

Д.Ф. Глузман, д. мед. н., профессор, С.В. Коваль, к. биол. н., Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии (ИЭПОР) им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, г. Киев

# Стволовые клетки в норме и при опухолевом росте

Международный научный форум

5-6 октября в г. Киеве в ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины прошла международная конференция «Стволовые нормальные и опухолевые клетки: открытие, диагностика и терапия».

Время и место проведения конференции были выбраны неслучайно. Ровно 40 лет назад по инициативе академика АН УССР Р.Е. Кавецкого, основателя и первого директора института (тогда – Институт проблем онкологии АН УССР), в Киеве состоялся 1-й Международный симпозиум «Роль стволовых клеток в лейкозо- и канцерогенезе». Спустя 6 лет в Киеве был проведен 2-й симпозиум – «Стволовые клетки и опухолевый рост», также организованный сотрудниками института. Материалы, представленные докладчиками на 2 первых симпозиумах, были опубликованы в 2 книгах, вышедших в академическом издательстве «Наукова думка»: «Стволовые и иммунокомпетентные клетки в норме и при опухолевом росте» (под ред. З.А. Бутенко, 1981) и «Стволовые клетки и опухолевый рост» (под ред. В.Г. Пинчука и З.А. Бутенко, 1985). Авторами ряда разделов этих коллективных монографий, посвященных изучению и характеристике уникального класса стволовых клеток различных тканей, способных к длительному самоподдержанию, их взаимодействию с клетками и внеклеточными структурами микроокружения, роли в возникновении различного типа новообразований и противоопухолевой резистентности организма, были ведущие отечественные и зарубежные ученые (Р.В. Петров, Г.И. Абелев, Б.Д. Брондз, Г.Я. Свет-Молдавский, А.Я. Фриденштейн, И.Л. Чертков, А.И. Воробьев, N.A. Mitchison, H. Seidel, E. Frindel, J. Bubenic, G. Petrani, S. Verceanu и др.). Многие из высказанных ими идей и предложенных гипотез не утратили своего значения до настоящего времени.

Работа сотрудников ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины по изучению роли стволовых клеток в канцеро- и лейкозогенезе продолжалась достаточно длительный период времени. Результаты их исследований нашли отражение в ряде монографий (З.А. Бутенко «Стволовые клетки и лейкоз». К.: Наук. думка, 1978; Ю.Б. Вахтин, В.Г. Пинчук, И.Н. Швемгергер, З.А. Бутенко «Клонально-селекционная концепция опухолевого роста». К.: Наук. думка, 1987; С.П. Осинский, Д.Ф. Глузман, Й. Клифф и др. «Молекулярная диагностика опухолей». К.: ДИА, 2007) и регулярно публиковались в периодических научных изданиях.

Необходимо отметить существенный прогресс в изучении данной проблемы в лабораториях многих стран, наметившийся в последующие десятилетия. В немалой степени этому способствовало создание лауреатами Нобелевской премии J. Kohler и C. Milstein гибридной технологии получения моноклональных антител (1975), использование мышей с выраженным комбинированным иммунодефицитом для гетеротрансплантации стволовых кроветворных клеток в норме (I.L. Weissman et al., 1988; J.E. Dick et al., 1989; 1996 и др.), разработка методов точной цитофлуориметрии. Все это позволило в конечном итоге впервые идентифицировать и охарактеризовать стволовые клетки при различных формах лейкозов человека (J.E. Dick et al., 2003), а затем стволовые опухолевые клетки при солидных новообразованиях ряда локализаций,



Президиум конференции. Выступает академик НАН Украины В.Ф. Чехун

что открыло широкие возможности для разработки методов таргетной терапии онкологических заболеваний.

На состоявшейся в ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины 3-й конференции, в работе которой приняли участие ученые из 14 стран, представившие результаты своих исследований в виде устных сообщений на пленарных сессиях и стендовых докладов, обсуждались следующие основные вопросы: нормальные стволовые клетки (способы их получения, использование в медицинской практике); идентификация стволовых опухолевых клеток (cancer stem cells) в культуре тканей и при новообразованиях у экспериментальных животных); стволовые клетки опухолей и мезенхимальные стволовые клетки (МСК) в новообразованиях человека.

В церемонии открытия конференции приняли участие президент НАН Украины, академик НАН Украины, доктор медицинских наук, профессор В.И. Цымбалюк и академик НАН и НАМН Украины, доктор биологических наук профессор С.В. Комиссаренко.

Во вступительном слове академика НАН Украины, директора ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого, доктора медицинских наук, профессора В.Ф. Чехуна, посвященном 40-летней годовщине проведения в Киеве 1-го Международного симпозиума «Роль стволовых клеток в лейкозо- и канцерогенезе», были представлены основные этапы изучения вопросов, связанных с ролью трансформированных стволовых клеток или их ближайших потомков в инициации опухолей различного генеза, сегодняшнее состояние данной проблемы, намечены подходы к использованию фундаментальных достижений в данной области для решения современных задач экспериментальной и клинической онкологии.

В докладе доктора биологических наук, профессора А.Ю. Петренко (г. Харьков) основное внимание в свете основ тканевой инженерии было уделено МСК, выделенным из тканей взрослого человека (костного мозга, жировой ткани, кожи, пульпы зуба), которые в условиях культивирования в специальных условиях способны к мультилинейной, в том числе остеогенной и адипогенной, дифференцировке.

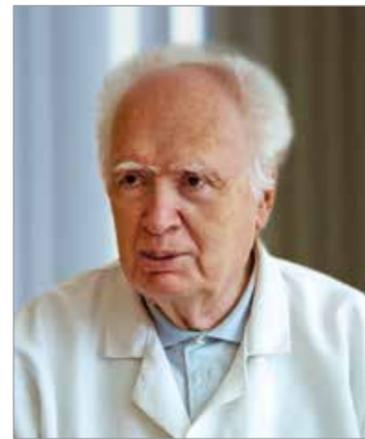
Т.О. Калиниченко (г. Киев) в своем сообщении отметила существенный прогресс

в разработке технологий получения, хранения и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), выделенных из крови сосудов пуповины. Докладчик подчеркнула важность и перспективность использования мирового опыта в этой области в лечебных учреждениях Украины.

Р.Г. Васильев (г. Киев) рассказал о большом потенциале применения в регенеративной медицине мультипотентных стволовых клеток нейрального гребешка, сохраняющихся в ряде тканей и органов взрослых млекопитающих. Группа исследователей с его участием получила подобные клетки из волосных фолликулов человека и изучила их морфологические признаки и функциональные свойства. Докладчик также представил результаты пилотного проекта по применению полученных клеток этого типа в лечении поврежденный спинного мозга и при дегенеративных изменениях межпозвоночных дисков.

Группой ученых (А.В. Златска и соавт., г. Киев) из эндометрия были выделены стромальные клетки, обладавшие свойствами МСК (прилипание к пластику, типичный фенотип, способность к дифференцировке *in vitro*). Исследователи пришли к заключению, что в связи со способностью МСК эндометрия к выработке хемокинов и факторов роста представляется перспективным их использование в регенеративной медицине.

Доктор медицинских наук, профессор Д.Ф. Глузман (г. Киев), основываясь на результатах многолетних исследований цитохимических и иммунофенотипических признаков наименее дифференцированных клеток при миелоидных и лимфоидных формах острых лейкозов, представил новые данные об их нормальных аналогах – родоначальных клетках гемопоэза (полипотентных стволовых клетках



Д.Ф. Глузман

и кроветворных клетках – предшественниках различных линий гемопоэза). Подобный подход является перспективным для понимания иерархии гемопоэтических клеток в классических схемах кроветворения и создания современной модели гемопоэза.

О. Корчинский (г. Жешув, Польша) отметил, что изучение молекулярных механизмов дифференцировки МСК и исследование экспрессии различных генов, участвующих в регуляции остеогенеза, открывают новые возможности для эффективного воздействия на регенерацию костной ткани.

На заседании, посвященном изучению стволовых клеток опухолей в культуре ткани и при экспериментальном опухолевом росте, был представлен важный в теоретическом плане доклад академика НАН Украины А.Н. Гольцева (г. Харьков), который с группой соавторов провел фенотипический анализ субпопуляционного состава различных по уровню дифференцировки клеток карциномы Эрлиха у мышей линии BALB/c. В ходе оригинальных экспериментов была показана ключевая роль популяции стволовых неопластических клеток с фенотипом CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-</sup> в поддержании роста опухолей. Коллеги из Харькова представили также новые данные о криоконсервировании как факторе, контролирующем состояние клеток в стволовом клеточном компартменте.

Большой интерес у участников конференции вызвал доклад профессора Г. Эркан (г. Измир, Турция) о противоопухолевой активности естественных клеток-киллеров (ЕКК), дифференцирующихся из МСК жировой ткани человека, трансфицированных микроРНК 150. ЕКК-подобные клетки индуцировали апоптоз в клетках при совместном культивировании с неопластическими клетками PANC1. Указанный эффект сопровождался снижением экспрессии онкогена и увеличением экспрессии гена – супрессора опухолей. Результаты указывают на необходимость проведения дальнейших исследований, которые привели бы к созданию новых иммунотерапевтических подходов в лечении больных со злокачественными новообразованиями.

Актуальные аспекты проблемы связи МСК и онкогенеза нашли отражение в докладе доктора медицинских наук, профессора Н.М. Бережной (г. Киев). МСК, являющиеся важнейшим компонентом соединительной ткани, обнаруживаются



в костном мозге, пульпе зуба, жировой ткани и других органах и тканях. Эти клетки, не экспрессирующие маркеров ГСК, обладают свойствами адгезии, способны дифференцироваться в остеобласты, хондроциты, адипоциты, миофибробласты и др. МСК секретируют различные растворимые факторы и цитокины, в том числе стимулирующие рост опухолей, такие как ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, TGF $\beta$ , HPG. Автор привела важные данные, свидетельствующие о взаимодействии МСК с опухолевыми клетками, которое приводит к усилению их метастатического потенциала и эпителиально-мезенхимального перехода, а также развитию резистентности к действию ряда химиопрепаратов. Докладчица детально проанализировала механизмы иммуносупрессивного действия МСК.

Доклад **И. Киндрат** (Украина) был посвящен изучению механизмов гепатоканцерогенеза. По данным автора, культивирование клеток печени человека (гепатоциты, линия НераРС) в условиях хронического воздействия малых доз неорганического мышьяка приводит к существенным изменениям метаболизма, утрате функций гепатоцитов и активации клеток со свойствами стволовых клеток рака печени.



Выставка новых технологий

В докладе **И. Хорак** (Украина) были представлены материалы, свидетельствующие, что адапторный белок Ruk/CIN85 является ключевым регуляторным фактором, участвующим в приобретении признаков стволовых клеток клетками рака грудной железы (РГЖ).

Доктор биологических наук, профессор **Н.И. Лисняк** (г. Киев) сделал сообщение о варьировании содержания CD113<sup>+</sup> стволовых опухолевых клеток в новообразованиях головного мозга различного гистологического строения. Группа исследователей с участием докладчика установила, что с помощью иммуногистохимических методов CD113<sup>+</sup> клетки более часто определяются в злокачественных опухолях (глиобластомах, медуллобластомах). Именно эти клетки в наибольшей степени ответственны за возможное возникновение рецидивов и развитие резистентности к лекарственным препаратам.

Количественный анализ связи CD44<sup>+</sup>CD24<sup>-/low</sup> с маркерами агрессивности клеток при РГЖ с использованием культуры *in vitro* был выполнен Т.В. Борикун и рядом других сотрудников отдела, возглавляемого профессором В.Ф. Чехуном.

**Д.Е. Рыспаева** (Киргизия) рассказала о проведенном иммуногистохимическом исследовании биоптатов при инвазивном РГЖ у 45 больных. Было установлено, что изучение экспрессии антигенов CD44 и CD24 и выявление клеток с иммунофенотипом CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup> пока не может служить надежным показателем для характеристики возможного клинического течения заболевания и оценки прогноза.

В сообщении **Е.В. Шайды** (г. Киев) были представлены результаты изучения 5-летней выживаемости 143 детей с нейробластомой (77 из группы стандартного риска и 69 – высокого риска), подвергшихся миелоаблативной терапии с последующей трансплантацией аутологических стволовых кроветворных клеток, выделенных из периферической крови. Больные в 2007-2016 гг. находились на лечении в детском отделении Национального института рака. Показатели общей 5-летней выживаемости в первой группе в целом составили 67%, во второй – 30,4%. Существенное влияние на уровень выживаемости оказывали также такие факторы, как возраст больных и наличие в клетках опухоли амплифицированного гена *N-MYC*.

В докладе **А. Dubrovska** (г. Дрезден, Германия) на примерах плоскоклеточного рака головы и шеи, рака предстательной железы были рассмотрены вопросы гетерогенности и пластичности стволовых опухолевых клеток, механизмы, лежащие в основе возникновения рецидивов. Особое внимание автор уделила аспектам эпигенетического и метаболического репрограммирования, которые могут быть положены в основу повышения чувствительности клеток к лучевой терапии.

Механизмы взаимодействия митохондриального рибосомального белка S18-2 и белка, ассоциированного с ретинобластомой, были освещены в докладе **Е. Кашубы** (Украина).

Важные информационные сообщения сделали **И.В. Лисовая** (BioLabTech Co, Украина) – «Современное оборудование для клеточной биологии» – и **В. Ситко** (Medcoswiss Ukraine, Украина, Польша) – «QIAGEN» – для молекулярной диагностики в онкологии».

О разработке новых методов диагностики опухолей рассказала **А. Шнирова** (Bio-Rad Laboratories, Украина). С методами мониторинга генетической стабильности МСК слушателей ознакомила **Е.Н. Яременко** (The SmartCell Biotechnology, Украина).

Новые научные данные были представлены также в ряде стендовых докладов, посвященных получению различных типов клеток для использования в регенеративной медицине (**О.С. Губарь** и соавт., г. Киев), экспрессии молекул адгезии на мезенхимальных клетках в культурах *in vitro* (**Н. Ishkitiev** и соавт., Болгария), влиянию тромбоцитарного фактора роста на пролиферацию и свойства стволовых клеток (**З. Mihaylova** и соавт., Болгария), МСК в трансплантатах костного мозга (**М.Е. Оспанова** и соавт., Казахстан), эпителиально-мезенхимальным переходам в линии стволовых клеток человека 4BL (**Л.Л. Лукаш** и соавт., г. Киев), пульпе зуба как источнике получения МСК в постнатальном периоде (**Р. Tsikandelova** и соавт., Болгария), влиянию стволовых клеток костного мозга и ряда растворимых факторов на биологические свойства эпителиально-мезенхимальной трансформации при РГЖ (**Н.А. Безденежных, А.А. Лихова, Ю.И. Кудрявец**, г. Киев), характеристике клеток, выделенных из ткани РГЖ до и после неoadьювантной химиотерапии (**И. Sakstina** и соавт., Латвия), эффективности терапии больных РМЖ с учетом профиля содержания ДНК в неопластических клетках (**В.И. Герашенко, К. Salmina, J. Eglitis, J. Erenpreisa**, Украина, Латвия).

В ходе закрытия конференции участники обменялись мнениями о докладах, своими мыслями и идеями по дальнейшему изучению нормальных и неопластических стволовых клеток.

Исследователи, работающие в этой области, могут детально ознакомиться с материалами форума (лекциями, тезисами докладчиков) в журнале *Experimental Oncology*, 2017, 39, № 3, с. 161-256.