



ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ МИКРООКРУЖЕНИЯ ОПУХОЛИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

(Обзорная статья)

Тилляшайхов М.Н.¹,

Каххаров А.Ж.²,

Юлдашходжаева Н.Б.².

*Республиканский специализированный научно-практический
медицинский центр онкологии и радиологии¹*

Ташкентский государственный стоматологический институт²

***Анотация.** Широко известно о том, что развитие и прогрессирование РМЖ не является полностью автономными процессами ТМЕ и раковых клеток, согласно исследованию M.Egeblad и соавт. (2020), за счет опухолевого процесса возникают перекрестные связи между раковыми клетками и ТМЕ, в которых помимо иммунных клеток задействованы не трансформируемый клеточный фонд, стромальные клетки и внеклеточный матрикс (ВМ). Анализ структуры ТМЕ позволяет более точно дифференцировать опухоль и дает возможности для подбора наиболее эффективной терапии.*

Введение. Широко известно о том, что развитие и прогрессирование РМЖ не является полностью автономными процессами ТМЕ и раковых клеток, согласно исследованию M.Egeblad и соавт. (2020), за счет опухолевого процесса возникают перекрестные связи между раковыми клетками и ТМЕ, в которых помимо иммунных клеток задействованы не трансформируемый клеточный фонд, стромальные клетки и внеклеточный матрикс (ВМ). Анализ структуры ТМЕ позволяет более точно



дифференцировать опухоль и дает возможности для подбора наиболее эффективной терапии .

Как упоминалось ранее, опухоли молочной железы до последних лет считались слабоиммуногенными и онкологическое сообщество придерживалось мнению о ограниченном ответе на проведение иммунотерапии у пациентов с РМЖ. Однако, S.Virugu и соавт. (2017) описывают подгруппу РМЖ с богатой иммунной средой . Дальнейшие исследования привели к анализу опухоль-продуцирующих лимфоцитов (Tumour Infiltrating Lymphocytes – TIL) которые являются наиболее распространенными иммунными мононуклеарами, состоящими в основном из Т-клеток. Диагностический анализ TIL потенциально может изменить подход к иммунотерапии, корректировать комбинированную терапию и влиять на эффект лечения при РМЖ.

Регуляторные Т-клетки (Treg) могут подавлять ответы эффекторных Т-клеток, а также активность других иммунных клеток. Действуя как ключевой медиатор периферической толерантности, Treg способен предотвращать нежелательные иммунные ответы. Повышенное содержание клеток Treg в биоптатах опухоли молочной железы связывают с инвазивным фенотипом РМЖ. Диагностический поиск Treg по словам M.Ohara и соавт. (2019) позволяет предопределить вариант противоопухолевого лечения с возможностью снизить общую выживаемость.

В исследованиях G.J.Bates и соавт. (2016) и S.D.Bohling и соавт. (2008) при параметрическом анализе Treg получены данные об увеличении случаев безрецидивного течения, в случае воспалительного, медуллярного, инфильтрирующего протокового, инвазивно неспецифического РМЖ, а также рака Педжета.

Еще одним из важнейших параметров ТМЕ является анализ



нейтрофилов (neutrophils – NEU), которые представлены лейкоцитами, которые имеют происхождение от миелоидных предшественников костного мозга. Основная задача NEU — это элиминация инвазивных микроорганизмов и наиболее распространенного типа лейкоцитов в кровяном русле. NEU могут стимулировать или ингибировать онкогенез в зависимости от относительной концентрации цитокинов в ТМЕ .

В исследованиях Z.G.Fridlender и соавт. (2019) и продемонстрирован функционально-поляризованный ответ на стимулирующие или ингибирующие факторы, что запускает у NEU механизмы протуморогенности (N1) или антиметастатичности (N2) . Протуморогенная роль была освещена в исследованиях K.Polyak и соавт. (2019) NEU, связанные с первичной опухолью РМЖ, способствовали росту опухоли за счет факторов, стимулирующие сосудистую сеть опухоли .

В экспериментальном исследовании Z.Granot и соавт. (2021) на биологических моделях крыс выявлено, что первичная опухоль может активировать специфические NEU, известные как нейтрофильные внеклеточные ловушки (neutrophil extracellular traps – NET), которые обладают уникальной способностью ингибировать метастатическое обсеменение в легких. Это был первый отчет, в котором продемонстрирована антиметастатическая роль отдельных подмножеств NEU. Соотношение NEU и лимфоцитов является хорошим индикатором степени воспаления, который играет важную роль в опухолевой прогрессии и метастазировании. NEU являются мощными супрессорами активации Т-клеток и связи между NEU и супрессией.

Не так давно A.Spiegel и соавт. (2016) было установлено, что активность НК-клеток свидетельствует о том, что NEU ответственны за снижение функции НК-клеток, что, в свою очередь, увеличивало время выживания внутрипросветных опухолевых клеток и облегчало метастазы.



М. Demers и соавт. (2022) в ходе эксперимента с биологической моделью мышей, сообщили о роли и механизме действия NET при развитии рака. В ходе исследования выявлено, что молочная железа с линией клеток 4T1 генерируют NEU, предрасположенные к образованию NET. Также авторы сделали вывод о том, что чем дальше прогрессирует опухолевый процесс, тем больше формируется NET.

J. Park и соавт. (2016) выявили закономерность между индуцированием NEU, так называемой «сети», и ускоренном метастазировании клеток РМЖ. С помощью прижизненной визуализации авторы также зафиксировали наличие NET в образцах биоптата, помощью которой авторы смогли вывести об ускоренном метастатических клетки РМЖ могут индуцировать NEU к образованию сетей после того, как они попадают в легкие мышей с помощью прижизненной визуализации. Они также зафиксировали наличие NET в клинических образцах агрессивного трижды негативного (Triple negative – TN) РМЖ человека [117,152].

Макрофаги относятся к системе мононуклеарных фагоцитов которые представляют собой самые многочисленные популяции лейкоцитов в опухолях молочной железы и считается, что они участвуют на всех стадиях опухолевого процесса [51]. Интерес к диагностическому поиску макрофага вызван способностью его дифференцировать спектр дискретных и функциональных фенотипов, последние напрямую связаны и контролируются ТМЕ. Хотя популяции макрофагов связаны с пластичностью и имеют разнообразные типы, их часто широко классифицируют как M1 (ингибирующие опухоль) и M2 (стимулирующие опухоль). M1 – стандартные макрофаги экспрессируют широкий спектр провоспалительных генов. M2 – макрофаги индуцируют цитокины 2 типа и экспрессируют высокие уровни противовоспалительных генов.

В публикации L.A. Moraes и соавт. (2017) приводят данные об



увеличение количества макрофагов M1 обнаруженных в ТМЕ, где белок Аннексин-I (ANXA1) является иммуномодулирующим и отвечает за поляризацию и взаимодействие макрофагов .

Результаты исследования Y.Chen и соавт. (2017), что макрофаги M2 секретируют белок CHI3L1, который был значительно повышен у пациентов с РМЖ по сравнению с таковым у здоровых доноров. Авторы выдвинули предположение о причастности белка CHI3L1 к маркерам метастатического процесса РМЖ у пациентов.

M.Yang и соавт. (2016) в своем исследовании продемонстрировали, что макрофаги являются терапевтической мишенью. Эпителиально-мезенхимальная пластичность в клетках РМЖ регулируется различными типами макрофагов – M2 могут вызывать опухолевый рост, в то время как макрофаги M1 способствуют покою метастатических клеток РМЖ.

Более 20 лет прошло с тех пор как P.Carmeliet и соавт. (2000) с осторожностью указали на то, что именно эндотелиальные клетки, формирующие выстилку кровеносных сосудов опухоли, являются основным компонентом ТМЕ опухоли, а центральное место в опухолевом процессе занимает процесс ангиогенеза.

На сегодняшний день именно этот признак опухолевого процесса имеет решающее значение для развития и прогрессирования первичного РМЖ. Ангиогенез обеспечивает постоянное снабжение опухоль кислородом и питательными веществами, допускает экстравазацию клеток в системный кровоток и интравазацию во вторичный или дистальный участок, а также является предпосылкой для успешного метастатического роста. Многостадийный процесс ангиогенеза регулируется множеством факторов роста, цитокинов, с одной из ключевых молекул фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), который частично регулируется гипоксической средой – D.Hanahan и соавт. (2011).



Ассоциированные с раком фибробласты (cancer-associated fibroblasts – CAF) являются наиболее распространенными типами клеток стромы, присутствующих в первичных опухолях РМЖ. Диагностическая важность заключается в различиях экспрессии мРНК и белка, хотя нормальные фибробласты и CAF имеют очень похожий фенотип.

R.J.Buchsbaum и соавт. (2016) определили ряд маркеров фибробластов, но ни один из них не является специфичным для CAF, что затрудняет их идентификацию при РМЖ. При исследовании было показано, что CAF экспрессируют α -SMA, p53, подопанин, антиген CD10, белок активации фибробластов (Fibroblast Activating Protein – FAP), матриксные металлопротеиназы (matrix metalloproteinases – MMPs), тенасцин-С, тромбоцитарный фактор роста (PDGFR α/β) и потерю экспрессии кавеолина-1 (Cav-1). Несмотря на их распространенность в микроокружении опухоли, происхождение экспрессируемых компонентов от фибробластов или мезенхимальных стволовых клеток костного мозга окончательно не определено.

В исследованиях роли и влияния фибробластов на РМЖ, N.Dumont и соавт. (2013) выяснили, что фибробласты способствуют онкогенному прогрессированию как предраковых, так и злокачественных эпителиальных клеток. S.W.Туан и соавт. (2012) сделали вывод о том, что секретируя факторы роста (включая FGF, HGF, TGF- β и SDF-1) фибробласты, связанные с РМЖ, способствуют пролиферации опухолевых клеток. Цитокины, секретируемые фибробластами, также способствуют пролиферации, ангиогенезу, инвазивности и прямому росту опухоли - Н.Ж.Нуго и соавт. (2012).

В настоящее время природа взаимодействия между адипоцитами и раковыми клетками остается в значительной степени неизвестной, однако недавние исследования в этой области показывают, что адипоциты занимают



важное место в прогрессировании РМЖ. Это отсутствие информации об их роли было продемонстрировано в исследовании J.Tan и соавт. (2021), и связано с тем, что адипоциты быстро исчезают из-за десмопластической реакции соединительной ткани на раннем этапе, следовательно, гистологические срезы биопсии опухоли молочной железы показывают очень маленькое количество или вообще отсутствие адипоцитов. Данные исследования B.Dirat и соавт. (2021) показали вовлечение адипоцитов в динамические десмопластические процессы, при анализе гистологических срезов карциномы молочной железы человека при опухолевой инвазии адипоциты располагаются на периферии первичных опухолей. Эта область опухоли полностью лишена стандартных адипоцитов и состоит из стромы и характеризуется высоким соотношением опухоль-связанных адипоцитов (Cancer-Associated Adipocytes – CAA) и фибробластов CAF. Данное преобразование адипоцитов подразумевает активацию процесса липолиза, и подтверждает прогрессирование опухоли вызванную вторжением и стимуляцией раковых клеток .

Супрессорные клетки миелоидного происхождения (Myeloid-Derived Suppressor Cells – MDSC) представляют собой гетерогенную группу незрелых миелоидных клеток, которые ингибируют врожденные и адаптивные иммунитет. С.M.Diaz-Montero и соавт. (2019) показано, что уровни MDSC коррелируют с клинической стадией и метастатическим поражением у больных РМЖ. Путем расчета процентного содержания MDSC в цельной крови по данным проточной цитометрии, повышенный уровень этих клеток был обнаружен у пациентов с более поздней стадией заболевания.

Механизм опосредованной иммуносупрессии, лежащий в основе MDSC недостаточно изучен, но исследование J.Yu и соавт. (2014) выявило плохо дифференцированное подмножество MDSC у пациентов с РМЖ, которое



подавляет функции Т-клеток посредством белка STAT3 – индоламин-2-3-диоксигеназы (Indoleamine-2,3-Dioxygenase – IDO). MDSC могут нарушать функции противоопухолевого иммунитета и поэтому стали предпосылкой для серьезных ограничений в процессе выбора и проведения терапии РМЖ . J.D.Waight и соавт. (2013) привели первые доказательства критической роли экспрессии интерферон-регуляторного фактора-8 (Interferon Regulatory Factor 8 – IRF-8) в реакции транскрипционной регуляции развития субпопуляции MDSC. Уровни IRF-8 в MDSC молочной железы больных раком снижались с увеличением уровня содержания MDSC, что указывает на то, что IRF-8 является негативным регулятором MDSC человека. Авторы предполагают, что этот механизм может предоставить новые возможности для диагностики и лечения РМЖ .

Выводы. ТМЕ опухоли состоит из богатого внеклеточного матрикса (Extracellular Matrix – ECM), сложной молекулярной сети компонентов – коллагена, фибронектина, ламинина, гликопротеина и полисахарида с различными физическими и биохимическими свойствами – S.Ozbek и соавт. (2010) . По словам M.A.Cichon и соавт. (2010) ECM молочной железы регулирует различные стадии развития и дифференцировки РМЖ, а ремоделирование состава ECM может привести к изменению функции и структуры органов. Исследование M.J.Paszek и соавт. (2005) подтвердило, что при запуске процесса десмоплазии происходит перестройка и уплотнение ECM, это говорит о прогрессировании опухолевого процесса. Данный феномен подтвержден I.Acerbi и соавт. (2015) и связан с повышенной линейризацией и реактивным процессом утолщения коллагеновых волокон . Механические изменения и жесткость ВКМ приводят к усилению регуляции и кластеризации интегринов с их помощью происходит поддержание пролиферативной способности опухолевых клеток на поздних стадиях опухолевого процесса – D.E.White и соавт (2014) [194]. В экспериментальном



исследовании M.F.Pang и соавт. (2016) на биологической модели мышей с плотной коллагеновой стромой ТМЕ при опухоли MMTV-PyVT, выявили повышенную экспрессию цитокинов, по сравнению с тканью, состоящей из неплотной коллагеновой стромы ТМЕ. Также, GM-CSF, PGDF-BB и IL-1 факторы, участвующие в созревании и рекрутировании NEU были повышены в опухолях с плотным коллагеном. Выявлено, что гипоксия и жесткие по консистенции опухоли молочной железы стимулируют пролиферацию стволовых клеток РМЖ