

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

## СПОРНЫЕ АСПЕКТЫ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ

Е.Н. Имянитов

*В работе обсуждаются спорные аспекты современной онкологии, в частности, роль нарушений иммунной системы в опухолевой прогрессии, представления о дормантных («спящих») и стволовых клетках новообразований, проблема внутриопухолевой гетерогенности мутационных событий, а также сведения о самопроизвольном регрессе неоплазм.*

### Иммунитет и опухолевый рост

Предположения о роли нарушений систем иммунной защиты в патогенезе опухолевой прогрессии стали формироваться одновременно с зарождением иммунологии. В целом, параллели между инфекционной патологией и процессом злокачественной трансформации проводятся достаточно часто. Например, самое главное прикладное направление экспериментальной онкологии – разработка «лекарства против рака» – руководствуется поиском биологических «мишеней», т.е. концепцией, сформулированной Паулем Эрлихом в рамках борьбы с микроорганизмами. Такой же логике подчиняются представления о роли иммунитета: интуитивно подразумевается, что процесс развития опухоли, как и процесс инфекции, в обязательном порядке включает «ускользание» патологических агентов (опухолевых клеток или микробов) из-под иммунного контроля. Формирование иммунологической теории рака принято связывать с F. Burnet и L. Thomas, которые опубликовали основополагающие работы на эту тему в конце 1950-х гг. [76].

Несмотря на элегантность и интуитивную правдоподобность этой гипотезы, экспериментальные данные скорее опровергали, нежели поддерживали представления о патологии иммунитета при раке. Например, в 1974 г. O. Stutman представил результаты экспериментов, выполненных на т.н. «голых» мышах – животных, у которых отсутствует тимус и, следовательно, способно полноценно генерировать Т-лимфоциты [81]. У бестимусных грызунов, привлечённых к эксперименту, была утрачена способность отторгать трансплантируемые ткани. Тем не менее, применение канцерогена 3-метилхолантрена не сопровождалось увеличением количества индуцированных опухолей или уменьшением продолжительности латентного периода по сравнению с контрольными животными. Не менее убедительные данные были получены в ходе эпидемиологических исследований на людях. Например, обширный опыт наблюдения за пациентами, перенёвшими трансплантацию почек и, следовательно, индуцированную иммуносупрессию, продемонстрировал значительное увеличение встречаемости преимущественно для опухолей вирусной этиологии. В то же время, наиболее социально значимые разновидности рака – карциномы лёгкого, молочной железы, простаты, толстой кишки – демонстрировали сходную частоту по сравнению с контролем [83, 86]. В целом, подобные данные не противоречат общепринятым концепциям о природе опухолевого роста. Действительно, процесс злокачественной трансформации включает в себя не только (и не столько) качественные изменения онкогенов и антионкогенов, сколько количественные изменения их экспрессии. Например, активация онкогена HER2 не сопровождается изменением конформации (т.е. антигенной структуры) соответствующего белка – увеличивается лишь представленность рецепторов на опухолевых клетках. Утрата супрессорных белков также не должна в обязательном порядке распознаваться иммунной системой. Следовательно, процесс опухолевой прогрессии, по крайней мере в теории, может происходить без участия иммунитета [33]. Таким образом, период становления молекулярной онкологии сопровождался некоторым забвением иммунологической теории рака.

Появление новых клеточных технологий позволило поставить крайне элегантные эксперименты и подвергнуть пересмотру многие устоявшиеся догмы [76].

В частности, стали доступны изогенные линии мышей, которые, обладая практически идентичным генетическим фоном, отличались между собой только по активности того или иного гена иммунной системы. Например, нокаутные мыши по генам ответа на интерферон-гамма (т.е. животные, характеризующиеся утратой рецептора интерферона-гамма или участников соответствующего сигнального каскада) оказались более чувствительными к ответу на 3-метилхолантрен – у них наблюдался ускоренный опухолевый рост, а также увеличение числа новообразований. Сочетанная инактивация генов рецептора интерферона-гамма и p53 сопровождалась расширением спектра разновидностей карцином по сравнению с мышами с изолированным дефицитом p53 [42].

Наиболее впечатляющие результаты были получены при перевивке опухолей от мышей с различным иммунным статусом. Если взять «обычных» мышей, обработать их канцерогеном и получить индуцированные опухоли, то результаты перевивки последних нормальным и иммунодефицитным мышам оказываются достаточно сопоставимыми. Совершенно иная картина наблюдается при индукции опухолей у иммунодефицитных мышей: перевивка последних таким же иммунодефицитным мышам даёт вполне тривиальные результаты, а вот при использовании в качестве реципиентов нормальных животных картина резко меняется – наблюдается значительное уменьшение количества развившихся неоплазм. Таким образом, опухоли, возникшие на фоне нормального иммунного ответа и иммунодефицита, значительно отличаются друг от друга по своим биологическим свойствам; по-видимому, первая группа новообразований характеризуется снижением иммуногенности, вызванным селекцией безантигенных клеточных клонов. Данный процесс естественного отбора «приемлемых» для организма клеток получил название «иммуноредактирования» [79].

Следующим этапом развития представлений об иммунологии рака стала демонстрация причастности различных компонентов иммунного ответа к разным этапам опухолевой прогрессии. Данные фазы получили название *elimination* (удаление опухолевых клеток), *equilibrium* (равновесие) и *escape* (ускользание от иммунного контроля). Первый этап (*elimination*) характеризуется совместной успешной работой врождённого и приобретённого иммунитета, направленной на уничтожение единичных трансформированных клеток.

Если какой-то клон не удаляется защитными силами организма, наблюдается равновесие, при котором иммуноопосредованное устранение неопластических элементов компенсирует появление новых клеток. Примечательно, что фаза равновесия поддерживается только компонентами адаптивного иммунитета, в то время как системы врождённого иммунитета никак не влияют на установившийся эквilibrium. По-видимому, упомянутый выше процесс иммуноредактирования осуществляется преимущественно на этом этапе. Существование фазы равновесия подтверждается крайне элегантными экспериментами. Например, если подопытных мышей обра-

ботать низкими дозами 3-метилхолантрена, они не демонстрируют признаков опухолевого роста. Однако, индуцированная иммуносупрессия сопровождается появлением новообразований, причём развитие последних происходит именно в участках контакта с канцерогеном. Таким образом, даже небольшая экспозиция к вредному агенту сопровождается появлением незначительного количества трансформированных клеток; последние длительное время сохраняют свою жизнеспособность, однако остаются в подавленном состоянии вплоть до срыва защитных систем организма [46].

Ускользание от иммунного контроля включает как минимум три компонента. Во-первых, в ходе иммуноредактирования клетки теряют распознаваемые антигены – в результате трансформированные клетки перестают выявляться контрольными системами организма; помимо этого, наблюдается инактивация процессов иммунной презентации инородных белков. Во-вторых, опухоль приобретает механизмы резистентности к атакам со стороны иммунной системы, в частности, утрачивает способность к индуцированному апоптозу. В-третьих, трансформированные клетки начинают секретировать вещества, создающие локальную иммуносупрессию.

Соответствуют ли данные, полученные на экспериментальных животных, клиническим наблюдениям? Именно этот вопрос заставляет отнестись представления об иммунологии опухолей к спорным аспектам фундаментальной онкологии. Как упоминалось выше, выраженная иммуносупрессия сопровождается значительным увеличением риска лишь отдельных видов опухолей – преимущественно сарком и карцином вирусной этиологии. Подобная селективность представляется неожиданной в свете относительно новых данных о мутационном спектре новообразований. Действительно, исследования по полноэкзомному секвенированию раковых геномов продемонстрировали, что подавляющее большинство неоплазм содержит тысячи мутаций, которые, безусловно, должны приводить к антигенности трансформированных клеток [25]. Более того, даже количественное нарушение числа хромосом – анеуплоидия – также сопровождается активацией системы иммунитета [78].

С другой стороны, лишь недавно стали накапливаться достоверные данные, свидетельствующие о том, что у большинства онкологических пациентов иммунодефицит наблюдается не столько на уровне организма, сколько в перитуморальном пространстве, причём сам процесс злокачественной трансформации в обязательном порядке предусматривает активное устранение локальных защитных механизмов [34]. Например, активация онкогена K17 приводит к индукции фермента индоламин-2,3-диоксигеназы; этот фермент конвертирует аминокислоту триптофан в иммуносупрессорную субстанцию. Примечательно, что противоопухолевый эффект ингибиторов K17 наблюдается только у мышей с сохранённой иммунной функцией, в то время как назначение лекарственного препарата иммунодефицитным животным не сопровождается регрессией опухолей [7]. Опухолевые клетки

и/или инфильтрирующие их лимфоциты характеризуются экспрессией иммуносупрессорных молекул, в частности CTLA4, PD1, PD-L1 и т.д. [76]. Таким образом, трансформированная клетка может сформировать клинически видимый опухолевый очаг только в том случае, если она приобретает способность активно сдерживать локальный иммунный ответ.

Наиболее яркой иллюстрацией причастности нарушенного иммунитета к онкологической патологии стали испытания иммуномодулирующих препаратов. Достоверные данные о клинической эффективности высоких доз интерлейкина-2 у пациентов с метастатической меланомой были получены ещё на рубеже 1980-х и 1990-х гг. Примечательно, что у отдельных больных наблюдался полный регресс опухоли, причём продолжительность ответа измерялась годами [6]. Тем не менее, меланома всегда рассматривалась особняком как пример относительно иммуногенной неоплазии. Эти представления подтверждаются не только клиническими наблюдениями самопроизвольного регресса опухоли или примерами многолетнего присутствия в организме «спящих» меланомных клеток, но и успехами клинических испытаний таргетных иммуномодулирующих препаратов [32, 40, 94]. Тем не менее, за последние годы появились другие позитивные примеры использования иммунотерапии для лечения неоплазий. Например, в 2010 г. были опубликованы результаты успешных клинических испытаний вакцины против опухоли, которая никогда не считалась иммуногенной, – рака простаты [41]. Процедура лечения включает забор Т-клеток от пациента, их *ex vivo* сенситизацию к опухолевым антигенам в условиях централизованной лаборатории и возврат этих активированных лимфоцитов в организм пациентов.

В этом десятилетии иммунотерапия стала самым перспективным направлением поиска новых путей лечения рака. Впервые описаны случаи исключительно длительных ремиссий (излечения?) в тех категориях онкологических пациентов, которые считались абсолютно безнадежными. Тем не менее, модуляция иммунитета приводит к клиническому ответу далеко не у всех больных, а применение препаратов этой группы может сопровождаться случаями сильнейших аллергических и аутоиммунных реакций. Следует прокомментировать, что применение иммунных модуляторов пока осуществляется эмпирическим путём, без учёта молекулярных нарушений, которые вызвали локальную периопуховую супрессию. Остаётся надеяться, что идентификация молекулярных предикторов ответа опухоли на иммунотерапию позволит значительно увеличить эффективность и безопасность этого метода лечения онкологических пациентов.

### **Дормантные («спящие») клетки опухоли**

Общепринятые представления о природе опухолевой прогрессии свидетельствуют о том, что присутствие даже единичных трансформированных клеток в организме

практически неминуемо приводит к клинической манифестации заболевания. Данные взгляды основываются на многолетнем опыте клиницистов, свидетельствующем, во-первых, о безусловной корреляции между присутствием (микро)метастазов (например, вовлечением регионарных лимфатических узлов) и риском рецидива и, во-вторых, о столь же безусловной зависимости долгосрочных результатов лечения от стадии заболевания. Фактически, многими ключевыми аспектами принятия решений в онкологии сегодня руководит морфолог: выявление клеток, которые по своим микроскопическим характеристикам отвечают критериям злокачественности, почти всегда сопровождается (калечащим) хирургическим вмешательством и/или назначением противоопухолевой терапии. Более того, существующие стандарты лечения онкологических больных твёрдо основываются на принципах абластики и антибластики, т.е. подразумевают использование обширных операций, при которых риски послеоперационных осложнений и качество жизни пациента приносятся в жертву попыткам максимально избавить организм даже от единичных опухолевых клеток.

Следует заметить, что перечисленные выше положения, в целом, подтверждаются многолетними результатами клинических наблюдений. Тем не менее, имеются удивительные данные, которые «выбиваются» из общей картины [27, 28, 44, 87].

Например, обращает на себя внимание частота обнаружения оккультных раков при обследовании людей, погибших в результате катастрофы. В этом контексте, например, часто цитируется работа Nielsen et al. [59]. Авторы систематически исследовали ткани молочной железы у относительно молодых (в возрасте от 20 до 54 лет) женщин, подвергнувшихся аутопсии; рак молочной железы (РМЖ) был обнаружен в 22/110 (22%) случаев!! Если бы эти РМЖ были бы выявлены в ходе стандартного обследования и/или скрининговых программ, они почти бы наверняка подверглись бы оперативному вмешательству. Ещё более часто в качестве примера приводится рак простаты – его признаки обнаруживаются у большинства пожилых мужчин [74]. Следует прокомментировать, что рак предстательной железы является единственным примером злокачественной опухоли, при которой считается допустимым рассматривать возможность выжидательной тактики лечения.

Не менее интересной представляется статистика выявления рецидивов заболевания в течение длительных периодов наблюдения над пациентами. Некоторые социально значимые опухоли демонстрируют достаточно стабильное течение: например, подавляющее большинство карцином лёгкого и толстой кишки характеризуется относительно небольшим временным интервалом между оперативным вмешательством и проявлением отсроченных эпизодов заболевания; в целом, подавляющее число рецидивов наблюдается в течение первых 3-5 лет, а безрецидивный интервал большей продолжительности расценивается как синоним излечения. Совсем иная картина наблюдается для карцином молочной железы,

почек, меланом. Demicheli et al. [21] изучали долгосрочные результаты лечения рака молочной железы и обнаружили две неожиданные с точки зрения практикующего онколога особенности. Во-первых, частота поздних рецидивов РМЖ формировала 2 характерных пика, через 1.5 года и 5 лет после операции, соответственно, причём риск возникновения метастатических очагов сохранялся даже через 15 лет после радикальной операции! Saphner et al. [75] установили, что риск рецидива РМЖ быстро снижается в течение 2-5 лет после операции, но на протяжении последующих 7 лет остаётся константным и составляет примерно 4% в год. В целом, вероятность реактивации опухолевого процесса остаётся значительной в течение как минимум 20 лет после радикальной операции [43]. Многолетний интервал между удалением первичной опухоли и возникновением висцеральных метастазов также характерен для меланом [85].

Клинические наблюдения отсроченных рецидивов РМЖ заслуживают отдельных комментариев. Во-первых, подобная динамика заболевания описана практически исключительно для ER+/PR+ опухолей; наиболее агрессивные разновидности РМЖ, такие как «трижды-негативные» или HER2-позитивные карциномы, обычно либо рецидивируют в первые годы после операции, либо не рецидивируют вообще [8]. Во-вторых, по крайней мере определённая часть «поздних» рецидивов может быть объяснена не только временной персистенцией трансформированных клеток в дормантном состоянии, но и попросту медленным (при этом достаточно константным?) ростом опухолевых масс [92]. В-третьих, некоторые исследования продемонстрировали эффективность пролонгированной адъювантной терапии антагонистами эстрогенов у больных с рецептор-позитивным РМЖ; эти клинические испытания могут быть интерпретированы как примеры эффективного контроля «спящих» микрометастазов [29].

Ещё одним ярким подтверждением существования феномена дормантных клеток является регулярное обнаружение опухолей донорского происхождения у пациентов, подвергнувшихся пересадке органов. Достоверность подобных наблюдений не вызывает ни малейшего сомнения: современные молекулярно-генетические технологии позволяют легко дискриминировать клетки донора и реципиента. Наиболее систематические описания подобных драматических ситуаций получены для меланом, в т.ч. для тех доноров, у которых клинической манифестации опухоли не наблюдалось вообще или небольшое новообразование было радикально удалено за многие годы до трансплантации [80]. Сам факт того, что опухолевые клетки сохраняются в «спящем» состоянии у относительно здоровых доноров, но демонстрируют быструю прогрессию у иммуносупрессированных реципиентов, принято расценивать как неоспоримое доказательство причастности иммунитета к патогенезу опухолевого роста. Интересно, что в качестве переносчиков «спящих» клеток могут примерно с одинаковой вероятностью выступать практически все органы, в частности

печень, почки, сердце [12]. Даже опухоли мозга, которые практически никогда не формируют клинически видимых метастазов в висцеральных органах, могут перекидываться от донора к реципиенту при трансплантации последних [11]. Таким образом, само по себе многолетнее присутствие отдельных опухолевых клеток в здоровых органах и тканях представляется достаточно обыденным явлением, при этом для реализации программы опухолевой прогрессии требуются какие-либо дополнительные факторы.

В прошлом десятилетии в распоряжении учёных появились многочисленные технологии, позволяющие идентифицировать и визуализировать единичные опухолевые клетки в окружении огромного избытка нормальных тканей. Наиболее пригодными для исследований у человека оказались кровь и костный мозг; в то время как систематический забор тканей висцеральных органов, по понятным причинам, сталкивается с непреодолимыми трудностями этического характера. Эти исследования показали, что кровь онкологических больных очень часто содержит трансформированные клетки – их назвали циркулирующими (circulating tumor cells, CTC). Аналогичные клетки, обнаруженные в костном мозге, принято называть диссеминированными (disseminated tumor cells, DTC). Многочисленные исследования установили, что присутствие подобных клеток у прооперированных больных коррелирует с рецидивом заболевания [71]. Тем не менее, абсолютно неожиданными представляются наблюдения, свидетельствующие о шокирующе длительной персистенции циркулирующих опухолевых клеток у женщин, подвергшихся радикальной операции по поводу РМЖ. Например, Meng et al. [53] наблюдали CTC у 13 из 36 обследованных женщин, причём интервал после хирургического вмешательства составлял от 7 до 22 лет. Сходные данные были получены для карцином предстательной железы [91].

Что заставляет «спящие» опухолевые клетки прогрессировать в видимые опухолевые очаги? Роль системных и/или локальных нарушений иммунитета уже подробно обсуждалась нами выше, поэтому на механизме «активации» опухолевых клеток нет необходимости останавливаться повторно. Другим очевидным кандидатом на участие «пробуждения» дормантных клонов считается индукция локального ангиогенеза. Доказательством этого являются модельные эксперименты, которые демонстрируют ускорение ангиогенеза при переходе опухолевых очагов от оккультного состояния к фазе быстрого роста; этот процесс характеризуется увеличением экспрессии генов, отвечающих за стимуляцию процессов сосудобразования [3, 56].

В целом, биология дормантных клеток может существенно отличаться от основных свойств опухоли. В частности, «спящие» клоны могут характеризоваться низкой интенсивностью пролиферации – это делает их нечувствительными к стандартной химиотерапии. Например, назначение доксорубина подопытным мышам позволяло снижать количество опухолей у подопытных жи-

вотных при перевивке активно делящихся клеток РМЖ, но при этом не влияло на прогрессию изогенных клеточных линий с более длительным латентным периодом [55]. Kreso et al. [48] наблюдали динамику различных опухолевых клонов и продемонстрировали, что экспозиция к цитостатикам не только угнетает активно делящиеся клетки, но и активирует «спящие» очаги малигнизации.

Представления о дормантных опухолевых клетках могут иметь непосредственное значение для обсуждения стратегических вопросов клинической онкологии.

Во-первых, существующие принципы абластики и антибластики могут быть подвергнуты существенному пересмотру, особенно когда речь идёт об особых типах опухолей и/или целесообразности калечащих операций. Иллюстрацией этой тенденции может служить практика хирургического лечения РМЖ. Ещё 20-40 лет назад большинство специалистов отдавало предпочтение максимально возможному иссечению всех потенциально задействованных лимфатических узлов и полной ампутации поражённой молочной железы; в настоящее время многие клиники зачастую ограничиваются органосохраняющим удалением первичной опухоли и не стремятся к расширению объёмов операции. Отдельные исследователи полагают, что агрессивное оперативное вмешательство у онкологических больных само по себе сопряжено с риском активации «спящих» трансформированных клеток вследствие стимуляции ангиогенеза; именно это обстоятельство расценивается как дополнительный аргумент в пользу эндоскопических операций по сравнению с «открытыми» вмешательствами. Другим уместным примером являются неудачи многих скрининговых программ по раннему выявлению рака, которые значительно увеличили выявляемость (дормантных?) опухолей, но мало отразились на улучшении показателей продолжительности жизни пациентов [21].

Во-вторых, существующие подходы к адьювантной терапии могут быть подвергнуты пересмотру. В настоящее время послеоперационное лечение предусматривает интенсивную цитостатическую нагрузку в течение относительно длительного временного интервала после операции. По-видимому, такое вмешательство не может обладать эффектом в отношении дормантных клеток, которые не находятся в состоянии постоянного деления [55]. Некоторые исследователи предлагают оценить в экспериментах на животных иной режим, который подразумевает, например, ежегодное назначение коротких курсов противоопухолевой терапии [27].

В-третьих, следует обратить внимание на тот факт, что во время диссеминации «спящие» клетки по крайней мере в течение определённого промежутка времени испытывают трудности, связанные с попаданием в необычное тканевое окружение. Чтобы дожить до момента формирования метастазов, они должны активировать сигнальные каскады, направленные на поддержание собственной жизнеспособности. Жизнеспособность клетки поддерживается, в частности, киназой mTOR. Представляется привлекательным попытаться экспериментально ап-

робировать ингибиторы mTOR (эверолимус, темзиролимус) в качестве адьювантной терапии [27].

В-четвёртых, обращает на себя внимание упоминавшийся выше успешный опыт пролонгированного адьювантного применения антагонистов каскада эстрогенов для предупреждения рецидивов гормон-чувствительного рака молочной железы. Эти исследования могут рассматриваться как пример успешного контроля дормантных клеточных клонов [28].

В-пятых, именно опыт лекарственного лечения онкологических больных демонстрирует примеры вопиющего несоответствия между достаточно правдоподобными гипотезами и клинической реальностью. Например, несмотря на убедительные доказательства роли ангиогенеза в активации дормантных трансформированных клеток, клинические испытания адьювантного применения бевацизумаба совершенно неожиданно закончились явной неудачей [20].

### Стволовые клетки опухоли

Стволовыми клетками называют клетки, которые имеют исключительно длительную продолжительность жизни, обладают неограниченным репликативным потенциалом и порождают клетки, способные к дифференцировке. Стволовые клетки являют основным источником репопуляции органов и тканей – в частности, их роль продемонстрирована на примере тканевого гомеостаза крови, эпителия кишечника, кожных покровов и т.д.

В отличие от органов и тканей новообразования всегда воспринимались как беспорядочная смесь достаточно однородных клеток, возникших из единого онкогенного клона. Наблюдения, демонстрирующие примеры внутриопухолевой гетерогенности, интерпретировались в пользу случайных событий и рассматривались как следствие нестабильности генома. В последние годы, с появлением методов сортировки клеток, гомогенность опухолевых масс стала ставиться под сомнение – многие учёные убеждены, что карциномы *de facto* представляют из себя иерархическую структуру, которая по своей клеточной организации напоминает орган [16, 60, 63, 82, 89].

Крайне важным моментом в истории онкологии является исследование Furth and Kahn [24], в котором исследователи сумели перевить лейкоз у мышей, используя всего 1 трансформированную клетку. Именно эксперименты подобного рода, а также клинические наблюдения о безусловной прогностической значимости микрометастазов сформировали представления о самодостаточности злокачественных клеток. В 1964 г. Kleinsmith and Pierce [45] продемонстрировали совершенно неожиданные свойства тератокарцином: оказалось, что изученные ими опухоли состояли как минимум из 2 категорий клеток. К первой относились низкодифференцированные клетки, которые обладали высоким туморогенным потенциалом. В то же время, в опухолях отмечалось присутствие клеток, демонстрировавших признаки дифференцировки и характеризовавшихся низкой способностью продуцировать опухолевые очаги. Именно G. Barry

Pierce впервые стал проводить аналогии между опухолью и органом [16].

Вся идеология представлений о существовании стволовых клеток опухолей основывается на интересных экспериментах, которые демонстрируют, что лишь относительно небольшая часть трансформированных клеток способна формировать очаги опухолевого роста при перевивке мышам. Более того, эта фракция клеток характеризуется экспрессией определённых маркеров, которые позволяют изолировать стволовые клетки опухоли и подвергать их детальному изучению. Новейшую историю подобных исследований принято начинать с работ по острому миелобластному лейкозу, которые выявили, что только клетки с фенотипом CD34+/CD38- способны вызывать заболевание при пересадке бестимусным мышам, в то время как миелобласты категорий CD34+/CD38+ и CD34- не характеризовались туморогенностью [50]. Al-Hajj et al. [2] продемонстрировали, что даже небольшие количества клеток рака молочной железы с фенотипом CD44+/CD24- (или CD44+/CD24low) способны образовывать карциномы у мышей, в то время как другие популяции клеток не обладали такой способностью. Примечательно, что 8 из 9 обследованных пациенток с РМЖ характеризовались присутствием стволовых клеток в опухоли. При пассировании у мышей сформировавшиеся неоплазмы содержали разные фенотипические категории трансформированных клеток, однако туморогенность сохранялась лишь для фенотипов CD44+/CD24- или CD44+/CD24low. Аналогичные по своей сути работы подтвердили существование стволовых клеток для новообразований толстой кишки, простаты, лёгкого, яичника, поджелудочной железы, яичника, мозга, кожи и т.д. [18, 19, 23, 35, 51, 54, 62].

Концепция стволовых клеток представляется исключительно привлекательной хотя бы потому, что она идеально объясняет неудачи противоопухолевой терапии [16]. Действительно, в подавляющем большинстве случаев системное воздействие на видимые неопластические очаги приводит лишь к временному лечебному эффекту: даже если размеры опухоли начинают уменьшаться, этот процесс, как правило, длится всего несколько месяцев, а затем объём опухолевых масс опять начинает возрастать. Именно стволовые клетки, которые, по-видимому, обладают невысокой чувствительностью к цитостатикам вследствие низкой скорости деления и способности «выбрасывать» лекарственные вещества в межклеточное пространство, считаются главной причиной возникновения резистентности опухолей к терапевтическим воздействиям.

Тем не менее, у концепции стволовых клеток опухолей есть определённые спорные аспекты [16].

Во-первых, сам тест на принадлежность трансформированных клеток к категории стволовых подразумевает их перевивку мышам. Многие специалисты по тканевому гомеостазу полагают, что процессы опухолеобразования в нетипичном тканевом окружении, особенно у представителей другого вида, не отражают всех особенностей прогрессии трансформированных клонов у он-

кологических пациентов. Экстремальная точка зрения подразумевает, что многие результаты исследований стволовых клеток являются экспериментальным артефактом.

Во-вторых, само представление о малочисленности стволовых клеток ставится под сомнение. Первые эксперименты демонстрировали, что не более 1% клеток, формирующих опухоль, обладают туморогенностью. Дальнейшие исследования, направленные на улучшение условий пассирования, показали, что доля потенциально туморогенных клеток может измеряться десятками процентов [69].

В-третьих, стабильность «стволового» фенотипа также вызывает сомнения. В частности, по крайней мере некоторые эксперименты выявили не только способность «стволовых» клеток менять свой фенотип в процессе «дифференцировки», но и указали на принципиальную возможность обратного процесса, а именно возврата «дифференцированных» клеток в исходное, «стволовое», состояние. Подобное явление получило название клеточной пластичности.

В-четвёртых, далеко не всегда свойства стволовых клеток объясняют неудачи противоопухолевой терапии. Если одни разновидности стволовых клеток действительно демонстрируют резистентность к стандартным терапевтическим воздействиям, то другие, напротив, не отличаются по спектру своей лекарственной чувствительности от основной опухолевой массы.

В любом случае, гипотеза о существовании стволовых клеток опухоли может оказать влияние на практическую онкологию.

Во-первых, дизайн современных клинических испытаний зачастую игнорирует гетерогенность опухолевых клеток [89]. В большинстве случаев главным критерием чувствительности опухоли к терапии является уменьшение её размеров. Если подобный эффект не затрагивает стволовые клетки, то потенциально пригодные лекарственные препараты могут теряться на самых ранних фазах клинических испытаний – действительно, представляется маловероятным, что селективное устранение именно стволовых клеток будет сопровождаться немедленной динамикой размера опухолевых очагов. Существенно, что универсальность шкалы RECIST ставится под сомнение многими специалистами в области клинических испытаний, особенно онкоиммунологами [93].

Во-вторых, проблема стволовых клеток привлекает внимание тех исследователей, которые занимаются разработкой специфических сигнальных каскадов. Например, определённые надежды связываются с направленной инактивацией Notch и Wnt – ожидается, что воздействие на эти модули передачи сигналов может оказать избирательное воздействие на опухоль-инициирующие клеточные популяции [89].

В-третьих, многие хорошо известные лекарственные препараты снова стали объектом повышенного внимания вследствие их предполагаемого воздействия на стволовые клетки опухолей [60]. Например, метформин – ак-

тиватор АМФ-активируемой протеинкиназы, который широко применяется для лечения сахарного диабета 2-го типа, – в некоторых экспериментах демонстрирует признаки избирательного подавления опухолевых клеток. Hirsch et al. [37] показали эффект метформина по отношению к клеткам РМЖ с фенотипом CD44+/CD24-. При комбинированном назначении метформина и доксорубина подопытным мышам с РМЖ наблюдалась не только длительная (2 мес.) регрессия опухолей, но и уменьшение пропорции стволовых (CD44+/CD24-) клеток. Напротив, монотерапия доксорубином приводила к увеличению пропорции стволовых клеток и быстрому рецидиву опухоли, наблюдаемому уже через 20 дней после начала лечения. В настоящее время противоопухолевый эффект метформина активно изучается в рамках клинических испытаний [10, 31, 61].

Другим интересным примером могут являться опыты с применением салиномицина – хорошо известного антибиотика, который обладает функцией калиевого ионофора. В опытах на мышах применение салиномицина приводило к многократному снижению количества стволовых клеток РМЖ, в то время как использование паклитаксела, напротив, сопровождалось стимуляцией клонов с фенотипом CD44+/CD24- [30].

### Внутриопухолевая гетерогенность молекулярных нарушений

Геномная нестабильность является одним из ключевых компонентов злокачественной трансформации. Процесс формирования опухолевой массы подразумевает приобретение клеткой целого ряда дискретных характеристик, таких как автономное деление, нечувствительность к сдерживающим сигналам, утрата способности к апоптозу, неограниченный репликативный потенциал, возможность инвазии и метастазирования, секреция факторов ангиогенеза, способность индуцировать локальную иммуносупрессию, адаптивную перестройку клеточного метаболизма и т.д. Столь широкий спектр изменений не может быть обусловлен единичной мутацией – считается, что для полной реализации злокачественного фенотипа необходимо как минимум 5-9 «драйверных» событий. Расчёты естественной частоты мутаций показывают, что в «нормальной» ситуации накопление столь большого числа соматических нарушений генома абсолютно невозможно. Следовательно, на определённом этапе клетка приобретает свойство геномной нестабильности, что и обеспечивает дальнейшую эволюцию опухолевого клона [33, 34].

Именно геномная нестабильность является специфической мишенью для цитостатической терапии. Все известные к настоящему времени «стандартные» противоопухолевые препараты обладают ДНК-повреждающим воздействием. Именно поэтому опухолевые клетки, обладающие дефектом систем репарации ДНК, демонстрируют избирательную чувствительность к химиотерапии.

Итак, феномен геномной нестабильности лежит в основе накопления «требуемого» числа мутаций и обеспе-

чивает приобретение клеткой полного спектра злокачественных свойств. Эта же особенность способствует чрезвычайной пластичности компонентов опухоли. Каждое новообразование имеет огромное число т.н. «шумовых» мутаций, т.е. «случайных» соматических нарушений, не имеющих прямого отношения к патогенезу заболевания. В некоторых новообразованиях, этиология которых в наибольшей степени связана с воздействием канцерогенных агентов, количество мутаций может измеряться десятками тысяч – подобные молекулярные портреты характерны, например, для меланом и опухолей лёгкого [5, 13, 14, 25, 66, 67, 95].

Другим следствием геномной нестабильности является образование опухолевых субклонов. При изменении условий клеточной персистенции соотношение субклонов может меняться. В частности, при формировании метастазов преимущество получают те фракции клеток, которые в наибольшей мере приспособлены к условиям «нового» тканевого окружения. Существенное изменение представленности субклонов сопряжено с воздействием противоопухолевой терапии – в ходе лечения преимущество получают те ростки, которые демонстрируют резистентность в медицинскому воздействию. Разумеется, селекция субклонов может подразумевать не только прогрессию предсуществующих клеточных фракций, но и адаптационное формирование новых генотипов [5, 13, 14, 26, 66, 67, 95].

Вся дискуссия о внутриопухолевой гетерогенности имеет важнейший практический аспект. На сегодняшний день алгоритмы диагностики и планирования лечения многих новообразований в обязательном порядке предусматривают выполнение иммуногистохимических и молекулярно-генетических тестов. Современные стандарты практической онкологии основываются на том представлении, что опухоль является клональным образованием, и, следовательно, для выполнения анализа достаточно единичного фрагмента исследуемой неоплазии. Какова фактическая гетерогенность экспрессионных характеристик и «драйверных» мутаций, которые принимаются во внимание при принятии медицинских решений?

Как ни парадоксально, однозначного ответа на этот вопрос пока нет. Значительную роль в формировании представлений по данной проблеме может играть существующая практика диссеминации научных результатов: статьи, демонстрирующие гетерогенность опухоли (т.е. сообщающие о «позитивных» результатах), имеют больше шансов быть принятыми к публикации по сравнению с «негативными» работами. Другим важнейшим фактором представляется проблема технических погрешностей. Многие исследовательские коллективы демонстрируют отдельные случаи гетерогенности драйверных мутаций, однако, в каждой из подобных ситуаций не представляется возможным со 100%-й вероятностью исключить возможность ошибки [38].

В целом, подавляющее большинство доступной фактической информации можно интерпретировать таким

образом, что истинная гетерогенность предиктивных маркеров наблюдается достаточно редко, и, следовательно, анализ одного репрезентативного участка опухоли представляется более-менее достаточным с практической точки зрения. Исключения предлагается делать для тех случаев, когда рецидив новообразования носит отсроченный характер – при условии, что повторный забор биологического материала не сопряжён со значительными трудностями. Тем не менее, эта точка зрения может подвергнуться определённому пересмотру в течение ближайших нескольких лет [4, 38, 47, 52, 73, 90].

### Самопроизвольный регресс злокачественных опухолей

Истории о спонтанной регрессии опухолей занимают особое место в онкологии – подавляющее большинство профессионалов полагает, что подобные наблюдения отражают не столько особенности онкологической патологии, сколько ошибки в диагностике. Случаи самопроизвольного излечения от рака часто упоминаются представителями нетрадиционной медицины, религиозными деятелями, обывателями, однако у специалистов подобные описания, по вполне понятным причинам, как правило, не вызывают доверия.

Спонтанным регрессом новообразования называется объективное уменьшение его размеров, возникшее без видимых причин или при заведомо неадекватном лечении. Разумеется, во внимание принимаются только те случаи, когда правильность диагноза рака (более-менее) не вызывает сомнений. Подразумевается, что у подобных больных опухолевые очаги непосредственно перед регрессом не подвергались стандартному хирургическому, радиологическому или лекарственному лечению, при этом различные приёмы «альтернативной» медицины (диета, изменение стиля жизни, психологические упражнения и т.д.) рассматриваются как недостаточные (несущественные) рычаги влияния на ход заболевания.

Начало истории «самопроизвольного» излечения от рака датируется 2600 г. до н.э., когда египетский врач Имхотеп рекомендовал лечить новообразования припарками, надрезать зону отёка и, таким образом, инфицировать очаг злокачественного роста [39]. В целом, случаи регресса опухолей регулярно отмечались в научно-медицинской и религиозной литературе, однако «современный» этап изучения этой проблемы принято начинать с наблюдения американского хирурга William Coley [17]. В 1891 г. он наблюдал пациента с рецидивирующей саркомой, у которого в ходе повторных, неудачных с точки зрения абластики, операций возник гнойный процесс в участке хирургического вмешательства. Эта инфекция сопровождалась излечением больного. В дальнейшем William Coley пытался индуцировать рожистое воспаление у других пациентов, но эта практика оказалась несколько непредсказуемой: некоторые больные оказывались толерантными к инфекции, у других инфекционный процесс действительно приводил к желаемому результату – регрессии опухолей, но, к сожалению, в то

время – задолго до открытия антибиотиков – наблюдались и случаи летальности от индуцированной инфекции. Тогда William Coley попытался использовать убитые бактерии – этот препарат, названный токсином, принято называть по имени его автора. Так или иначе, William Coley и его дочь Helen Nauts описали немало неожиданных примеров регресса злокачественных новообразований соединительной ткани [57]. Последние случаи использования токсина Coley, получившие отражение в медицинской литературе, датируются 1980 г. [58].

В медицинской литературе насчитывается несколько сотен примеров самопроизвольного регресса опухолей, причём систематизации этих наблюдений посвящены десятки работ [1, 15, 36, 64, 65, 70, 72, 77, 84]. Наиболее подробно описаны пациенты, у которых отмечался регресс меланомы. Считается, что частота уменьшения размеров первичного очага может измеряться в процентах, а возможность регресса метастазов меланомы – в десятых долях процента [40, 88]. Интересно, что исчезновение первичного новообразования расценивается как одно из возможных объяснений тех необычных разновидностей метастатических меланом, при которых не удаётся выявить источник опухолевой диссеминации. Отмечен случай передачи меланомных клеток от матери к плоду во время беременности: у новорожденного ребёнка вначале наблюдался быстрый рост резистентных к терапии меланомных очагов, а потом они без видимой причины подверглись самопроизвольному исчезновению [40, 88]. Помимо этого, имеются достоверные упоминания самопроизвольных регрессов различных разновидностей лейкозов и лимфом, карцином почек, хориокарцином, гепатоцеллюлярных раков, карцином Меркеля, нейробластом, сарком, опухолей толстой кишки, молочной железы, поджелудочной железы и т.д. Разумеется, все подобные случаи исключительно редки – считается, что для выявления таких ситуаций необходимо пронаблюдать десятки или сотни тысяч пациентов.

Огромное внимание уделяется изучению причин, которые могли послужить фактором регресса злокачественного новообразования. Приоритет обычно отдаётся факторам иммунологического характера: у многих пациентов с документированным уменьшением размеров опухолевого очага отмечались различные инфекционные осложнения, связанные со значительным повышением температуры. Именно с иммуностимуляцией связывают «лечебный» эффект гемотрансфузий, неудачных операций или, в отдельных случаях, биопсий опухолевого очага. Иногда необычное течение онкологического заболевания можно объяснить гормональными причинами, например, возникновением или прекращением беременности. Регресс метастатических очагов, наблюдаемых у пациентов с раком почки после удаления первичной опухоли, пытаются связать с паракринным влиянием последней на отдалённые трансформированные клетки [1, 15, 64, 65, 70, 77, 84].

Следует заметить, что анализ случаев спонтанной регрессии опухолей сталкивается с определёнными труд-



ностями. Во-первых, уместно прокомментировать, что если краткосрочные флуктуации размеров опухолевых очагов в процессе заболевания не всегда можно расценивать как экстраординарное событие, ситуации с полным исчезновением признаков злокачественной болезни безусловно заслуживают повышенного внимания. Во-вторых, сами по себе больные, которые, с одной стороны, не подвергаются никакому лечебному воздействию, а, с другой – продолжают регулярно наблюдаться, встречаются исключительно редко. Например, в последние десятилетия, благодаря повсеместному распространению ультразвукового исследования (УЗИ), значительно увеличилась выявляемость небольших опухолей почки. Есть достаточные основания предполагать, что многие из этих карцином могли бы подвергнуться спонтанной регрессии, однако наблюдать за подобными пациента-

ми представляется неэтичным – их сразу подвергают оперативному вмешательству. В-третьих, в экспериментальной медицине отсутствуют животные модели, позволяющие адресовать подобные вопросы. Наверное, было бы интересным понаблюдать за подопытными мышами в течение всей их жизни, используя все современные методы диагностики объёмных образований – не исключено, что подобные эксперименты позволили бы более полно оценить вероятности спонтанной регрессии новообразований. В любом случае, обозначенная выше проблема представляет несомненный интерес как для специалистов-онкологов, так и для широкой общественности.

Данная работа поддержана грантами РФФИ 13-04-92613 и 14-04-93959.

## Литература

1. *Abdelrazeq AS*. Spontaneous regression of colorectal cancer: a review of cases from 1900 to 2005 // *Int J. Colorectal Dis.* – 2007. – Vol.22. – P.727-736.
2. *Al-Hajj M, Wichita MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF*. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2003. – Vol.100. – P.3983-3988.
3. *Almog N, Ma L, Raychowdhury R, Schwager C, Erber R, Short S, Hlatky L, Vajkoczy P, Huber PE, Folkman J, Abdollahi A*. Transcriptional switch of dormant tumors to fast-growing angiogenic phenotype // *Cancer Res.* – 2009. – Vol.69. – P.836-844.
4. *Aldsorf WH, Clauditz TS, Hoenig T, Quaas A, Sirma H, Koenig AM, Izbic J, Sauter G, Marx AH, Grob TJ*. Intratumoral heterogeneity of KRAS mutation is rare in non-small-cell lung cancer // *Exp. Mol. Pathol.* – 2013. – Vol.94. – P.155-159.
5. *Aparicio S, Caldas C*. The implications of clonal genome evolution for cancer medicine // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol.368. – P.842-851.
6. *Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, Fisher RI, Weiss G, Margolin K, Abrams J, Sznol M, Parkinson D, Hawkins M, Paradise C, Kunkel L, Rosenberg SA*. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993 // *J. Clin. Oncol.* – 1999. – Vol.17. – P.2105-2116.
7. *Balachandran VP, Cavnar MJ, Zeng S, Bamboat ZM, Ocuin LM, Obaid H, Sorenson EC, Popow R, Ariyan C, Rossi F, Besmer P, Guo T, Antonescu CR, Taguchi T, Yuan J, Wolchok JD, Allison JP, DeMatteo RP*. Imatinib potentiates antitumor T cell responses in gastrointestinal stromal tumor through the inhibition of IdO // *Nat. Med.* – 2011. – Vol.17. – P.1094-1100.
8. *Blous FM, Driver KE, Schmidt MK, Brooks A, van Leeuwen FE, Wesseling J, Cheang MC, Gelmon K, Nielsen TO, Blomquist C, Heikkilä P, Heikkinen T, Nevanlinna H, Akslen LA, Bügin LR, Foulkes WD, Couch FJ, Wang X, Cafourek V, Olson JE, Baglietto L, Giles GG, Severi G, McLean CA, Southey MC, Rakha E, Green AR, Ellis IO, Sherman ME, Lissowska J, Anderson WF, Cox A, Cross SS, Reed MW, Provenzano E, Dawson SJ, Dunning AM, Humphreys M, Easton DF, Garcha-Closas M, Caldas C, Pharoah PD, Huntsman D*. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies // *PLoS Med.* – 2010. – Vol.7. – e1000279.
9. *Bodey B*. Spontaneous regression of neoplasms: new possibilities for immunotherapy // *Expert Opin Biol Ther.* – 2002. – Vol.2. – P.459-476.
10. *Bonanni B, Puntoni M, Cazzaniga M, Pruneri G, Serrano D, Guerrieri-Gonzaga A, Gennari A, Trabacca MS, Galimberti V, Veronesi P, Johansson H, Aristarco V, Bassi F, Luini A, Lazzaroni M, Varricchio C, Viale G, Bruzzi P, Decensi A*. Dual effect of metformin on breast cancer proliferation in a randomized presurgical trial // *J. Clin. Oncol.* – 2012. – Vol.30. – P.2593-600.
11. *Buell JF, Trofe J, Sethuraman G, Hanaway MJ, Beebe TM, Gross TG, Alloway R, First MR, Woodle ES*. Donors with central nervous system malignancies: are they truly safe? // *Transplantation.* – 2003. – Vol.76. – P.340-343.
12. *Buell JF, Beebe TM, Trofe J, Gross TG, Alloway RR, Hanaway MJ, Woodle ES*. Donor transmitted malignancies // *Ann. Transplant.* – 2004. – Vol.9. – P.53-56.
13. *Burrell RA, McGranahan N, Bartek J, Swanton C*. The causes and consequences of genetic heterogeneity in cancer evolution // *Nature.* – 2013. – Vol.501. – P.338-345.
14. *Burrell RA, Swanton C*. The evolution of the unstable cancer genome // *Curr Opin Genet Dev.* – 2014. – Vol.24. – P.61-67.
15. *Challis GB, Stam HJ*. The spontaneous regression of cancer. A review of cases from 1900 to 1987 // *Acta Oncol.* – 1990. – Vol.29(5). – P.545-550.
16. *Clevers H*. The cancer stem cell: premises, promises and challenges // *Nat. Med.* – 2011. – Vol.17. – P.313-319.
17. *Coley WB*. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of corynebacteria. With a report of ten original cases. 1893 // *Clin. Orthop. Relat. Res.* – 1991. – Vol.262. – P.3-11.

18. Collins A.T., Berry P.A., Hyde C., Stower M.J., Maitland N.J. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells // *Cancer Res.* – 2005. – Vol.65. – P.10946-10951.
19. Curley M.D., Therrien V.A., Cummings C.L., Sergeant P.A., Koulouris C.R., Friel A.M., Roberts D.J., Seiden M.V., Scadden D.T., Rueda B.R., Foster R. CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer // *Stem. Cells.* – 2009. – Vol.27. – P.2875-2883.
20. de Gramont A., Van Cutsem E., Schmoll H.J., Tabernero J., Clarke S., Moore M.J., Cunningham D., Cartwright T.H., Hecht J.R., Rivera F., Im S.A., Bodoky G., Salazar R., Maindrault-Goebel F., Shacham-Shmueli E., Bajetta E., Makrutzki M., Shang A., André T., Hoff P.M. Bevacizumab plus oxaliplatin-based chemotherapy as adjuvant treatment for colon cancer (AVANT): a phase 3 randomised controlled trial // *Lancet. Oncol.* – 2012. – Vol.13. – P.1225-1233.
21. Demicheli R., Abbattista A., Miceli R., Valagussa P., Bonadonna G. Time distribution of the recurrence risk for breast cancer patients undergoing mastectomy: further support about the concept of tumor dormancy // *Breast. Cancer. Res. Treat.* – 1996. – Vol.41. – P.177-185.
22. Demicheli R., Retsky M.W., Hrushesky W.J., Baum M., Gukas I.D. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations // *Ann. Oncol.* – 2008. – Vol.19. – P.1821-1828.
23. Eramo A., Lotti F., Sette G., Pilozzi E., Biffoni M., Di Virgilio A., Conticello C., Ruco L., Peschle C., De Maria R. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population // *Cell Death. Differ.* – 2008. – Vol.15. – P.504-514.
24. Furth J., Kahn M.C. The transmission of leukaemia of mice with a single cell // *Am. J. Cancer.* – 1937. – Vol.31. – P.276-282.
25. Garraway L.A., Lander E.S. Lessons from the cancer genome // *Cell.* – 2013. – Vol.153. – P.17-37.
26. Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S., Larkin J., Endesfelder D., Gronroos E., Martinez P., Matthews N., Stewart A., Tarpey P., Varela I., Phillimore B., Begum S., McDonald N.Q., Butler A., Jones D., Raine K., Latimer C., Santos C.R., Nobadani M., Eklund A.C., Spencer-Dene B., Clark G., Pickering L., Stamp G., Gore M., Szallasi Z., Downward J., Futreal P.A., Swanton C. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol.366. – P.883-892.
27. Giancotti F.G. Mechanisms governing metastatic dormancy and reactivation // *Cell.* – 2013. – Vol.155. – P.750-764.
28. Goss P.E., Ingle J.N., Martino S., Robert N.J., Muss H.B., Piccart M.J., Castiglione M., Tu D., Shepherd L.E., Pritchard K.I., Livingston R.B., Davidson N.E., Norton L., Perez E.A., Abrams J.S., Therasse P., Palmer M.J., Pater J.L. A randomized trial of letrozole in postmenopausal women after five years of tamoxifen therapy for early-stage breast cancer // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol.349. – P.1793-802.
29. Goss P.E., Chambers A.F. Does tumour dormancy offer a therapeutic target? // *Nat. Rev. Cancer.* – 2010. – Vol.10. – P.871-877.
30. Gupta P.B., Onder T.T., Jiang G., Tao K., Kuperwasser C., Weinberg R.A., Lander E.S. Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening // *Cell.* – 2009. – Vol.138. – P.645-659.
31. Hadad S., Iwamoto T., Jordan L., Purdie C., Bray S., Baker L., Jellema G., Debaro S., Hardie D.G., Pusztai L., Moulder-Thompson S., Dewar J.A., Thompson A.M. Evidence for biological effects of metformin in operable breast cancer: a pre-operative, window-of-opportunity, randomized trial // *Breast Cancer Res Treat.* – 2011. – Vol.128. – P.783-794.
32. Hamid O., Robert C., Daud A., Hodi F.S., Hwu W.J., Kefford R., Wolchok J.D., Hersey P., Joseph R.W., Weber J.S., Dronca R., Gangadhar T.C., Patnaik A., Zarour H., Joshua A.M., Gergich K., Ellassaiss-Schaap J., Algazi A., Mateus C., Boasberg P., Tumei P.C., Chmielowski B., Ebbinghaus S.W., Li X.N., Kang S.P., Ribas A. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol.369. – P.134-144.
33. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer // *Cell.* – 2000. – Vol.100. – P.57-70.
34. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell.* – 2011. – Vol.144. – P.646-674.
35. Hemmati H.D., Nakano I., Lazareff J.A., Masterman-Smith M., Geschwind D.H., Bronner-Fraser M., Kornblum H.I. Cancerous stem cells can arise from pediatric brain tumors // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 2003. – Vol.100. – P.15178-15183.
36. Herreros-Villanueva M., Hijona E., Cosme A., Bujanda L. Spontaneous regression of pancreatic cancer: real or a misdiagnosis? // *World J. Gastroenterol.* – 2012. – Vol.18. – P.2902-2908.
37. Hirsch H.A., Iliopoulos D., Tschlis P.N., Strubl K. Metformin selectively targets cancer stem cells, and acts together with chemotherapy to block tumor growth and prolong remission // *Cancer Res.* – 2009. – Vol.69. – P.7507-7511.
38. Jakobsen J.N., Surensen J.B. Intratumor heterogeneity and chemotherapy-induced changes in EGFR status in non-small cell lung cancer // *Cancer Chemother Pharmacol.* – 2012. – Vol.69. – P.289-299.
39. Jessy T. Immunity over inability: The spontaneous regression of cancer // *J. Nat. Sci Biol. Med.* – 2011. – Vol.2. – P.43-49.
40. Kalialis L.V., Drzewiecki K.T., Klyver H. Spontaneous regression of metastases from melanoma: review of the literature // *Melanoma Res.* – 2009. – Vol.19. – P.275-282.
41. Kantoff P.W., Higano C.S., Shore N.D., Berger E.R., Small E.J., Penson D.F., Redfern C.H., Ferrari A.C., Dreicer R., Sims R.B., Xu Y., Frohlich M.W., Schellhammer P.F. IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol.363. – P.411-422.
42. Kaplan D.H., Shankaran V., Dighe A.S., Stockert E., Aguet M., Old L.J., Schreiber R.D. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* – 1998. – Vol.95. – P.7556-7561.
43. Karrison T.G., Ferguson D.J., Meier P. Dormancy of mammary carcinoma after mastectomy // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1999. – Vol.91. – P.80-85.
44. Klein C.A. Framework models of tumor dormancy from patient-derived observations // *Curr. Opin. Genet. Dev.* – 2011. – Vol.21. – P.42-49.

45. Kleinsmith LJ, Pierce G.B. Jr. Multipotentiality of single embryonal carcinoma cells // *Cancer Res.* – 1964. – Vol.24. – P.1544-1551.
46. Koebel CM, Vermi W, Swann JB, Zerafa N, Rodig SJ, Old LJ, Smyth MJ, Schreiber RD. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state // *Nature.* – 2007. – Vol.450. – P.903-907.
47. Kosmidou V, Oikonomou E, Vlasi M, Avlonitis S, Katseli A, Tsipras I, Mourtzoukou D, Kontogeorgos G, Zografos G, Pintzas A. Tumor heterogeneity revealed by KRAS, BRAF, and PIK3CA pyrosequencing: KRAS and PIK3CA intratumor mutation profile differences and their therapeutic implications // *Hum. Mutat.* – 2014. – Vol.35. – P.329-440.
48. Kreso A, O'Brien CA, van Galen P, Gan OJ, Notta F, Brown AM, Ng K, Ma J, Wienbolds E, Dunant C, Pollett A, Gallinger S, McPherson J, Mullighan C.G., Shibata D, Dick JE. Variable clonal repopulation dynamics influence chemotherapy response in colorectal cancer // *Science.* – 2013. – Vol.339. – P.543-548.
49. Kumar T, Patel N, Talwar A. Spontaneous regression of thoracic malignancies // *Respir. Med.* – 2010. – Vol.104. – P.1543-1550.
50. Lapidot T, Sirard C, Vormoor J, Murdoch B, Hoang T, Caceres-Cortes J, Minden M, Paterson B, Caligiuri MA, Dick JE. A cell initiating human acute myeloid leukaemia after transplantation into SCID mice // *Nature.* – 1994. – Vol.367. – P.645-648.
51. Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells // *Cancer Res.* – 2007. – Vol.67. – P.1030-1037.
52. Mattsson JS, Imgenberg-Kreuz J, Edlund K, Botling J, Micke P. Consistent mutation status within histologically heterogeneous lung cancer lesions // *Histopathology.* – 2012. – Vol.61. – P.744-748.
53. Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, Beitsch PD, Leitch M, Hoover S, Eubus D, Haley B, Morrison L, Fleming TP, Herlyn D, Terstappen LW, Fehm T, Tucker TF, Lane N, Wang J, Ubr JW. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy // *Clin. Cancer Res.* – 2004. – Vol.10. – P.8152-8162.
54. Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E, Corsini E, Benetti A, Cavazzin C, Gritti A, Piccinini A, Porro D, Santinami M, Invernici G, Parati E, Alessandri G, La Porta CA. Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential // *Europ. J. Cancer.* – 2007. – Vol.43. – P.935-946.
55. Naumov GN, Townson JL, MacDonald IC, Wilson SM, Bramwell VH, Groom AC, Chambers AF. Ineffectiveness of doxorubicin treatment on solitary dormant mammary carcinoma cells or late-developing metastases // *Breast. Cancer. Res. Treat.* – 2003. – Vol.82. – P.199-206.
56. Naumov GN, Bender E, Zurakowski D, Kang SY, Sampson D, Flynn E, Watnick RS, Straume O, Akslen LA, Folkman J, Almog N. A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2006. – Vol.98. – P.316-325.
57. Nauts HC, Fowler GA, Bogatko FH. A review of the influence of bacterial infection and of bacterial products (Coley's toxins) on malignant tumors in man; a critical analysis of 30 inoperable cases treated by Coley's mixed toxins, in which diagnosis was confirmed by microscopic examination selected for special study // *Acta Med Scand Suppl.* – 1953. – Vol.276. – P.1-103.
58. Nauts HC. Bacteria and cancer—antagonisms and benefits // *Cancer Surv.* – 1989. – Vol.8. – P.713-723.
59. Nielsen M, Thomsen JL, Primdahl S, Dyreborg U, Andersen JA. Breast cancer and atypia among young and middle-aged women: a study of 110 medicolegal autopsies // *Brit. J. Cancer.* – 1987. – Vol.56. – P.814-819.
60. Ning X, Shu J, Du Y, Ben Q, Li Z. Therapeutic strategies targeting cancer stem cells // *Cancer Biol. Ther.* – 2013. – Vol.14. – P.295-303.
61. Niraula S, Dowling RJ, Ennis M, Chang MC, Done SJ, Hood N, Escallon J, Leong WL, McCready DR, Reedijk M, Stambolic V, Goodwin PJ. Metformin in early breast cancer: a prospective window of opportunity neoadjuvant study // *Breast. Cancer. Res. Treat.* – 2012. – Vol.135. – P.821-830.
62. O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice // *Nature.* – 2007. – Vol.445. – P.106-110.
63. O'Connor ML, Xiang D, Shigdar S, Macdonald J, Li Y, Wang T, Pu C, Wang Z, Pierce GB, Speers WC. Tumors as caricatures of the process of tissue renewal: prospects for therapy by directing differentiation // *Cancer Res.* – 1988. – Vol.48. – P.1996-2004.
64. Oquicena S, Guillen-Grima F, Icarrairaegui M, Zozaya JM, Sangro B. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma: a systematic review // *Europ. J. Gastroenterol Hepatol.* – 2009. – Vol.21. – P.254-257.
65. Papac RJ. Spontaneous regression of cancer // *Cancer Treat. Rev.* – 1996. – Vol.22. – P.395-423.
66. Patel LR, Nykter M, Chen K, Zhang W. Cancer genome sequencing: understanding malignancy as a disease of the genome, its conformation, and its evolution // *Cancer Lett.* – 2013. – Vol.340. – P.152-160.
67. Podlaba O, Riester M, De S, Michor F. Evolution of the cancer genome // *Trends Genet.* – 2012. – Vol.28. – P.155-163.
68. Qiao L, Duan W. Cancer stem cells: A contentious hypothesis now moving forward // *Cancer Lett.* – 2014. – Vol.344. – P.180-187.
69. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ. Efficient tumour formation by single human melanoma cells // *Nature.* – 2008. – Vol.456. – P.593-598.
70. Randolph AC, Tharalson EM, Gilani N. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma is possible and might have implications for future therapies // *Europ. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol.20. – P.804-809.

71. Rietdorf S, Wikman H, Pantel K. Review: Biological relevance of disseminated tumor cells in cancer patients // *Int. J. Cancer*. – 2008. – Vol.123. – P.1991-2006.
72. Richetta A.G., Mancini M, Torroni A, Lorè B, Iannetti G, Sardella B, Calvieri S. Total spontaneous regression of advanced merkel cell carcinoma after biopsy: review and a new case // *Dermatol Surg*. – 2008. – Vol.34. – P.815-822.
73. Richman S.D., Chambers P, Seymour M.T., Daly C, Grant S, Hemmings G, Quirke P. Intra-tumoral heterogeneity of KRAS and BRAF mutation status in patients with advanced colorectal cancer (aCRC) and cost-effectiveness of multiple sample testing // *Anal. Cell Pathol (Amst)*. – 2011. – Vol.34. – P.61-66.
74. Sakr W.A., Grignon D.J., Haas G.P., Schomer K.L., Heilbrun L.K., Cassin B.J., Powell J, Montie J.A., Pontes J.E., Crissman J.D. Epidemiology of high grade prostatic intraepithelial neoplasia // *Pathol Res Pract*. – 1995. – Vol.191. – P.838-841.
75. Saphner T, Tormey D.C., Gray R. Annual hazard rates of recurrence for breast cancer after primary therapy // *J. Clin. Oncol*. – 1996. – Vol.14. – P.2738-2746.
76. Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion // *Science*. – 2011. – Vol.331. – P.1565-1570.
77. Sengupta N, MacFie T.S., MacDonald T.T., Pennington D, Silver A.R. Cancer immunoediting and "spontaneous" tumor regression // *Pathol Res Pract*. – 2010. – Vol.206. – P.1-8.
78. Senovilla L, Vitale I, Martins I, Tailler M, Pailleret C, Michaud M, Galluzzi L, Adjemian S, Kepp O, Niso-Santano M, Shen S, Marico G, Criollo A, Boiluve A, Job B, Ladoire S, Ghiringhelli F, Sistigu A, Yamazaki T, Rello-Varona S, Locher C, Poirier-Colame V, Talbot M, Valent A, Berardinelli F, Antocchia A, Ciccocanti F, Fimia G.M., Piacentini M, Fueyo A, Messina N.L., Li M, Chan C.J., Sigl V, Pourcher G, Ruckenstein C, Carmona-Gutierrez D, Lazar V, Penninger J.M., Madeo F, Lopez-Otin C, Smyth M.J., Zitvogel L, Castedo M, Kroemer G. An immunosurveillance mechanism controls cancer cell ploidy // *Science*. – 2012. – Vol.337. – P.1678-1684.
79. Shankaran V, Ikeda H, Bruce A.T., White J.M., Swanson P.E., Old L.J., Schreiber R.D. IFN $\gamma$  and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity // *Nature*. – 2001. – Vol.410. – P.1107-1111.
80. Strauss D.C., Thomas J.M. Transmission of donor melanoma by organ transplantation // *Lancet Oncol*. – 2010. – Vol.11. – P.790-796.
81. Stutman O. Tumor development after 3-methylcholanthrene in immunologically deficient athymic-nude mice // *Science*. – 1974. – Vol.183. – P.534-536.
82. Sugihara E, Saya H. Complexity of cancer stem cells // *Int. J. Cancer*. – 2013. – Vol.132. – P.1249-1259.
83. Penn I. Post-transplant malignancy: the role of immunosuppression // *Drug Saf*. – 2000. – Vol.23. – P.101-113.
84. Thomas J.A., Badini M. The role of innate immunity in spontaneous regression of cancer // *Indian J. Cancer*. – 2011. – Vol.48. – P.246-251.
85. Tsoo H, Cosimi A.B., Sober A.J. Ultra-late recurrence (15 years or longer) of cutaneous melanoma // *Cancer*. – 1997. – Vol.79. – P.2361-2370.
86. Vajdic C.M., McDonald S.P., McCredie M.R., van Leeuwen M.T., Stewart J.H., Law M, Chapman J.R., Webster A.C., Kaldor J.M., Grulich A.E. Cancer incidence before and after kidney transplantation // *JAMA*. – 2006. – Vol.296. – P.2823-2831.
87. Ubr J.W., Pantel K. Controversies in clinical cancer dormancy // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. – 2011. – Vol.108. – P.12396-12400.
88. Valenzano Menada M, Moiola M, Garaventa A, Nozza P, Foppiano M, Trimarchi N, Fulcheri E. Spontaneous regression of transplacental metastases from maternal melanoma in a newborn: case report and review of the literature // *Melanoma Res*. – 2010. – Vol.20. – P.443-449.
89. Vermeulen L, de Sousa e Melo F, Richel D.J., Medema J.P. The developing cancer stem-cell model: clinical challenges and opportunities // *Lancet Oncol*. – 2012, Feb. – Vol.13(2). – e83-89.
90. Vignot S, Frampton G.M., Soria J.C., Yelensky R, Commo F, Brambilla C, Palmer G, Moro-Sibilot D, Ross J.S., Cronin M.T., André F., Stephens P.J., Lazar V, Miller V.A., Brambilla E. Next-generation sequencing reveals high concordance of recurrent somatic alterations between primary tumor and metastases from patients with non-small-cell lung cancer // *J. Clin. Oncol*. – 2013. – Vol.31. – P.2167-2172.
91. Weckerhann D, Polzer B, Ragg T, Blana A, Schlimok G, Arnoldt H, Bertz S, Harzmann R, Klein C.A. Perioperative activation of disseminated tumor cells in bone marrow of patients with prostate cancer // *J. Clin. Oncol*. – 2009. – Vol.27. – P.1549-1556.
92. Weedon-Fekjaer H, Lindqvist B.H., Vatten L.J., Aalen O.O., Tretli S. Breast cancer tumor growth estimated through mammography screening data // *Breast. Cancer. Res*. – 2008. – Vol.10. – R41.
93. Wolchok J.D., Hoos A, O'Day S, Weber J.S., Hamid O, Lebbé C, Maio M, Binder M, Bobnsack O, Nichol G, Humphrey R, Hodi F.S. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria // *Clin. Cancer Res*. – 2009. – Vol.15. – P.7412-7420.
94. Wolchok J.D., Kluger H, Callaban M.K., Postow M.A., Rizvi N.A., Lesokhin A.M., Segal N.H., Ariyan C.E., Gordon R.A., Reed K, Burke M.M., Caldwell A., Kronenberg S.A., Agunwamba B.U., Zhang X, Lowy I, Inzunza H.D., Feely W., Horak C.E., Hong Q., Korman A.J., Wigginton J.M., Gupta A, Sznol M. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma // *N. Engl. J. Med*. – 2013. – Vol.369. – P.122-133.
95. Yates L.R., Campbell P.J. Evolution of the cancer genome // *Nat. Rev. Genet*. – 2012. – Vol.13. – P.795-806.