

НОВОСТИ НАУКИ

В БОРЬБЕ ПРОТИВ РАКА УЧЕНЫЕ НАДЕЮТСЯ НА ДНК-ТЕСТЫ

Они считают, что новый генный тест поможет им выявлять пациентов, страдающих раком легкого, которые наиболее восприимчивы к лечению препаратом Iressa.

По сообщению журнала "Science" (2004, том 305, стр. 1222), две диагностические лаборатории "запустили" генетический тест, который призван помочь онкологам, занимающимся лечением распространенной формы рака легкого. Врачи полагают, что этот подход может стать предвестником нового поколения генных методов в области лечения онкологических заболеваний.

Новый тест направлен на выявление группы пациентов, которых можно эффективно лечить при помощи нового препарата Iressa. Он позволяет детектировать мутации в гене, кодирующим рецептор фактора роста эпидермиса (EGFR), белковый продукт которого является основной мишенью препарата Iressa. Ожидается, что лечение пациентов, дающих положительную реакцию на данный тест, будет наиболее эффективно. Отсутствие такого скрининга, может в значительной степени затронуть судьбы около 140 000 американских пациентов, которым ежегодно диагностируют рак легкого.

В августе 2004 года лаборатория диагностики при Гарвардском университете объявила свою версию теста Iressa, вслед за подобным решением, которое было принятым госпиталем City of Hope в июле 2004 года в Дуарте (Калифорния, США). Обе группы предлагают сходные тесты больным раком легкого (стоимостью от \$500 до \$2000) на скрининг мутаций в ДНК, изолированной из опухолей.

В мае 2003 года препарат Iressa был одобрен американским управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA). Сначала Iressa несколько разочаровал ученых полученными результатами исследований: опухоли уменьшились лишь у 10 % пациентов, однако у этой группы больных эффект препарата был впечатляющим. Исследователи пришли к выводу, что препарат действовал лучше всего на пациентов с EGFR-зависимыми опухолями, однако выявить таких пациентов тогда не удалось. Это стало возможным, когда две группы ученых (Massachusetts General Hospital (MGH) и Dana-Farber Cancer Institute, Boston) сообщили, что у отвечающих на химиотерапию препаратом Iressa пациентов обнаружены мутации на определенном участке гена EGFR (Science, 30.04.2004, стр.658).

После этого сотни больных обратились, чтобы узнать свой EGFR статус. По словам Matthew Meyerson, патолога онкологического института Dana-Farber в Бостоне, самое главное для ученых как можно скорее применить результаты тестов на практике.

Однако остаются нерешенными некоторые вопросы. Например, научно-исследовательские лаборатории не достаточно оборудованы, чтобы исследовать сотни тысяч поступающих образцов.

Пока каждая группа исследовала менее 20 образцов. Директор научно-исследовательского центра торакальной онкологии MGH (Бостон) Thomas Lynch

НОВОСТИ НАУКИ

надеется, что будут проводиться также коммерческие испытания. По его словам, MGH и Dana-Farber Cancer Institute подали заявки на патенты и продолжают обсуждение этой проблемы с коммерческими фирмами. По мнению Daniel Harber, директора онкологического центра MGH, основное стремление - подписать контракт с компанией, желающей распространять генетический тест в больницах, которые готовы провести скрининг своих пациентов.

"СКРЫТЫЙ" РАК

Многие люди могут иметь микроскопические опухоли, даже не зная об этом. Патологоанатомические исследования погибших в результате травматических повреждений людей часто выявляют микроскопические колонии раковых клеток (так называемые опухоли *in situ*). Более чем у трети женщин в возрасте от 40 до 50 лет, не имевших раковых заболеваний, при вскрытии обнаруживали такие опухоли молочных желез. Подобные наблюдения характерны и для рака простаты у мужчин. Фактически аутопсия людей, умерших в возрасте 50 до 70 лет, выявляла *in situ* карциномы щитовидной железы, при этом только у 0,1 % индивидуумов данной возрастной группы диагностирован рак щитовидной железы. Поэтому врачи и ученые озадачены тем, почему развитие и прогрессия рака оказывается смертельным только для очень маленького процента людей. Предполагается, что многие люди имеют опухоли *in situ*, однако болезнь при этом не развивается потому, что эти микроскопические опухоли являются, главным образом, бездействующими, и смертельно опасными для организма они становятся под действием дополнительных сигналов.

Какова природа этих дополнительных сигналов и почему большинство людей защищено от их действия?

По мнению ряда ученых, наиболее вероятный ответ заключается в способности организма человека препятствовать кровоснабжению большинства этих опухолей *in situ*, что предотвращает дальнейший рост раковых клеток вследствие недостатка кислорода и питательных веществ.

В отсутствии кровеносных сосудов, формирующихся в результате ангиогенеза, опухоли *in situ* могут остаться бездействующими неопределенно долгое время. Предполагается, что сам ангиогенез контролируется многими генами, которые способствуют либо развитию рака (онкогены), либо его торможению (супрессоры опухолевого роста).

Эти те же гены вовлечены в процесс создания раковых клеток, которые встречаются в опухолях *in situ*. Если вовлеченные гены те же самые, то почему большинство из людей защищено от онкологических заболеваний?

Как полагают Juda Folkman и Raghu Kalluri (Гарвардский медицинский институт, Бостон, США), есть две критических стадии в развитии рака.

Первая стадия - приобретение мутаций, которые ведут к преобразованию нормальных клеток организма в раковые. Эта стадия заболевания не является смертельно опасной, в результате образуется микроскопическая опухоль, где высокая степень деления клеток опухоли сбалансирована их гибелью. Вторая стадия включает переключение к ангиогенному фенотипу за счет постоянного появления кровеносных сосудов, которые и преобразовывают не смертельные опухоли *in situ* в распространяющуюся массу опухолевых клеток, что является потенциально смертельным для организма человека. Поэтому, как полагают J. Folkman и R. Kalluri, есть некие критические управляющие факторы, которые определяют способность индивидуума "включить механизм" ангиогенеза и войти в смертельную стадию рака.

Эта прогрессия кардинально зависит от баланса между ангиогенной способностью опухоли *in situ* и общей ангиогенной защитой каждого отдельно

НОВОСТИ НАУКИ

взятого индивидуума. Ангиогенезу способствуют такие факторы роста как FGF, VEGF, IL-8 и PDGF. Защиту индивидуума обеспечивают эндогенные ингибиторы ангиогенеза, которые связаны с определенными тканями или циркулируют в крови. К их числу относят тромбоспондин, тумстатин, канстатин, эндостатин, ангиостатин и интерфероны альфа и бета.

Ангиогенез в пределах опухоли *in situ*, вероятно, инициируется тогда, когда стимуляторы ангиогенеза подавляют ангиогенную защиту организма. Такое нарушение ангиогенного баланса контролируется генетической структурой любой индивидуальной раковой клетки и ее микроокружением в пределах опухоли. Возможно, это и объясняет, почему у разных людей рак прогрессирует в различной степени и почему, несмотря на распространение раковых клеток внутри органов, одни индивидуумы вступают в смертельную стадию рака, а другие - нет.

Такое предположение подкрепляется интересными явлениями в природе. Например, очень редко встречаются солидные опухоли у пациентов с синдромом Дауна, в крови которых циркулируют повышенные уровни эндостатина и ингибитора эндогенного ангиогенеза, за счет дополнительной копии 21 хромосомы. У лиц со специфическим полиморфизмом эндостатина отмечается повышенный уровень заболевания раком простаты.

Исходя из вышепредставленных примеров, ученые предполагают, что увеличение или уменьшение ангиогенной защиты могут влиять на степень развития ракового заболевания. Поэтому, генетический контроль физиологических уровней таких эндогенных ингибиторов ангиогенеза как тромбоспондин-1, тумстатин и эндостатин, может обеспечить последнюю линию защиты против превращения опухолей *in situ* в злокачественный фенотип.

Хотя лекарственные препараты, такие как Авастин, который ингибирует VEGF (фактор роста эндотелия сосудов, участвующий в процессе роста и дифференциации кровеносных сосудов), уменьшают васкуляризацию опухоли и тем самым приостанавливают развитие заболевания, ученые считают, что необходимо увеличивать ангиогенную защиту индивидуума, обеспечивая организм природными ингибиторами ангиогенеза в качестве составляющей антираковой терапии.

Возможно, когда-нибудь, рак будут лечить как обычное хроническое заболевание, как диабет или сердечно-сосудистые заболевания.

РАК И "БЕЗДОМНАЯ" КЛЕТКА

По сообщению журнала "Nature" (2004, том 430, стр. 1034-1039), группа ученых Нидерландского института рака обнаружила белок, который позволяет клеткам выжить при их отщеплении от субстрата и мигрировать к новым участкам в организме. Такой механизм дает раковым клеткам значительное преимущество.

Обычно клетки органа располагаются близко к "месту своего обитания". Фактически, от этого зависит их жизнеспособность. В пределах собственного окружения они взаимодействуют с другими окружающими их клетками, а поступающие от внеклеточного матрикса сигналы сообщают им, что они находятся на своем месте. Когда клетки теряют контакт с внеклеточным матриксом, они умирают в процессе апоптоза. При покидании "мест обитания" раковые клетки не становятся фатально "обездоленными", а совсем наоборот. Способность клеток покидать свое "жилище" и выживать, даже процветать, в инородной для них ткани необходима для инвазии и метастазирования. Эта стратегия обеспечивает распространение популяции раковых клеток.

Группа голландских ученых (S. Douma, T. Van Laar, J. Zevenhoven, R. Meuwissen, E. Van Garderen, D.S. Peeper) из Нидерландского института рака в

Амстердаме описала как можно противостоять аноикису и идентифицировала новый белок, участвующий в метастазировании.

Ученые изучили эпителиальные клетки кишечника крысы. Злокачественную трансформацию определяли по росту неприкрепленных к субстрату клеток. Для идентификации генов, которые позволяют клеткам расти и делиться независимо от внеклеточного матрикса, (т. е. переживать угрозу аноикиса). Douma с коллегами провели объективный генетический скрининг. Они вводили молекулы ДНК, содержащие различные гены, культивируемым клеткам крысы, после чего перенесли клетки из адгезивных культуральных чашек в неадгезивную среду.

В результате отделения их от матрикса контрольные клетки погибали, а одна из обработанных таким образом групп клеток - выжила. Ученые обнаружили, что этой группе клеток были введены молекулы ДНК, несущие ген белка TrkB. Этот белок - нейротрофический рецептор тирозинкиназы (neurotrophic tyrosine kinase receptor) больше известен своей ролью в нервной системе, в которой, вместе с его главным лигандом нейротрофическим фактором мозга (BDNF, brain-derived neurotrophic factor), активирует пролиферацию, дифференциацию и выживание нормальных ретинальных и глиальных клеток. Эпителиальные клетки, описанные группой Douma, "избрали" этот механизм для преодоления угрозы "бездомной" смерти.

Было также обнаружено, что отдельные открепленные от подложки TrkB-экспрессирующие клетки не только выживали, но и продолжали расти, образуя агрегат сферической формы. Как показали исследования, проведенные Douma и коллегами, производство белка TrkB позволило клеткам противостоять аноикису, влияя на киназный каскад. TrkB включал активацию фосфатидилинозитол-3-ОН киназ (PI(3)K). Эти ферменты, как известно, стимулируют другой фермент, протеинкиназу АКТ/РКВ. и она также активировалась в производящих TrkB клетках.

Все это приводило к блокаде каспаз, расщепляющих ДНК, которые опосредуют развитие аноикиса и других форм клеточной смерти.

Известно, что регуляторный путь PI(3)K также контролирует и другие многочисленные клеточные функции, связанные с метастазированием. Например, PI(3)K способствует изменению формы цитоскелета, что позволяет клеткам перемещаться (двигаться). Это - ключевой аспект инвазии ткани. Данный регуляторный путь также участвует в стимуляции образования новых кровяных сосудов внутри опухолей (ангиогенез), когда уровень кислорода в опухоли низкий. Следует отметить, что дисрегуляция PI(3)K-зависимой сигнализации отмечается во всех основных типах эпителиального рака.

Комментируя результаты голландских ученых, Lance A. Liotta и Elise Kohn из Национального института рака (США), отмечают существование ряда молекул, которых оказывается достаточно для индукции полного спектр характеристик, необходимых для метастазирования в экспериментальных моделях. Недавний пример - транскрипционный фактор Twist, который известен больше за его регулирование изменений формы тела клетки в ходе развития. Ученые предполагают, что молекулярная программа, требуемая для метастазирования, может быть вызвана разнообразными иницирующими факторами. Однако, учитывая результаты исследований, проведенных группой Douma, можно также ожидать, что любой процесс индукции метастаза включает компонент, который способствует выживанию клеток независимо от того, присоединены ли они к матриксу или другим клеткам. "Принудительная" экспрессия Twist стимулирует клеточную инвазию и вызывает потерю адгезии клетка-клетка, которую опосредует белок E-кадгерин.

Учитывая, что TrkB позволяет "бездомным" клеткам выживать и метастазировать, ученые высказывают осторожное предположение о том, что блокирование этого белка могло бы стать эффективным способом лечения рака. Раковые клетки могут выживать, благодаря аутокринной сигнальной петле

НОВОСТИ НАУКИ

(опосредованной TgkB и BDNF), или через паракринную взаимосвязь с окружающей средой. Такое взаимное сообщение может использовать те же самые молекулы: например, BDNF произведен клетками, выстилающими кровеносные сосуды, и его производство увеличивается за счет низкого содержания кислорода; эти события способствуют выживанию раковых клеток и вновь сформированных кровеносных сосудов в первичной опухоли или на метастатическом участке.

“Бездомность” - только один из множества стрессов окружающей среды, который может уничтожить клетку. Один из способов преодолеть эту проблему - найти новое, здоровое местоположение. И раковые клетки, переживающие нехватку кислорода, гормонов, питательных веществ или сталкивающиеся с переполнением “среды обитания” в первичной опухоли выживают путем метастазирования, поражая здоровую ткань, вторгаясь в лимфу и кровяные потоки, возобновляя циркуляцию на удаленном участке, и создавая вторичные колонии.

Избежать летального исхода, находясь в чужеродной среде, - основное требование “кочевой” жизни. Данные группы Douma показывают механизм, который способствует и выживанию, и миграции. Такой механизм обеспечивает раковым клеткам (и новым кровеносным сосудам) значительное преимущество.

Подготовлено по материалам зарубежной прессы при участии О.Н.Рыженковой.