

Российский онкологический
научный центр
им. Н.Н. Блохина РАМН,
Москва

НЕОПЛАСТИЧЕСКАЯ КЛЕТКА: ОСНОВНЫЕ СВОЙСТВА И МЕХАНИЗМЫ ИХ ВОЗНИКНОВЕНИЯ

Б.П.Копнин

Злокачественные новообразования возникают в результате неограниченной пролиферации клеточного клона, выходящего за пределы собственной ткани и способного к росту на «территориях» других тканей. При этом в силу высокой генетической изменчивости и селекции, происходящей под давлением со стороны организма, в популяции клеток такого клона постоянно возникают и отбираются все более и более автономные и агрессивные субклоны, что описывается термином опухолевая прогрессия.

I. Характерные признаки опухолевой клетки

Злокачественные новообразования возникают в результате неограниченной пролиферации клеточного клона, выходящего за пределы собственной ткани и способного к росту на «территориях» других тканей. При этом в силу высокой генетической изменчивости и селекции, происходящей под давлением со стороны организма, в популяции клеток такого клона постоянно возникают и отбираются все более и более автономные и агрессивные субклоны, что описывается термином опухолевая прогрессия. В результате довольно длительной эволюции неопластического клона формируется опухоль, способная убить организм. В последнее десятилетие был достигнут значительный прогресс как в идентификации генов, нарушения функции которых ведут к развитию новообразований, так и в выяснении роли белковых продуктов таких генов в физиологии клетки. Все это позволило выделить ряд важнейших свойств, приобретение которых предопределяет способность клетки образовывать злокачественную опухоль.

Во-первых, это пониженная потребность во внешних сигналах для инициации и поддержания клеточной пролиферации, или иными словами – *самодостаточность в пролиферативных сигналах*. Данное положение может быть проиллюстрировано двумя примерами. При культивировании *in vitro* большинство типов нормальных клеток размножается лишь при условии, если питательная среда содержит 10–20% сыворотки, т.е. при довольно значительном содержании в ней различных ростовых факторов. Связывание ростовых факторов со своими рецепторами иницирует передачу сигналов внутри клетки, приводящую к репликации ДНК и делению клетки. Оказалось, что многие типы опухолевых клеток способны размножаться в среде с 1% и даже 0,1% сыворотки, т.е. при содержании ростовых факторов в десятки и сотни раз меньшем, чем необходимо для стимуляции размножения нормальных клеток. Такая пониженная потребность в растворимых ростовых факторах достигается изменениями в системах внутриклеточной сигнализации, которые либо вызывают секрецию необходимых факторов роста самими трансформированными клетками, либо резко увеличивают количество рецепторов для необходимых факторов роста, либо запускают в отсутствие ростового фактора каскад событий, аналогичный тому, который в норме иницируется связыванием ростового фактора со своим рецептором.

Другим примером пониженной потребности неопластических клеток во внешних пролиферативных сигналах является их так называемая независимость от субстрата (*anchorage-independence*). Большинство типов нормальных клеток способны размножаться лишь при условии их прикрепления к определенному внеклеточному матриксу. Например, фибробласты начинают делиться при взаимодействии с фибронектином. В ином случае пролиферативный стимул, исходящий от растворимых ростовых факторов, не вызывает полноценного каскада передачи

внутриклеточных сигналов, необходимого для стимуляции размножения клеток. Многие типы опухолевых клеток, в отличие от их нормальных предшественников, способны пролиферировать, не прикрепляясь к субстрату, например, в полужидкой среде. Эти два примера показывают, что неопластические клетки приобретают способность генерировать внутри себя пролиферативные сигналы, в норме исходящие от внешних стимулов.

Вторым важнейшим приобретенным свойством неопластических клеток является их **пониженная чувствительность к рост-ингибирующим сигналам**. Как известно, в организме существует множество антипролиферативных сигналов, поддерживающих определенное число клеток в каждой из тканей. Такие сигналы генерируются как секретируемыми растворимыми факторами (цитокинами), так и взаимодействиями клеток с внеклеточным матриксом и друг с другом. Классическим примером здесь является так называемое контактное торможение размножения клеток в культурах *in vitro*.

Нормальные клетки, например фибробласты, размножаются до тех пор, пока не возникнет плотный монослой и не установятся межклеточные контакты. В отличие от этого, трансформированные клетки при возникновении межклеточных контактов не останавливают свою пролиферацию, а продолжают делиться, напирать друг на друга и образовывать очаги многослойного роста.

Наряду с этим, опухолевые клетки, как правило, значительно менее чувствительны к действию рост-ингибирующих цитокинов, факторов специфического и неспецифического противоопухолевого иммунитета, а, кроме того, не останавливают свою пролиферацию при ДНК-повреждающих воздействиях или неблагоприятных условиях – недостатке пула нуклеотидов, гипоксии и т.д.

Еще одним важнейшим свойством опухолевых клеток является **отсутствие репликативного старения**, или приобретение бессмертия (**иммortalизация**). Как известно, существует механизм, ограничивающий число делений большинства типов зрелых клеток человека. Так, в культурах человеческих фибробластов *in vitro* после 60–80 делений (так называемое число Хейфлика) наблюдается необратимая остановка размножения клеток и их постепенная гибель. Между тем, чтобы образовать из одной клетки-родоначальницы сначала опухоль, а затем и метастазы, в условиях жесткого давления со стороны организма, когда многие опухолевые клетки погибают, может потребоваться большее число делений. И, действительно, в опухолевых клетках наблюдается нарушение работы такого «счетно-ограничительного» механизма контроля репликации.

Следующим важным свойством неопластических клеток является **ослабление индукции в них апоптоза**. Апоптоз представляет собой активный механизм клеточного самоубийства, поддерживающий в организме определенное число клеток и, кроме того, защищающий его от накопления аномальных клеточных вариантов. Он вызывается как физиологическими сигналами (связыванием специфических киллерных цитокинов со своими рецепторами), так и различными внутриклеточными повреждениями или неблагоприятными условиями, в частности нарушениями структуры ДНК, нехваткой ростовых факторов, гипоксией и т.д. Уход от апоптоза резко повышает жизнеспособность неопластической клетки, делает ее менее чувствительной к факторам противоопухолевого иммунитета и терапевтическим воздействиям.

К важнейшим приобретенным свойствам опухолевых клеток принадлежит и их **способность стимулировать неоангиогенез**, т.е. формировать новые кровеносные и лимфатические сосуды из эндотелиальных клеток предсуществующих окружающих мелких сосудов. Это необходимое условие для дальнейшего роста опухолевого узелка, достигшего в диаметре 2–4 мм. В ином случае клетки в центре опухоли, не получая кислород и питательные вещества, будут погибать.

Важнейшим свойством опухолевых клеток являются и **изменения морфологии и движения клеток**. В основе морфологических нарушений лежат взаимосвязанные между собой изменения цитоскелета, адгезионных взаимодействий клеток друг с другом и с внеклеточным матриксом. Вкратце, они выражаются в нарушении формирования фокальных контактов и ухудшении прикрепления клеток к внеклеточному матриксу, дезорганизации системы актиновых микрофиламентов. Это приводит к изменениям активности псевдоподий и подвижности клеток. В целом, наблюдаемая картина напоминает изменения, возникающие в нормальных клетках при действии мотогенных цитокинов – факторов, стимулирующих миграцию клеток. Однако так называемый локомоторный фенотип в неопластических клетках, как правило, сильно утрирован, что позволяет различать по морфологии опухолевую клетку от движущейся нормальной клетки. Необходимо подчеркнуть, что именно эти нарушения, вместе с некоторыми другими свойствами, в частности способностью секретировать протеолитические энзимы, предопределяют приобретение неопластическими клетками двух свойств, лежащих в основе злокачественного роста: **способность к инвазии**, т.е. проникновению в окружающие здоровые ткани, и сопряженную с ней **способность к метастазированию** – образованию вторичных очагов опухолевого ро-

ста. Метастазирование – наиболее опасное проявление опухолевой прогрессии, являющееся основной причиной смерти онкологических больных. Чтобы дать метастаз, клетка должна приобрести ряд свойств: умение проникать в глубину окружающих нормальных тканей, в том числе в кровеносные или лимфатические сосуды; способность выживать после попадания в сосуды, а затем – выходить из них и размножаться в несвойственном для данного типа клеток микроокружении, давая новый очаг опухолевого роста. Таким образом, способность к метастазированию складывается из комплекса более простых признаков, таких как приобретение локомоторного фенотипа, способности стимулировать образование новых кровеносных и лимфатических сосудов, создавая тем самым пути эвакуации опухолевых клеток из первичного очага, возникновение независимости от субстрата, подавление апоптоза и т.д. Появление каждого из этих свойств увеличивает метастатический потенциал клетки.

Для многих опухолевых клеток характерны и **нарушения клеточной дифференцировки**, т.е. образования специализированных типов клеток, синтезирующих специфические белки. Особенно ярко это проявляется в гемобластозах, новообразованиях из кроветворных тканей, при которых их клетки оказываются как бы замороженными на той или иной стадии созревания. Общепринятым является представление, согласно которому меньшая зрелость лейкозных клеток является не следствием дедифференцировки зрелых клеток, претерпевших неопластическую трансформацию, а отражает их происхождение из незрелых клеток, в которых блокированы процессы дальнейшей дифференцировки. Следует заметить, однако, что это свойство не является универсальным: во многих типах опухолей наблюдается сохранение способности к дифференцировке, причем в отличие от лейкозов созревание клеток не препятствует приобретению злокачественного фенотипа. Примерами этого могут служить плоскоклеточный ороговевающий рак кожи и высокодифференцированные аденокарциномы толстой кишки, происходящие из незрелых клеток, которые сначала несколько раз делятся, а затем дифференцируются.

Происхождение из незрелых клеток не противоречит представлению о том, что опухолевые клетки в ходе прогрессии могут претерпевать определенную дедифференцировку, утрачивая в первую очередь те дифференцировочные белки, отсутствие которых придает клеткам селективные преимущества (например, рецепторы стероидных гормонов в раках молочной железы и т.д.).

И, наконец, важнейшим признаком неопластических клеток является их **генетическая неста-**

бильность. Очевидно, что канцерогенез – много-ступенчатый процесс накопления мутаций и других генетических изменений, приводящих к нарушениям регуляции размножения и миграции клеток, понижению их чувствительности к различным рост-супрессирующим сигналам, ослаблению индукции в них апоптоза, блокированию дифференцировки и т.д. Вероятность возникновения в одной клетке нескольких генетических изменений, придающих совокупность вышеуказанных свойств, резко повышается при нарушениях работы систем, поддерживающих целостность генома. Поэтому мутации, ведущие к генетической нестабильности, также являются неотъемлемым этапом опухолевой прогрессии. Генетическая нестабильность неопластических клеток базируется на уменьшении точности воспроизведения генетического аппарата, нарушениях механизмов репарации ДНК и изменениях регуляции клеточного цикла в поврежденных клетках. Это, вместе с уходом от апоптоза, позволяющим генетически измененным клеткам выживать, делает популяции опухолевых клеток высокоизменчивыми, создает основу для постоянного возникновения и отбора все более и более злокачественных вариантов. Таким образом, генетическая нестабильность является двигателем неуклонной опухолевой прогрессии.

II. Базовые механизмы возникновения характерных свойств неопластической клетки

Приобретение совокупности перечисленных свойств связано с нарушениями в сигнальных путях, контролирующей реакцию клетки на экзогенные и эндогенные регулирующие факторы. Ключевую роль в их возникновении играют изменения регуляции клеточного цикла, апоптоза, миграции и некоторых других базовых процессов жизнедеятельности клетки.

Нарушения регуляции клеточного цикла

Нарушения регуляции клеточного цикла лежат в основе таких важнейших свойств неопластической клетки, как *самодостаточность в пролиферативных сигналах* и *нечувствительность к рост-супрессирующим сигналам*. Кроме того, они в значительной степени определяют *генетическую нестабильность* и *нарушения дифференцировки* клетки.

В процессе подготовки клетки к делению и образования из нее двух новых клеток наблюдается несколько фаз – *G1 фаза*, в которой идет подготовка к синтезу ДНК; *S фаза* – период репликации ДНК; *G2 фаза*, в которой идет подготовка к митозу, и, наконец, собственно *митоз* – процесс

разделения клетки на две новые. Образовавшиеся дочерние клетки могут сразу войти в новый митотический цикл или временно выйти из него в *G0* фазу – стадию покоя. «Мотором» клеточного цикла является активация последовательно сменяющихся друг друга циклинзависимых киназ. Каждая из циклинзависимых киназ представляет собой холоферментный комплекс, состоящий из собственно каталитической субъединицы (Cdk) и регуляторной субъединицы – циклина. Связывание с циклином увеличивает киназную активность Cdk и, кроме того, определяет их локализацию и субстратную специфичность. Уровень экспрессии каждого из циклинов и, в меньшей степени, Cdk, направленно изменяется в определенные фазы клеточного цикла. Так, выход клетки из стадии покоя и вход в фазу *G1* определяется образованием комплексов циклинов D (D1–D3) с Cdk4 или Cdk6 (в зависимости от типа клеток). Переход из *G1* в *S* связан с образованием комплексов циклина E с Cdk2, и т.д. Вход в митоз, например, обусловлен образованием комплексов Cdc2 с циклином B. Кроме связывания с циклинами, активность Cdk регулируется изменениями фосфорилирования их определенных аминокислотных остатков и связыванием с так называемыми СКІ – ингибиторами Cdk.

Выход покоящейся клетки из фазы *G0* и вступление ее в митотический цикл инициируется различными внешними стимулами, в первую очередь различными секретируемыми цитокинами, принадлежащими к группе факторов роста. Кроме этого, для деления большинства типов нормальных клеток необходимо также и взаимодействие специфических рецепторов клетки – интегринов – с определенными белками внеклеточного матрикса (фибронектином, коллагеном и др.). Связывание рецепторов со своими лигандами – ростовыми факторами и белками внеклеточного матрикса – индуцирует аутофосфорилирование внутриклеточных доменов рецепторов и дальнейшее их взаимодействие со многими сигнальными белками. Следствием этого является стимуляция пересекающихся сигнальных путей и активация так называемых MAP (Mitogen Activated Protein) – киназных каскадов. Конечные продукты этих каскадов – серин-треониновые киназы ERK1/2, JNK и p38 – транслоцируются из цитоплазмы в ядро, где они фосфорилируют множество субстратов, что, в конце концов, и приводит к активации циклинзависимых киназ, инициирующих вход в *S* фазу.

Действие большинства рост-ингибирующих факторов (цитокинов типа TGF- β , контактного торможения при установлении межклеточных контактов, повреждений ДНК и других внутри-

клеточных нарушений) основано на активации ингибиторов циклинзависимых киназ (СКІ) семейств Ink4 и Cip/Kip, что приводит к остановке клеточного цикла в так называемых чекпойнтах (checkpoints, сверочных точках). В зависимости от типа рост-ингибирующего воздействия и молекул, вовлеченных в его распознавание, наблюдается остановка клеточного цикла в *G1*, *S*, *G2* фазах или в митозе.

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения, вызывающие, с одной стороны, перманентную стимуляцию сигнальных путей, активирующих Cdk4(6) и Cdk2, а с другой стороны – нарушения в путях передачи сигналов, опосредующих активацию чекпойнтов в ответ на рост-ингибирующие сигналы. Первый тип изменений возникает в основном в результате активирующих мутаций так называемых *протоонкогенов* – нормальных компонентов путей передачи различных митогенных сигналов и приводит к *самодостаточности в пролиферативных сигналах*. Инактивация чекпойнтов, обеспечивающая *нечувствительность к рост-ингибирующим сигналам и генетическую нестабильность*, чаще всего обусловлена дисфункцией так называемых *опухолевых супрессоров*, к которым относятся и некоторые из СКІ.

С изменениями регуляции клеточного цикла связаны и *нарушения дифференцировки* неопластических клеток. Реализация большинства дифференцировочных программ требует выхода клетки из митотического цикла в стадию покоя (*G0*). Перманентная стимуляция размножения клеток и нечувствительность к действию рост-ингибирующих цитокинов, являющихся одновременно индукторами дифференцировки (таких как TGF- β), нередко приводят к блокированию или извращению процессов дифференцировки.

Изменения морфологии и движения клеток

Верхние этажи сигнальных путей, активируемых связыванием рецепторов ростовых факторов и интегринов со своими лигандами, ответственны за стимуляцию не только размножения, но и движения клеток. Поэтому многие из цитокинов являются одновременно и митогенами, и мотогенами (например, EGF, HGF/SF, PDGF и др.). Активация G-белков семейства Ras и фосфатидилинозит-3-киназы (PI3K), находящихся на пересечении сигнальных путей от многих рецепторов, ведет к повышению активности как MAP-киназ – ключевых регуляторов клеточного цикла, так и малых ГТФаз семейства Rho, играющих центральную роль в реорганизации цитоскелета и регуляции движения клеток.

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения (активирующие мутации рецепторных тирозинкиназ, протоонкогенов семейства *RAS* и др.), вызывающие конститутивную стимуляцию такой сигнализации. В результате возникают клетки с повышенным пролиферативным потенциалом, характерными изменениями морфологии и увеличенной способностью к миграции, а, следовательно, и к инвазивному росту и метастазированию. Клетка с такими изменениями, возникшими, например, в результате активации протоонкогенов *RAS*, приобретает также и способность самостоятельно продуцировать и секретировать ряд митогенов/мотогенов, включая VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), стимулирующий размножение и направленную миграцию окружающих эндотелиоцитов, т.е. *неоангиогенез*.

Отсутствие репликативного старения (иммортализация)

Известно, что при культивировании *in vitro* человеческие фибробласты после 60–70 делений перестают размножаться и останавливаются, преимущественно в G1 фазе клеточного цикла. В пользу того, что остановка и гибель клеток связаны именно с числом предшествующих клеточных делений, а не просто с астрономическим временем, проведенным вне организма, в условиях *in vitro*, свидетельствует две группы фактов. Во-первых, в культурах фибробластов, полученных от эмбрионов или от молодых людей, кризис наступает позже, чем в культурах фибробластов, полученных от пожилых людей. Во-вторых, если клетки не пересаживать, они образуют плотную культуру и, в результате контактного торможения, останутся в G1. В этом состоянии они могут находиться довольно долго, по крайней мере, 2–3 мес, а затем, после пересадки, снова начнут размножаться до тех пор, пока не пройдут свои 60–80 делений. В это время их аналоги, не останавливавшие свое размножение, уже давно погибли. Таким образом, астрономическое время пребывания в культуре может быть увеличено, а неизменным остается число клеточных делений до наступления кризиса. Если же какие-то клетки избегают кризиса (спонтанная частота такого события настолько низка, что ее даже трудно зарегистрировать, но определенные манипуляции с геномом или экспрессия некоторых клеточных и вирусных онкогенов могут значительно увеличить вероятность этого события), то клетки могут уже размножаться бесконечно долго. Это определяется термином иммортализация клеток, т.е. приобретение бессмертия.

В основе счетно-ограничительного механизма, детерминирующего репликативное старение кле-

ток, лежит прогрессивное укорочение теломер (концевых участков хромосом) по мере деления клеток. ДНК теломер, представляющая собой более тысячи повторов гексануклеотида TTAGGG, в силу известной проблемы репликации концов линейной ДНК, синтезируется не полностью, и при каждом акте репликации, т.е. после каждого клеточного деления, теломеры укорачиваются. Согласно теломерной гипотезе прогрессивное укорочение теломер приводит к тому, что они достигают какой-то критической минимальной длины, когда сенсорные системы начинают распознавать их как аномальные структуры ДНК и индуцировать остановку клеточного цикла, подобно тому, как это происходит при ДНК-повреждающих воздействиях.

Отсутствие в опухолевых клетках человека репликативного старения (иммортализация) связано с включением специального механизма. В его основе лежит способность специфического фермента теломеразы достраивать недореплицированные теломерные повторы и поддерживать, таким образом, их постоянную длину. Предполагается существование и других, так называемых ALT (альтернативных) механизмов поддержания длины теломер, основанных на гомологичной рекомбинации ДНК теломер. Включение экспрессии TERT, каталитической субъединицы теломеразы, индуцируется изменением экспрессии определенных онкогенов или опухолевых супрессоров. Так, оно может быть вызвано активацией онкогена *Myc* и инактивацией опухолевого супрессора *p53*. Кроме этого, существенный вклад в иммортализацию неопластических клеток вносят нарушения работы охранных механизмов, осуществляющих остановку клеточного цикла при нарушениях структуры ДНК, в частности при исчезновении теломерных повторов. Они связаны с инактивацией опухолевых супрессоров *pRb*, *p53* и др.

Изменения регуляции апоптоза

Апоптоз вызывается различными сигналами, как физиологическими – экспрессией специальных киллерных цитокинов, изменениями гормонального статуса (циклическое ремоделирование эндометрия матки, возрастная инволюция тимуса и др.), так и нефизиологическими – различными внутриклеточными повреждениями или неблагоприятными условиями – нехваткой факторов роста, повреждениями ДНК, гипоксией и т.д. В регуляции апоптоза выделяют два основных этапа: фазу индукции (принятия решения) и фазу экзекуции (исполнения приговора). Последняя осуществляется путем активации каспаз – семейства цистеиновых протеиназ, расщепляющих свои субстраты по остаткам аспартаговой кислоты. Рас-

щепление каспазами 3, 6, 7 (так называемые эффекторные, или «казнящие» каспазы) ряда ключевых субстратов, в частности ингибиторов нуклеаз, ламинов – ядерных цитоскелетных белков и т.д., приводит к фрагментации ДНК и деструкции клетки. Каспазы присутствуют в цитоплазме в виде проэнзимов и активируются до полностью функциональных протеаз путем расщепления проэнзима на большую и малую субъединицы и дальнейшего отщепления от них N-концевых доменов. Затем субъединицы собираются в активные олигомеры. Расщепление прокаспаз могут осуществлять различные протеазы, в том числе и другие каспазы.

Существует два принципиально разных сигнальных пути, приводящих к активации эффекторных каспаз 3, 6, 7. Один из них инициируется связыванием специфических киллерных лигандов (Fas-лиганд, TNF- α и др.) со своими рецепторами, так называемыми рецепторами смерти, что вызывает рекрутирование к ним адаптерных белков и прокаспаз, в частности прокаспазы 8. Агрегация молекул прокаспазы 8 достаточна, чтобы инициировать их аутопроцессирование (расщепление) и образование активных форм каспазы 8, которая, в свою очередь, процессирует до активных форм эффекторные каспазы.

При альтернативном пути индукции апоптоза ключевую роль играют митохондрии, поэтому его называют митохондриальным путем. Он инициируется главным образом различными повреждающими воздействиями, вызывающими увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и выход в цитоплазму ряда митохондриальных белков, в частности цитохрома С, который связывается с белком АРАФ-1 и стимулирует образование его олигомеров. Это, в свою очередь вызывает рекрутирование на образовавшийся комплекс молекул прокаспазы-9, их агрегацию, аутопроцессирование и формирование активного комплекса каспазы-9. На следующем этапе происходит рекрутирование на этот комплекс молекул прокаспазы-3 и их процессирование до активных форм, которые расщепляют ключевые мишени и вызывают апоптоз. Следует заметить, что повреждения и стрессы приводят к выходу из митохондрий не только цитохрома С, но и ряда других молекул, в частности протеазы АИФ (Apoptosis Inducing Factor). АИФ также стимулирует апоптоз, вызывая расщепление ряда ядерных белков каспазонезависимым путем. Таким образом, митохондриальный путь индукции апоптоза включает несколько независимых механизмов. При этом существуют взаиморегуляции сигнальных путей, активируемые рецепторами смерти и повреждающими воздействиями. Так, активация каспазы 8, вызванная ак-

тивацией рецепторов смерти, не только напрямую активирует эффекторные каспазы, но и индуцирует увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и активацию регуляторной каспазы 9. С другой стороны, при повреждениях и стрессах может наблюдаться повышение экспрессии рецепторов смерти – Fas и Killer/DR5. Таким образом, проапоптотические сигналы амплифицируются, что позволяет надежнее достигать необходимого эффекта.

Ключевую роль в регуляции проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома С и АИФ играют белки семейства Bcl2, подразделяющиеся на несколько подсемейств и обладающие либо проапоптотическими, либо антиапоптотическими активностями. Предполагается, что антиапоптотические белки (Bcl-2, Bcl-x, и др.), локализуясь в мембранах митохондрий, закрывают каналы, через которые осуществляется выброс цитохрома С и АИФ. Проапоптотические молекулы (Bax, Bad и др.) при апоптогенных сигналах перемещаются из цитоплазмы в митохондриальные мембраны, где взаимодействуя с интегральным белком наружной митохондриальной мембраны VDAC, стимулируют открытие канала, через который, в частности секретируется цитохром С. Кроме того, белки подсемейства Bax образуют гетеромерные комплексы с белками Bcl2, Bcl-x, что, возможно, открывает закрытые до этого каналы.

Для опухолевых клеток характерны генетические изменения, ведущие к ослаблению обоих путей индукции апоптоза. Так, в них закономерно обнаруживаются:

а) потеря экспрессии на поверхности клетки рецептора смерти Fas;

б) нарушения проведения апоптогенного сигнала к митохондриям (например, при инактивации опухолевых супрессоров p53 и PTEN);

в) ингибирование проницаемости митохондриальной мембраны для цитохрома С и АИФ, вследствие изменений экспрессии белков семейства Bcl2;

г) блокирование активации эффекторных каспаз (например, при потере экспрессии белка АРАФ-1 в результате метилирования его гена);

д) резкое уменьшение времени жизни каспаз ввиду их связывания с белками IAP (Inhibitors of Apoptosis), экспрессия которых повышается вследствие активации протоонкогенов Ras, PKB/Akt или инактивации опухолевого супрессора PTEN.

Генетическая нестабильность

Генетическая нестабильность – это увеличение вероятности возникновения и закрепления в ряду клеточных поколений разнообразных изменений генома. Важность приобретения этого признака

для образования злокачественной опухоли связана с тем, что именно генетическая нестабильность, вместе с постоянно идущим отбором, обеспечивают накопление в одной клетке сразу нескольких мутаций в онкогенах, опухолевых супрессорах и других генах, придающих клетке совокупность необходимых для образования опухоли свойств. Генетическая нестабильность популяций опухолевых клеток складывается из 4 основных типов нарушений:

а) уменьшения точности воспроизведения генетической информации, а именно, понижения точности репликации ДНК и сегрегации хромосом во время митоза;

б) нарушений в системах репарации поврежденных ДНК или ошибок, возникших при ее репликации;

в) ослабления функции чекпойнтов клеточного цикла, активируемых в ответ на повреждения структуры ДНК или веретена деления в митотической клетке, в результате чего клетка, несмотря на разрывы ДНК или изменения числа хромосом, продолжает делиться и умножать число аномальных потомков;

д) ослабления индукции апоптоза, вследствие чего делящиеся клетки с генетическими нарушениями не погибают, а выживают.

Совокупность перечисленных нарушений обеспечивает повышенную частоту возникновения различных генетических изменений и их закрепление в ряду клеточных поколений.

В последние годы выяснилось, что повышенная изменчивость популяций опухолевых клеток связана не только с резким учащением появления истинных генетических изменений (генных мутаций, рекомбинаций, анеуплоидии и др.), но и со значительным увеличением вероятности возникновения в неопластических клетках так называемых эпигенетических изменений. В основе таких изменений лежит ремоделирование структуры хроматина, обусловленное изменениями метилирования цитозинов ДНК и/или ацетилирования гистонов. В результате происходит подавление экспрессии одних генов и/или повышение экспрессии других генов, причем из-за характерных для опухолевых клеток нарушений процессов метилирования ДНК одновременно может изменяться транскрипция нескольких сотен генов.

Литература

1. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000; 100: 57–70.
2. Hahn W.C., Weinberg R.A. Modelling the molecular circuitry of cancer. *Nature Rev. Cancer*, 2002; 2: 331–341.
3. Sherr C.J. The Pezcoller Lecture: Cancer Cell Cycles Revisited. *Cancer Res.* 2000; 60: 3689–3695.
4. Sherr C.J., Roberts J.M. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Gen. Dev.* 1999; 13: 1501–1512.
5. Heldin C.-H. Signal transduction: multiple pathways, multiple options for therapy. *Stem Cells*. 2001; 19: 295–303.
6. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signaling. *Nature*. 2001; 411: 355–365.
7. Roovers K., Assoian R.K. Integrating the MAP kinase signal into the G1 phase cell cycle machinery. *BioEssays*. 2000; 22: 818–826.
8. Evan G.I., Vousden K.H. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature*. 2001; 411: 342–348.
9. Green D.R. Apoptotic pathways: the roads to ruin. *Cell*. 1998; 94: 695–698.
10. Green D.R. Apoptotic pathways: paper wraps stone blunts scissors. *Cell*. 2000; 102: 1–4.
11. Hengartner M.O. The biochemistry of apoptosis. *Nature*. 2000; 407: 770–776.
12. Stambolic V., Mak T. W., Woodgett J. R. Modulation of cellular apoptotic potential: contributions to oncogenesis. *Oncogene*. 1999; 18: 6094–6103.
13. Schmitt C.A., Lowe S.W. Apoptosis and therapy. *J. Pathol.* 1999; 187: 127–137.
14. DePinho R.A. The age of cancer. *Nature*. 2000; 408: 248–254.
15. Sherr C.J., DePinho R.A. Cellular Senescence: Mitotic Clock or Culture Shock? *Cell*. 2000; 102: 407–410.
16. Shay J.W., Wright D.E. When do telomeres matter? *Science*. 2001; 291: 839–840.
17. Enver T., Greaves M. Loops, lineage, and leukemia. *Cell*, 1998; 94: 9–12.
18. Zhu L., Skoultschi A. I. Coordinating cell proliferation and differentiation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2001; 11: 91–97.
19. Saariisto A., Karpanen T., Alitalo K. Mechanisms of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis. *Oncogene*. 2000; 19: 6122–6129.
20. McClatchey A.I. Modeling metastasis in the mouse. *Oncogene*. 1999; 18: 5334–5339.
21. Lengauer C., Kinzler K.W., Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers. *Nature*. 1998; 396: 643–649.
22. Ponder B.A.J. Cancer genetics. *Nature*. 2001; 411: 336–341.
23. Gray J. W., Collins C. Genome changes and gene expression in human solid tumors. *Carcinogenesis*. 2000; 21: 443–452.

Поступила в редакцию 5.11.2002 г.