

УДК 577.29

## РАКОВЫЙ СТВОЛОВОЙ КОМПЛЕКС, НЕ РАКОВАЯ СТВОЛОВАЯ КЛЕТКА, ОСНОВА ЭВОЛЮЦИИ РАКОВОЙ ОПУХОЛИ

### Обзор

© 2019 Е.Д. Свердлов<sup>1,2</sup>, И.П. Чернов<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Институт молекулярной генетики РАН, 123182 Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина  
и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, Россия;  
электронная почта: igor.palich@gmail.com

Поступила в редакцию 29.04.2019

После доработки 30.05.2019

Принята к публикации 01.06.2019

Выдвигается гипотеза о механизме функционирования раковых стволовых клеток при условии, что они существуют. В основе гипотезы лежат следующие постулаты: 1. Паракринный обмен между раковыми и стромальными клетками эффективен только при условии, что они находятся в прочном контакте и образуют синапсодобное межклеточное пространство, через которое происходит межклеточный обмен информацией и в котором концентрация паракринных сигнальных молекул высока благодаря малому объему синаптической щели. 2. Раковых стволовых клеток, как таковых, не существует, существуют раковые стволовые комплексы, формируемые раковой клеткой прочно связанной со стромальной клеткой(ами) (портативная ниша) и паракринно обменивающейся с нею (ними). 3. Раковый стволовой комплекс представляет собой сложную систему, с вновь возникающими свойствами: стволовостью и повышенной резистентностью к воздействиям, в т.ч. терапевтическим. 4. Стволовость заключается в способности раковой клетки в составе комплекса делиться асимметрично: одна клетка остается в составе комплекса и образует обновленный стволовый комплекс, а другая отделяется от него, давая дифференцируемую не стволовую клетку. 5. Повышенная резистентность ракового стволового комплекса связана с объединением путем паракринного обмена защитных систем, входящих в него компонентов. Это микрорезистентность на клеточном уровне. 6. Стволовой комплекс способен стохастически разрушаться, образуя не стволовую раковую клетку; частично дифференцированные не стволовые раковые клетки способны стохастически связываться со стромальным компонентом, дедифференцироваться за счет паракринных сигналов и образовывать новый раковый стволовой комплекс. Таким образом, опухоль является пластичной системой, находящейся в псевдоравновесном состоянии. В таких системах осуществляется принцип Ле-Шателье (гомеостаз): система, находящаяся в равновесии, при воздействии извне, активирует процессы, противодействующие изменениям. Это обеспечивает повышенную резистентность опухоли на уровне популяции клеток – макрорезистентность. 7. Портативная ниша путешествует с раковой клеткой в процессе метастазирования. Предлагается общая терапевтическая стратегия, мишенью которой являются контакты между раковыми и стромальными клетками. Их разрушение должно приводить к исчезновению раковых стволовых комплексов и разрушению опухоли.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** канцерогенез, метастазирование, дифференцировка и дедифференцировка, стволовость, ниша стволовых клеток, самообновление, синапс, паракринный обмен.

DOI: 10.1134/S0320972519090057

С 2016 по март 2019 г. в Pubmed 2523 статьи, включая 534 обзора, содержат слова «cancer stem cells» в заголовке. Это свидетельствует, с одной стороны, о важности проблемы, с другой — дает понять, что она далека от разрешения. Большинство опухолей к моменту обнаружения состоит

Принятые сокращения: СК — стволовая клетка, РСК — раковая стволовая клетка, РСКом — раковый стволовой комплекс, ОАФ — опухоль-ассоциированный фибробласт.

\* Адресат для корреспонденции.

из генетически, эпигенетически и фенотипически гетерогенных клонов. Две основные концепции пытаются объяснить эту гетерогенность: гипотеза раковых стволовых клеток (РСК) и модель клональной (стохастической) эволюции [1–3]. Хотя эти две концепции имеют некоторые общие положения, они принципиально различаются и с практической точки зрения диктуют разные подходы к терапии. В последние годы разрабатываются теории, объединяющие эти две концепции [4]. В этом коротком об-

зоре мы остановимся на анализе и развитии концепции РСК.

Успехи в идентификации и расшифровке механизмов регуляции взрослых стволовых клеток привели к идее, что стволовые клетки могут оперировать и в опухолях, являясь «двигателями» их развития, начиная с начальной стадии и завершая метастазированием. Такие клетки получили название раковых стволовых клеток (РСК). Иногда РСК называют опухоль-иницирующими клетками (tumor initiating cells, TIC) или опухоль-генерирующими клетками (tumor-propagating cells, TPC) [5]. Постепенно термин РСК и их реальное существование стали восприниматься как само собой разумеющееся, иногда даже как «не подлежащая дискуссии догма» [6]. Однако несмотря на громадное количество публикаций, само существование РСК, критерии, отличающие их от других раковых клеток, насколько их существование является пререквизитом эволюции злокачественной опухоли, их происхождение [7] и, наконец, насколько отчетлива граница между РСК и другими раковыми клетками продолжает оставаться проблемой весьма далекой от решения [8, 9]. Далека от решения и проблема возможности использования РСК в качестве мишеней для терапии. Знаменателен в этом отношении заголовок одной из недавних статей [10]: «Pancreatic cancer stem cells: A state or an entity?».

Мы высказываем гипотезу о том, как могли бы возникать, выглядеть и функционировать РСК, если предположить, что они вообще существуют. При этом мы рассчитываем на широкий круг читателей «Биохимии» и даем максимально обобщенную картину описываемых процессов развития раковой опухоли, отсылая читателя, заинтересованного в более детальной информации, к недавним компетентным обзорам для знакомства с последними веяниями и с литературой, которая лежит в их основе [7, 10–18]. Другие, более ранние сведения и определения, читатель найдет в открытом доступе в нашем обзоре [19].

## ПРОБЛЕМА СУЩЕСТВОВАНИЯ РСК

Концепция РСК берет за основу сценарий, по которому движется нормальная стволовая клетка (СК) в процессе дифференцировки. Исходно считали, что мутации, ведущие к раку, происходят в нормальной СК, в результате чего она превращается в раковую стволовую клетку. Способность нормальной СК к самообновлению и к дифференцировке автоматически приписали и предполагаемой РСК. В таком случае

РСК должна постоянно давать новые клетки: раковую стволовую и более дифференцированное потомство, которое способно только к ограниченному числу делений. Она должна обладать свойством стволовости (stemness), комбинирующим способность клетки увековечивать свою родословную, давать начало дифференцированным клеткам и взаимодействовать с окружающей средой для поддержания баланса между покоем, пролиферацией и регенерацией. В то время как взрослые стволовые клетки проявляют эти свойства при участии в гомеостазе тканей, РСК, как предполагали, должны быть их злокачественными эквивалентами. Стволовые клетки и РСК не могут выживать ни вне их микроокружения, ни в отсутствии специфических факторов и цитокинов. При этом клетки сохраняют способность дедифференцироваться и возвращаться к стволовому состоянию [20]. Сегодня в основном принимается, что клеткой происхождения рака является нормальная стволовая клетка, хотя в процессе развития опухоли РСК могут образовываться из разных клеток опухоли, в том числе и дифференцированных за счет их дедифференцировки (см. ниже).

В 2011 г. рабочая конференция по раковым стволовым клеткам (Working Conference on CSCs) выработала основные рекомендации по определениям, сформулированным в обзоре Valent et al. [5]. Согласно этим рекомендациям, под РСК подразумеваются неопластические клетки, которые имеют потенциал в течение неограниченного или продолжительного периода времени поддерживать инвазивную твердую опухоль или лейкомию. Согласно определению 2019 года (журнал Nature, nature.com/subjects/cancer-stem-cells), раковые стволовые клетки – это редкие бессмертные клетки в опухоли, которые могут самообновляться путем деления и давать начало множеству типов клеток, которые составляют опухоль, и, следовательно, могут образовывать новые опухоли. Такие клетки были обнаружены в различных типах опухолей человека и могут быть привлекательными мишенями для лечения рака.

Большинство моделей дифференцировки раковых клеток принимают бимодальный принцип при рассмотрении РСК: РСК и все другие опухолевые клетки [12].

Согласно существующей концепции, популяция РСК имеет следующие свойства:

1. Образует отдельный пул клеток, идентифицируемый биологическими и физико-химическими методами. Должно существовать по меньшей мере два пула клеток в опухоли: РСК и ее производные – дифференцированные в разной степени клетки [20].

2. Проявляет способность, подобно нормальным стволовым клеткам, к неограниченному самообновлению и дифференцировке по многим направлениям [21].

3. Поддерживает рост гетерогенной раковой массы, содержащей полный репертуар частично или полностью дифференцированных раковых клеток, способных к нескольким дифференцировкам или находящихся на стадии окончательной дифференцировки [6].

4. Составляет незначительную долю общей популяции клеток опухоли, отличающихся от основной массы клеток опухоли способностью к формированию новой опухоли при имплантации и самообновлению.

5. Экспрессирует специфический набор поверхностных маркеров, которые позволяют дифференцировать ее и выделять из массы других клеток.

6. Проявляет высокую устойчивость к стандартной терапии [14, 21].

В целом, концепция РСК представляет собой иерархическую модель с РСК во главе иерархии. Она совершенно подобна иерархии, наблюдаемой для взрослых стволовых клеток, которые при дифференцировке дают цепочку все более дифференцированных клеток. Потому модель РСК иногда называют иерархической. РСК образуют в опухоли субклоны, внутри которых, тем не менее, каждая клетка отличается от другой по структуре генома, по характеру транскриптома, протеома и т.п. Субклоны имеют разные злокачественные (malignant) потенциалы, поскольку РСК, движущие их размножение, различаются и поскольку они могут оказываться в разном микроокружении внутри опухоли и по-разному с ним взаимодействовать.

Из этого следует, что каждый существующий и размножающийся субклон должен содержать свой компартмент РСК, обладающий уникальными геномными и эпигеномными характеристиками, и каждый субклон может производить новые субклоны, которые будут обладать измененными, по сравнению с исходным, свойствами.

Однако в большинстве случаев найти уникальный для РСК маркер не удастся, поэтому фенотипические данные сами по себе не дают достаточных доказательств присутствия отдельной популяции РСК. Предполагают, что механизмы, обеспечивающие особые свойства РСК, не стабильны, поскольку могут быть связаны с изменениями эпигенома, часто происходящими в опухолевых популяциях [5].

Некоторые упомянутые характеристики РСК, в частности, асимметричное деление и необратимый процесс перехода в дифференциро-

ванное состояние, не доказаны и кажутся маловероятными [6], а необратимость перехода опровергнута недавними экспериментами (см. ниже). К утверждению, что РСК составляют относительно небольшую фракцию в общей популяции раковых клеток, также следует относиться с осторожностью, поскольку показано, что фракция РСК может сильно варьировать (0,1–30%) в зависимости от типа опухоли и дизайна эксперимента [22].

В последние годы начинает приобретать влияние идея о пластичности РСК, когда РСК могут терять «стволовость», тогда как дифференцированные раковые клетки могут дедифференцироваться, превращаясь в РСК [23, 24].

Различные виды и, возможно, даже один и тот же вид рака у разных пациентов могут развиваться и по РСК, и по эволюционно-стохастической модели. Имея дело с такими лабильными системами, как стволовые, раковые или РСК клетки, всегда нужно учитывать возможность их фенотипической перестройки вследствие эпигенетических процессов. В 2011 г. было описано [3, 25] приобретение способности к самообновлению у не РСК популяций. Эти данные продемонстрировали высокую пластичность стволовых клеток вообще, и РСК в особенности, а также легкость взаимопревращений стволовых клеток в не стволовые и наоборот, особенно в раковых опухолях.

Выявляемая пластичность раковых клеток и возможность переходов между стволовыми и не стволовыми клетками вносит дополнительные сложности в исследование роли РСК в канцерогенезе. Эта пластичность может зависеть от многих факторов, среди которых важную роль играют сигналы от микроокружения и межклеточные взаимодействия в «нише» [26]. РСК могут превращаться в не РСК и наоборот, существуя при этом в динамическом равновесии [27].

Таким образом, один из существенных элементов концепции РСК – существование в опухолевой массе необратимо отделенной фракции РСК, оказывается в общем виде несостоятельным. Дифференцированные раковые клетки и РСК находятся в состоянии постоянного взаимопревращения [28, 29]. Наша гипотеза просто объясняет такие переходы.

### НИША РСК – ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

Процесс перехода РСК в не РСК может модулироваться специфическими сигналами микроокружения и клеточными взаимодействиями, возникающими в нише опухоли [7, 11, 26]. Су-

существование так называемых ниш – физиологического микроокружения, состоящего из специализированных клеток, которые участвуют в регуляции функционирования стволовых клеток через обмен различного рода сигналами, для нормальных стволовых клеток признано. В этом случае определение ниши, в которой они существуют, не вызывает принципиальных проблем [20, 30]. Это достаточно четко определенная область, окружающая дискретно локализованные функционирующие стволовые клетки в ткани, хотя не для всех нормальных тканей доказано существование стволовых клеток и, соответственно, их ниш [31].

По аналогии со взрослыми стволовыми клетками было предположено, что ниши существуют также и в случае РСК, и что взаимодействие РСК с нишами может регулировать самообновление, пролиферацию и дифференцировку РСК [32–35]. Естественно, если ниша существует, то она должна находиться где-то в микроокружении опухоли.

Американский Национальный институт рака определяет опухолевое микроокружение (Tumor Microenvironment ТМЕ) как «нормальные клетки, молекулы и кровеносные сосуды, окружающие и питающие опухоль. Опухоль может менять свое микроокружение, а микроокружение может влиять на рост и распространение опухоли» [36]. В случае солидных опухолей микроокружение состоит из двух основных компонентов, клеточного и неклеточного, соотношение и состав которых могут варьировать в зависимости от расположения и стадии опухоли. Неклеточные компоненты в основном содержат внеклеточный матрикс, состоящий из белков, гликопротеидов и протеогликанов, которые образуют каркас архитектуры опухолей [37–39]. Клеточные компоненты включают фибробласты, такие как опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ), мезенхимальные стволовые клетки, адипоциты, перициты, эндотелиальные клетки, сети лимфатических сосудов и опухоль-инфильтрирующие клетки иммунной системы [40–46]. Микроокружение рака влияет на эволюцию раковых клеток и вносит значительный вклад в сложность рака, что было подчеркнуто в недавних обзорах [47, 48]. Микроокружение определяет судьбу опухоли, служит барьером для терапевтических воздействий и может влиять на пластичность опухолевых клеток, например, на переходы от РСК к не РСК состояниям [15, 26, 42, 49–51]. Микроокружение опухоли формирует ее экологическую нишу, которая играет важнейшую роль как в развитии первичной опухоли, так и в ее метастазировании [37, 38, 52–56]. Мы рассматривали эти проблемы в недавнем обзоре [57].

При этом мы отмечали, что не РСК или стромальные клетки ниши, но скорее их взаимодействия приводят к эволюции опухоли, как органоподобного образования [57]. Эти взаимодействия включают: (i) непосредственные бинарные контакты между лигандами и рецепторами, экспонированными на поверхности раковых и стромальных клеток, и (ii) паракринные коммуникации между раковыми (обычно эпителиальными) клетками и различными клетками опухолевого микроокружения [58, 59]. Некоторые авторы для опухоль-стромального взаимодействия используют термин «симбиотическое» [60]: «Связь между опухолью и стромой является симбиотической. Стромальные клетки, измененные под действием злокачественного эпителия, образуют потенцирующее (permissive) микроокружение, которое управляет прогрессией рака».

Однако в случае ниши РСК возникает больше вопросов, чем ответов (см. недавние обзоры [35, 61, 62]).

Существует большое число статей, посвященных взаимодействию стромальных элементов опухоли с предполагаемыми РСК [13, 49]. По данным Valent et al. [5], в нише содержатся некоторые важные компоненты регуляции РСК. Двусторонние взаимодействия между раковыми клетками и стромой широко обсуждаются с точки зрения роли последней в развитии опухоли и, в частности, в приобретении таких важнейших качеств, как инвазия и метастазирование [63]. Предполагается, что не только стромальная ниша действует на раковые клетки, но и наоборот: раковые клетки (в основном имеются в виду РСК) способны влиять на строму, используя ее для своего развития [64–68].

При этом, как мы упоминали выше, каждый существующий и размножающийся субклон РСК должен содержать свою нишу, и непонятно как это реализуется. Наша гипотеза объясняет все эти особенности.

**ПРОБЛЕМА ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ  
РСК С НИШЕЙ. ПАРАКРИННЫЕ  
СИГНАЛЫ ЭФФЕКТИВНЫ ТОЛЬКО  
НА НЕБОЛЬШИХ РАССТОЯНИЯХ,  
И КЛЕТКИ, ОБМЕНИВАЮЩИЕСЯ ИМИ,  
ДОЛЖНЫ НАХОДИТЬСЯ В БЛИЗКОМ  
КОНТАКТЕ, ВОЗМОЖНО, ОБРАЗУЯ  
СИНАПСОПОДОБНЫЕ ЩЕЛИ**

Несмотря на широко обсуждаемую важность стромальной ниши в жизни опухоли, только очень немногие данные надежно подтверждают ее функции на молекулярном уровне, а также на

уровне транспорта информации, например, осуществляется ли этот транспорт паракринно, аутокринно, или каким-либо иным способом [5, 13, 32, 33]. Более детальная информация поможет лучше оценить реальную роль ниши в развитии опухолей и выработать рациональные терапевтические стратегии с учетом этой информации.

Паракринные сигналы могут передаваться на расстоянии десятков диаметров клетки [58], формируя при этом градиентный профиль сигналов, который в зависимости от концентрации может приводить к разным последствиям, вместо простого «да или нет» бинарного ответа. В то же время логично предположить, что паракринный контакт более эффективен, когда он сконцентрирован в ограниченном пространстве, как это имеет место, в частности, в иммунном синапсе, т.е. в узком промежутке между тесно взаимодействующими клетками иммунной системы [69, 70].

В высказываемой здесь гипотезе мы предполагаем, что синапсоподобные образования могут использоваться для контактов между РСК и другими компонентами стромы. В частности, широко признано, что паракринное взаимовлияние раковых клеток и клеток стромы опухоли приводит к превращению стромальных фибробластов в ОАФ. Для более надежного взаимовлияния взаимодействующим клеткам, возможно, нужно образовывать синапсоподобные контакты, обеспечивающие эффективный обмен паракринными сигналами. В этих структурах взаимодействующие клетки находятся на расстоянии ~10–15 нм, что точно организует множество молекул в области межклеточных контактов.

Мы выдвигаем гипотезу, что в большинстве случаев образование синапсоподобных структур связано с прямыми межклеточными контактами. Мы продемонстрируем сущность выдвигаемой гипотезы, используя опухоль-ассоциированные фибробласты, как парадигму ниши РСК. Современные сведения о ОАФ даны в двух последующих разделах.

### БЕГЛЫЙ ОБЗОР ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ

В ряде карцином ОАФ являются одними из наиболее представленных стромальных клеток, в том числе при раке груди, простаты, пищевода и кишечника [43, 64]. В других карциномах, включая рак яичника, меланомы и почечные опухоли, ОАФ встречаются менее часто [37]. Некоторые авторы называют их «архитекторами

ремоделирования стромы» [71] или «архитекторами патогенеза рака» [72]. Было показано, что ОАФ по-разному влияют на прогрессию опухоли. В частности, они могут вызывать деградацию внеклеточного матрикса и высвобождение множества растворимых факторов, регулировать метаболизм опухоли, а также способствовать пролиферации, миграции и метастазированию раковых клеток. Последние данные на эту тему представлены в соответствующих обзорах [43, 45, 46, 71, 73, 74].

ОАФ являются гетерогенным «семейством» или «группой» клеток, проявляющих мезенхимально-подобные свойства. Считается, что процесс превращения нормальных фибробластов в ОАФ проходит в три стадии. На первой стадии удаленные клетки рекрутируются злокачественными или пред-злокачественными клетками посредством паракринных или эндокринных сигналов. На второй стадии рекрутированные клетки превращаются в ОАФ. Последняя стадия – это поддержание, экспансия и эволюция популяций ОАФ в микроокружении благодаря постоянным сигналам от злокачественных клеток [75, 76]. В ответ популяции ОАФ производят паракринные сигналы, влияющие на прогрессию рака. Главной причиной образования злокачественного ракового фенотипа ОАФ предположительно является двунаправленное взаимовлияние раковых клеток и фибробластов [77, 78]. Отмечалась возможная важная роль ОАФ в поддержании стволовости РСК [79]. Недавние исследования показали, что предшественниками ОАФ могут быть не только резидентные фибробласты ткани, но и окружающие ткань адипоциты, мезенхимальные клетки и другие клетки [73, 74]. Рекрутированная из разных мест группа таких предшественников приобретает фенотип ОАФ с участием пока плохо исследованных сложных процессов активации. Большинство исследователей согласно с тем, что, независимо от предшественников, ОАФ экспрессируют похожие наборы маркеров, таких как альфа-актин гладких мышц ( $\alpha$ -SMA), белок активации фибробластов (FAP), а также рецепторы  $\alpha$ - и  $\beta$ -типа фактора роста тромбоцитов (PDGFR) [73].

Приобретение фенотипа ОАФ часто связывают с изменениями экспрессии некодирующих РНК и аномальной активацией некоторых сигнальных путей. Эти изменения влияют на экспрессию многих генов, кодирующих факторы роста, цитокины и другие продукты, что интенсифицирует пролиферацию, стимулирует секрецию белков внеклеточного матрикса и различных факторов роста и вызывает ремоделирование цитоскелета [37, 38, 43, 73, 74, 80].

### ОАФ МОГУТ НАПРЯМУЮ ВЗАИМОДЕЙСТВОВАТЬ С РАКОВЫМИ КЛЕТКАМИ И УСИЛИВАТЬ ИХ ИНВАЗИЮ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ

ОАФ часто обнаруживаются вблизи или в прямом контакте с опухолевыми клетками [37, 43, 45, 81]. В то же время лишь в немногих статьях есть экспериментальные свидетельства прямого взаимодействия ОАФ и раковых клеток и данные по его функциональным последствиям. Наиболее очевидное и важное последствие такого прямого взаимодействия – участие ОАФ в стимуляции эпителиально-мезенхимальных переходов (ЭМП) раковых клеток, а также в их инвазии и метастазировании [71, 82–87]. Это согласуется с данными, согласно которым совместная миграция клеток типична для многоклеточных организмов и, как считается, физическое взаимодействие клеток с участием химических сигналов играет основную роль в процессе ЭМП [88]. Gaggioli et al. [82] показали, что ОАФ направляли инвазию клеток плоскоклеточной карциномы (squamous cell carcinoma – SCCs), образуя пути во внеклеточном матриксе в системе сокультивирования. При совместной инвазии лидировали клетки ОАФ, за которыми следовали ассоциированные клетки SCC. Из этого следует, что для инвазии клеток SCC необходимо либо близкое расположение, либо прямой контакт с ОАФ. Ряд дополнительных доводов в пользу этого содержится в обзоре Yamaguchi и Sakai [86]. Для исследования вкладов прямых межклеточных контактов и паракринных сигнальных факторов в метастазирование клеток немелкоклеточного рака легких (non-small-cell lung carcinoma – NSCLC) Choe et al. [84] использовали два варианта сокультивирования: прямое сокультивирование клеточной линии NSCLC с первичными культурами ОАФ от пациентов с резецированной NSCLC и непрямое сокультивирование с проницаемой мембраной. В этих опытах ОАФ более активно индуцировали ЭМП при прямом сокультивировании, указывая на то, что физические контакты между клетками NSCLC и ОАФ могут контролировать метастатический потенциал NSCLC. Это не исключает возможности участия паракринного взаимодействия, усиленного физическим взаимодействием между клетками, аналогично иммунным синапсам. В недавнем обзоре Santi et al. [71] есть данные в пользу того, что прилегающие к раковым областям ОАФ способны повышать инвазивность раковых клеток за счет взаимодействий клетка–клетка и различных проинвазивных молекул, таких как цитокины, хемокины и воспалительные медиаторы.

Также известно, что ОАФ могут циркулировать в крови вместе с клетками метастазирующей карциномы легких мышей, что может способствовать выживаемости и преимущественному росту в месте расположения метастаз [71]. Авторы предположили, что раковые и стромальные клетки в инвазивных опухолях находятся в прямом контакте и в процессе развития опухоли устанавливают сложное взаимодействие.

В очень важной работе Labernadie et al. [87] показали, что ОАФ вызывали совместную инвазию посредством гетерофильной адгезии с участием N-кадгерина на мембранах ОАФ и E-кадгерина на мембранах раковых клеток. Ослабление этой адгезии лишало ОАФ способности направлять совместную миграцию клеток и блокировало инвазию раковых клеток. Одновременно организаторы межклеточных соединений нектин и афадин рекрутировались к интерфейсу раковая клетка/ОАФ. Эти данные показывают, что механически активная гетерофильная адгезия между ОАФ и раковыми клетками делает возможной кооперативную инвазию опухоли.

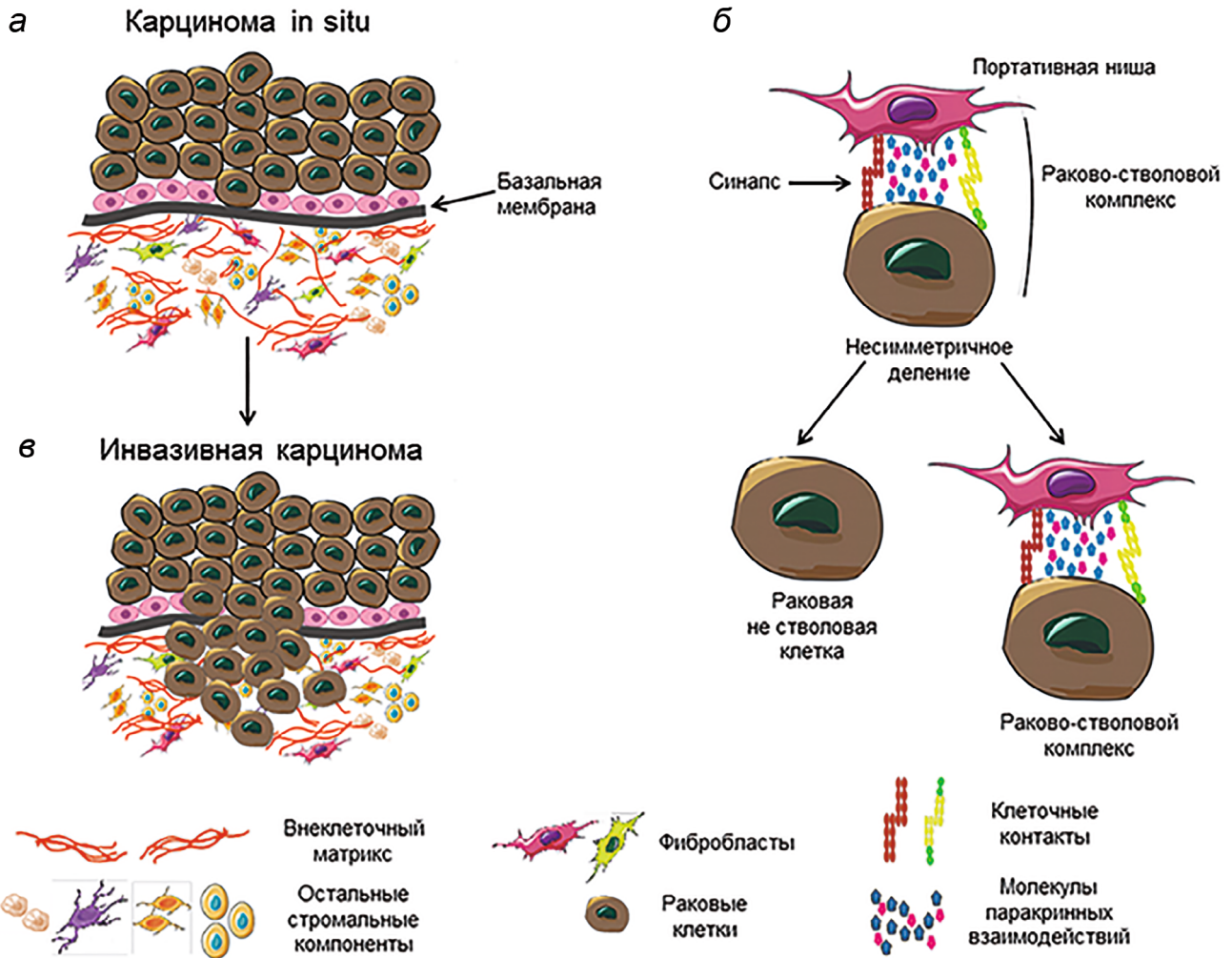
Контакты между ОАФ и раковыми клетками могут образовываться при взаимодействии Eph-рецептора и соответствующих эфриновых лигандов [89]. Можно предполагать, что эти прямые контакты образуют синапсоподобные структуры, усиливающие паракринный обмен информацией.

### ОБОБЩАЮЩАЯ ГИПОТЕЗА

1. В карциноме *in situ* раковые клетки пролиферируют и приобретают гетерогенность в соответствии со стохастической (клональной) моделью эволюции. РСК еще не сформировались [71] (рис. 1, а).

2. При прогрессии рака, после нарушения базальной мембраны, раковые клетки достигают стромы опухоли, сталкиваясь со стромальными компонентами, включая ОАФ, и внеклеточным матриксом (рис. 1, б) [74, 90, 91].

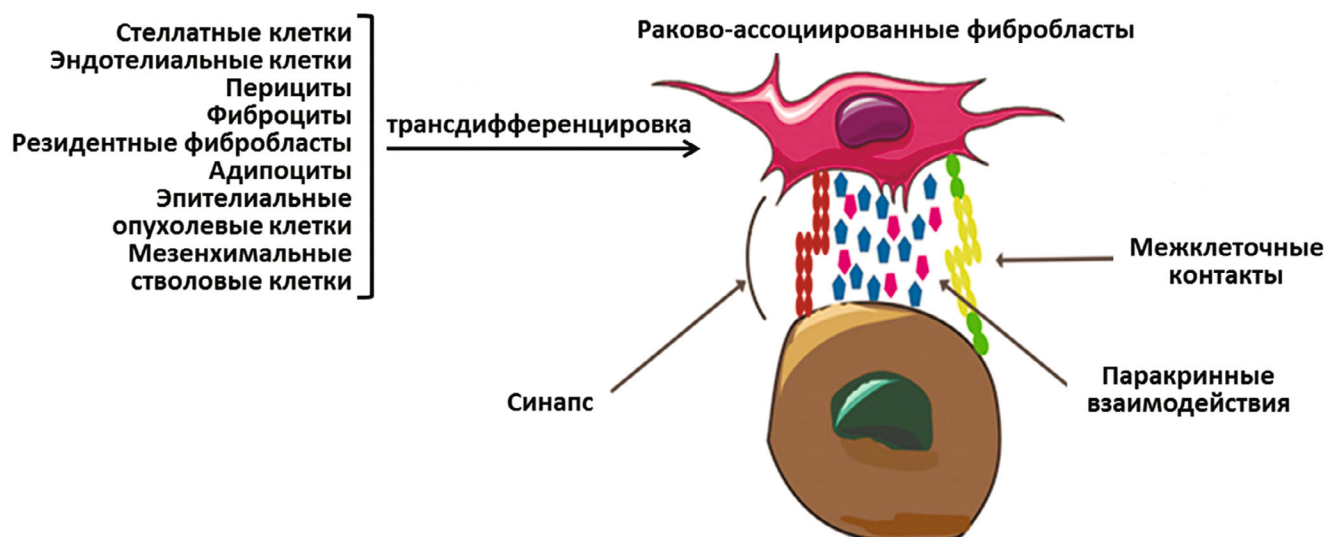
3. Среди множества стохастических событий, происходящих при этой судьбоносной встрече, образуются прочные связи между некоторыми раковыми и стромальными клетками (рис. 1, в). Это приводит к революционному перелому в судьбе раковой опухоли: между прочно связанными клетками образуются синапсоподобные контакты. Начинается интенсивный паракринный обмен между соединенными раковыми и стромальными клетками. Образуется комплекс с возникающим новым свойством – стволовостью. Мы будем называть его раковым



**Рис. 1.** Формирование раково-стволового комплекса (РСКом) и его асимметричное деление. *а* – Карцинома *in situ*. Раковые клетки отделены от стромальных базальной мембраной. Раковых стволовых клеток нет. *б* – Инвазивная карцинома. Раковые клетки прорывают базальную мембрану и встречаются со стромальными клетками. Внеклеточный матрикс деградирует. *в* – В ряде случаев раковые клетки образуют прочные межклеточные связи и формируют синапсopодобный контакт, через который начинается интенсивный паракринный обмен между раковыми и стромальными клетками. Образуется РСКом, способный к асимметричному делению, в результате которого одна раковая клетка остается связанной со стромальным элементом и продолжает паракринный обмен с ним, тогда как другая отщепляется и становится дифференцируемой раковой клеткой. РСКом образует новую сложную систему со вновь возникающими свойствами, в частности, стволовостью и повышенной резистентностью к внешним, в частности терапевтическим, воздействиям. Последнее возникает, вероятно, за счет объединения защитных систем входящих в комплекс компонентов. В состав РСКом могут входить несколько стромальных клеток. В РСКом раково-ассоциированный фибробласт(ы) играет роль портативной (переносной) ниши для раковой клетки. Ниша передвигается с РСК на всем протяжении существования, включая метастазирование

стволовым комплексом – РСКом. Стромальная часть в этом комплексе играет роль портативной ниши. Предполагаем, что комплекс способен к асимметричному делению (рис. 1, *в*). При этом, когда раковая клетка, входящая в состав комплекса, делится, то одна из дочерних клеток сохраняет контакт с фибробластной частью комплекса и остается стволовой, тогда как другая отделяется от нее, становясь не стволовой клеткой способной к дифференцировке. Спо-

собность клеток, прочно связанных с другими клетками, делиться, сохраняя прочные связи, демонстрируют эпителиальные клетки [92]. Раковые клетки чаще всего имеют эпителиальное происхождение. Первоначальные контакты могут осуществляться с различными клеточными компонентами стромы, но вследствие паракринного обмена может происходить трансдифференцировка, в результате которой различные компоненты превращаются в ОАФ [74] (рис. 2).



**Рис. 2.** Вероятная трансдифференцировка различных стромальных клеточных компонентов в раково-ассоциированные фибробласты, происходящая в результате интенсивного паракринного обмена между связанными раковыми и стромальными клетками в РСКом

В состав комплекса может входить большее число компонентов.

4. Существует множество способов образования прочных связей между клетками [93, 94]. В 1977 г. был идентифицирован первый белок клеточной адгезии позвоночных, N-CAM, и в 1981 г. – кадгерины. С тех пор список игроков, вовлеченных в распознавание и адгезию клеток, пополнился суперсемейством кадгеринов, включающем классические, атипичные и протокадгерины, нектины, молекулы клеточной адгезии (cellular adhesion molecule – CAM) коннексины, лектины, сигнальные комплексы Notch/Delta и eph/Ephrin [89, 93]. К этому можно еще добавить десмосомы [95]. Возможно, что эти прямые контакты образуют синапсоподобные структуры, усиливающие межклеточный паракринный обмен информацией. Эта богатая палитра белков адгезии может использоваться для создания радикально различных эффектов при контакте клеток, от отталкивания до адгезии и всех промежуточных состояний. В дополнение к этому в последние годы появилось множество публикаций, посвященных новым типам межклеточных контактов. Один из них использует туннельные нанотрубки (ТНТ). Как следует из названия, ТНТ представляют собой крошечные туннели, которые связывают две (или более) клетки и позволяют транспортировать широкий спектр продуктов между ними, включая ионы, вирусы и целые органеллы [96]. Другой способ контактирования осуществляется через клеточные выросты, филоподии (filopodia, cytonemes), которые используются клетками для

обмена химическими сигналами на больших расстояниях. Такие сигнальные отростки позволяют доставлять сигналы в двух направлениях, от отправителя к получателю и наоборот. Эти новые открытия позволяют расширить понимание контакт-зависимых клеточных коммуникаций [97–101].

5. Клетки РСКом образуют единую систему с усиленным межклеточным обменом информацией, который придает гибкость, обусловленную как регуляторным аппаратом РСКом, так и аппаратом фибробластов. Это типичная сложная система [47]. Вследствие взаимодействия появляются свойственные сложным системам неожиданно возникающие особенности «emergent properties». Создается сверхчувствительная устойчивая система, каждый компонент которой сохраняет определенную степень автономности, например, способность к эпителиально-мезенхимальному переходу. Адгезивные комплексы функционально интегрируют внеклеточное микроокружение с внутренней частью клетки. Сигнальный механизм, связанный с адгезивными комплексами, регулирует разнообразные клеточные функции, которые влияют почти на все биологические процессы [102]. РСКом обладает повышенной резистентностью, связанной с объединением защитных систем, входящих в него компонентов путем паракринного обмена. Это микрорезистентность на клеточном уровне.

6. Стволовая клетка в составе комплекса сохраняет способность к асимметричному самообновлению. При ее делении одна клетка остается

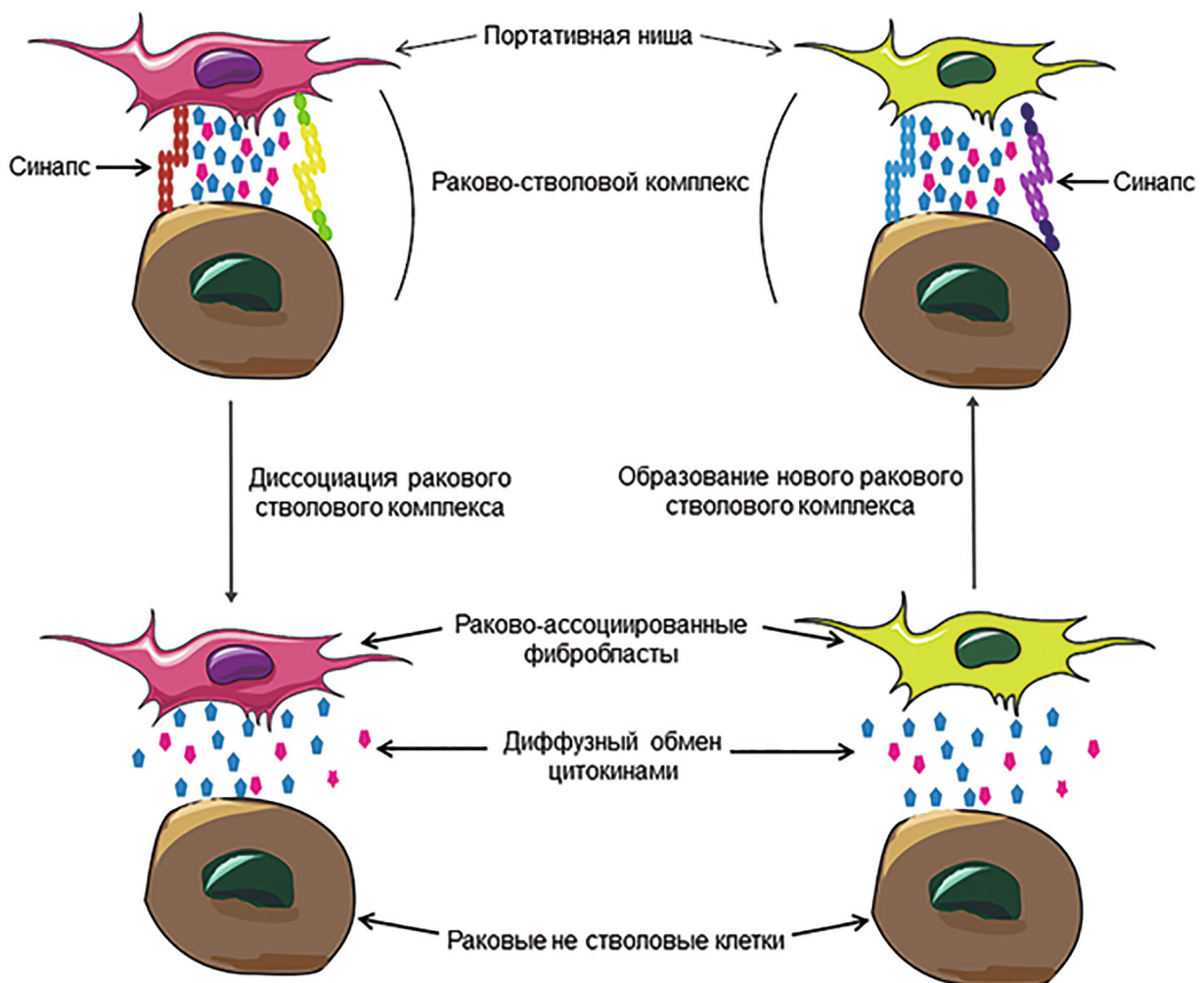


связанной с портативной нишей, стволовость комплекса сохраняется. От связанной клетки отщепляется несвязанная, способная к дифференцировке.

7. Несмотря на прочность, связи между клетками нековалентны и подвержены стохастической диссоциации (рис. 3). При этом РСКом распадается, образуя не стволовую дифференцируемую раковую клетку. Независимо от этого, другая дифференцированная раковая клетка также стохастически может образовать комплекс с другой стромальной клеткой, начать интенсивный паракринный обмен информацией и образовать новый стволовой комплекс. Процесс разрушения-образования стволовых комплексов постоянно идет в популяции раковых и стромальных клеток. Создается приближенная к

равновесию система, в которой может работать принцип Ле Шателье–Брауна – «если на систему, находящуюся в равновесии, воздействовать извне, изменяя какое-либо из условий равновесия, то в системе усиливаются процессы, направленные в сторону противодействия изменениям». В биологии принцип Ле Шателье используют под термином гомеостаз [29]. Это обеспечивает повышенную резистентность опухоли на уровне популяции клеток – макрорезистентность, что, в частности, относится и к терапевтическим агентам. Вышесказанное объясняет широко обсуждаемую пластичность РСК.

8. Портативная ниша путешествует с раковой клеткой в процессе метастазирования в составе РСКом.



**Рис 3.** Пластичность РСКом. РСКом с определенной частотой стохастически разрушается, образуя дифференцируемую раковую клетку и фибробласт. Паракринный обмен прекращается. В тоже время частично дифференцированная раковая клетка способна образовать прочный комплекс с другим стромальным элементом, начать интенсивный паракринный обмен, трансдифференцировать стромальный элемент в раково-ассоциированный фибробласт и образовать РСКом. В опухоли образуется подобие равновесия и действует принцип Ле Шателье

Некоторым подтверждением высказанной гипотезы может служить недавняя статья Su et al. [103], авторы показали, что фракция ОАФ, характеризующая наличием маркеров клеточной поверхности CD10 и GPR77, способствует образованию опухоли и химиорезистентности, предположительно предоставляя нишу для РСК. В их экспериментах обработка антителами против GPR77 уменьшала образование опухолей и восстанавливала чувствительность к химиотерапии на клеточных и животных моделях рака легкого и молочной железы.

### **РАКОВЫЙ СТВОЛОВОЙ КОМПЛЕКС, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ ТЕРАПЕВТИЧЕСКАЯ МИШЕНЬ**

Статья Kaiser [104], опубликованная в начале 2015 г. в журнале «Science», посвящена проблеме существования и значимости раковых стволовых клеток для эволюции и терапии рака. Автор ссылается на авторитет Robert A. Weinberg, крупнейшего ученого в области онкологии. Weinberg и другие исследователи настаивают, что раковые опухоли содержат небольшой процент раковых стволовых клеток, которые лежат в основе самообновления тканей. Они верят, что эти клетки играют роль семян рака, подпитывающих и восстанавливающих опухоль, что они устойчивы к химиотерапии и после лечения возникают снова через месяцы или годы. Если бы можно было специфически воздействовать на эти клетки, то болезнь можно было бы если не победить, то взять под контроль.

Но проблемы сложны. В отличие от традиционной химиотерапии, лекарства, направленные против раковых стволовых клеток, которые составляют небольшой процент от общей массы опухоли, не будут быстро уменьшать размеры опухоли, а в химиотерапии это один из критериев успешности. Но строгого анализа, позволяющего оценивать количество РСК, не существует, и, следовательно, определение эффективности терапевтического воздействия весьма проблематично. Клинические испытания, которые проводятся с агентами против РСК, находятся на слишком ранних стадиях, чтобы судить об успехе.

Наша концепция позволяет подойти к проблеме такой терапии с другой точки зрения. Не раковые или стромальные клетки как таковые, но скорее их взаимодействия с образованием РСКом приводят к эволюции опухоли как органоподобного образования. Эти взаимодействия включают: (i) непосредственные бинарные контакты между лигандами и рецепторами, экспонированными на поверхности раковых и стромальных клеток, и (ii) паракринные коммуникации между раковыми (обычно эпителиальными) клетками и различными стромальными клетками [57].

Иммунотерапия контрольных точек показывает, что наиболее эффективный способ разрушения раковой системы — это прямое воздействие на бинарные контакты между лигандами и их рецепторами, экспонированными на поверхности антигенпредставляющих клеток (АПК), а также раковых и стромальных иммунных клеток. Благодаря своей доступности и участию в важных сигнальных путях, часто нарушенных при раке [105], поверхностные белки клеток являются привлекательной мишенью для терапии. Взаимодействие рецептора с лигандом относительно несложно, и его можно описать простыми кинетическими уравнениями. Рецепторы и лиганды могут иметь разные формы, но их пары всегда хорошо согласованы, так что рецептор узнает всего один или несколько специфических лигандов, а лиганд избирательно связывается всего с одним или несколькими рецепторами. Именно это позволяет парам рецептор–лиганд поддаваться лечению лекарственными средствами, а также делает их особенно полезными клиническими мишенями [106]. Помимо этого, клетки, взаимодействующие в межклеточных контактах, сближены до расстояний, сравнимых с длиной комплексов рецептор–лиганд, обычно составляющей 15–40 нм [107]. Поэтому ингибирование рецепторов может также приводить к ингибированию паракринного взаимодействия.

Эти рассуждения выливаются в концепцию терапевтически перспективного множества прямых межклеточных взаимодействий — анти-тезис молекулярной таргетной терапии, мишенями которой служат сложные внутриклеточные интерактомы. Как и в любой сложной системе [47], фенотипические последствия такого молекулярного таргетирования непредсказуемы. Иммунная терапия контрольных точек — яркий пример успеха концепции использования прямых межклеточных взаимодействий [108].

С целью разрушения прямых контактов ОАФ с раковыми клетками Yamaguchi et al. [86] в попытке найти ингибиторы прямого взаимодействия между ОАФ и раковыми клетками обнаружили, что ингибитор Src тирозинкиназ дазатиниб эффективно блокирует физическую связь между ОАФ и клетками скirrрозной карциномы желудка (Scirrhouc gastric cancer — SGC) с очень небольшим цитотоксическим эффектом. Дазатиниб также эффективно действовал

против перитонеальной диссеминации SGC на мышинной модели. Важно отметить, что согласно гистологическому анализу метастазирующих опухолей, ассоциированных с фибробластами стромы, было меньше в мышах, обработанных дазатинибом, чем в контроле. Эти результаты впервые показали, что прямое взаимодействие между раковыми клетками и ассоциированными фибробластами, вероятно образующими РСКом, может быть мишенью для антиметастатической терапии [86]. Мы надеемся, что будущие исследования подтвердят правильность выбора компонентов контактов, отвечающих за

образование РСКом в качестве перспективной мишени разрушения рака [86].

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект № 19-15-00317).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Greaves, M., and Maley, C.C. (2012) Clonal evolution in cancer, *Nature*, **481**, 306–313, doi: 10.1038/nature10762.
- Marusyk, A., and Polyak, K. (2013) Cancer cell phenotypes, in fifty shades of grey, *Science*, **339**, 528–529, doi: 10.1126/science.1234415.
- O'Connor, M.L., Xiang, D., Shigdar, S., Macdonald, J., Li, Y., Wang, T., Pu, C., Wang, Z., Qiao, L., and Duan, W. (2014) Cancer stem cells: a contentious hypothesis now moving forward, *Cancer Lett.*, **344**, 180–187, doi: 10.1016/j.canlet.2013.11.012.
- Kreso, A., and Dick, J.E. (2014) Evolution of the cancer stem cell model, *Cell Stem Cell*, **14**, 275–291, doi: 10.1016/j.stem.2014.02.006.
- Valent, P., Bonnet, D., De Maria, R., Lapidot, T., Copland, M., Melo, J.V., Chomienne, C., Ishikawa, F., Schuringa, J.J., Stassi, G., Huntly, B., Herrmann, H., Soulier, J., Roesch, A., Schuurhuis, G.J., Wöhrer, S., Arock, M., Zuber, J., Cerny-Reiterer, S., Johnsen, H.E., Andreeff, M., and Eaves, C. (2012) Cancer stem cell definitions and terminology: the devil is in the details, *Nat. Rev. Cancer*, **12**, 767–775, doi: 10.1038/nrc3368.
- Maenhaut, C., Dumont, J.E., Roger, P.P., and van Staveren, W.C. (2010) Cancer stem cells: a reality, a myth, a fuzzy concept or a misnomer? An analysis, *Carcinogenesis*, **31**, 149–158, doi: 10.1093/carcin/bgp259.
- Afify, S.M., and Seno, M. (2019) Conversion of stem cells to cancer stem cells: undercurrent of cancer initiation, *Cancers (Basel)*, **11**, 345, doi: 10.3390/cancers11030345.
- Teng, Y.D., Wang, L., Kabatas, S., Ulrich, H., and Zafonte, R.D. (2018) Cancer stem cells or tumor survival cells? *Stem Cells Dev.*, **27**, 1466–1478, doi: 10.1089/scd.2018.0129.
- Laplane, L., and Solary, E. (2019) Towards a classification of stem cells, *Elife*, **8**, e46563, doi: 10.7554/eLife.46563.
- Hermann, P.C., and Sainz, B.Jr. (2018) Pancreatic cancer stem cells: a state or an entity? *Semin. Cancer Biol.*, **53**, 223–231, doi: 10.1016/j.semcancer.2018.08.007.
- Najafi, M., Farhood, B., and Mortezaee, K. (2019) Cancer stem cells (CSCs) in cancer progression and therapy, *J. Cell. Physiol.*, **234**, 8381–8395, doi: 10.1002/jcp.27740.
- Prager, B.C., Xie, Q., Bao, S., and Rich, J.N. (2019) Cancer stem cells: the architects of the tumor ecosystem, *Cell Stem Cell*, **24**, 41–53, doi: 10.1016/j.stem.2018.12.009.
- Melzer, C., von der Ohe, J., Lehnert, H., Ungefroren, H., and Hass, R. (2017) Cancer stem cell niche models and contribution by mesenchymal stroma/stem cells, *Mol. Cancer*, **16**, 28, doi: 10.1186/s12943-017-0595-x.
- Kusoglu, A., and Biray Avcı, C. (2019) Cancer stem cells: a brief review of the current status, *Gene*, **681**, 80–85, doi: 10.1016/j.gene.2018.09.052.
- Bocci, F., Gearhart-Serna, L., Boareto, M., Ribeiro, M., Ben-Jacob, E., Devi, G.R., Levine, H., Onuchic, J.N., and Jolly, M.K. (2019) Toward understanding cancer stem cell heterogeneity in the tumor microenvironment, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 148–157, doi: 10.1073/pnas.1815345116.
- Ayob, A.Z., and Ramasamy, T.S. (2018) Cancer stem cells as key drivers of tumour progression, *J. Biomed. Sci.*, **25**, 20, doi: 10.1186/s12929-018-0426-4.
- Alguacil-Nunez, C., Ferrer-Ortiz, I., Garcia-Verdu, E., Lopez-Pirez, P., Llorente-Cortijo, I.M., and Sainz, B.Jr. (2018) Current perspectives on the crosstalk between lung cancer stem cells and cancer-associated fibroblasts, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **125**, 102–110, doi: 10.1016/j.critrevonc.2018.02.015.
- Peitzsch, C., Tyutyunnykova, A., Pantel, K., and Dubrovskaya, A. (2017) Cancer stem cells: The root of tumor recurrence and metastases, *Semin. Cancer Biol.*, **44**, 10–24, doi: 10.1016/j.semcancer.2017.02.011.
- Vinogradova, T.V., Chernov, I.P., Monastyrskaya, G.S., Kondratyeva, L.G., and Sverdlov, E.D. (2015) Cancer stem cells: plasticity works against therapy, *Acta Naturae*, **7**, 46–55.
- Aponte, P.M., and Caicedo, A. (2017) Stemness in cancer: stem cells, cancer stem cells, and their microenvironment, *Stem Cells Int.*, **2017**, 5619472, doi: 10.1155/2017/5619472.
- Luo, J., Zhou, X., and Yakisich, J.S. (2014) Stemness and plasticity of lung cancer cells: paving the road for better therapy, *Onco. Targets Ther.*, **7**, 1129–1134, doi: 10.2147/OTT.S62345.
- Shackleton, M., Quintana, E., Fearon, E.R., and Morrison, S.J. (2009) Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution, *Cell*, **138**, 822–829, doi: 10.1016/j.cell.2009.08.017.
- La Porta, C.A.M., and Zapperi, S. (2017) Complexity in cancer stem cells and tumor evolution: toward precision medicine, *Semin. Cancer Biol.*, **44**, 3–9, doi: 10.1016/j.semcancer.2017.02.007.
- Battle, E., and Clevers, H. (2017) Cancer stem cells revisited, *Nat. Med.*, **23**, 1124–1134, doi: 10.1038/nm.4409.
- Xie, X., Teknos, T.N., and Pan, Q. (2014) Are all cancer stem cells created equal? *Stem Cells Transl. Med.*, **3**, 1111–1115, doi: 10.5966/sctm.2014-0085.
- Cabrera, M.C., Hollingsworth, R.E., and Hurt, E.M. (2015) Cancer stem cell plasticity and tumor hierarchy, *World J. Stem Cells*, **7**, 27–36, doi: 10.4252/wjsc.v7.i1.27.

27. Li, Y., and Littera, J. (2012) Cancer stem cells: distinct entities or dynamically regulated phenotypes? *Cancer Res.*, **72**, 576–580, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3070.
28. Chaffer, C.L., and Weinberg, R.A. (2015) How does multi-step tumorigenesis really proceed? *Cancer Discov.*, **5**, 22–24, doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0788.
29. Vermeulen, L., and Snippert, H.J. (2014) Stem cell dynamics in homeostasis and cancer of the intestine, *Nat. Rev. Cancer*, **14**, 468–480, doi: 10.1038/nrc3744.
30. Pennings, S., Liu, K.J., and Qian, H. (2018) The stem cell niche: interactions between stem cells and their environment, *Stem Cells Int.*, **2018**, 4879379, doi: 10.1155/2018/4879379.
31. White, A.C., and Lowry, W.E. (2015) Refining the role for adult stem cells as cancer cells of origin, *Trends Cell Biol.*, **25**, 11–20, doi: 10.1016/j.tcb.2014.08.008.
32. Plaks, V., Kong, N., and Werb, Z. (2015) The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells? *Cell Stem Cell*, **16**, 225–238, doi: 10.1016/j.stem.2015.02.015.
33. Ye, J., Wu, D., Wu, P., Chen, Z., and Huang, J. (2014) The cancer stem cell niche: cross talk between cancer stem cells and their microenvironment, *Tumour Biol.*, **35**, 3945–3951, doi: 10.1007/s13277-013-1561-x.
34. Scadden, D.T. (2014) Nice neighborhood: emerging concepts of the stem cell niche, *Cell*, **157**, 41–50, doi: 10.1016/j.cell.2014.02.013.
35. Borovski, T., De Sousa, E.M.F., Vermeulen, L., and Medema, J.P. (2011) Cancer stem cell niche: the place to be, *Cancer Res.*, **71**, 634–639, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3220.
36. NCI Dictionary of Cancer Terms (URL: [www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/tumor-microenvironment?redirect=true](http://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/tumor-microenvironment?redirect=true)).
37. Gascard, P., and Tlsty, T.D. (2016) Carcinoma-associated fibroblasts: orchestrating the composition of malignancy, *Genes Dev.*, **30**, 1002–1019, doi: 10.1101/gad.279737.116.
38. Hanahan, D., and Coussens, L.M. (2012) Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment, *Cancer Cell*, **21**, 309–322, doi: 10.1016/j.ccr.2012.02.022.
39. Reina-Campos, M., Moscat, J., and Diaz-Meco, M. (2017) Metabolism shapes the tumor microenvironment, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **48**, 47–53, doi: 10.1016/j.cob.2017.05.006.
40. Bhome, R., Al Saihati, H.A., Goh, R.W., Bullock, M.D., Primrose, J.N., Thomas, G.J., Sayan, A.E., and Mirnezami, A.H. (2016) Translational aspects in targeting the stromal tumour microenvironment: from bench to bedside, *New Horiz. Transl. Med.*, **3**, 9–21, doi: 10.1016/j.nhtm.2016.03.001.
41. Bhome, R., Bullock, M.D., Al Saihati, H.A., Goh, R.W., Primrose, J.N., Sayan, A.E., and Mirnezami, A.H. (2015) A top-down view of the tumor microenvironment: structure, cells and signaling, *Front. Cell Dev. Biol.*, **3**, 33, doi: 10.3389/fcell.2015.00033.
42. Bhome, R., Mellone, M., Emo, K., Thomas, G.J., Sayan, A.E., and Mirnezami, A.H. (2018) The colorectal cancer microenvironment: strategies for studying the role of cancer-associated fibroblasts, *Methods Mol. Biol.*, **1765**, 87–98, doi: 10.1007/978-1-4939-7765-9\_6.
43. Kalluri, R. (2016) The biology and function of fibroblasts in cancer, *Nat. Rev. Cancer*, **16**, 582–598, doi: 10.1038/nrc.2016.73.
44. Kalluri, R., and Zeisberg, M. (2006) Fibroblasts in cancer, *Nat. Rev. Cancer*, **6**, 392–401, doi: 10.1038/nrc1877.
45. LeBleu, V.S., and Kalluri, R. (2018) A peek into cancer-associated fibroblasts: origins, functions and translational impact, *Dis. Model. Mech.*, **11**, dmm029447, doi: 10.1242/dmm.029447.
46. Valkenburg, K.C., de Groot, A.E., and Pienta, K.J. (2018) Targeting the tumour stroma to improve cancer therapy, *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, **15**, 366–381, doi: 10.1038/s41571-018-0007-1.
47. Sverdlov, E.D. (2016) Multidimensional complexity of cancer. Simple solutions are needed, *Biochemistry (Moscow)*, **81**, 731–738, doi: 10.1134/S0006297916070099.
48. Ramamonjisoa, N., and Ackerstaff, E. (2017) Characterization of the tumor microenvironment and tumor-stroma interaction by non-invasive preclinical imaging, *Front. Oncol.*, **7**, 3, doi: 10.3389/fonc.2017.00003.
49. Melzer, C., von der Ohe, J., and Hass, R. (2018) Concise review: crosstalk of mesenchymal stroma/stem-like cells with cancer cells provides therapeutic potential, *Stem Cells*, **36**, 951–968, doi: 10.1002/stem.2829.
50. Lou, E., Zhai, E., Sarkari, A., Desir, S., Wong, P., Iizuka, Y., Yang, J., Subramanian, S., McCarthy, J., Bazzaro, M., and Steer, C.J. (2018) Cellular and molecular networking within the ecosystem of cancer cell communication via tunneling nanotubes, *Front. Cell Dev. Biol.*, **6**, 95, doi: 10.3389/fcell.2018.00095.
51. Wu, J.S., Sheng, S.R., Liang, X.H., and Tang, Y.L. (2017) The role of tumor microenvironment in collective tumor cell invasion, *Future Oncol.*, **13**, 991–1002, doi: 10.2217/fon-2016-0501.
52. Chen, F., Zhuang, X., Lin, L., Yu, P., Wang, Y., Shi, Y., Hu, G., and Sun, Y. (2015) New horizons in tumor microenvironment biology: challenges and opportunities, *BMC Med.*, **13**, 45, doi: 10.1186/s12916-015-0278-7.
53. Gandellini, P., Andriani, F., Merlino, G., D’Aiuto, F., Roz, L., and Callari, M. (2015) Complexity in the tumour microenvironment: cancer associated fibroblast gene expression patterns identify both common and unique features of tumour-stroma crosstalk across cancer types, *Semin. Cancer Biol.*, **35**, 96–106, doi: 10.1016/j.semcancer.2015.08.008.
54. Stadler, M., Walter, S., Walzl, A., Kramer, N., Unger, C., Scherzer, M., Unterleuthner, D., Hengstschlager, M., Krupitza, G., and Dolznig, H. (2015) Increased complexity in carcinomas: analyzing and modeling the interaction of human cancer cells with their microenvironment, *Semin. Cancer Biol.*, **35**, 107–124, doi: 10.1016/j.semcancer.2015.08.007.
55. Zi, F., He, J., He, D., Li, Y., Yang, L., and Cai, Z. (2015) Fibroblast activation protein alpha in tumor microenvironment: recent progression and implications (review), *Mol. Med. Rep.*, **11**, 3203–3211, doi: 10.3892/mmr.2015.3197.
56. Raffaghello, L., and Dazzi, F. (2015) Classification and biology of tumour associated stromal cells, *Immunol. Lett.*, **168**, 175–182, doi: 10.1016/j.imlet.2015.06.016.
57. Sverdlov, E. (2018) Missed druggable cancer hallmark: cancer–stroma symbiotic crosstalk as paradigm and hypothesis for cancer therapy, *Bioessays*, **40**, e1800079, doi: 10.1002/bies.201800079.
58. Perrimon, N., Pitsouli, C., and Shilo, B.Z. (2012) Signaling mechanisms controlling cell fate and embryonic patterning, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **4**, a005975, doi: 10.1101/cshperspect.a005975.
59. Bizzarri, M., and Cucina, A. (2014) Tumor and the microenvironment: a chance to reframe the paradigm of carcinogenesis? *Biomed Res. Int.*, **2014**, 934038, doi: 10.1155/2014/934038.
60. Guo, F., Wang, Y., Liu, J., Mok, S.C., Xue, F., and Zhang, W. (2016) CXCL12/CXCR4: a symbiotic bridge linking cancer cells and their stromal neighbors in oncogenic communication networks, *Oncogene*, **35**, 816–826, doi: 10.1038/onc.2015.139.
61. Takakura, N. (2012) Formation and regulation of the cancer stem cell niche, *Cancer Sci.*, **103**, 1177–1181, doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02270.x.

62. Kise, K., Kinugasa-Katayama, Y., and Takakura, N. (2016) Tumor microenvironment for cancer stem cells, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **99**, 197–205, doi: 10.1016/j.addr.2015.08.005.
63. Park, T.S., Donnenberg, V.S., Donnenberg, A.D., Zambidis, E.T., and Zimmerlin, L. (2014) Dynamic interactions between cancer stem cells and their stromal partners, *Curr. Pathobiol. Rep.*, **2**, 41–52, doi: 10.1007/s40139-013-0036-5.
64. Alvarez-Teijeiro, S., Garcia-Inclan, C., Villaronga, M.A., Casado, P., Hermida-Prado, F., Granda-Diaz, R., Rodrigo, J.P., Calvo, F., Del-Rio-Ibisate, N., Gandarillas, A., Moris, F., Hermsen, M., Cutillas, P., and Garcia-Pedrero, J.M. (2018) Factors secreted by cancer-associated fibroblasts that sustain cancer stem properties in head and neck squamous carcinoma cells as potential therapeutic targets, *Cancers (Basel)*, **10**, 334, doi: 10.3390/cancers10090334.
65. Xiong, S., Wang, R., Chen, Q., Luo, J., Wang, J., Zhao, Z., Li, Y., Wang, Y., Wang, X., and Cheng, B. (2018) Cancer-associated fibroblasts promote stem cell-like properties of hepatocellular carcinoma cells through IL-6/STAT3/Notch signaling, *Am. J. Cancer Res.*, **8**, 302–316.
66. Ghiabi, P., Jiang, J., Pasquier, J., Maleki, M., Abu-Kaoud, N., Rafii, S., and Rafii, A. (2014) Endothelial cells provide a notch-dependent pro-tumoral niche for enhancing breast cancer survival, stemness and pro-metastatic properties, *PLoS One*, **9**, e112424, doi: 10.1371/journal.pone.0112424.
67. Saltarella, I., Lamanuzzi, A., Reale, A., Vacca, A., and Ria, R. (2015) Identify multiple myeloma stem cells: utopia? *World J. Stem Cells*, **7**, 84–95, doi: 10.4252/wjsc.v7.i1.84.
68. Weiland, A., Roswall, P., Hatzihristidis, T.C., Pietras, K., Ostman, A., and Strell, C. (2012) Fibroblast-dependent regulation of the stem cell properties of cancer cells, *Neoplasma*, **59**, 719–727, doi: 10.4149/neo\_2012\_091.
69. Xie, J., Tato, C.M., and Davis, M.M. (2013) How the immune system talks to itself: the varied role of synapses, *Immunol. Rev.*, **251**, 65–79, doi: 10.1111/immr.12017.
70. Terry, S., Savagner, P., Ortiz-Cuaran, S., Mahjoubi, L., Saintigny, P., Thiery, J.P., and Chouaib, S. (2017) New insights into the role of EMT in tumor immune escape, *Mol. Oncol.*, **11**, 824–846, doi: 10.1002/1878-0261.12093.
71. Santi, A., Kugeratski, F. G., and Zanivan, S. (2018) Cancer associated fibroblasts: the architects of stroma remodeling, *Proteomics*, **18**, e1700167, doi: 10.1002/pmic.201700167.
72. Marsh, T., Pietras, K., and McAllister, S.S. (2013) Fibroblasts as architects of cancer pathogenesis, *Biochim. Biophys. Acta*, **1832**, 1070–1078, doi: 10.1016/j.bbadis.2012.10.013.
73. Liao, Z., Tan, Z. W., Zhu, P., and Tan, N.S. (2018) Cancer-associated fibroblasts in tumor microenvironment – accomplices in tumor malignancy, *Cell. Immunol.*, 30222–30228, doi: 10.1016/j.cellimm.2017.12.003.
74. Ziani, L., Chouaib, S., and Thiery, J. (2018) Alteration of the antitumor immune response by cancer-associated fibroblasts, *Front. Immunol.*, **9**, 414, doi: 10.3389/fimmu.2018.00414.
75. De Wever, O., Van Bockstal, M., Mareel, M., Hendrix, A., and Bracke, M. (2014) Carcinoma-associated fibroblasts provide operational flexibility in metastasis, *Semin. Cancer Biol.*, **25**, 33–46, doi: 10.1016/j.semcancer.2013.12.009.
76. Heneberg, P. (2016) Paracrine tumor signaling induces transdifferentiation of surrounding fibroblasts, *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, **97**, 303–311, doi: 10.1016/j.critrevonc.2015.09.008.
77. Augsten, M. (2014) Cancer-associated fibroblasts as another polarized cell type of the tumor microenvironment, *Front. Oncol.*, **4**, 62, doi: 10.3389/fonc.2014.00062.
78. Tao, L., Huang, G., Song, H., Chen, Y., and Chen, L. (2017) Cancer associated fibroblasts: an essential role in the tumor microenvironment, *Oncol. Lett.*, **14**, 2611–2620, doi: 10.3892/ol.2017.6497.
79. Bu, L., Baba, H., Yoshida, N., Miyake, K., Yasuda, T., Uchihara, T., Tan, P., and Ishimoto, T. (2019) Biological heterogeneity and versatility of cancer-associated fibroblasts in the tumor microenvironment, *Oncogene*, doi: 10.1038/s41388-019-0765-y.
80. Du, H., and Che, G. (2017) Genetic alterations and epigenetic alterations of cancer-associated fibroblasts, *Oncol. Lett.*, **13**, 3–12, doi: 10.3892/ol.2016.5451.
81. Belli, C., Trapani, D., Viale, G., D'Amico, P., Duso, B.A., Della Vigna, P., Orsi, F., and Curigliano, G. (2018) Targeting the microenvironment in solid tumors, *Cancer Treat. Rev.*, **65**, 22–32, doi: 10.1016/j.ctrv.2018.02.004.
82. Gaggioli, C., Hooper, S., Hidalgo-Carcedo, C., Grosse, R., Marshall, J.F., Harrington, K., and Sahai, E. (2007) Fibroblast-led collective invasion of carcinoma cells with differing roles for RhoGTPases in leading and following cells, *Nat. Cell Biol.*, **9**, 1392–1400, doi: 10.1038/ncb1658.
83. Semba, S., Kodama, Y., Ohnuma, K., Mizuuchi, E., Masuda, R., Yashiro, M., Hirakawa, K., and Yokozaki, H. (2009) Direct cancer-stromal interaction increases fibroblast proliferation and enhances invasive properties of scirrhous-type gastric carcinoma cells, *Br. J. Cancer*, **101**, 1365–1373, doi: 10.1038/sj.bjc.6605309.
84. Choe, C., Shin, Y.S., Kim, S.H., Jeon, M.J., Choi, S.J., Lee, J., and Kim, J. (2013) Tumor-stromal interactions with direct cell contacts enhance motility of non-small cell lung cancer cells through the hedgehog signaling pathway, *Anticancer Res.*, **33**, 3715–3723.
85. He, X.J., Tao, H.Q., Hu, Z.M., Ma, Y.Y., Xu, J., Wang, H.J., Xia, Y.J., Li, L., Fei, B.Y., Li, Y.Q., and Chen, J.Z. (2014) Expression of galectin-1 in carcinoma-associated fibroblasts promotes gastric cancer cell invasion through upregulation of integrin beta1, *Cancer Sci.*, **105**, 1402–1410, doi: 10.1111/cas.12539.
86. Yamaguchi, H., and Sakai, R. (2015) Direct interaction between carcinoma cells and cancer associated fibroblasts for the regulation of cancer invasion, *Cancers (Basel)*, **7**, 2054–2062, doi: 10.3390/cancers7040876.
87. Labernadie, A., Kato, T., Bragues, A., Serra-Picamal, X., Derzsi, S., Arwert, E., Weston, A., Gonzalez-Tarrago, V., Elosegui-Artola, A., Albertazzi, L., Alcaraz, J., Roca-Cusachs, P., Sahai, E., and Trepas, X. (2017) A mechanically active heterotypic E-cadherin/N-cadherin adhesion enables fibroblasts to drive cancer cell invasion, *Nat. Cell Biol.*, **19**, 224–237, doi: 10.1038/ncb3478.
88. Theveneau, E., and Linker, C. (2017) Leaders in collective migration: are front cells really endowed with a particular set of skills? *F1000Res*, **6**, 1899, doi: 10.12688/f1000research.11889.1.
89. Wang, B. (2011) Cancer cells exploit the Eph–ephrin system to promote invasion and metastasis: tales of unwitting partners, *Sci. Signaling*, **4**, pe28, doi: 10.1126/scisignal.2002153.
90. Attieh, Y., Clark, A.G., Grass, C., Richon, S., Pocard, M., Mariani, P., Elkhatib, N., Betz, T., Gurchenkov, B., and Vignjevic, D.M. (2017) Cancer-associated fibroblasts lead tumor invasion through integrin-beta3-dependent fibronectin assembly, *J. Cell Biol.*, **216**, 3509–3520, doi: 10.1083/jcb.201702033.
91. Karagiannis, G.S., Poutahidis, T., Erdman, S.E., Kirsch, R., Riddell, R.H., and Diamandis, E.P. (2012) Cancer-associated fibroblasts drive the progression of metastasis through both paracrine and mechanical pressure on cancer tissue, *Mol. Cancer Res.*, **10**, 1403–1418, doi: 10.1158/1541-7786.MCR-12-0307.

92. Le Bras, S., and Le Borgne, R. (2014) Epithelial cell division – multiplying without losing touch, *J. Cell Sci.*, **127**, 5127–5137, doi: 10.1242/jcs.151472.
93. Cohen, D.J., and Nelson, W.J. (2018) Secret handshakes: cell–cell interactions and cellular mimics, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **50**, 14–19, doi: 10.1016/j.ceb.2018.01.001.
94. Serge, A. (2016) The molecular architecture of cell adhesion: dynamic remodeling revealed by videonanoscopy, *Front. Cell Dev. Biol.*, **4**, 36, doi: 10.3389/fcell.2016.00036.
95. Price, A.J., Cost, A.L., Ungewiss, H., Waschke, J., Dunn, A.R., and Grashoff, C. (2018) Mechanical loading of desmosomes depends on the magnitude and orientation of external stress, *Nat. Commun.*, **9**, 5284, doi: 10.1038/s41467-018-07523-0.
96. Sahu, P., Jena, S.R., and Samanta, L. (2018) Tunneling nanotubes: a versatile target for cancer therapy, *Curr. Cancer Drug Targets*, **18**, 514–521, doi: 10.2174/1568009618666171129222637.
97. Jacquemet, G., Hamidi, H., and Ivaska, J. (2015) Filopodia in cell adhesion, 3D migration and cancer cell invasion, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **36**, 23–31, doi: 10.1016/j.ceb.2015.06.007.
98. Kornberg, T.B. (2017) Distributing signaling proteins in space and time: the province of cytonemes, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **45**, 22–27, doi: 10.1016/j.gde.2017.02.010.
99. Mattes, B., and Scholpp, S. (2018) Emerging role of contact-mediated cell communication in tissue development and diseases, *Histochem. Cell Biol.*, **150**, 431–442, doi: 10.1007/s00418-018-1732-3.
100. Fairchild, C.L., and Barna, M. (2014) Specialized filopodia: at the “tip” of morphogen transport and vertebrate tissue patterning, *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **27**, 67–73, doi: 10.1016/j.gde.2014.03.013.
101. Caviglia, S., and Ober, E.A. (2018) Non-conventional protrusions: the diversity of cell interactions at short and long distance, *Curr. Opin. Cell Biol.*, **54**, 106–113, doi: 10.1016/j.ceb.2018.05.013.
102. Humphries, J.D., Paul, N.R., Humphries, M.J., and Morgan, M.R. (2015) Emerging properties of adhesion complexes: what are they and what do they do? *Trends Cell Biol.*, **25**, 388–397, doi: 10.1016/j.tcb.2015.02.008.
103. Su, S., Chen, J., Yao, H., Liu, J., Yu, S., Lao, L., Wang, M., Luo, M., Xing, Y., Chen, F., Huang, D., Zhao, J., Yang, L., Liao, D., Su, F., Li, M., Liu, Q., and Song, E. (2018) CD10(+)GPR77(+) Cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness, *Cell*, **172**, 841–856 e816, doi: 10.1016/j.cell.2018.01.009.
104. Kaiser, J. (2015) The cancer stem cell gamble, *Science*, **347**, 226–229, doi: 10.1126/science.347.6219.226.
105. Kuhlmann, L., Cummins, E., Samudio, I., and Kislinger, T. (2018) Cell-surface proteomics for the identification of novel therapeutic targets in cancer, *Expert Rev. Proteomics*, **15**, 259–275, doi: 10.1080/14789450.2018.1429924.
106. Kim, J.W., and Cochran, J.R. (2017) Targeting ligand-receptor interactions for development of cancer therapeutics, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **38**, 62–69, doi: 10.1016/j.cbpa.2017.03.010.
107. Weikl, T., Asfaw, M., Krobath, H., Rozycki, B., and Lipowsky, R. (2009) Adhesion of membranes via receptor–ligand complexes: domain formation, binding cooperativity, and active processes, *Soft Matter*, **5**, 3213–3224, doi: 10.1039/b902017A.
108. Cogdill, A.P., Andrews, M.C., and Wargo, J.A. (2017) Hallmarks of response to immune checkpoint blockade, *Br. J. Cancer*, **117**, 1–7, doi: 10.1038/bjc.2017.136.

## CANCER STEM COMPLEX, NOT A CANCER STEM CELL, IS THE DRIVER OF CANCER EVOLUTION

E. D. Sverdlov<sup>1,2</sup> and I. P. Chernov<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, 123182 Moscow, Russia

<sup>2</sup> Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, 117997 Moscow, Russia; E-mail: igor.palich@gmail.com

Received April 29, 2019

Revised May 30, 2019

Accepted June 1, 2019

A hypothesis is put forward on the mechanism of cancer stem cells functioning providing that they exist. The hypothesis is based on the following postulates: 1. Paracrine exchange between cancer and stromal cells is efficient only provided that they are in close contact and form a synapse-like intercellular space for intercellular crosstalk, where the concentration of paracrine signal molecules is high due to a small volume of the synaptic cleft. 2. Cancer stem cells *per se* do not exist. Instead, there are cancer stem complexes formed by cancer cells which are strongly bound to stromal cells (portable niches) and are in paracrine exchange with them. 3. A cancer stem complex is a complex system with newly arising properties, such as stemness and resistance to external impacts, including therapeutic interventions. 4. Stemness reveals itself in the ability of the cancer cell within the complex to divide asymmetrically: one cell remains in the complex forming a renewed stem complex, whereas the other cell gets detached from the complex forming a differentiating non-stem cell. 5. Enhanced resistance of cancer stem complexes is due to the integration of its intrinsic defense systems through a paracrine exchange. This is microresistance at the cell level. 6. A stem complex can stochastically decay forming a non-stem cancer cell. Partly differentiated non-stem cancer cells are able to stochastically bind to a stromal component, dedifferentiate due to paracrine signals and form new cancer stem complexes. Thus, a tumor is a flexible system in a near-equilibrium state. Such systems comply with Le Chatelier’s principle (homeostasis): an equilibrium system under external impacts activates the processes antagonistic to changes. This provides an enhanced resistance of the tumor at the level of cell population, i.e., macroresistance. 7. A portable niche travels with a cancer cell in metastasis. We propose a general therapeutic strategy directed at the contacts between cancer and stromal cells. The disruption of these contacts should lead to the destruction of cancer stem complexes and elimination of tumors.

**Keywords:** tumorigenesis, metastasis, differentiation and dedifferentiation, stemness, stem cell niche, self-renewal, synapse, paracrine crosstalk