

реакции «битва-бегство». Это легко доказать тем, что при отсутствии физического компонента реакции (т. е. самой «битвы» и «бегства») имеет место не просто невозможность адаптации к данному конкретному стрессору (как случилось бы, если бы при действии другого стрессора произошло блокирование какого либо компонента стресс-реакции), а развиваются болезни адаптации. Это прямо указывает на то, что

для отражения как раз такого внешнего влияния возникла стресс-реакция, она для них «собственная», специфическая.

Исходя из сказанного, желательно введение такого термина, который охватывал бы весь спектр защитно-приспособительных реакций и явление поражения организма, и тем самым снял ту терминологическую и смысловую путаницу, которая существует вокруг понятия стресса.

Литература

1. Фурдуй Ф.И., Бабарэ Г.М. и др. Функциональное состояние некоторых эндокринных желез при чрезвычайных воздействиях и роль этих желез в приспособительных реакциях организма // Сб. науч. трудов: Актуальные проблемы стресса. - Кишинев: Штиинца, 1976, - С.243-259.
2. Кассиль Г.Н. Внутренняя среда организма. - М.: Наука, 1986. - 227 с.
3. Физиология адаптационных процессов. - М.: Наука, 1986. - 635 с.
4. Данилова Н.Н., Крылова А.Л. Физиология высшей нервной деятельности. - Изд. Моск. у-та, 1989. - С. 336-337.
5. Фурдуй Ф.И. Современные представления о физиологических механизмах развития стресса // Сб. науч. трудов: Механизм развития стресса. - Кишинев: Штиинца, 1987. - С. 8-33.
6. Медведев О.С. Метаболическая оправданность гемодинамических реакций // Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения. - Л.: Наука, 1986. - С. 519-525.

УДК

ВЕРСИЯ ПРИОСТАНОВЛЕНИЯ РАЗМНОЖЕНИЯ, ИНВАЗИИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Мацаберидзе М.И.

Грузинский технический университет, г.Тбилиси

Клеточный цикл

За последние несколько лет исследования в области клеточного цикла привели к потрясающему открытию - у эукариот (все живые организмы, за исключением бактерий и вирусов) клеточный цикл в значительной степени определяется изменениями активности одного-единственного белка, обозначаемого *cdc 2*.

В начале 70-х годов И.Масуи из Йельского университета и Л.Смит - сотрудник Аргонской национальной лаборатории (США) независимо друг от друга идентифицировали вещество от которого зависит начало митоза и мейоза. Масуи назвал это вещество фактором созревания MPF (maturation promoting factor). В дальнейшем и другими исследованиями было доказано, что MPF, который удалось выделить в 1988 г., является главным регулятором как митоза, так и мейоза.

Генетические исследования клеточного цикла начались в 70-х годах работами Л.Хартуэлла из Вашингтонского университета (США). Впоследствии были открыты важнейшие гены, под общим названием *cdc* (*cell-division cycle* - цикл клеточного деления).

П.Нерс из Эдинбургского университета (Великобритания) в 1975 г. идентифицировал мутации, блокирующие клеточный цикл на различных стадиях, и определил последовательность активации генов *cdc* в норме. При определенных мутациях гена *cdc 2* образуется неактивный белок и деление клетки предотвращается. Другие его мутации, наоборот, приводят к тому, что клетка вступает в митоз, раньше, чем в норме. Аминокислотные последовательности белков-продуктов *cdc 2* были установлены в 1987 г. Сегодня известно, что этот белок играет ключевую роль в митозе всех эука-

риот. Все его варианты называются *cdc 2* независимо от того, какому организму они принадлежат. Белки *cdc 2* относятся к протеинкиназам – ферментам, которые переносят фосфатные группы от аденозинтрифосфата (АТФ) на молекулы белков. В последние годы стало ясно, что присоединение или удаление фосфата является основным средством регуляции активности клеточных белков (удаление фосфатной группы осуществляется ферментами, называемыми фосфатазами).

Параллельно с генетическими исследованиями, продолжалось изучение и самого МРФ. В 1988 г. М.Локе и Дж.Маллер из медицинской школы Колорадского университета (США) выделили это вещество и показали, что его молекула состоит из двух субъединиц.

В начале 80-х годов Т.Хант из Кембриджского университета установил, что вторым компонентом МРФ наряду с *cdc* является необычный белок циклин, который исчезает в конце митоза в результате быстрой деградации и накапливается в интерфазе, поскольку расщепляется в это время гораздо медленнее, чем синтезируется.

В 1987 г. Эндрю У.Мюррей и Марк У.Киршнер, а также независимо К.Форд и его коллеги из Сассекского университета в ходе экспериментальных исследований клеточного цикла установили, что, во-первых, клеточные циклы продолжают, даже если заблокировать синтез всех белков, за исключением циклина; во-вторых, Т.Хантом экспериментально доказано, что при избирательном блокировании синтеза циклина (образование других белков продолжалось) клеточный цикл останавливался на интерфазе.

В своих опытах Э.Мюррей и М.Киршнер установили, что циклин накапливается во время интерфазы и быстро разрушается в ходе митоза. Быстрота деградации навела их на предположение, что клетки не способны завершить митоз до тех пор, пока сохраняется циклин, и когда в клетках индуцировали синтез укороченных молекул циклина, способных индуцировать митоз, но не подверженных деградации, деление ядер не завершалось и клеточный цикл застопоривался на митозе.

Самого по себе присоединения циклина к белку *cdc 2* недостаточно для активации этого комплекса. Для функционирования МРФ необходимо чтобы как *cdc2*, так и циклин подверглись определенным модификациям в результате других реакций.

Хотя белок *cdc 2* является главным регулятором клеточного цикла в клетках эукариот и белки, его модифицирующие, одинаковы во всех клетках, регуляция этой протеинкиназы в деталях может различаться у разных организмов и в различных типах клеток одного и того же организма.

В одних случаях активация комплекса *cdc 2*-циклин осуществляется белком *cdc 25*, в других - самим циклином, в третьих - другими модуляторами. Концентрация белка *cdc 2* все время поддерживается на постоянном уровне. Циклин тоже синтезируется постоянно, однако его концентрация возрастает во время интерфазы и уменьшается в ходе митоза. По мере накопления циклина в течение интерфазы он связывается с молекулами *cdc 2* с образованием так называемого пре-МРФ. Эта форма МРФ еще не активна: она не способна переносить фосфатные группы на молекулы белков и не может индуцировать митоз. Затем под действием ферментов, подобных *cdc 25*, пре-МРФ превращается в активный МРФ, прямо и косвенно иницируя все основные события митоза. Активный МРФ не только управляет процессами, ведущими к физическому делению ядра и остальной клетки, он также активирует ферменты, при участии которых происходит деградация циклина. Митоз завершается, когда концентрация циклина опускается ниже некоторого предела. В отсутствие циклина белок *cdc 2*, а следовательно и МРФ не могут оставаться активными. Сегодня известно, что в соматических клетках эмбриона на поздних стадиях его развития начало репликации ДНК в интерфазе регулируется так же строго, как и вступление в митоз. Этот второй (после митоза) важнейший контрольный момент впервые установил Л.Хартуэлл, назвав его стартовым переходом. Обычно клетки, лишенные необходимого питания, приостанавливают клеточный цикл на стартовом переходе.

Регуляция стартового перехода во многом напоминает регуляцию митоза. Весь процесс тоже определяется активацией белка *cdc 2*, для которой, в свою очередь, требуется накопление циклина. Однако циклин, участвующий в стартовом переходе, не идентичен циклину, который имеет значение для митоза. Существуют два класса циклина: от одного зависит вступление клетки в митоз и мейоз, а от другого, который по структуре очень близок первому, – репликация ДНК.

Успехи, достигнутые в исследованиях за прошедшие 30 лет, особенно за последние годы

доказали, что регуляторы клеточного цикла – белок *cdc 2*, циклин и модуляторы вроде *cdc 25* – являются основными регуляторами клеточного цикла у всех эукариотических организмов.

Инвазия и метастазирование раковых клеток

Термин “метастаз” ввел французский врач Жозеф Клод Рекамье в опубликованной в 1929 г. монографии “*Recherches du Cancer*” (“Исследования рака”). Он впервые представил анатомические доказательства того, что причиной метастазов является раковые клетки, которые попадают в кровоток и переносятся в удаленные от исходной опухоли участки тела. Еще до Рекамье хирурги и анатомы заметили, что границы опухоли могут расширяться путем клеточной колонизации соседних тканей и лимфоузлов, но считалось, что колонии опухолевых клеток в более отдаленных участках организма возникают независимо. Рекамье описал местную инфильтрацию, инвазию раковой ткани в стенки вен.

Недавние исследования метастазирования показали, что этот процесс представляет собой цепь сложных преобразований, при которых лишь ничтожная доля опухолевых клеток – менее одной на 10 тысяч, оставляющих первичную опухоль, выживает и дает начало новой злокачественной колонии.

Опухоль индуцирует самообеспечение новыми кровеносными сосудами. Этот процесс называется ангиогенезом, предназначенным для питания быстро разрастающейся массы клеток (J.Folkman. *The Vascularization of Tumors*. // “*Scientific American*”. –May. –1976).

Стенки новообразованных кровеносных сосудов в опухолях частично проницаемы, так что злокачественные клетки относительно легко проникают в просвет сосудов. Любое разветвление кровеносных сосудов в опухолевой ткани является потенциальным участком проникновения ее клеток в кровоток. Лимфатические сосуды также доступны для проникновения опухолевых клеток, но опухоли не индуцируют образование собственной сети лимфатических сосудов. В норме лимфатические сосуды откачивают избыток внеклеточной жидкости из тканей, так что отсутствие лимфатической системы в опухолях может вносить некоторый вклад в создание гидростатического давления в опухолевой ткани. Впервые это было показано П.Гуллино в институте патологической анатомии в Турине (Италия). Это внутреннее давление может по-

вреждать опухоль и тем самым помогать организму-хозяину благодаря тому, что пережимаются слабые кровеносные сосуды и участки опухолевой ткани лишаются кислорода и питания. Отсутствие внутриопухолевых лимфатических сосудов означает также, что раковые клетки могут проникать в лимфатическую систему хозяина только на границе опухолевой и нормальных тканей.

Опухолевые клетки обычно перемещаются по вене или лимфатическому сосуду, пока не застрянут где-нибудь “ниже по течению” или в лимфоузле из-за сужения сосуда либо прикрившись к его внутренней выстилке. В большинстве случаев метастазирующая клетка после того, как проходит через сердце, где-либо закрепляется. Исходя из чисто анатомических соображений, можно предсказать, где будет формироваться 60% метастазов первичной опухоли. Обычно таким местом для многих опухолей являются легкие, поскольку из сердца вся кровь прокачивается через легочные капилляры, прежде чем разносится по остальным тканям организма. При раке толстой кишки метастазы часто возникают в печени, которая получает прямой приток венозной крови из толстого кишечника.

Когда метастазы образуются не в ожидаемых местах, это обычно связано с тем, что циркулирующие опухолевые клетки находят там особую благоприятную почву для выживания и роста, которая может обеспечиваться какими-либо гормонами или факторами роста, избирательно стимулирующими опухолевые клетки. Концентрационные градиенты определенных белков, выделяемых органами-мишенями, также могут привлекать опухолевые клетки и побуждать их мигрировать из кровяного русла.

Подавляющее большинство опухолевых клеток, задерживающихся в капиллярах или лимфоузлах, погибают там в результате механических повреждений, возникающих из-за завихрений потока крови, или атаки со стороны защитных сил организма. Однако в течение 8–24 часов часть выживших опухолевых клеток начинает внедряться в стенку сосуда и в конце концов покидает кровоток.

Не все проникшие в нормальную ткань опухолевые клетки способны выжить и дать начало очагу злокачественного роста. Новые колонии образуют только те опухолевые клетки, которые, осев в ткани, приступают к пролиферации (размножению). Это может стимулироваться различными воздействиями, включая местные факторы роста и гормоны, производимые орга-

низмом-хозяином, а также аутостимулирующими факторами роста, провоцируемыми самими опухолевыми клетками. Только что образовавшиеся метастазные колонии могут разрастаться лишь при условии достаточного обеспечения питанием благодаря опухолевому ангиогенезу. Полностью сформировавшиеся вторичные опухоли имеют собственное кровоснабжение, а значит могут стать новым источником циркулирующих опухолевых клеток. Таким образом, метастазные колонии сами могут метастазировать и, следовательно, ускорять ухудшение состояния больного.

В Национальном институте рака (США) в начале 90-х годов Ланс А.Лиотт и сотрудники начали исследования по выяснению фундаментальных основ инвазии и метастазирования рака на двух уровнях:

1. Биохимические механизмы инвазии, действующие на клеточной поверхности.

2. Генетические механизмы внутри опухолевых клеток, которые делают метастазирование возможным. Удалось идентифицировать ряд генов и белков, которые регулируют некоторые стороны инвазии и метастазирования. Исследователи группы Л.А.Лиотта изучавшие метастазирование, обработали клетки метастазирующих опухолей агентами, блокирующими клеточное деление, и затем анализировали способность этих клеток проникать через тканевые барьеры. Оказалось, что подавление деления не влияет на процесс инвазии. Они сделали вывод, что давление, возникающее вследствие роста опухоли, не требуется для проникновения раковых клеток через тканевые барьеры. Инвазия опухолевых клеток представляет собой активный процесс.

Для злокачественности, способности опухоли к метастазированию, необходима инвазия. "Качество" опухоли определяется при патологоанатомическом анализе по виду ее краев. Доброкачественные опухоли, не обладающие инвазивными свойствами, характеризуются четко очерченной границей, обусловленной давлением со стороны опухоли и смещением окружающих тканей. И наоборот, злокачественные опухоли характеризуются слабо выраженной границей, называемой фронтом инвазии, где индивидуальные опухолевые клетки активно мигрируют от первичной опухолевой массы.

В сложных биохимических событиях, происходящих во фронте инвазии, участвуют как опухолевые клетки, так и клетки нормальной ткани. Первый барьер образуют клетки эндо-

телиа, выстилающие изнутри кровеносные и лимфатические сосуды. Эксперименты, проведенные Г.Николсоном из больницы Андерсона в Хьюстоне, показали, что опухолевые клетки могут обладать специальными адгезивными свойствами относительно поверхности эндотелия. Связывание опухолевых клеток со слоем эндотелиальных клеток вызывает сокращение последних и обнажение подлежащей ткани. Таким образом, опухолевые клетки в процессе инвазии, как бы понуждают клетки эндотелия к кооперации.

Под клетками эндотелия находится более прочный барьер – межклеточный матрикс. Одной из специализированных форм матрикса является базальная мембрана, обволакивающая кровеносные сосуды, мышечные клетки и нервные волокна. К базальной мембране прилегает матрикс другого типа, называемый интерстициальной стромой, которая поддерживает прочие клетки и лимфатические сосуды. Роль межклеточного матрикса заключается частично в том, что он служит опорой при росте тканей. Матрикс также обеспечивает избирательную проницаемость для транспорта белков и других веществ между клетками, через стенки кровеносных сосудов и в процессе фильтрации в почках. Кроме того, он выполняет роль механического барьера при инвазии опухолевых клеток.

Популяции клеток по разные стороны межклеточного матрикса в норме не перемешиваются даже при заживлении ран или при развитии органов в ходе эмбриогенеза. Злокачественные клетки тем не менее легко проникают в межклеточный матрикс, пересекают границы тканей и поселяются в новом месте. Разрушение базальной мембраны является характерным признаком фронта инвазии всех раковых опухолей человека. Метастазирующие опухолевые клетки определяет свойственная им тенденция к разрушению образуемых межклеточным матриксом границ и к смешиванию с клетками типов, отличных от тех, которые формируют ложе исходных опухолей.

Непрерывная базальная мембрана, окружающая кровеносные сосуды, обычно не имеет достаточно крупных пор или каналов для пассивного прохождения по ним опухолевых клеток. Следовательно, метастазирующие опухолевые клетки, покидая кровоток, находят другой путь проникновения через базальную мембрану.

Для изучения этого процесса на выделенную базальную мембрану поместили метастазные

клетки, которые немедленно прикрепилась к ней. Под прикрепившимися опухолевыми клетками образовалась зона лизиса, в которой происходила фрагментация белков базальной мембраны. В конце концов опухолевые клетки внедрились и проникли через разрешенный участок базальной мембраны.

Исследованиями доказано, что проникновение опухолевых клеток через барьер базальной мембраны осуществляется в три этапа. На первом происходит прикрепление клеток к базальной мембране. Это определяется специфическими рецепторами на клеточной поверхности, распознающими компоненты базальной мембраны. На втором активизируются ферменты деструкции, которые разрушают или перестраивают молекулы базальной мембраны непосредственно под опухолевыми клетками. На третьем этапе опухолевые клетки вытягивают псевдоподии (амебоидные ложноножки) в зону лизиса, что сопровождается миграцией самих клеток.

Три этапа инвазии опухолевой клетки - адгезия, ферментативная модификация базальной мембраны и миграция - должны быть тесно скоординированы и упорядочены во времени. Пока продвигающийся фронт клеточной поверхности активизирует ферменты для разрушения препятствующих молекул, задняя часть клетки должна оставаться прочно прикрепленной к межклеточному матриксу. Как только откроется путь вперед, должно произойти переключение активностей, с тем чтобы ферменты деструкции прекратили свое действие и клетка могла продвинуться. Такое переключение необходимо, так как чтобы двигаться поступательно, внедряющейся в ткань опухолевой клетке нужно как бы ухватиться за матрикс в направлении движения, переместиться вперед и ликвидировать все связи с матриксом на задней стороне клетки. Другими словами, опухолевая клетка должна одновременно рыть туннель, цепляться за его края и продвигаться вперед.

Такое удивительное поведение встречается не только у опухолевых клеток. Время от времени нормальные клетки также приобретают способность к инвазии в окружающие ткани. Нормальное инвазивное поведение характерно, например, при имплантации плаценты в стенки матки и при формировании органов в ходе эмбрионального развития. Лейкоциты (белые клетки крови) могут проникать через стенки сосудов и достигать участков воспаления. Сети кровеносных сосудов устанавливаются благодаря

миграции и инвазии клеток эндотелия, которые проходят сквозь барьеры межклеточного матрикса и размещаются в тех участках тканей, которые нуждаются в питании и кислороде.

Во всех этих случаях механизм инвазии нормальных клеток в общих чертах, скорее всего, такой же, как и у опухолевых клеток. Тем не менее существует критически важное различие в регуляции этих процессов. Инвазия нормальных клеток при исчезновении побудительных стимулов прекращается, а злокачественные клетки могут безостановочно мигрировать, пересекая тканевые барьеры там и тогда, где и когда это совершенно неприемлемо для нормальных клеток.

Регуляторные белки негативного действия (подавляющие инвазивное поведение нормальных и раковых клеток) могут быть так же важны в поддержании агрессивности клеток, как и позитивно действующие факторы. Это позволило предположить существование генов-супрессоров метастазирования, т. е. генов, которые кодируют белки, способные подавлять ключевые этапы метастазирования.

Концепция генов, подавляющих метастазирование, перекликается с исследованиями Р. Вайнберга из Уайтхедовского института (США) и Б. Фогельштейна из Университета Джонса Гопкинса, которые продемонстрировали важность генов, подавляющих рост раковых клеток. Вайнберг и Фогельштейн предположили, что утрата или мутации определенных регуляторных генов, таких как ген *p 53* или ген, обуславливающий ретинобластому, приводят к аномальному неконтролируемому росту клеток - первому этапу в развитии рака. Следующим критическим этапом является переход опухолей от простого роста к инвазии и метастазированию.

В процессе перехода от роста к инвазии и метастазированию вследствие генетических событий в опухолевых клетках усиливается образование белков, стимулирующих миграцию, и ферментов, расщепляющих межклеточный матрикс. В тех же самых клетках прекращается экспрессия белков, подавляющих метастазирование, которые в норме блокируют превращение клеток доброкачественных опухолей в метастазирующие.

В ходе исследований обнаружено, что выраженная склонность к инвазии связана с усиленным образованием расщепляющих белки ферментов, относящихся к классу металлопротеиназ. При исследованиях клеток человека оказалось, что повышенный уровень метал-

лопротеиназ в опухолях коррелирует с развитием инвазии и метастазирования, что наблюдалось при раке молочной железы, толстой кишки, желудка, щитовидной железы, легких и печени.

Сегодня известны до десяти представителей семейства генов, кодирующих металлопротеиназы. Все эти ферменты обладают сходной структурой, но существенно различаются по типам белков, которые они расщепляют. Одним из важных белков, расщепляемых металлопротеиназами, является, например, коллаген, палочкообразные трехспиральные молекулы которого формируют каркас межклеточного матрикса. Разновидность этого белка, называемая коллагеном, образует структурный скелет базальной мембраны. Для различных тканей характерны другие разновидности коллагена.

Для преодоления разнообразных тканевых барьеров опухолевыми клеткам требуется не одна металлопротеиназа, а ряд таких ферментов с различной специфичностью; то же касается и других классов ферментов деструкции. Чтобы установить, действительно ли металлопротеиназы необходимы для инвазии, в Национальном институте рака (США) Лиотт и сотрудники обрабатывали опухолевые клетки антителами, избирательно блокирующими определенные ферменты этого семейства. В этих опытах наблюдалось полное подавление инвазивного поведения опухолевых клеток. Все металлопротеиназы образуются исходно в неактивной форме, совершенно не способной расщеплять какие-либо белковые молекулы. Отсутствие активности здесь обусловлено высокой консервативной последовательностью из девяти аминокислот, присутствующей на одном из концов молекулы у всех металлопротеиназ. В этой последовательности имеется необычайно реакционноспособный остаток цистеина. Содержащий ее конец молекулы в неактивной форме складывается так, что этот остаток цистеина взаимодействует с ионом металла в активном центре фермента, блокируя способность расщеплять белки-мишени. Таким образом, металлопротеиназы изначально несут свой собственный встроенный ингибитор.

Металлопротеиназа приобретает активность, когда форма ее молекулы изменяется так, что пептид (участок белка), содержащий реакционноспособный остаток цистеина, удаляется от иона металла в активном центре. Затем данный пептид отщепляется и фермент становится постоянно активным.

А. Лиотт и его коллеги, изучая конформационные изменения металлопротеиназ в образцах опухолей человека, обнаружили, что эти ферменты действительно переходят в форму, проявляющую полную активность.

Однако даже активированная металлопротеиназа не может расщеплять свой мишени в присутствии мощного тканевого ингибитора металлопротеиназ ТИМР (tissue inhibitor of metalloproteinase). Подобно тому, как существует семейство металлопротеиназ, есть и семейство ТИМР, включающее по крайней мере два белка – ТИМР-1 и ТИМР-2. Они ингибируют все активные металлопротеиназы, но ТИМР-2 обладает дополнительным специальным средством с латентной, или неактивной формой коллагеназы α (металлопротеиназы, расщепляющей коллаген α).

ТИМР, образующиеся в нормальных тканях, таких, как хрящевая и костная, могут играть важную роль в предохранении межклеточного матрикса от излишнего разрушения. Они защищают также нервы, предотвращая повреждение базальных мембран, окружающих нервные волокна. Эти белки могут служить регуляторами клеточного роста в кровеносных сосудах и костном мозге.

Опухолевые клетки тоже могут секретировать ТИМР. Так, например, ТИМР-2 образуется во многих опухолях. Та же злокачественная клетка, которая синтезирует какую-либо металлопротеиназу, может производить и ее ингибитор. Ферментативная активность будет проявляться только тогда, когда число молекул металлопротеиназы превысит число молекул ТИМР. Следовательно, в этом и в других аспектах инвазия опухолевых клеток зависит от баланса позитивно и негативно действующих белковых регуляторов.

Таким образом, ТИМР являются супрессорами метастазирования. В ряде лабораторий было доказано, что ТИМР-1 и ТИМР-2 могут останавливать процесс инвазии опухолевых клеток. ТИМР-2 способен также блокировать формирование новых кровеносных сосудов, требующихся для питания растущих метастазов. Эти обнадеживающие результаты означают, что ТИМР и сходные с ними препараты открывают подход к предотвращению инвазии и лечению метастазирования.

1992 году П.Стиг из исследовательской группы Л. Лиотта открыла мощный белковый супрессор метастазирования. Анализируя различия в генетической активности между клетками метастазирующих и неметастазирующих опу-

холей, Стиг обнаружила ген, отсутствующий или неактивный в метастазирующих опухолях. Белок – продукт этого гена, постоянно отсутствует или дефектен во многих линиях клеток метастазирующих опухолей, а в клетках нематастазирующих опухолей он содержится в относительно большом количестве. Этот белок получил название *nm 23* (nonmetastatic).

Клинические исследования, проведенные в США группой Л. Лиотта совместно с К.Хеннеси из Ньюкаслского университета и Н.Кимурой из Института геронтологии в Токио, позволяют сделать вывод, что низкое содержание *nm 23* в первичных опухолях молочной железы явно ассоциировано с метастазированием и большой вероятностью смерти больного. И наоборот, высокий уровень *nm 23* коррелирует с отсутствием метастазов и благоприятным прогнозом. Более того, анализ генетических изменений при раке молочной железы у человека показал, что более чем в 50% случаев утрачена одна из двух копий гена, кодирующего *nm 23*. В нормальной ткани молочной железы и в ее неинвазивных опухолях содержание этого белка было высоким. Таким образом, изменения, касающиеся *nm 23*, сильно коррелируют с переходом клеток к инвазии и метастазированию. Это характерно не только для злокачественных опухолей молочной железы, но и для других раковых заболеваний.

Белок *nm 23* можно использовать не только для диагностики, но и для лечения. П.Стиг вводила в культивируемые метастазирующие клетки ген, кодирующий *nm 23*, в результате чего усиливалась его экспрессия, т.е. синтез белка. Инъецированные, эти клетки оказывались неспособными к образованию метастазов.

Каким образом *nm 23* подавляет метастазирование? Установлено, что белок *nm 23* обладает ферментативной активностью, состоящей в присоединении фосфатных групп к белковым молекулам. Фосфорилирование может модифицировать активность белков, в том числе тех, которые регулируют передачу сигналов, влияющих на клеточный рост и дифференцировку. Известно также, что клетки, синтезирующие *nm 23*, не секретируют его.

Этот белок (*nm 23*) проявляет поразительную консервативность в течение миллионов лет эволюции, причем у человека практически идентичен белку *awd* плодовой мушки, изученному А.Ширном из Университета Джонса Гопкинса. У плодовой мушки белок *awd* требуется для правильного формирования из эпидермы эмбриона всех органов – мозга, глаз, крыльев,

ног и гениталиев. По аналогии можно предположить, что белок *nm 23* у человека также играет важную роль в организации и межклеточной коммуникации клеток.

В ходе развития клетки нормальных тканей взаимодействуют друг с другом, формируя органы необходимых размеров и формы. Утрата или аберрантная регуляция *nm 23* может приводить к неустойчивому клеточному состоянию, что благоприятствует автономному поведению опухолевых клеток и их метастазированию.

Рекомендации по блокированию размножения, инвазии и метастазирования раковых клеток

Выше мы попытались изложить современное видение клеточного цикла, инвазии и метастазирования раковых клеток для представления тех базисных данных (знаний), основываясь на которых, попытались составить стратегию блокирования клеточного цикла, инвазии и метастазирования раковых клеток.

Блокирование клеточного цикла раковых клеток

На поверхности опухолевых клеток имеются свои особые антигены, к которым могут быть получены антитела. Антитела представляют собой белки, способные специфично распознавать определенные структуры (антигены).

Давно разработан метод получения больших количеств антител с нужной специфичностью. Этот метод состоит в проведении слияния опухолевых клеток, способных к неограниченному размножению, с клетками иммунной системы, называемыми В-лимфоцитами, которые способны синтезировать антитела. Получаемые в результате так называемые гибридомы выращивают в культуре, и они производят антитела. Потомство одной гибридомы – клон – дает моноклональные антитела, специфичные к одному определенному антигену. Ясно, что моноклональные антитела можно использовать для внедрения различных агентов непосредственно в опухолевую ткань, в том числе антитела, несущие блокаторы синтеза, основного аргумента клеточного цикла – циклина (для него блокаторы известны), из-за чего клеточный цикл опухолевых клеток остановится на интерфазе.

Блокирование инвазии и метастазирования раковых клеток

Как было показано выше, главная причина инвазии раковых клеток - активированная металлопротеиназа — не может расщеплять свои мишени в присутствии мощного тканевого ингибитора металлопротеиназ TIMP.

Наряду с нормальными, опухолевые клетки тоже могут секретировать TIMP. Злокачественная клетка, которая синтезирует какую-либо металлопротеиназу, производит и ее ингибитор. Инвазивное действие раковых клеток начинается только тогда, когда число молекул металлопротеиназы превысит число молекул TIMP.

Для блокирования инвазии мы предлагаем выделить TIMP из соответствующих опухолевых клеток, клонировать и известным в практике клеточным транспортом доставить до каждой раковой клетки. Из клинических исследований ясно, что низкое содержание белка *nm 23* связано с метастазированием и большой вероятностью смерти больного. Также известно, что клетки, синтезирующие *nm 23*, не секретировать его. Поэтому предлагаем:

по известной методике, быстро и легкодоступно получать *nm 23* в неограниченном количестве и клинически испытанным, специальным клеточным транспортом доставлять до каждой опухолевой клетки.

Литература

1. Steven A. Rosenberg. Adoptive Immunotherapy for cancer. // Scientific American. -1990. -V.264. - №5.
2. Andrew W. Murray, Marc W. Kirschner. What controls the Cell Cycl. // Scientific American. - 1991. - V.264. - №3.
3. Lance A. Liotta. Cancer Cell Invasion and Metastasis. // Scientific American. - 1992. - V.266. - №2.