

НОВОСТИ НАУКИ

ОТВЕРСТИЯ КАК ДЕТЕКТОРЫ

С помощью электронного луча были сделаны крошечные отверстия сквозь отдельные слои графена - атомарно-тонкие слои углерода. Такие нанопоры могут быть полезны для сверхбыстрого секвенирования единичных молекул ДНК.

Идея секвенировать ДНК, пропуская нить через небольшие отверстия - нанопоры - и считывать последовательность ее оснований путем детектирования с применением электрических устройств, была предложена 14 лет назад. С тех пор, в этом направлении достигнуты значительные успехи, во многом благодаря усилиям НИЗ США, поставившим перед учеными задачу: исследование одного генома должно стоить 1000 долл. В последних разработках, связанных с идентификацией оснований, предпочтение отдается белковым нанопорам, однако, в настоящее время появились научные работы, в которых сообщается, что нанопоры, полученные из графена (слои углерода толщиной всего в один или несколько атомов), имеют важное преимущество при использовании в процессе секвенирования.

Графен, очень вытянутая ароматическая молекула, состоящая из конденсированных шестичленных углеродных колец, представляет собой материал, обладающий исключительными электрическими и механическими свойствами. Научная группа во главе с Garaј описывала использование электронного луча для сверления отверстий, диаметр которых колеблется от 5-ти до 23 нанометров, при толщине графена в один или два слоя [1]. Затем графен помещают в камеру с водным солевым раствором с обеих сторон плёнки графена, и измеряют ток, который проводят ионы соли, когда на электроды, погруженные в раствор, подается напряжение. Проводимость нанопор была соизмерима с их диаметром, как и предполагалось для пор, толщина которых намного меньше их диаметра. На основании значений проводимости, было подсчитано, что эффективная изоляционная толщина графена составляет всего около 0,6 нм, что гораздо меньше изоляционной толщины других материалов, которые использовались для анализа ДНК; так например, толщина обычных пор из нитрида кремния составляла 30 нм, а α -гемолизин белковых пор - 10 нм.

Продолжая измерять ток, который проводит графеновая нанопора с диаметром отверстия 5 нм, когда сквозь него проходит двухцепочечная ДНК, исследователи наблюдали всплески в остатках тока, указывающие на токовые блокады, соответствующие переносу как "свернутой", так и "развернутой" ДНК. Аналогичные блокады ранее наблюдались в таких же экспериментах с порами из нитрида кремния. Основной раствор большой ионной силы гарантирует, что транслокация лишь незначительного числа молекул ДНК препятствует прилипанию к поверхности графена. Используя среднюю амплитуду токовых блокад, ученым удалось снова рассчитать эффективную толщину графеновой пленки, подтвердив что она составляет около 0,6 нм. Группа Garaј использовала графен, полученный методом химического парового осаждения (ХПО).

В журнале Nano Letters сообщалось о результатах исследований другой группы под руководством Schneider: при транслокации двухцепочечной ДНК через графеновые нанопоры ими были получены аналогичные данные, однако,

используемая пленка была получена методом отслаивания (снятие графеновых слоев с кускового графита); по мнению ученых этой группы, такие пленки имеют меньше дефектов, чем пленки, полученные методом ХПО.

В отличие от данных, представленных группой Garaј, результаты исследований группы Schneider [2] позволяют предположить, что проводимость пор соизмерима с квадратом диаметра пор в квадрате, т.е. пленка, полученная группой Schneider, была толще, чем ожидалось, возможно, потому что её покрывали 6-меркаптогексановой кислотой, чтобы предотвратить прилипание ДНК к поверхности графена.

Группа ученых во главе с Merchant, также занималась исследованием транслокации ДНК через графеновые нанопоры: использовался графен, который был получен методом ХПО и имел толщину 3-15 атомных слоев (а не просто один или два слоя, как в эксперименте Garaј), с диаметром поры 5-10 нм. В соответствии с другими исследованиями, группа Merchant наблюдала токовые блокады, связанные с транслокациями как "свернутых", так и "развернутых" ДНК, несмотря на сильный ток утечки, вызванный, вероятно, точечными дефектами в графене.

Возникает вопрос: в каком состоянии находятся разработки устройства с графеновыми нанопорами для секвенирования ДНК? В одном описании секвенирования с помощью нанопор, одноцепочечная ДНК секвенируется посредством наблюдения модуляции ионного тока специфического основания в тот момент, когда отдельные основания проходят точку идентификации в поре. Ощутимое преимущество графеновых нанослоев состоит в том, что вся толщина нанопоры сравнима с размерами основания и, поэтому, может создавать только одну точку идентификации, а не участвовать в разнообразных контактах с ДНК в порах. В рассматриваемой работе двухцепочечная ДНК двигалась со скоростью около 10 наносекунд на одно основание - слишком быстро для разрешения токовых блокад, возникающих в ответ на одиночные основания. Поэтому группа Garaј прибегла к вычислительным операциям, чтобы определить предполагаемое пространственное разрешение, которое может быть достигнуто использованием пор диаметром 2-4 нм и более медленных скоростей транслокации; это позволило учёным установить, что разрешение, на самом деле, составляет 0,35 нм, что соответствует идентификации отдельных оснований.

Однако, даже если транслокация одноцепочечной ДНК сквозь пору может быть замедлена до миллисекунд на каждое основание, т.е. до скорости, при которой необходимо измерять токовые блокады одиночных оснований путем регистрации ионного тока, - секвенирование графеновыми нанопорами может иметь и другие проблемы. Например, графеновые нанопоры показывают высокие уровни токовых шумов, которые можно устранить, но только за счет увеличения толщины устройства. Кроме того, нет экспериментальных доказательств того, что графеновые нанопоры будут различными для разных оснований и поэтому края пор, возможно, необходимо химически модифицировать, чтобы замедлить, остановить и ориентировать локализацию смещающихся оснований.

Второй предложенный способ идентификации азотистых оснований состоит в использовании квантово-механического туннелирования электронов через ДНК с графеном в качестве "транс-электрода". Измерения туннельных токов или других электрических характеристик могут значительно ускорить идентификацию оснований - до микросекунд на одно основание. Важно заметить, что в подходах к секвенированию ДНК с использованием как ионного, так и туннельного токов, поры, вероятно, должны иметь диаметр 1,5 нм или меньше, т.е. значительно более узкие, чем те, что известны сегодня.

Секвенирование ДНК с использованием графеновых нанопор, несомненно, потребует также разработки новых областей химии и физики. Характер графеновых поверхностей, и особенно поверхности периферии графеновых нанопор, изучен слабо. Графеновые поверхности, вероятно, имеют ребристую форму, с различными дефектами типа тех, что вызывают утечку токов, о чём сообщается в данной

работе. А какие химические группы присутствуют вблизи периферии графеновых нанопор после воздействия на поры воздуха и воды? Возможно, они имеют сходство со смесью групп, обнаруженных в оксиде графена, включая карбоксилаты, гидроксильные группы, эпоксиды, алкены, диены и многие другие. Не исключено, что электронный луч, который используется для создания пор, вызывает структурную реорганизацию периферийных групп, генерируя новые конфигурации типа пятичленных колец. В любом случае, интересно, подвержены ли эти периферийные структуры дальнейшей перегруппировке или гидролизу, которые вызывают невоспроизводимость или нестабильность нанопор? И ещё, можно ли их ковалентно модифицировать, чтобы облегчить распознавание основания?

Важный момент: возможно, поверхности графена необходимо сделать химически инертными, а отверстия - химически модифицировать, независимо от поверхности; однако, это очень трудная задача. В физике, сверхбыстрое секвенирование ДНК потребует больших массивов нанопор с электрической адресацией. Эта проблема легче решается с помощью нанометровых пор в графеновых лентах, а не с помощью нанопор в графеновых слоях.

Секвенирование единичной молекулы ДНК с помощью массивов нанопор даёт возможность получать геномные последовательности значительно быстрее. Эта принципиально новая технология будет уникальной в персонифицированной терапии раковых заболеваний, когда важны многочисленные сиквенсы генома от одного человека. Первые экспериментальные исследования с использованием графеновых нанопор свидетельствуют об убедительном научном подходе, который позволит устранить существующие препятствия при секвенировании ДНК с помощью нанопор.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Garaj S., Hubbard W., Reina A., Hong J., Branton D., Golovchenko J.A.* (2010) *Nature*, **467**, 190-193.
2. *Shneider G.F., Kowalczyk S.W., Calado V.E. Pandraud G. et al.* (2010) *Nano Lett.*, **10**, 3163-3167.

УСКОЛЬЗАНИЕ ОПУХОЛИ ОТ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА

Опухолевые клетки могут индуцировать образование структур подобных лимфоидной ткани, которые помогают опухоли избежать иммунитета хозяина.

Многие виды опухолей у человека подавляют иммунную систему для повышения своей выживаемости. Некоторые опухолевые клетки ускользают от иммунного надзора за счёт уменьшения экспрессии отдельных белков-антигенов, презентированных на их поверхности, что делает их невидимыми для цитотоксических Т-лимфоцитов. Но чаще, опухоли секретируют белки, которые ингибируют ответы эффекторных Т-клеток и содействуют продуцированию регуляторных Т-клеток, подавляющих иммунные ответы. Группа ученых во главе с Shields, выявила новый механизм, в соответствии с которым опухоли "вводят в заблуждение" иммунную систему [1]. Некоторые виды меланом могут перестраивать свою стромальную соединительнотканную микросреду в структуры, аналогичные лимфоидной ткани иммунной системы. Такая оригинальная перестройка обеспечивает рекрутирование и поддержку иммунокомпетентных регуляторных клеток, стимулирующих устойчивость и рост опухоли.

Индукторные клетки лимфоидной ткани (LTi) способствуют органогенезу вторичных лимфоидных тканей (лимфатические узлы и Пейеровы бляшки) в процессе развития млекопитающих. Эти клетки экспрессируют факторы семейства цитокинов, фактор некроза опухоли (TNF), лимфотоксин ($LT\alpha_1\beta_2$) и TNF-связывающий индуцирующий активацию цитокин (TRANSC). Вместе эти факторы усиливают экспрессию хемокинов и адгезионных молекул посредством стромальных клеток "организаторов" при развитии плода. По мере развития стромальных клеток лимфоидного органа, они экспрессируют адгезионные молекулы и хемокины (типа CXCL13 и CCL21), которые поддерживают их стабильные взаимодействия с эмбриональными LTi клетками, а также направляют LTi клетки, В- и Т-клетки в развивающиеся ткани. В конечном итоге, эта локализованная активация стромальной клетки приводит к образованию организованного, компартментализованного лимфоидного органа, участвующего в регуляции иммунных ответов.

У взрослых млекопитающих LTi клетки направляют преобразование стромальных клеток в третичные лимфоидные структуры (подобные лимфоидной ткани структуры, обнаруженные в нелимфоидных участках) в условиях хронического воспаления или инфекции. Группа Shields показала, что меланомы мыши и человека, экспрессирующие хемокин CCL21, могут образовывать LTi клетки, приводя к перестройке стромы опухоли и образованию $CD4^+$ регуляторными Т-клетками миелоидных клеток-супрессоров и других лейкоцитов. Поскольку кроме CCL21, другие сигнальные пути содействуют развитию вторичной и третичной лимфоидной ткани, можно предположить, что другие типы опухолей, использующие эти сигнальные пути, также могут вызывать перестройку стромы.

Вторичные и третичные лимфоидные ткани обеспечивают благоприятную среду для активации гуморального и клеточного иммунитета. Однако, если опухоль буйно разрастается и уходит от иммунного ответа хозяина, возникает вопрос: почему она создает окружающую среду с характеристиками ткани иммунной системы? Объединение лимфоидных структур с опухолями подчеркивает то, что лимфоидные ткани могут не только активировать, но и подавлять пути иммунного ответа. Например, стромальные клетки в лимфатических узлах представляют антиген $CD8^+$ Т-клеткам таким образом, что индуцируется толерантность, а не активация. Кроме этого, лимфоидные ткани обеспечивают среду, в которой необученные Т-клетки в присутствии трансформирующего фактора роста (TGF- β) становятся регуляторными Т-клетками и содействуют в дальнейшей супрессии эффекторных Т-клеток. Таким образом, имитируя функции вторичных или третичных лимфоидных тканей, созданные опухолями подобные лимфоидной ткани стромальные структуры могут улучшать иммунную толерантность и супрессию.

Возникает вопрос, напрямую ли клетки меланомы блокируют или ослабляют дифференциацию необученных Т-клеток в эффекторные Т-клетки или они действуют косвенно, превращая иммунорегуляторные антигенпрезентирующие клетки в структуры, подобные лимфоидной ткани? Группа Shields не обнаружила В-клетки в злокачественной опухоли. Поскольку В-клетки могут активировать Т-клетки во вторичной лимфоидной ткани, их отсутствие, возможно, понижает активацию иммунной системы в опухолииндуцированной строме. С другой стороны, TGF- β , продуцируемые в опухоли, могут изменять локальные популяции макрофагов, приводя к переключению с классически активированных, фагоцитарных и провоспалительных M1 макрофагов к альтернативно активированным, слабофагоцитирующим и противовоспалительным M2 макрофагам, которые секретируют белки внеклеточного матрикса.

Сообщенный группой Shields факт вовлеченности LTi клеток в структуры подобные лимфоидной ткани, позволяет предположить, что цитокин $LT\alpha_1\beta_2$ может повышать экспрессию хемокина CCL21. Это может иметь важное значение, поскольку $LT\alpha_1\beta_2$ -зависимые структуры, как правило, пластичны. Таким образом,

структуры подобные лимфоидной ткани, должны быть перепрограммируемыми с помощью $LT\alpha_1\beta_2$ сигнальной системы, как это отмечалось в стромальных компартментах селезенки мыши.

Ещё не скоро ученые смогут понять до какой степени являются пластичными опухоль-индуцированные структуры, подобные лимфоидной ткани. Необходимо определить: может ли нарушить иммунную толерантность опухольиндуцированных структур блокирование функции CCL21 и/или LT α клеток, обеспечивающее, тем самым, иммунитет хозяина при уничтожении опухолевых клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Shields J.D., Kourtis J.C., Tomei A.A., Roberts J.M., Swartz M.A. (2010) Science, 328, 749-752.*

ГЕНОМИКА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Раковые клетки инвазируют другие части тела в результате накопления геномных aberrаций. Анализ отличий между геномами первичной и метастатической опухолей должен облегчить понимание этого процесса.

Существующие в настоящее время технологии массивно параллельного секвенирования являются достаточно мощными и экономичными, чтобы обеспечить высокочувствительный анализ изменений, происходящих в геноме раковых больных. К ним относятся: изменения в количестве копий специфичных геномных участков, изменения в последовательности ДНК и структурные aberrации. Группа исследователей во главе с Ding сообщает [1] об использовании ими данной технологии для анализа геномных особенностей образцов первичной и метастатической опухолей, взятых у 44-летней афро-американки, страдающей базально-клеточным раком молочной железы. Полученные результаты обеспечивают понимание того, как развиваются геномы раковых клеток по мере прогрессирования заболевания.

Способ покидания опухолевыми клетками своей первичной локализации и образования колоний в других частях тела - часто с летальным исходом - становится все более понятным. К основным биологическим изменениям относятся вариации в дифференцировке клеток, в способности воспринимать сигналы "гибели клеток", в регуляции клеточного цикла и в стабильности генома. Другие признаки метастазирования опухолевых клеток - это повышенная подвижность и инвазивность клеток, образование новых кровяных сосудов и воспаление.

Хотя природа многих проявлений метастазов понятна, информация об основных геномных и эпигеномных aberrациях, появляется довольно редко. Группа Ding не только ведет поиск геномных изменений, происходящих по мере развития первичной опухоли и образования отдаленных метастазов, но и использует методики массивно параллельного секвенирования для изучения различий последовательностей ДНК среди всех проанализированных образцов.

Для изучения геномных изменений, развивающихся при базально-клеточном раке молочной железы (который характеризуется отсутствием ERBB2-белка, эстрогена и прогестероновых рецепторов), ученые взяли биопсию из опухоли молочной железы пациентки - и пробу крови в качестве нормального контроля - при первичном хирургическом вмешательстве. Они также ввели клетки из этой биопсии мышам с иммунодефицитом, чтобы получить ксенографтную опухоль. Восемь месяцев спустя, несмотря на проведенную химиотерапию,

рак распространился на мозг пациентки и образец опухоли мозга был также предоставлен исследователями. Затем они определили последовательность полного генома для всех четырех образцов - первичная и вторичная опухоли пациентки, ксенографтная опухоль мыши и образец крови пациентки - чтобы обнаружить структурные перестройки в геномах, нарушения копийности геномных участков и мутации.

Полученные данные показали, что спектр структурных аббераций одинаков во всех трёх опухолях. Кроме того, большинство нарушений копийности в первичной опухоли наблюдались в ксенографтной и метастатической опухолях, размер многих нарушений (копийности) увеличивался в ксенографтной и метастатической опухолях; было отмечено также появление некоторых новых аббераций. Что касается мутаций, большая их часть также была общей для всех трёх опухолей. Но особенно заметным результатом стала оценка (показателя) распространенности мутантных последовательностей.

В связи с тем, что по существующей технологии секвенирования мутации измеряются в отдельных нитях ДНК, учёным удалось вычислить распространённость мутаций в виде фракции последовательностей в каждой геномной области, несущей мутации. Исследователи обнаружили, что распространенность 20-ти из мутаций была сопоставима для всех трёх опухолей, что 26 - показали повышенную распространенность в ксенографтной и/или метастатической ткани, и что распространенность 2-х - значительно уменьшилась по сравнению с первичной опухолью. Это позволяет предположить, что минимум три клеточных клона из первичной опухоли перешли в метастатические и ксенографтные опухоли, причём один содержал мутации, которые снижали показатель распространенности, другой - мутации, которые увеличивали распространенность, а третий содержал мутации, распространенность которых не изменилась по сравнению с первичной опухолью. Поэтому, этот метастаз образовался, по-видимому, не из одной клетки, а скорее из клеточной популяции, которая содержала минимум три этих клона.

Другой интересный результат состоял в том, что 16 из 20-ти мутаций, которые наблюдались при повышенной распространенности в метастатической опухоли, присутствовали также и в ксенографтной опухоли с высокой степенью распространенности. Эта модель согласованного отбора одного или нескольких клонов, несущих общие мутации при распространении метастазов, и создания ксенотрансплантата позволяет предположить, что (эти) клетки испытывают одинаковое давление эволюционного отбора в обоих случаях, что может пролить свет на понимание свойств метастатического процесса, находящихся под влиянием аббераций конкретного клона, поскольку некоторые процессы, необходимые для метастазирования, такие как инвазия и проницаемость барьера, могут быть не столь важны в окружении ксенотрансплантата. Таким образом, процесс метастазирования не находится под влиянием аббераций выбранных как в ксенотрансплантате, так и в метастазах.

Как уже отмечалось выше, Ding с коллегами оценивали развитие только одной опухоли. Однако, если полученные ими результаты можно будет использовать для более крупных исследований, сравнительные исследования триплетов, характерных для первичной-опухоли/ксенотрансплантата/метастазов, могут способствовать идентификации геномных аббераций, играющих важную роль в патофизиологии опухоли и метастазирования, и облегчить понимание биологической роли этих геномных участков. Они также могут обеспечить информацию о клональном разнообразии в метастатических поражениях, которые могут помочь идентифицировать субпопуляции клеточных молекул, и, поэтому, влиять на терапию рака.

Таким образом, данные полученные группой Ding, указывают на то, что в будущем, секвенирование некоторых геномов метастазирующего рака должно быть значительно глубже, чем предполагается сегодня, чтобы получить статистически достоверные оценки показателей распространенности мутаций.

Более того, потребуется функциональная оценка геномных участков находящихся под воздействием мутаций, чтобы определить какие гены в отобранных клонах являются “драйверами”, а какие просто “пассажирами”. Согласованная селекция мутаций в метастатических и ксенографтных опухолях может обеспечить получение предварительной информации о наиболее полезных кандидатах для функциональной оценки.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ding L., Ellis M.J., Li S., Larson D.E., Chen K. Wallis J.W. et al* (2010) *Nature*, **464**, 999-1005.

ОПУХОЛЕВЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

Опухолевые клетки являются неоднородными. Возникает вопрос: может ли отдельная субпопуляция клеток приводить к росту опухоли и вызывать клеточную изменчивость? Чтобы ответить на него, нужно очень осторожно интерпретировать результаты исследований.

Есть основания полагать, что среди разнообразия субпопуляций раковых клеток образующих опухоль, лишь немногие - опухолевые стволовые клетки - приводят к возникновению новообразований. Пока ещё неясно, существует ли иерархия в отношении онкогенного потенциала раковых клеток или же каждая клетка в опухоли обладает одинаковыми возможностями. Кроме того, неизвестно, может ли любая клетка в опухоли стать опухолевой стволовой клеткой? Если да, то модель опухолевой стволовой клетки будет менее интересной, особенно для лечения рака, т.к. чтобы вылечить рак, нужно уничтожить практически все опухолевые клетки, а не редкие популяции потентных опухоленицирующих стволовых клеток опухоли.

Пролить свет на эти вопросы помогут результаты исследований выполненных двумя группами учёных.

Воiko с коллегами изучали клетки меланомы человека, в частности, раковые клетки, содержащие маркер стволовых клеток CD 271 [1]. Учёные обнаружили, что, в отличие от других клеток из одной и той же опухоли, CD271⁺-клетки (т.е. клетки экспрессирующие CD271) могут инициировать и поддерживать рост опухолей *in vivo*, что согласуется с наличием функциональной иерархии клеток меланомы.

Результаты, полученные этой группой, отличаются от результатов более ранних исследований группы Quintana [2], которые показали, что в некоторых случаях около 50% клеток меланомы человека обладают опухолеобразующей способностью. Кроме того, ни один тестируемый маркер не выявлял субпопуляцию с опухолеобразующей способностью. Ученые пришли к выводу, что частота встречаемости раковых клеток, которые могут инициировать онкогенез, отчасти зависит от методов оценки и анализа.

Можно ли сблизить эти противоречивые точки зрения? Одна из возможностей заключается в том, что по мере прогрессирования злокачественной опухоли, все большее количество раковых клеток приобретает признаки опухолевых стволовых клеток; такой сдвиг может вызвать, например, остановка дифференцирования клеток. Группа Quintana наблюдала высокую частоту встречаемости инициирующих опухоль клеток, поскольку исследованные ими большие фракции меланомных опухолей относились к поздней стадии болезни. Более того, опухолевые клетки, которые ученые трансплантировали в животные

модели, сначала выращивали путем ксенотрансплантации, чтобы получить достаточное количество клеток из оригинальных образцов пациента; в ходе этой процедуры также выбирались агрессивные опухолевые клетки. Кроме того, возможно, что процесс начальной диссоциации опухолевых клеток убивает многие клетки и, если он направлен (на клетки, но) не на опухолевые стволовые клетки, уже можно выбирать более точную субпопуляцию опухолевых стволовых клеток.

Voiko с коллегами исследовали множество первичных меланомных опухолей на более ранних стадиях заболевания, чем в исследованиях группы Quintana. По их данным, в двух серийных (следующих друг за другом) образцах, фракция CD271⁺-клеток изменялась с 2,5% до 4,1%. Таким образом, результаты исследований обеих научных групп позволяют предположить, что клетки, инициирующие меланомные опухоли, не обязательно являются редкими.

Исследователи обнаружили, что опухоль-инициирующая способность является, преимущественным, но не исключительным, свойством CD271⁺-клеток: у 70% животных, которым вводили эти клетки, развивалась опухоль, а при введении раковых клеток, не экспрессирующих этот маркер, - лишь у 7% животных. Кроме того, CD271⁺-клетки были более метастатическими и не экспрессировали меланома-ассоциированные антигены типа MART-1 или тирозиназы, которые являются кандидатными мишенями для терапевтического воздействия.

Что любопытно, ксенотрансплантантные опухоли содержали большое количество CD271⁺-клеток. Это могло означать либо то, что процесс ксенотрансплантации селективен для больших фракций опухоль-инициирующих клеток, либо то, что клетки, не экспрессирующие CD271, получают возможность для инициирования опухоли благодаря изменению их среды - из первичной опухоли в ксенотрансплантант. Изучение этих двух возможностей, а также того теряют ли маркеры типа CD271 какую-либо часть своего "значения" в ксенотрансплантанте (или в культуре клеток), заслуживает серьезного внимания. В частности, для устранения некоторых несоответствий, необходимо исследовать большее количество образцов меланомы человека.

Журнал Cell опубликовал результаты научной группы Roesch [3], которая также выдвигает на первый план проблемы, имеющие значение для понимания изменений, происходящих в опухолевой клетке. Основное предположение гипотезы об опухолевой стволовой клетке строится на том, что эти клетки являются не только самоподдерживающимися, но и дают начало неопуховому потомству, которое не может вновь приобретать онкогенные свойства. Однако, способность исследователей перепрограммировать дифференцированные клетки в стволовые, используя установленные факторы транскрипции, позволяет предположить, что, подобно любой клетке, нераковое потомство может вновь приобретать свойства стволовых клеток. Более того, такое перепрограммирование или редифференциация могут более легко возникать в атипичных опухолевых клетках, чем в здоровых клетках. Могут ли раковые клетки, обладающие свойством блокированной дифференцировки, "предложить" частично дифференцированным нераковым клеткам стать раковыми стволовыми клетками во второй раз в ответ на внутренние или внешние факторы?

Группа Roesch идентифицировала субпопуляции клеток меланомы человека в культуре, которая экспрессирует фермент JARID1B. По сравнению с клетками меланомы, не экспрессирующими этот фермент, клеточные циклы JARID1B⁺-клеток были более медленными, тем не менее, они генерировали большее потомство и были более онкогенными. Вероятность того, что в солидной опухоли, типа меланомы, медленно циркулирующая клеточная популяция может обладать большим туморогенным потенциалом, означает, что в противораковой терапии не следует делать упор только на быстро циркулирующие клеточные популяции.

Более интригующим фактом является показанная исследователями динамичная экспрессия JARID1B: даже в экспериментах с участием одной исходной клетки, JARID1B⁺-клетки могут возникать из клеток, его не экспрессирующих, т.е. похоже, что состояние стволовой клетки может приобретаться любой клеткой

в любое время, представляя, таким образом, подвижную мишень. Печальный подтекст этого заключения состоит в том, что мечение всех без исключения JARID1B⁺-клеток в любой момент времени, не будет достаточным для попадания в меланому, так как будет появляться больше JARID1B⁺-клеток.

Примечательно, что группа Roesch изучала клеточные линии меланомы в культуре. Культура клеток может во многом отличаться от условий *in vivo*, для того, чтобы интерпретировать опухолевую иерархию у пациентов. Например, многие первичные опухолевые клетки не выживают, чтобы делиться в культуре, и, поэтому, большая часть опухоли (и, возможно, фракция не стволовых клеток) может быть недоступна *in vitro*. Более того, для некоторых типов опухолей, культуральная среда на основе сыворотки способствует размножению клеточных популяций не похожих на первичные опухоли пациента по генетическим или по другим характеристикам, а культуральная среда не на основе сыворотки может избирательно поддерживать рост клеток, обладающих свойствами стволовых клеток.

Что касается других, преимущественно, “чистых” популяций стволовых клеток в культуре, известно, что клетки могут циклически переходить из одного состояния в другое, если их поддерживать в условиях среды для стволовых клеток. Это подчеркивает тот факт, что внутри популяций стволовых клеток могут иметь место вероятностные воздействия. Результаты, полученные группой Roesch, будут иметь важное значение, если аналогичные принципы применить к первичным опухолям (пациентов), которые не поддерживались в культуре.

Область исследования опухолевых стволовых клеток является молодой и динамически развивающейся; поэтому неудивительно, что остается много вопросов, на которые ещё предстоит ответить. Каждое исследование должно тщательно анализироваться, особенно при рассмотрении экспериментальной методологии и используемых моделей. Единственное, о чём надо помнить всегда, - значимость исследований роста опухолей у больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boiko A.D., Razorenova O.V., van de Rijn M., Swetter S.M., Johnson D.L. et al. (2010) *Nature*, **466**, 133-137.
2. Quintana E. et al. (2010) *Nature*, **456**, 593-598.
3. Roesh A. et al. (2010) *Cell*, **141**, 583-594.

По материалам журналов *Nature* и *Science*,
при участии Е.А. Григорян.