



МНИОР
им. П.А. Герцена



НМИЦ
радиологии

СТВОЛОВЫЕ ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Докладчик – проф. Н.С. Сергеева

1

Москва – 2018 г.

ОБОСНОВАНИЕ НАЛИЧИЯ НОРМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОРГАНИЗМЕ:

- 1. Количество образующихся за жизнь клеток в 10 000 раз больше веса тела (15 тонн крови, 10 тонн кожи);**
- 2. Регенерация всех тканей происходит постоянно;**
- 3. Это требует большого количества клеток, способных делиться;**
- 4. Но каждая клетка способна лишь к 50-70 делениям (это ее пролиферативный потенциал);**
- 5. Причина ограничений количества делений – укорочение хромосом при каждом делении (укорочение теломер);**
- 6. Время жизни организма велико, а отдельных клеток – мало;**

ОБОСНОВАНИЕ НАЛИЧИЯ НОРМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ОРГАНИЗМЕ:

- 7. Мейоз - единственно известный способ перезапуска «счетчика клеточных делений» (только зигота имеет полный пролиферативный потенциал);**
- 8. Для обеспечения физиологической и репаративной регенерации в каждой ткани должен быть пул клеток с неизрасходованным пролиферативным потенциалом;**
- 9. Это и есть стволовые клетки (СК), отложенные в эмбриогенезе «про запас»;**
- 10. СК – живут с нами от рождения до смерти – это самые долгоживущие клетки организма.**

Из истории открытия и описания СК костного мозга



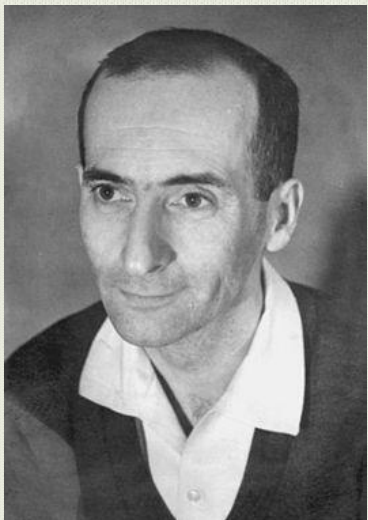
Александр Александрович Максимов

(1874-1928) - российский гистолог постулировал существование стволовых кроветворных клеток (Берлин, 1 июня 1909г., Общество гематологов) «Stammzelle» - «клетка – родоначальница, способная дифференцироваться в клетки крови под действием сигналов из крови или организма».

Александр Яковлевич

Фриденштейн

в 1960-1970-х годах обнаружил в костном мозге не только кроветворные, но и стромальные (мезенхимальные) стволовые клетки, внешне не отличающиеся от фибробластов. Сейчас их называют мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК).



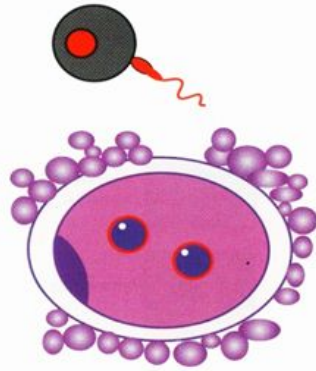
Из истории открытия и описания СК костного мозга

А.Я.Фриденштейн установил: КМ содержит остеогенные предшественники: фрагмент костного мозга, пересаженный под капсулу почки мышей формирует костную ткань, полости которой заполнены гемопозитическими клетками, или жировую ткань.

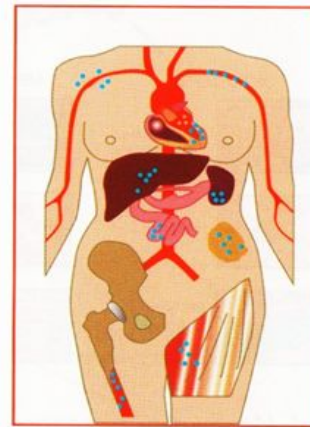
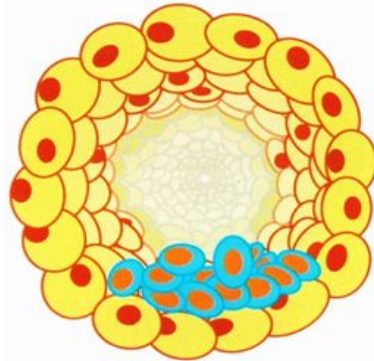
1981 г. Мартин Эванс, Мэтью Кауфман и Гейл

Мартин – выделили из внутренней клеточной массы бластоцисты мыши тотипотентные эмбриональные СК (ЭСК), которые были способны дифференцироваться в любые клетки организма

Зигота.



Эмбриональные
тотипотентные СК



Соматические
(резидентные)
мультипотентные
СК

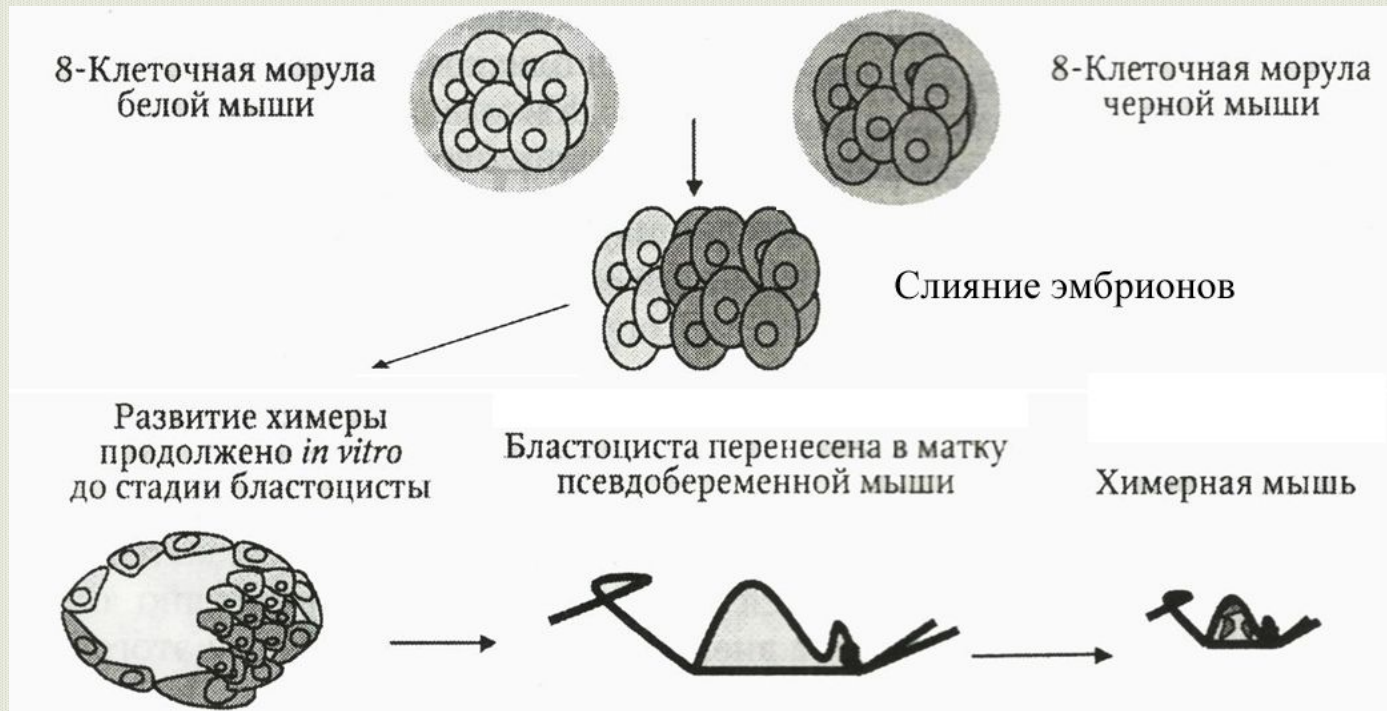
Фетальные
мультипотентные
СК



Общие свойства всех СК:

- a) неспециализированные клетки,
- b) способны к симметричному и асимметричному делению,
- c) обладают способностью дифференцироваться в нескольких направлениях,
- d) имеют неизрасходованный пролиферативный потенциал.

СХЕМА ОПЫТА, ДЕМОНИСТРИРУЮЩЕГО ПЛЮРИПОТЕНТНОСТЬ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК (ALBERTS B. [ET AL.], 2004)



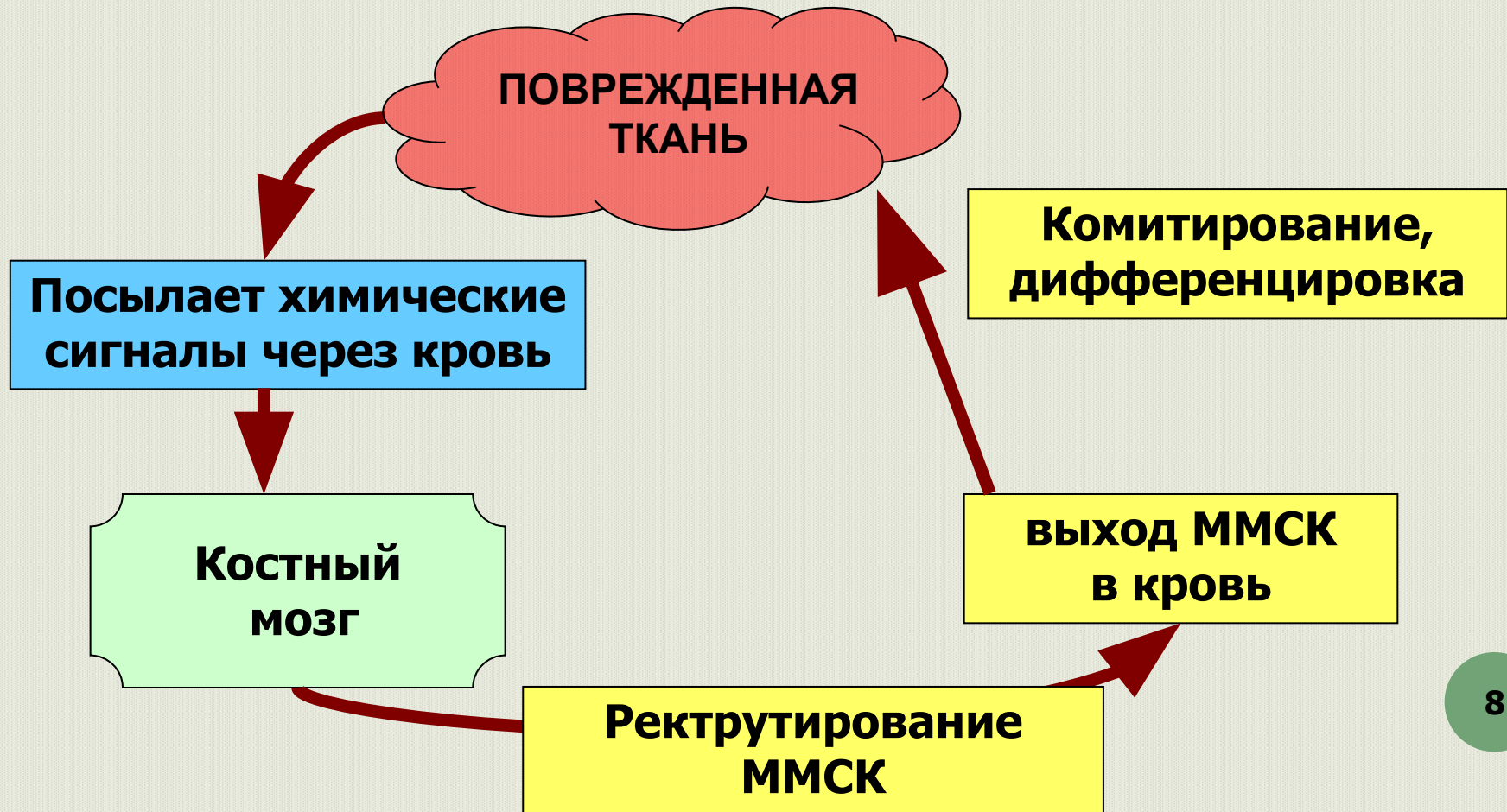
- **Вывод:** 1) В состоянии морулы судьба и количество клеток не детерминировано;
- 2) Это эмбриональные СК, которые при слиянии полностью воспроизводят программу эмбриогенеза



Депо ММСК

1. Центральное (костный мозг)
2. Периферические (ткани)

СХЕМА РАБОТЫ ЦЕНТРАЛЬНОГО ДЕПО ММСК



**Стволовые клетки –
единственные клетки,
которые живут с нами от
рождения до смерти**

Классическая (мутационная)

теория канцерогенеза

(начало формирования – 60-е годы)

- 1. Рак – «генетическая» болезнь – накопление изменений в онкогенах, генах-супрессорах опухоли, активация протоонкогенов и генов-модуляторов.**
- 2. Для опухолевой трансформации нужно 4-5 значимых генетических событий**
- 3. Концепция «инициации, промоции, прогрессии»**

**В классической теории
канцерогенеза мутации первичны**

ПЕРВИЧНЫ ЛИ МУТАЦИИ В КАНЦЕРОГЕНЕЗЕ?

Парадокс Пето: если рак обусловлен случайными активирующими мутациями, то животные с большим количеством клеток должны иметь риск рака больше, а у всех живых организмов вероятность рака увеличивается лишь с возрастом, а не с массой тела



**Альтернативная «хромосомная»
теория канцерогенеза набирает
силу:**

**Первичны крупные генетические
нарушения – хромосомные
абберрации**

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ВЗГЛЯД НА КАНЦЕРОГЕНЕЗ («ХРОМОСОМНАЯ ТЕОРИЯ КАНЦЕРОГЕНЕЗА»)

1. «Горстка» онкогенов не способна трансформировать нормальные клетки в опухолевые
2. «Рак порождают изменения в числе и структуре целых хромосом»
3. То есть «хромосомный хаос» не следствие, а причина опухолевой трансформации

АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ВЗГЛЯД НА КАНЦЕРОГЕНЕЗ («ХРОМОСОМНАЯ ТЕОРИЯ КАНЦЕРОГЕНЕЗА»)

4. Дополнительные аргументы:

- a) Количество генетических вариантов опухолей даже одного типа бесчисленно**
- b) Раковые клетки всегда содержат аномальные хромосомы (анеуплоидия)**
- c) Нарастание степени анеуплоидии коррелирует с нарастанием резистентности к цитостатикам**
- d) «Хромосомная теория рака» позволяет объяснить его как самоускоряющийся процесс, т.к. каждое деление опухолевой клетки с аномальными хромосомами сопровождается неправильным расхождением хромосом и нарастанием**

гетерогенности опухолевых клеток Дюбберг, 2011г



Вопрос: Почему организм «допускает» хромосомные абберации?

Ответ: Рак — генетическая болезнь, которая требует возрастных изменений тканевого ландшафта

(Гипотеза) *Rozhok AI, PNAS, 2015*

- 1. Экосистема ландшафта здоровой ткани позволяет нормальным клеткам подавлять мутантные**
- 2. Старение, стрессорные факторы, курение и др. снижают эту способность нормальной ткани**

**ПРИЗЫВ К ПЕРЕСМОТРУ
ТЕОРИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА**

КАКИЕ НОРМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ТРАНСФОРМИРУЮТСЯ В ОПУХОЛЕВЫЕ?

ГИПОТЕЗА:

*длинная жизнь и многократные деления
стволовых клеток позволяют им
аккумулировать мутации и хромосомные
абберации, что приводит к их
превращению в стволовые опухолевые
клетки, которые и дают начало
злокачественному новообразованию.*

ОСНОВНЫЕ ПОСТУЛАТЫ ТЕОРИИ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

- По происхождению опухоли моноклональны
- В каждой опухоли присутствует фракция СОК, способных индуцировать опухоли при введении иммунодефицитным мышам.
- СОК имеют определенные поверхностные маркеры, что позволяет выделять их из общей массы опухолевых клеток с помощью проточной цитофлуориметрии или различных вариантов иммуноселекции.
- Опухоли, развивающиеся из СОК, содержат смешанную популяцию стволовых (туморогенных) и не стволовых (не туморогенных) клеток, соответствующую гетерогенному клеточному составу исходной опухоли.

СОК ВПЕРВЫЕ ОБНАРУЖЕНЫ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ (ХМЛ)

ХМЛ – характеризуется специфической абберацией хромосомы [t (9,22) (q 34; 11)]

- «филадельфийская хромосома» (Фхр).

- укорочение плеча (утрата фрагмента) хр.22
- присоединение фрагмента к хр.9, а фрагмент хр.9 присоединяется к хр.22.

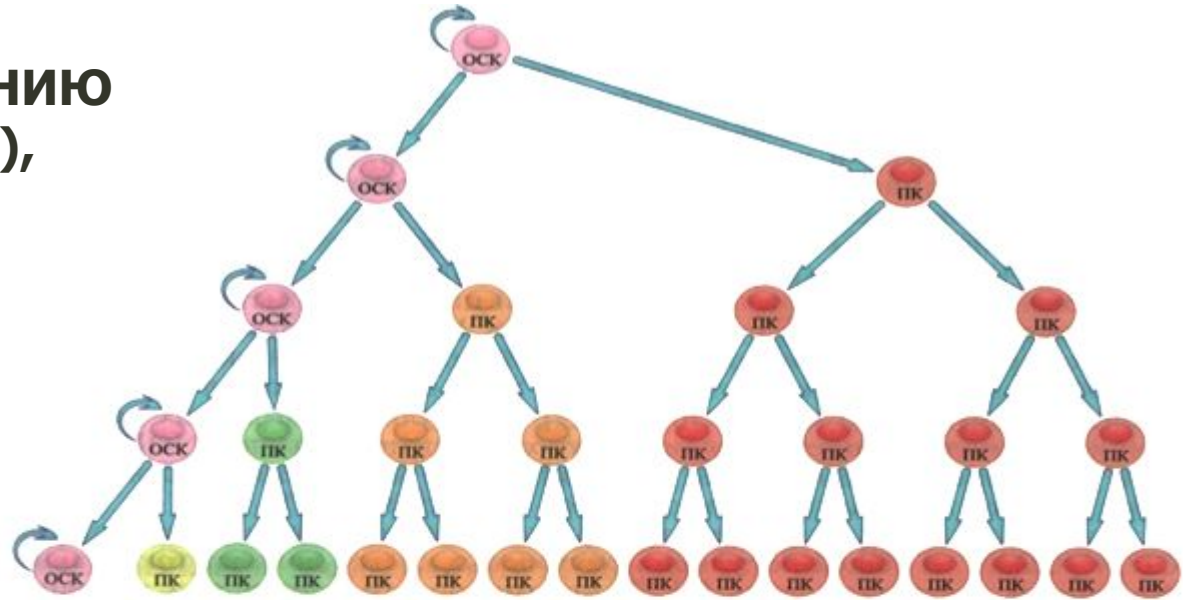
Фхр – при ХМЛ обнаруживается в метафазе всех 3-х гемапоэтических ростках, следовательно эта хромосомная абберация возникла в стволовой кроветворной клетке.

Фенотип СОК: CD34⁺ CD38⁻

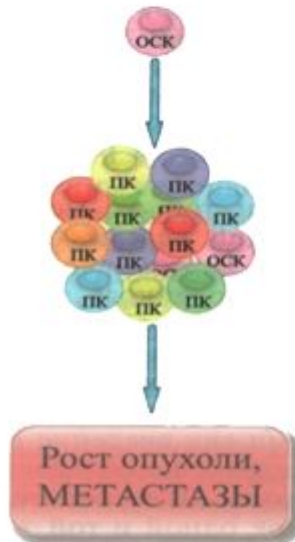
СВОЙСТВА ОПУХОЛЕВОЙ СТВОЛОВОЙ КЛЕТКИ:

СПОСОБНОСТЬ К САМОВОСПРОИЗВЕДЕНИЮ (КРУГЛАЯ СТРЕЛОЧКА), АСИММЕТРИЧНОМУ ДЕЛЕНИЮ И РАЗВИТИЮ ОПУХОЛИ

ПК – прогениторная клетка



Поскольку СОК анеуплоидны, то при их делении происходит неравномерное распределение генетического материала между дочерними клетками приводит к тому, что с ростом опухоли ее внутренняя гетерогенность нарастает



СОК – бессмертны. Они исходно имеют неизрасходованный пролиферативный потенциал и высокую активность теломеразы, которая «наращивает» концы хромосом

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Проточная цитофлуориметрия; Магнитная иммуноселекция;
Обогащение популяции опухолевых клеток СОК с помощью
селекции по устойчивости к противоопухолевым препаратам;
Обогащение популяции опухолевых клеток СОК при
культивировании в виде 3D-культур

МАРКЕРЫ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

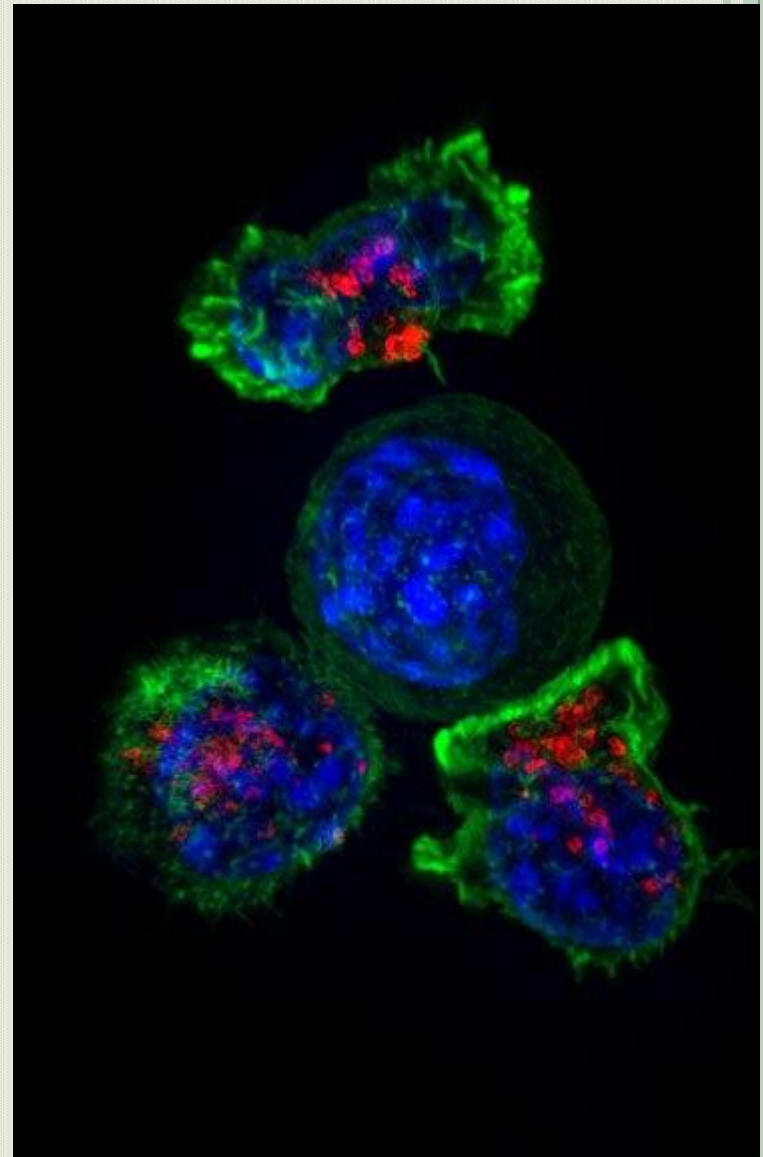
Опухоль	Маркер СОК
Рак молочной железы	CD 44 ⁺ CD24 ^{-low} Lin ⁻
Опухоли головного мозга	CD 133 ⁺
Опухоли головы и шеи (плоскоклеточная карцинома)	CD44 ⁺
Рак поджелудочной железы	CD44 ⁺ CD24 ⁺ ESA ⁺
Меланома	CD20, CD133 ⁺ , ABCG2 ⁺ , ABCB5 ⁺
Рак предстательной железы	CD44 ⁺ /α ₂ β ₁ ^{high} /CD133 ⁺
Рак толстой кишки	CD133 ⁺
Рак печени	CD133 ⁺

**ИЗУЧЕНИЕ НОРМАЛЬНЫХ ТКАНЕВЫХ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОТКРЫВАЕТ НЕ
ТОЛЬКО ПУТИ РЕГЕНЕРАТИВНОЙ
МЕДИЦИНЫ, НО И НОВЫЕ МИШЕНИ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ.**

В Стволовых Опухолевых Клетках
пытаются найти самые ранние маркеры
рака – т.е. генетические изменения,
общие для всех опухолевых клеток, а не
для отдельных популяций опухолевых
клеток

**Это могли бы быть мишени для
клеточной терапии**

*T-клетки-киллеры окружают
стволовую раковую клетку.
(Фото: NIH Image Gallery on Flickr).*



ПРОИСХОЖДЕНИЕ МЕТАСТАЗОВ ОПУХОЛИ

1. Большая часть ($\sim 95\%$) клеток опухоли – способны лишь к нескольким клеточным делениям («0» метастатический потенциал)
2. СОК ($\sim 0,1\%$) имеют неограниченный пролиферативный потенциал
3. Особая субпопуляция СОК ($< 0,1\%$) способна метастазировать = **МСОК**.

ПОВЕДЕНИЕ мСОК В МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ НИШЕ

1. Пролиферация → рост метастаза

2. Состояние покоя (дормантные мСОК) –
если отсутствуют внешние (со стороны организма)
или внутренние (со стороны ниши) стимулы.

NB. Генетические особенности мСОК в метастазе могут отличаться от таковых в исходной опухоли вследствие внутриопухолевой гетерогенности и асимметричного деления («ассорти»).

Активация дормантных СОК в метастатических нишах



Устойчивость нормальных СК и СОК к экологически неблагоприятным воздействиям

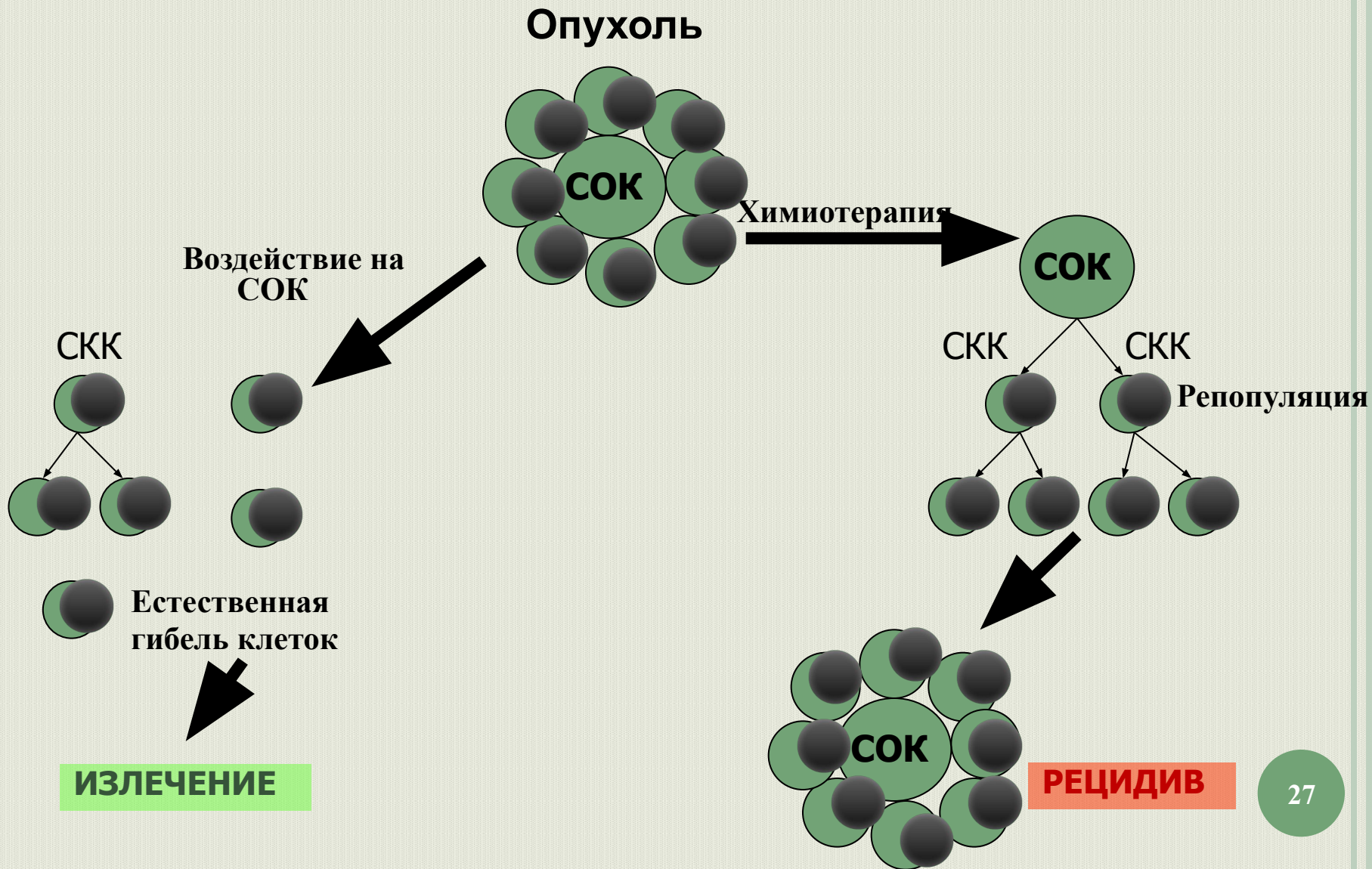
СК и СОК – особо охраняемый «фонд развития».

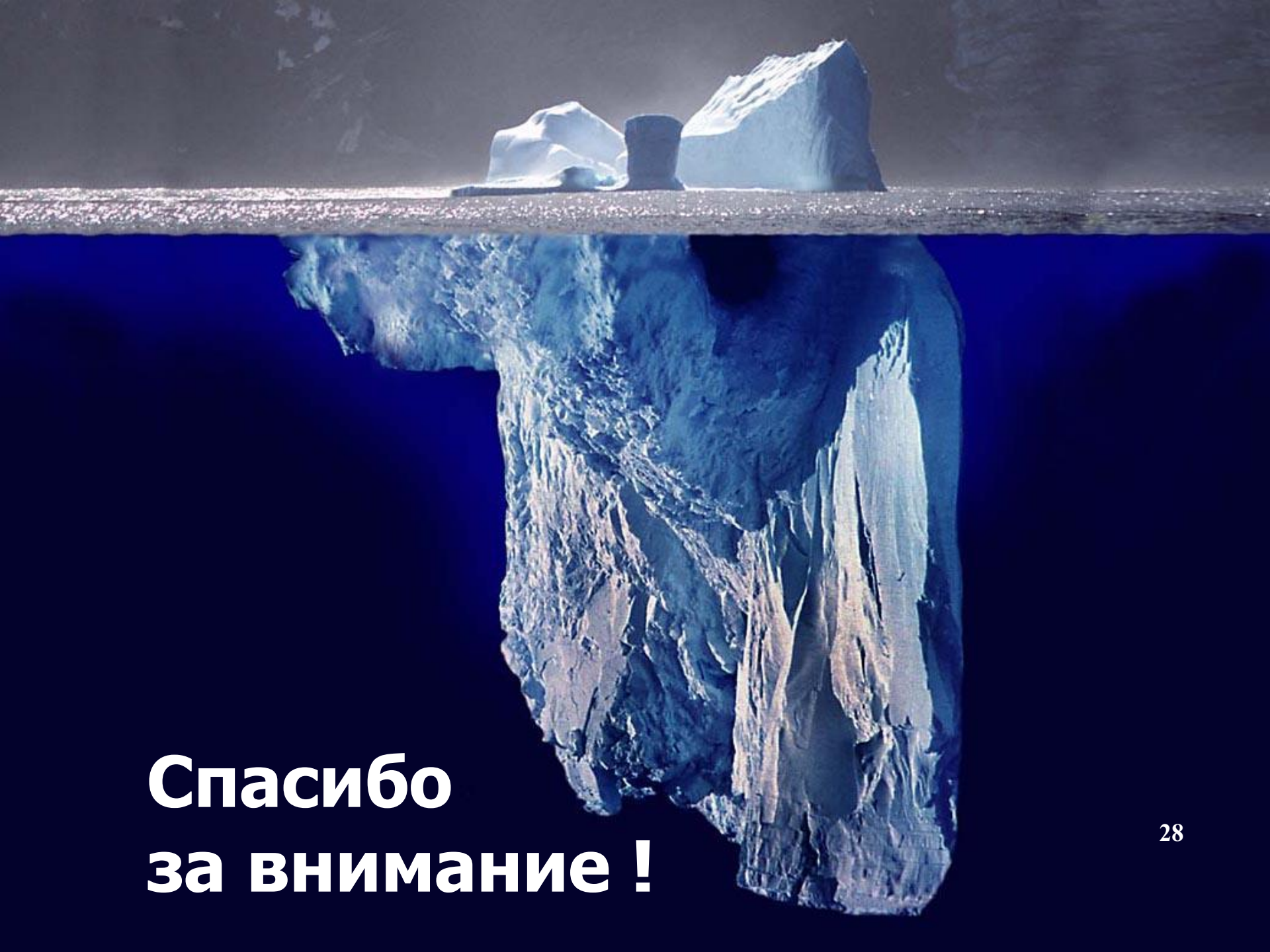
В нормальных СК и в СОК экспрессированы все механизмы резистентности (химио- , радио-) – это генетически и эволюционно обусловленная устойчивость к экологически неблагоприятным воздействиям.

МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

- 1. Высокое содержание ABC-транспортеров ABCB1/Pgp170, ABCG2/BCRP, ABCB5 обеспечивает:**
 - удаление противоопухолевых препаратов из ОСК и устойчивость к повреждающим агентам
 - удаление флуоресцентных красителей Hoechst 33342 и родамин-123 из ОСК и формирование неокрашенной популяции клеток (side population), что позволяет анализировать и выделять популяцию ОСК
- 2. Высокая активность систем репарации ДНК и антиоксидантных систем обеспечивает высокую устойчивость ОСК к действию ионизирующего излучения**
- 3. Высокая активность альдегиддегидрогеназы обеспечивает высокую устойчивость ОСК к действию алкилирующих агентов**
- 4. Состояние покоя**

МЕЧТА И РЕАЛЬНОСТЬ





**Спасибо
за внимание !**