

РОЛЬ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ НЕЙРОЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Е.Ю. Черныш¹, Л.Н. Николаевич², Л.П. Пархач¹

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии» Министерства здравоохранения Республики Беларусь. 220114, Минск, ул. Ф.Скорины, 24.

²ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». 220072, Минск, ул. Академическая, 28.

Лечение злокачественных нейроэпителиальных опухолей головного мозга по сей день остается трудной задачей. Даже после полного хирургического удаления опухоли и проведения последующего химиотерапевтического лечения сохраняется высокая вероятность возникновения рецидива заболевания. Злокачественные новообразования головного мозга характеризуются гетерогенностью клеточного состава. Среди всех популяций опухолевых клеток выделяют малочисленную группу стволовых раковых клеток, которые способствуют возникновению рецидива опухоли. Эти клетки обладают свойствами химио- и лучевой резистентности, способны к миграции и индукции опухолевого роста.

Нейроэпителиальные опухоли – группа опухолей головного мозга нейроэктодермального происхождения. Несмотря на стремительное развитие высокотехнологичных диагностических и хирургических методов лечения, инвалидизация и летальность остаются на высоком уровне. В связи с тем, что значительная часть этих опухолей являются гетерогенными по своей клеточной структуре и рецидивируют даже после выполнения полного комплекса диагностических процедур и лечебных мероприятий, то чрезвычайно актуальным является изучение клеточного состава опухоли и, в особенности, раковых стволовых клеток, которые способны к миграции, индукции роста опухоли и являются устойчивыми к лучевой и химиотерапии.

На данный момент существует две теории возникновения и прогрессирования опухолей: стохастическая и альтернативная ей – иерархическая теория канцерогенеза. Согласно стохастической теории любая клетка опухоли может стать родоначальницей новой опухоли. Однако сейчас появилось множество подтверждений в пользу альтернативной теории – иерархической, согласно которой в пределах опухоли сосуществует несколько типов клеток с разными клоногенными свойствами. Согласно ей, большинство опухолей имеют клеточную иерархию, вверху которой находятся раковые стволовые клетки (РСК), а внизу – различной степени дифференцировки опухолевые клетки. Первые шаги в направлении открытия роли РСК в канцерогенезе были сделаны Рудольфом Вирховым еще в начале 20 столетия, однако сама концепция начала развиваться с момента обнаружения раковых стволовых клеток у пациентов с острой миелоидной лейкемией. Тогда было выявлено, что единичные лейкоэмические стволовые клетки при ксенотрансплантации мышам дают начало полному спектру клеток с различными злокачественными фенотипами, наблюдаемыми при этом заболевании у человека [1]. В дальнейшем РСК были обнаружены почти во всех солидных опухолях.

Пока нет единого мнения о происхождении РСК. Известно, что они могут образовываться как из нормальных стволовых клеток вследствие мутации, так и из зрелых опухолевых клеток, что ведет к большому спектру гетерогенности начиная с ниши РСК. Подобная дифференциация клеток опухоли приводит к гетерогенности опухоли, что влечет за собой снижение восприимчивости к лечению.

РСК обладают теми же свойствами, что и нормальные стволовые клетки: способностью к самоподдержанию, асимметричному делению и образованию разнотипных клеток, адгезии, миграции, поддерживаются и стимулируются внеклеточными сигналами со стороны микроокружения и внутренней генетической программой самой стволовой клетки. РСК, как и нормальные стволовые клетки, способны к образованию нейросфер. Однако клетки нейросфер, выделенных из опухоли человека, имеют генетические

нарушения, подвержены атипичной пролиферации и дифференцировке, экспрессируют маркеры стволовых нейрональных клеток (нестин, CD133, β -тубулин, GFAP). Кроме того, число нейросфер, полученных *in vitro*, прямо коррелирует с уровнем роста опухоли и инвазии при введении клеток опухоли иммунодефицитным мышам [2].

Возможна трансформация нейрональных стволовых клеток в РСК. Этот процесс опосредован возникновением мутаций в генах p53 и PTEN, которые в норме модулируют процессы транскрипции и репарации ДНК, пролиферации и апоптоза клетки. Мутантный белок p53, в отличие от нормального, не останавливает клетки с поврежденной ДНК в фазе G1, и они начинают репликацию ДНК на поврежденной матрице. Одновременная инактивация p53 и PTEN способствует активации онкогена c-Myc, белок которого способствует увеличению пролиферативного потенциала стволовых клеток [3]. РСК индуцируют миграцию нормальных стволовых клеток в опухолевую ткань посредством секреции множества цитокинов, среди которых молекулы CH3L1, ADAM9, ADAM10, катепсины В и L1, остеопонтин, семафорин 7А и другие индукторы направленной миграции и хоуминга стволовых клеток. На стволовых клетках присутствует хемокиновый рецептор CXCR-4, а его лиганд SDF-1a экспрессируется активированными астроцитами, эндотелиальными и опухолевыми клетками. Их взаимодействие способствует миграции и проникновению стволовых клеток в область опухоли. Если же ингибировать этот рецептор, то такой миграции не наблюдается [4]. Есть данные о том, что в ткани глиомы содержится большое количество ангиогенных цитокинов, фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), нейротрофина-3, которые также привлекают мезенхимальные стволовые клетки. Предположительно под воздействием сигналов патологически измененного матрикса и микроокружения [6] происходит трансформация нормальных стволовых клеток в РСК. Молекулярные основы тропизма стволовых клеток к опухоли еще не до конца изучены.

РСК подобны нормальным нейрональным стволовым клеткам по экспрессируемым ими клеточным маркерам: CD133, нестин, CD15, CD44 и др. CD133 (проминин-1) – трансмембранный гликопротеин, использующийся как основной маркер для идентификации и изоляции РСК из общей популяции опухолевых клеток. Известно, что CD133⁺ клеток содержится существенно больше в опухолевой ткани, нежели в нормальной, и чем выше этот уровень, тем агрессивней считается опухоль. CD133 первоначально был идентифицирован на CD34⁺ гемопоэтических стволовых клетках. Он является продуктом гена PROM1 в 4 хромосоме человека (4p15.33) и представляет собой гликопротеин из 865 аминокислот с общей молекулярной массой 120 кДа, имеет 5 трансмембранных доменов и 2 N-гликозилированные внеклеточные петли. Преимущественно он локализуется на мембранных выростах и связывается с мембранным холестерином. Предполагается, что CD133 является организатором топологии клеточной мембраны, однако его функция пока не ясна. Клеточная часть этого маркера связывается с молекулами клеточной адгезии (кадгерин-1) и актиновыми микрофиламентами, что доказывает участие данного гликопротеина в адгезии и направленном движении клеток [5,6].

Достаточно много работ посвящены изучению характеристик CD133 и клеток его носителей. При онкологических заболеваниях головного мозга наблюдаются отклонения от нормы в процессах многих сигнальных каскадов. Молекула CD133 играет ключевую роль в гиперактивации внутриклеточного сигнального пути PI3K/AKT. Ее C-терминальный цитоплазматический домен взаимодействует с регуляторной единицей p85 фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), который в свою очередь активирует AKT (протеинкиназа) и запускает сигнальный путь, в результате которого происходит гиперэкспрессия генов антиапоптотических белков Bcl2, XIAP, Bcl-A1, сурвивина, активация циклинов и циклин-зависимых протеинкиназ Cdk (Cyclin dependent kinase), белков множественной лекарственной устойчивости (MDR) [7].

Популяция CD133⁺ клеток присутствуют во многих нейроэпителиальных опухолях: в глиобластоме, медуллобластоме, эпендимоме, олигодендроглиоме и т.д. Наибольшее содержание CD133⁺ клеток отмечается в пронеурональной и мезенхимальной группах глиобластом. Наблюдается прямая корреляция между уровнем злокачественности опухоли и количеством содержащихся в ней РСК. Например, в низкоккачественной опухоли число CD133⁺ клеток всего 1-2% от общего числа клеток, а в глиобластоме (Gr IV) – более 40%. Содержание двух маркеров (CD133 и нестина) указывает на неблагоприятный прогноз [8, 9, 10].

CD44 (HSCAM) считается вторым по значимости маркером РСК, он представляет собой трансмембранный гликопротеин и является рецептором для гиалуроновой кислоты, остеопонтинина. В здоровой ткани головного мозга наблюдается либо отсутствие экспрессии CD44, либо его малые количества преимущественно на астроцитах. Как в нормальной стволовой клетке, так и в опухолевой CD44 выполняет ряд функций, связанных с миграцией клетки (в частности с инвазией и метастазированием), взаимодействием с внеклеточным матриксом и окружающими клетками. В РСК CD44 выступает в роли сигнальной молекулы и способствует развитию химио- и радиорезистентности [11]. CD44 ассоциирован с наиболее агрессивной формой рака. Моноклональные антитела к CD44 ингибируют миграционную способность клеток глиобластомы, но не влияют на их жизнедеятельность и пролиферативную активность [12].

CD15 (SSEA1 или LeX) – белок клеточной поверхности, маркер стволовых клеток в опухолях негативных по CD133. Помимо РСК, этот опухолеассоциированный антиген представлен на нейронах взрослого мозга, на прогениторных и эмбриональных клетках при развитии нервной системы. Лисянский Н.И. и соавт. [8] определили, что содержание стволовых CD133⁺ и CD15⁺ клеток при глиомах повышается в 2,0-2,5 раза при увеличении степени анаплазии опухоли. CD15⁺ клетки выделяются также из астроцитомы и эпендимомы [13, 14].

РСК характеризуются высокой устойчивостью к химиотерапии. У клеток крысиной глиомы линии С6 с гиперэкспрессией CD133 фактически невозможно спровоцировать апоптоз, что объясняется повышенной экспрессией белков ABC-транспортеров (ATP Binding Cassette (ABC) transporters, АТФ-зависимые транспортеры) [15]. Данная группа объединяет трансмембранные белки, использующие энергию гидролиза аденозинтрифосфата (АТФ) для транспортировки лекарственных препаратов за пределы клетки. А также CD133⁺ клетки имеют высокий уровень экспрессии фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH), который катализирует окисление токсичных альдегидов до карбоновых кислот, способствует инактивации химиотерапевтических препаратов, и внутриклеточного ингибитора каспазы-8 (FLIP), который блокирует передачу сигнала апоптоза через рецепторы смерти [16, 17].

РСК CD133⁺ клетки проявляют большую резистентность к лучевой терапии. В РСК ионизирующее излучение вызывает нарушения в структуре ДНК (двухцепочечные разрывы). Эти клетки сохраняют жизнеспособность за счет процессов репарации и, в результате, даже увеличивают свою численность. В РСК репарация поврежденной ДНК происходит методом гомологической рекомбинации [18]. CD133⁺ клетки продуцируют фермент Об-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазу (MGMT), который в сочетании с другими ферментами позволяет клетке с поврежденным геномом пройти контрольные точки клеточного цикла [19]. В ответ на радиационное воздействие в опухоли и происходит активация сигнального пути MAPK/PI3K, который отвечает за уход от апоптоза.

Исходя из вышеизложенного можно сделать вывод о важности разработки новых методов лечения нейроэпителиальных опухолей головного мозга. Традиционные методы (хирургическое лечение, лучевая и химиотерапии) направлены на уничтожение большинства неопластических клеток, при этом часть РСК остаются в организме и

обеспечивают в довольно короткие сроки репопуляцию опухолевых клеток, что обуславливает низкую продолжительность жизни пациентов с нейроэпителиальными опухолями и высокой вероятностью скорого рецидивирования. Потому на сегодняшний день актуальной задачей является изучение гетерогенности опухоли и разработка методов уничтожения различных типов опухолевых клеток, для достижения полной элиминации их из ткани головного мозга.

Литература

1. Роль опухолевых стволовых клеток в развитии глиом головного мозга / В.А. Бывальцев, И.А. Степанов, Е.Г. Белых, А.И. Яруллина // Сибирское медицинское обозрение. – 2015. – Т. 6. – С. 5-14.
2. Prognostic Value of Glioma Cancer Stem Cell Isolation in Survival of Primary Glioblastoma Patients / Byung Ho Kong, Ju HyungMoon, Yong-Min Huh [et al.] // J. Stem Cells International. – 2014. – Vol.3. – P. 1-6.
3. A CD133-related gene expression signature identifies an aggressive glioblastoma subtype with excessive mutations / Xiaowei Yan, Li Ma, Danielle Yi, Jae-geun Yoon [et al.] // PNAS – 2011. – Vol. 108, № 4. – P. 1591–1596.
4. Glioma Stem Cells and Their Microenvironments: Providers of Challenging Therapeutic Targets / Elena Codrici, Ana-Maria Enciu, Ionela-Daniela Popescu, Simona Mihai, Cristiana Tanase // J. Stem Cells International. – 2016. – P. 1-20.
5. CD133: a stem cell biomarker and beyond / Zhong Li. // Experimental Hematology & Oncology. – 2013. – Vol.2 – P. 17.
6. CD133 is a marker of bioenergetic stress in human glioma / Griguer C.E., Oliva C.R., Gobin E., Marcorelles P., Benos D.J., Lancaster J.R. Jr, Gillespie G.Y. // PLoS One. – 2008. – Vol. 3(11). – P. 1-11.
7. Activation of PI3K/Akt pathway by CD133-p85 interaction promotes tumorigenic capacity of glioma stem cells / Wei Y, Jiang Y, Zou F, Liu Y, Wang S, Xu N [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2013. – Vol. 110(17). – P. 6829-6834.
8. Содержание CD133+ и CD15+ стволовых неопластических клеток в опухолях и лимфоцитов в периферической крови больных с глиомами различной степени анаплазии / Н.И. Лисяный И.А. Гнедкова Л.Н. Бельская [и др.] // Онкология. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 44-47.
9. Glioma grade is associated with the accumulation and activity of cells bearing M2 monocyte markers / Prosnjak M., Harshyne L.A., Andrews D.W. [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2013. – Vol. 19(14). – P. 3776-3786.
10. Brain tumor stem cells: molecular characteristics and their impact on therapy / David L. Schonberg, Daniel Lubelski, Tyler E. Miller, and Jeremy N. Rich // J. Mol. Aspects Med. – 2014. – P. 82–101.
11. Osteopontin-CD44 signaling in the glioma perivascular niche enhances cancer stem cell phenotypes and promotes aggressive tumor growth / Alexander Pietras, Amanda M. Katz, Elin J. Ekström [et al.] // J. Cell Stem Cell. – 2014. – Vol. 14. – P. 357–369.
12. CD44 in human glioma correlates with histopathological grade and cell migration / Yoshida T, Matsuda Y, Naito Z, Ishiwata T. // Pathol Int. – 2012. – Vol.62(7). – P.463-470.
13. Identification of CD15 as a marker for tumor-propagating cells in a mouse model of medulloblastoma / Tracy-Ann Read, Marie P. Fogarty, Shirley L. Markant [et al.] // J. Cancer Cell. – 2009. – Vol. 15. – P. 135–147.
14. Characterization of glioma stem-like cells from human glioblastomas / Yamamuro S., Okamoto Y., Sano E. [et al.] // International Journal Oncology. – 2015. – Vol.47(1). – P. 91-96.
15. Conversion of differentiated cancer cells into cancer stem-like cells in a glioblastoma model after primary chemotherapy / B. Auffinger, A.L. Tobias, Y. Han, G. Lee, D. Guo, M. Dey, M.S. Lesniak, A.U. Ahmed // Cell Death and Differentiation. – 2014. – Vol. 21. – P. 1119–1131.
16. Accumulation of CD133-positive glioma cells after high-dose irradiation by Gamma Knife surgery plus external beam radiation. / Tamura K., Aoyagi M., Wakimoto H., Ando N., Nariai T., Yamamoto M., Ohno K. // J. Neurosurg. – 2010. – Vol. 113(2). – P. 310-318.
17. Cancer stem cells in glioblastoma – molecular signaling and therapeutic targeting / Zhi Huang, Lin Cheng, Olga A. Guryanova, Qiulian Wu, Shideng Bao // J. Protein Cell. – 2010. – Vol. 1(7). – P. 638–655.
18. Brain tumor stem cells: molecular characteristics and their impact on therapy / David L. Schonberg, Daniel Lubelski, Tyler E. Miller, and Jeremy N. Rich // J. Mol. Aspects Med. – 2014. – P. 82–101.
19. Репарация ДНК в опухолевых стволовых клетках как фактор развития устойчивости глиом к радиотерапии / Ю.С. Макушева, Г.Л. Дианов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19(3). – С. 247-254.