

**В настоящее время существует две основных теории развития раковой опухоли. По одной из них, все раковые клетки более или менее одинаковы и каждая из них может обеспечивать рост опухоли. По другой, существует ограниченный пул особых раковых стволовых клеток, которые являются предшественниками других клеток, и именно они ответственны за образование и рост опухоли. Три независимые исследовательские группы впервые проследили судьбу индивидуальных клеток опухолей в естественных условиях — в организме лабораторных мышей — и получили доказательства второй теории.**

Стволовые клетки — это особые популяции клеток здорового организма, которые способны к делению. Они делятся, и часть из них остается стволовыми, а другая часть превращается в дочерние клетки, которые продолжают делиться и дифференцируются в клетки тех или иных тканей. Таким образом ткани обновляются (подробнее о стволовых клетках можно прочитать в новостях Нобелевская премия по физиологии и медицине — 2012, «Элементы», 10.10.2012; Гемато-тестикулярный барьер не рвется, а обновляется, «Элементы», 09.10.2012). Однако иногда что-то идет не так, и в организме возникает очаг не поддающихся контролю (и, как правило, очень часто) делящихся клеток. Так развивается раковая опухоль.

Как же устроена эта опухоль? Существует две основные теории.

По первой из них, все клетки опухоли более или менее равноценны и одинаково ответственны за рост опухоли.

По второй теории, опухоль организована подобно здоровой ткани: в ней есть ограниченное количество стволовых клеток (они, соответственно, называются «раковыми стволовыми клетками», или РСК). Часть разделившихся клеток остается стволовыми, а другая часть продолжает делиться и постепенно дифференцируется. Они и образуют основную массу опухоли.

Эта вторая теория выглядит чрезвычайно привлекательно: ведь если РСК действительно существуют, то достаточно их уничтожить, и никаких рецидивов опухоли у пациента не будет.

Однако пока что в теории РСК вопросов больше, чем ответов. Откуда берутся эти загадочные РСК, из каких клеток они развиваются — из стволовых или дифференцированных? Какова доля РСК в опухоли — ведь если эта доля велика, то не имеет смысла концентрироваться на РСК как таковых. Равномерно ли они распределены по опухоли или собраны (как нормальные стволовые клетки в здоровой ткани) в каком-то одном месте? Может ли дифференцированная клетка опухоли снова превратиться в РСК? И так далее, и тому подобное.

В пользу теории РСК свидетельствует довольно много фактов.

Во-первых, плохая способность раковых клеток к трансплантации. Одна из основных методик при исследованиях рака — пересадка опухолей животным (как правило, мышам). Чтобы опухоль «прижилась», необходимо пересадить от нескольких тысяч до нескольких десятков тысяч клеток. Почему же так много? Не потому ли, что только очень немногие из этих клеток являются стволовыми и способны дать потомство в новом организме?

Во-вторых, фенотипическая неоднородность клеток опухолей — иными словами, наличие в одной и той же опухоли дифференцированных и недифференцированных клеток. Не являются ли эти самые недифференцированные клетки искомыми РСК?

Наконец, в третьих, недавно было показано, что метастазы развиваются отнюдь не из любой клетки раковой опухоли, а только из некоторых, на ранних стадиях роста опухоли (см. Злокачественные опухоли и их метастазы не только растут, но и активно изменяются независимо друг от друга, «Элементы», 25.04.2012). Возможно, «метастазные» раковые клетки — это суть те же РСК или их ближайшие потомки, которые «заблудились», оторвавшись от первичной опухоли, «прижились» на новом месте и таким образом дали начало опухоли вторичной.

Кроме того, было получено несколько прямых доказательств существования РСК

## Доказано существование раковых стволовых клеток

Автор: Administrator

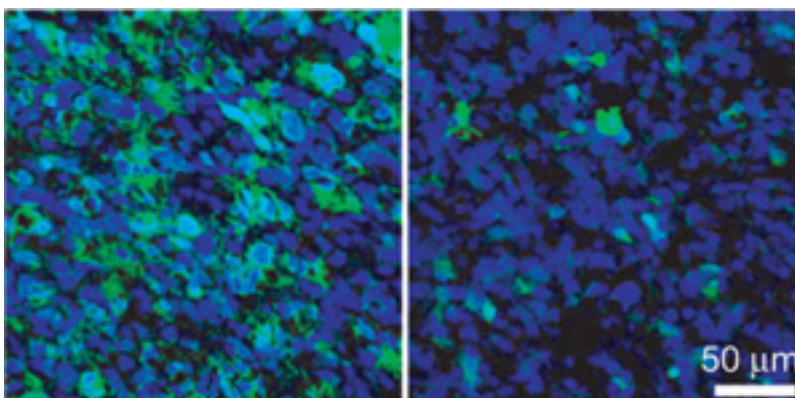
29.10.2012 15:45 - Обновлено 29.10.2012 15:47

---

в определенных видах рака — начиная от лейкоза и заканчивая меланомой. Однако данные доказательства были получены «грязными методами» — то есть такими, которые могут серьезно исказить процессы, происходящие в реальном организме: например, работами на клеточных культурах или трансплантациями опухолей иммунодефицитным мышам.

Одним словом, необходимы были более весомые доказательства существования РСК. И вот наконец они были получены. Три независимые группы исследователей смогли показать, что как минимум три вида опухолей — глиобластома, папиллома и карцинома кожи и аденома кишечника — развиваются за счет стволовых клеток.

Начнем с глиобластомы — чрезвычайно агрессивной злокачественной опухоли головного мозга. В предыдущих исследованиях на мышах было показано, что глиобластомы — злокачественные астроцитомные глиомы — развиваются из нейральных стволовых клеток. Это наводило на мысль, что родоначальники опухоли — это нейральные стволовые клетки, которые в результате каких-то изменений превратились в РСК.



**Рис. 1.**

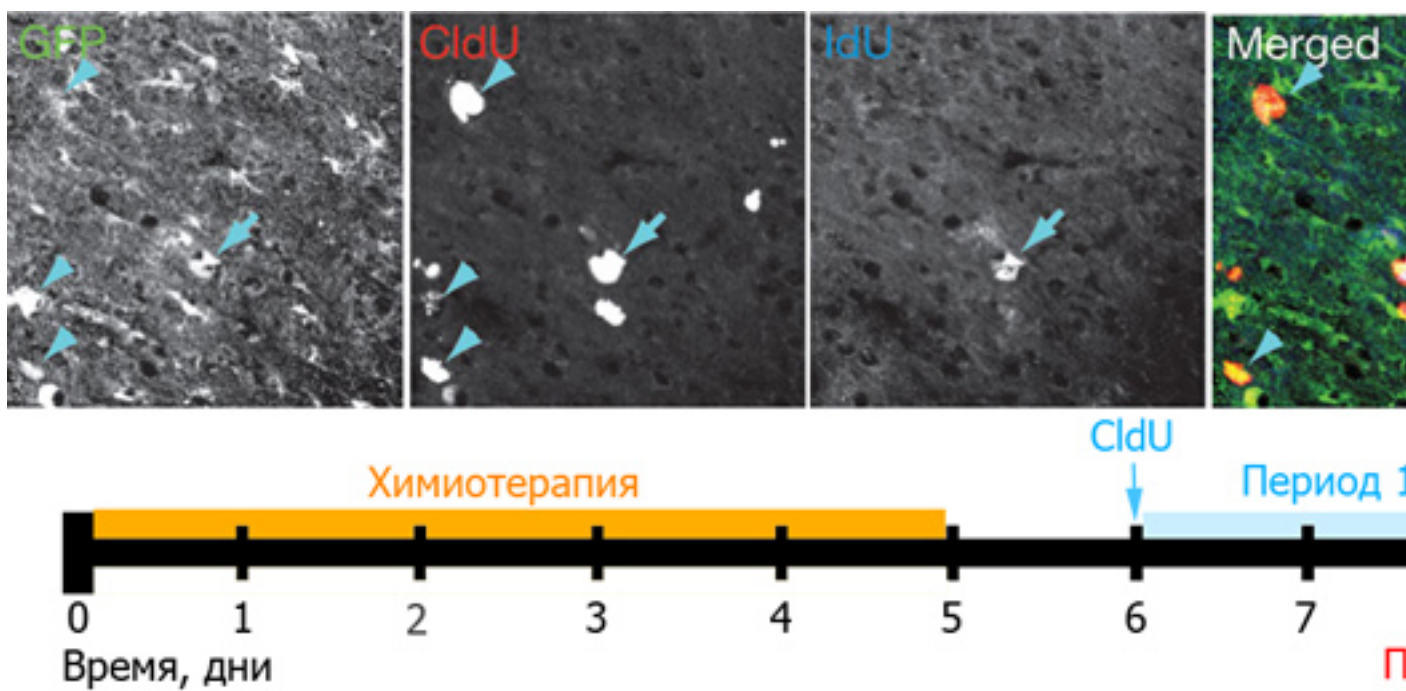
Стволовые клетки ( *зеленые* ) среди прочих клеток ( *синие* )

Чтобы проверить эту гипотезу, надо было исследовать «естественные», а не трансплантированные, опухоли, а также пометить в них нейральные стволовые клетки. Для этого исследователи вывели особую линию мышей, у которых, во-первых, со стопроцентной вероятностью развивались злокачественные глиомы, а во-вторых, присутствовала сложная генетическая конструкция *Nes-ΔTK-GFP*. У этой конструкции было три замечательных черты. Во-первых, ее гены экспрессировались только в нейральных стволовых клетках и нигде больше. Во-вторых, включала ген светящегося белка GFP, который заставляет экспрессирующие его клетки светиться зеленым светом при облучении ультрафиолетом. Наконец, в-третьих, несла ген тимидинкиназы вируса герпеса. Клетка, экспрессирующая этот ген, погибает под действием лекарства от герпеса ганцикловира, совершенно безвредного для клеток, в которых этого гена нет.

Таким образом, благодаря этой конструкции исследователи могли легко отличить нейральные стволовые клетки от всех остальных, всего лишь осветив их светом нужной длины волны, а также быстро селективно убить эти клетки, не тронув при этом никаких других.

Вначале исследователи просто посмотрели, какие клетки светятся зеленым в развившихся у мышей глиомах. Выяснилось, что, с одной стороны, такие клетки в опухолях действительно есть, а с другой — их относительно мало (рис. 1). То есть, первоначальная идея о том, что опухоль берет начало от стволовых клеток и что этих стволовых клеток в опухоли ограниченное количество, имела право на существование.

Затем исследователи решили узнать, за счет чего опухоль возобновляет рост после химиотерапии. В качестве химиотерапии использовался препарат темозоломид, избирательно убивающий только делящиеся клетки. Поскольку опухоль после лечения темозоломидом всё равно вырастает заново, очевидно, что клетки, которые выжили во время лечения, после окончания химиотерапии начинают активно делиться и дают начало новой опухоли. Весь вопрос был в том, что это за клетки, и результаты экспериментов однозначно показывали, что клетки эти — стволовые (рис. 2).

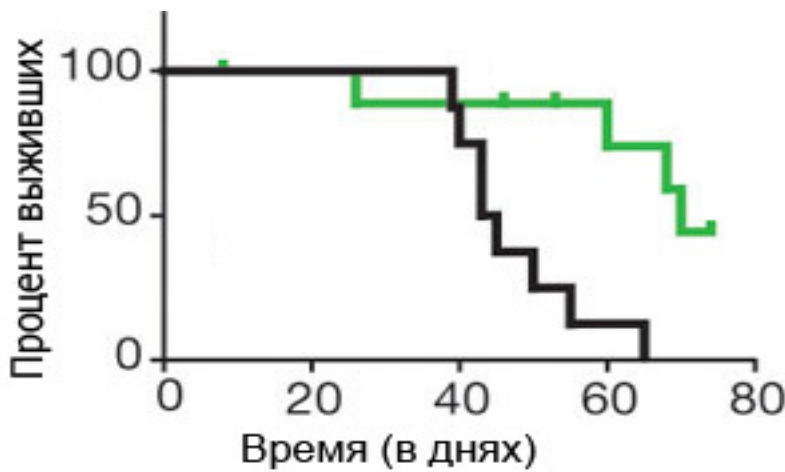


**Рис. 2.**  
Вверху  
Внизу

Вверху  
: временн

: динамика делений клеток опухоли. Видно, что в  
а : временн  
я шкала эксперимента. На с

Теперь пришло время применить другую часть используемой генетической конструкции, которая позволяла избирательно убить нейральные стволовые клетки. Если именно эти клетки являются родоначальниками опухоли, то их уничтожение не даст опухоли развиваться и позволит бедным мышам прожить чуть подольше. Так оно и вышло (рис. 3): хотя у мышей, развилось множество нарушений из-за отсутствия нейральных стволовых клеток, но опухоли в субвентрикулярной зоне у них если и появлялись, то гораздо менее выраженные, чем у контрольных мышей.



**Рис. 3.**

Мыши, у которых нейральные стволовые клетки были выключены, выжили дольше.

Подытожим. В данном исследовании было показано, что глиобластомы берут начало от ограниченной популяции РСК, которые, в свою очередь, происходят от нейральных стволовых клеток, и что заблаговременное уничтожение этих нейральных стволовых клеток помогает предотвратить развитие опухоли.

Теперь посмотрим, что же удалось обнаружить другой группе исследователей, которая изучала папилломы и развивающиеся из них плоскоклеточные карциномы.

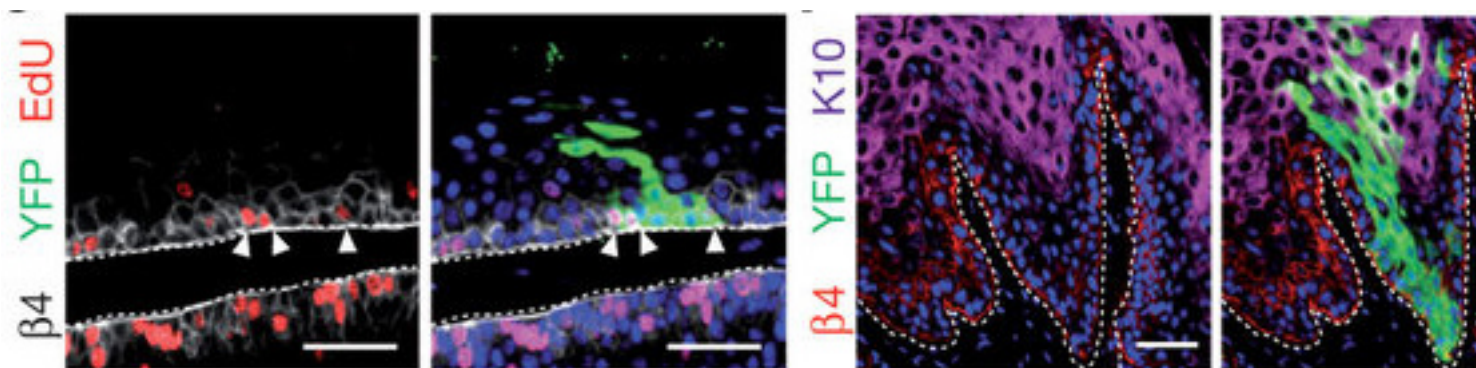
Эти ученые также работали на мутантных мышах, в клетках которых присутствовала генетическая конструкция K14CREER/Rosa-YFP, которая заставляла стволовые клетки кожи и их потомков экспрессировать светящийся желтым светом белок YFP, если мышам инъецировали препарат тамоксифен. (Эта методика называется fate mapping и достигается за счет CreER-Lox системы, о которой рассказывается, например, в новости Для предотвращения синдрома Ретта надо постоянно поддерживать экспрессию белка

MeCP2, «Элементы», 13.07.2011). Подобрал достаточно низкую концентрацию тамоксифена, можно было заставить светиться только немногие стволовые клетки, поскольку если одновременно светится слишком много клеток, то изображение «замусоривается» и становится трудно понять, что там вообще происходит.

### [очистка вентиляции](#)

Теперь надо было вызвать у животных развитие опухолей кожи. Для этого ученые обрабатывали бедных мышей двумя сильными мутагенами, вызывающими на коже развитие доброкачественных опухолей — папиллом, некоторые из которых затем превращались в злокачественные плоскоклеточные карциномы (см. squamous-cell carcinoma).

Изучив образующиеся папилломы, исследователи обнаружили, что опухоль происходит из клеток, находящихся в базальном слое этих опухолей, как раз там, где в здоровой коже находится депо нормальных стволовых клеток. Часть получившихся от деления дочерних клеток продолжает делиться и дифференцируются, образуя опухоль, а другая остается на месте и сохраняет «стволовые» свойства (рис. 4). Одним словом, организация папилломы чрезвычайно похожа на таковую для здоровой кожи — все ее клетки будто «помнят» свою роль: они делятся, дифференцируются. Благодаря этому в папилломе присутствуют все те слои, которые есть в нормальной коже. Однако соотношение клеток в этих слоях нарушено, и естественная убыль клеток гораздо меньше «клеточной прибыли» — и потому вместо здоровой ткани образуется опухоль.



**Рис. 4.** Две левые картинки : деления, происходящие в стволовых клетках. Две правые картинки : дифференцировка и миграция, которым подвергаются потомки стволовых клеток. Длина масштабной линии — 50 мкм. Изображение из обсуждаемой статьи Gregory Driessens

Что же происходит с папилломами дальше? Исследователи выяснили, что в течение нескольких недель большая часть стволовых папилломных клеток постепенно дифференцируется и теряет стволовые свойства. Однако те клетки, которые все-таки сохраняют способность к делению, начинают вести себя всё более и более «разнузданно»: они часто делятся, давая порой до нескольких тысяч потомков; иногда потомки только одной стволовой клетки целиком образуют всю опухоль. Кроме того, в данной работе, как и в предыдущей, было показано, что делению в папилломах подвергаются одни и те же клетки — что является еще одним подтверждением того, что именно стволовые клетки являются родоначальниками этих опухолей.

В злокачественных плоскоклеточных карциномах, которые развиваются из папиллом, также прослеживались клоны отдельных клеток. Отличие от папиллом было в том, что, во-первых, делящихся клеток в карциномах было больше и делились они активнее, а во-вторых, в том, что процессы дифференцировки в этих опухолях были сильнее нарушены, и терминально дифференцированные клетки имели гораздо меньше сходства с нормальными дифференцированными клетками здоровой кожи.

Подведем итог и для этой работы. Здесь было показано, что при образовании папиллом и плоскоклеточных карцином важную роль играют стволовые клетки, которые (по крайней мере изначально) локализованы в той же области, где находятся нормальные стволовые клетки здоровой ткани.



Наконец, посмотрим, каких же результатов удалось добиться третьей группе исследователей.

Для своей работы данная группа использовала мутантную линию мышей, предрасположенную к развитию доброкачественных опухолей кишечника — аденом. Для изучения развития этих аденом исследователи использовали изящнейшую модификацию вышеописанной методики fate mapping, известную под названием «конфетти». По этой методике тамоксифен инъецируется мышам дважды: первая его инъекция заставляет стволовые клетки кишечника светиться одним из четырех цветов (красным, синим, зеленым или желтым), а вторая — другим. Причем если клетка после первой инъекции светилась красным, то после второй она начинает светиться синим и наоборот, и то же самое касается желтого и зеленого цветов.

Таким образом, эта методика позволяет изучить *динамику* развития стволовых клеток и их потомков. Допустим, с помощью первой инъекции тамоксифена мы «покрасили» некую стволовую клетку кишечника мыши в, скажем, красный цвет. Подождав время, достаточное для того, чтобы эта клетка много раз прошла через клеточное деление и дала много потомков, мы снова инъецируем мышам тамоксифен. Те потомки нашей красной клетки, которые дифференцировались и утратили стволовые свойства, так и останутся красными. Однако те, которые сохранили свою «стволовость», поменяют окраску на синюю и тот же цвет передадут всем своим потомкам. Таким образом мы можем увидеть не только всех потомков данной клетки, но и проследить дальнейшую судьбу этих потомков — какие из них дифференцировались, какие остались стволовыми, где локализуются те и другие и так далее.

С помощью этой методики исследователи провели большую серию экспериментов и выяснили, что при развитии аденом стволовые клетки также играют решающую роль. При этом часть потомков этих стволовых клеток дифференцируется, образуя основную массу опухоли, а другая, относительно небольшая, часть, локализованная как раз в том участке, который характерен для нормальных стволовых клеток кишечника, сохраняет стволовые свойства и продолжает делиться и подпитывать опухоль (рис. 5). Таким образом, результаты данных исследований, несмотря на иную методику и иной тип опухоли, чрезвычайно напоминают результаты двух предыдущих групп.

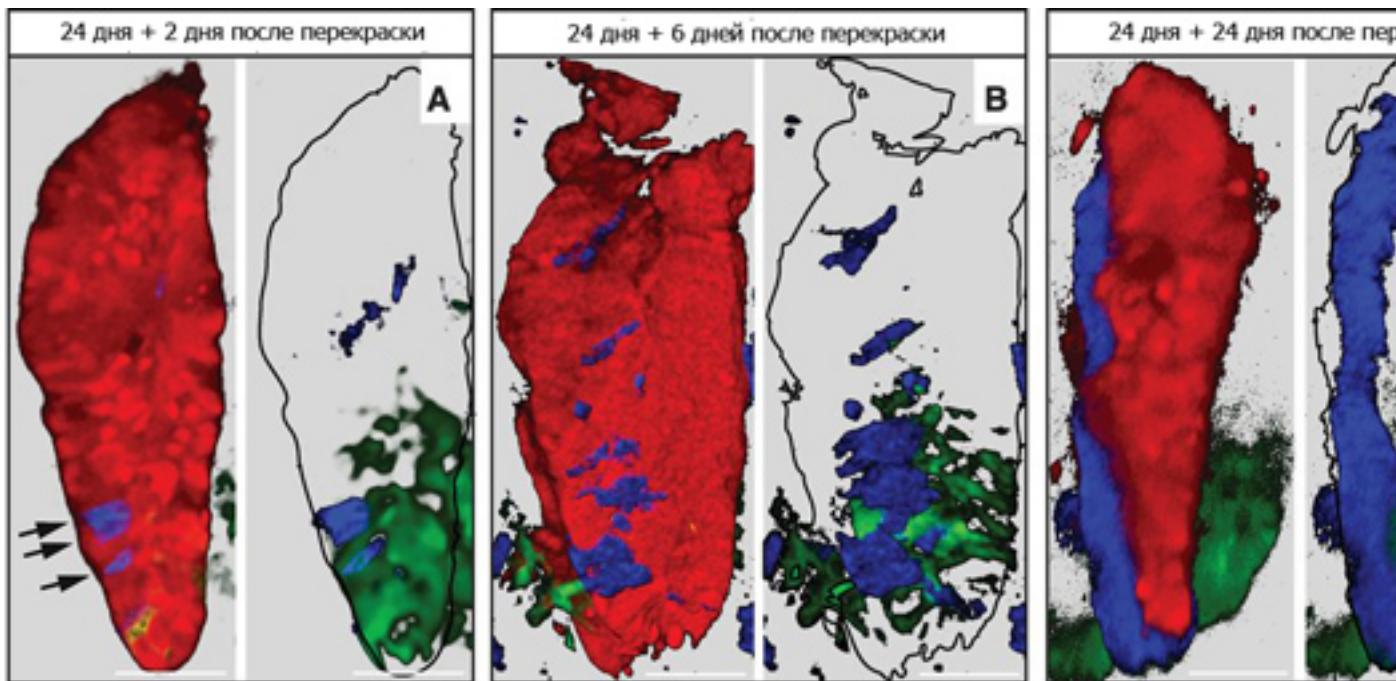


Рис. 5.

Исследование динамики развития аденом с помощью методики «конфет

Итак, в данных трех работах доказано существование стволовых клеток в трех видах опухолей. Кроме того, показано, что патологические стволовые клетки берут начало от нормальных стволовых клеток соответствующих тканей. Конечно, сразу хочется экстраполировать эти результаты на весь онкогенез вообще и начать поскорей разрабатывать средства, избирательно уничтожающие именно РСК. Однако вполне возможно, что всё не так однозначно. Может быть, РСК имеют критическое значение только для некоторых видов рака. Кроме того, может оказаться и так, что результаты, полученные в обсуждаемых работах, иллюстрируют только частный случай онкогенеза, а реальная картина выглядит гораздо запутанней. Например, возможно, что дифференцировавшиеся клетки раковой опухоли с такой легкостью могут возвращаться назад в стволовое состояние, что не имеет смысла фокусироваться именно на уничтожении РСК. Или, например, может оказаться, что не только

## Доказано существование раковых стволовых клеток

Автор: Administrator

29.10.2012 15:45 - Обновлено 29.10.2012 15:47

---

нормальные стволовые, но и нормальные дифференцированные клетки могут превращаться в РСК — просто для стволовых клеток этот путь короче. Кроме того, даже использованные в данных исследованиях методы, хотя они и гораздо «чище», чем те, которые использовались для доказательств существования стволовых клеток ранее, всё же могут несколько исказить реальную картину возникновения рака. Однако всё равно полученные данные чрезвычайно вдохновляют. Совершенно ясно, что РСК подвергнутся интенсивным исследованиям в ближайшее время и что результаты этих исследований будут чрезвычайно интересными.