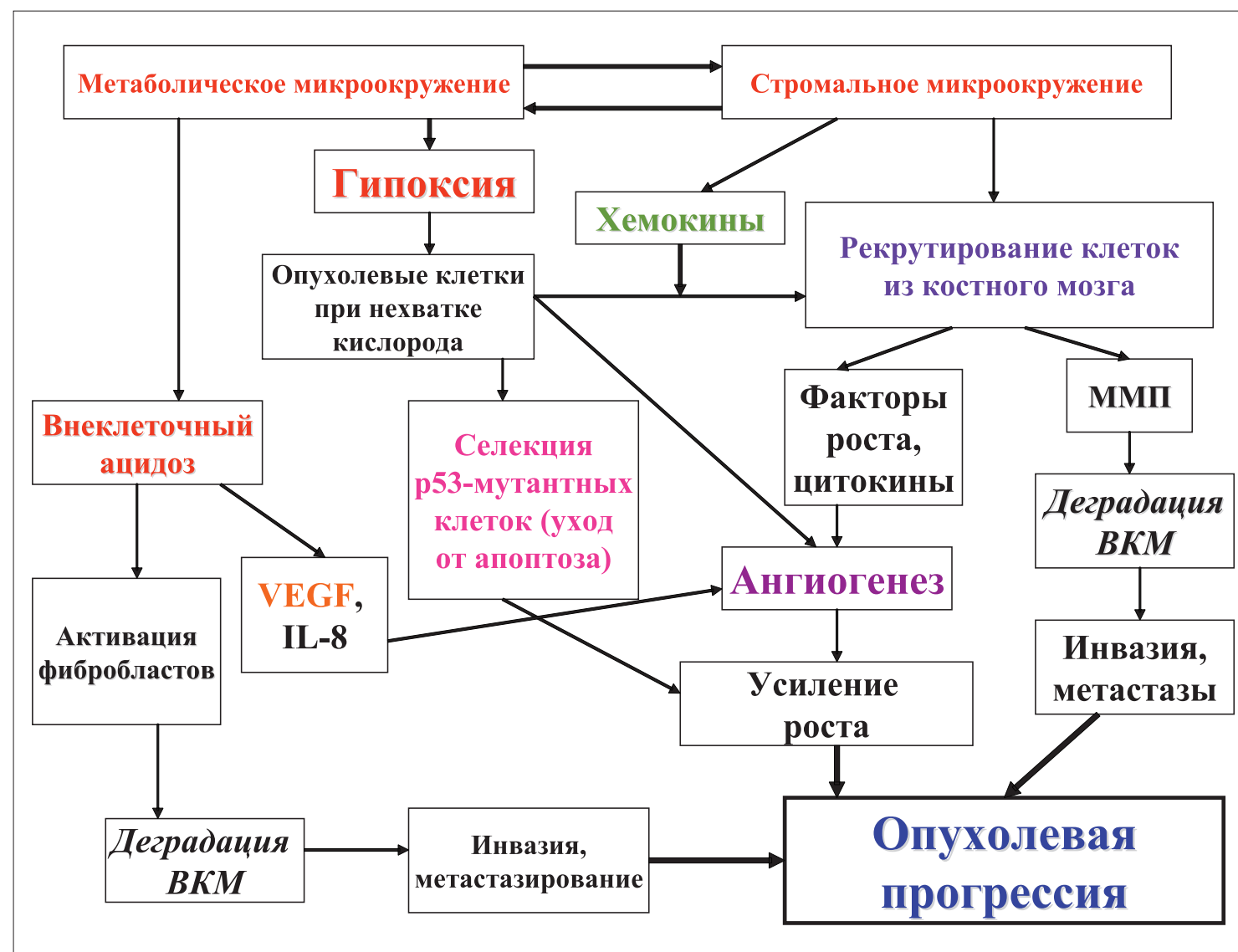


Рис.