

УДК 616-091.8;576.385.5

ГИБРИДНЫЕ/АТИПИЧНЫЕ ФОРМЫ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Обзор

© 2022 Е.В. Кайгородова^{1,2*}, А.В. Козик², И.С. Заваруев², М.Ю. Грищенко³

¹ Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, 634050 Томск, Россия; электронная почта: zlobinae@mail.ru

² Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 634050 Томск, Россия

³ Областное государственное автономное учреждение здравоохранения «Томский областной онкологический диспансер», 634050 Томск, Россия

Поступила в редакцию 24.02.2022

После доработки 27.03.2022

Принята к публикации 28.03.2022

Одним из наиболее распространённых заболеваний во всём мире является рак, лечение которого сопряжено со многими проблемами, такими как лекарственная и радиорезистентность, а также образование метастазов. Эти трудности связаны с гетерогенностью опухоли, которая имеет много причин. Одной из них может быть слияние клеток – механизм, который имеет отношение как к физиологическим (например, заживление ран), так и к патофизиологическим (рак и вирусная инфекция) процессам. Настоящий обзор литературы направлен на обобщение имеющихся данных о гибридных/атипичных формах циркулирующих опухолевых клеток (СНС) и их роли в опухолевой прогрессии. Для этого был проведён биоинформационный поиск в универсальных базах данных PubMed, NCBI и Google Scholar с применением ключевых слов для поиска «hybrid cancer cells», «cancer cell fusion» и др. В данном обзоре представлена последняя информация о гибридных/атипичных опухолевых клетках (СAML), теории образования гибридных опухолевых клеток, их разновидности и характеристики с приведением данных собственных исследований. Многие аспекты изучения гибридных клеток сейчас всё ещё находятся на зачаточной стадии. Однако при уже накопленном уровне знаний такие циркулирующие гибриды как СAML и СНС показывают себя как многообещающий биомаркёр опухолевых заболеваний и даже больше – как новый подход к лечению рака.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гибридные/атипичные клетки, клеточное слияние, рак, опухолевая прогрессия, циркулирующие опухолевые клетки.

DOI: 10.31857/S032097252204008X, **EDN:** ARFNQU

ВВЕДЕНИЕ

Раковые заболевания являются лидирующей причиной смерти в большинстве стран. За 2020 г. было зарегистрировано 19,3 млн случаев рака, из которых около 10 млн окончились смертельным исходом [1]. В России выявлен 591 371 случай злокачественных новообразований с 312 122 смертельными случаями [2], что

ставит это заболевание на второе место по частоте возникновения и смертности в стране среди всего населения [1]. Высокая смертность от данной патологии обусловлена множеством особенностей течения рака, включая метастатический процесс [3] и химиорезистентность [4], и является крайне актуальной проблемой мировой онкологии. Уже известно, что в данных процессах может участвовать принципиально иная группа клеток – гибриды между раковыми и нормальными клетками пациента. В настоящем обзоре представлена последняя информация по данной форме злокачественных клеток, вызвавших пристальное внимание среди учёных в последнее время. Показаны теории образования гибридных опухолевых клеток, их разновидности и характеристики с приведением данных собственных исследований.

Принятые сокращения: MSC – мезенхимальные стволовые клетки; РМЖ – рак молочной железы; ЕМТ – эпителиально-мезенхимальный переход; CSC – раковые стволовые клетки; СAML – атипичные гибридные опухолевые клетки, похожие на макрофаги; СНС – циркулирующие гибридные клетки; СТС – циркулирующие опухолевые клетки.

* Адресат для корреспонденции.

ИСТОРИЯ ОТКРЫТИЯ ГИБРИДНЫХ ФОРМ КЛЕТОК

Слияние клеток является процессом, обратным клеточному делению – объединение мембран и внутриклеточного содержимого двух клеток. В норме с помощью данного механизма в организме человека образуются остеокласты, миоциты скелетной мускулатуры и синцитиотрофобласт. Слияние играет роль в регенерации внутренних органов. Таким образом, образование гибридов участвует в ряде важных процессов в организме человека [5].

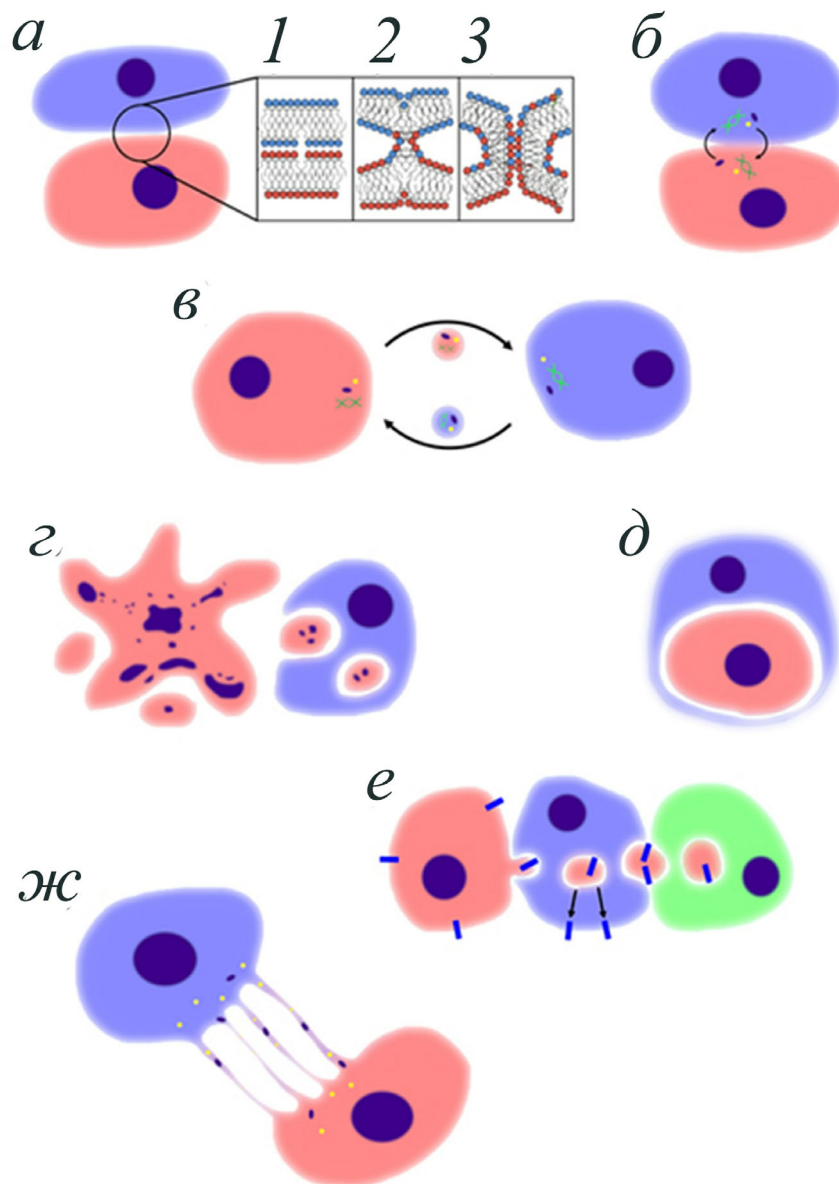
В 1911 г. Otto Aichel предположил, что раковые клетки способны к слиянию с лейкоцитами, образуя злокачественные гибридные клетки [5]. Его гипотеза была подтверждена в 1974 г. Goldenberg et al. [6], обнаруживших в клетках астроцитарной глиомы человека, выращенной в золотистом хомяке, хромосомы как донора, так и реципиента. Гибридные клетки обладают как свойствами раковых клеток (способность к неконтрольному росту и размножению), так и лейкоцитов (хемотаксис) [5]. Совокупность этих характеристик делает гибриды крайне склонными к образованию метастазов, что было подтверждено рядом исследователей [7]. Стоит отметить противоположные результаты, полученные в 1969 и 1989 гг. Harris et al. [8, 9]. Исследования показали, что слияние нормальных фибробластов мыши с различными линиями злокачественных клеток мыши привело к образованию стабильных гибридов, которые имели хромосомные маркеры обоих родительских клеточных линий и не образовывали опухоли у гистосовместимых животных. И хотя современные данные говорят скорее об озлокачествлении опухолевых клеток после слияния [10–12], исследование Harris позволило предположить наличие ген-супрессоров опухолевого роста.

ТЕОРИИ ОБРАЗОВАНИЯ ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК

Существует множество теорий образования гибридных клеток. Наиболее хорошо изучен синцитин-зависимый механизм слияния (рисунок, а). Вкратце, данный процесс можно разделить на 3 стадии. Первая подразумевает сближение клеток до состояния, при котором между цитоплазматическими мембранами не остаётся молекул воды. Кроме того, наблюдается перераспределение отрицательно заряженных фосфолипидов, включая фосфатидилсерин, с внутренней на внешнюю мембрану в месте контакта. В таких условиях наружные липидные слои обе-

их клеток начинают смешиваться между собой, сигнализируя о втором этапе процесса – полуслиянии (hemifusion). Наконец, формируется стебель слияния (fusion stalk), стенки которого образованы объединённым билипидным слоем обеих клеток. Внутри же он наполнен цитоплазмой двух клеток. Стебель расширяется, завершая процесс слияния. Задачу сближения и инициации слияния выполняют белки фузогены (fusogenes), такие как синцитин-1 и -2 [13]. Их роль в гибридизации клеток была уже неоднократно подтверждена, например, в 2018 г. в эксперименте Mezler et al. [14] проводилось слияние мезенхимальных стволовых клеток (Mesenchymal Stem Cells, MSC) и клеток рака яичников SK-OV-3. Данные гибриды экспрессировали синцитин-2 и MFSD-2A, в норме характерные для клеток синцитиотрофобласта плаценты. Гены, отвечающие за синтез синцитинов в клетках, были внесены в геном эукариот ретровирусами миллионы лет назад. Поэтому инфекции, вызываемые разнообразными вирусами, включая SARS-CoV-2 [15], также приводят к гибридизации [16]. Кроме того, клеточное слияние вызывают и некоторые виды бактерий [17].

Другие теории образования гибридных клеток включают в себя теорию прямого взаимодействия (direct interaction) (рисунок, б), подразумевающую обмен РНК, факторами роста и цитокинами между раковыми клетками и MSC. Непрямое взаимодействие (indirect interaction) (рисунок, в) объясняет генез гибридов тем же механизмом, но передача молекул осуществляется на расстоянии при помощи везикул, выпускаемых клетками во внеклеточную среду. Теория же фагоцитоза (рисунок, г) описывает приобретение лейкоцитами элементов раковых клеток через их фагоцитоз [18]. Разновидностью этой теории можно назвать энтоз – полное поглощение одной клетки другой (рисунок, д). В эксперименте *in vitro* на MSC и эмбриональных стволовых клетках последние способны поглотить мезенхимальные стволовые клетки с сохранением их жизнеспособности [19]. Другой разновидностью фагоцитоза является трогоцитоз – «надкусывание» живой раковой клетки с дальнейшей презентацией антигенов клетки-донора на поверхности клетки-реципиента (рисунок, е). Клетка-донор при этом зачастую теряет свои функции, передавая их реципиенту, или погибает. Клеточная гибель в ходе трогоцитоза несёт название трогоптоза [20]. Трогоцитоз был описан между MSC и клетками рака яичников, приводя к хеморезистентности клеток [21]. Вполне возможно, что материал раковых клеток передаётся MSC не через их прямое взаимодействие, а



Теории клеточного слияния. *а* – Синцитин-зависимый механизм: максимальное сближение мембран клеток (1); полуслияние, при котором происходит смешение липидов внешнего слоя билипидов плазматической мембраны (2); образование стебля слияния (3). *б* – Прямое взаимодействие клеток с непосредственным обменом молекул. *в* – Непрямое взаимодействие с обменом веществами на расстоянии. *г* – Приобретение материала раковых клеток посредством фагоцитоза. *д* – Энтоз (поглощение живой клетки с сохранением её жизнеспособности). *е* – Трогочитоз (слева) – «надкусывание» живой клетки с приобретением антигенов клетки-донора. Передача полученных таким образом элементов цитоплазмы третьим клеткам носит название драгоцитоз (справа). *ж* – Обмен материалом с помощью «туннельных нанотрубочек»

доставкой с макрофагами, предварительно захватившими компоненты злокачественных клеток посредством трогочитоза. Такой способ межклеточного взаимодействия имеет название драгоцитоз (рисунок, *е*), и на данный момент доказано выживание некоторых бактерий через данный механизм [22]. В обзоре Manjunath et al. [10] авторы предполагают, что процесс передачи ионов, молекул, везикул и органелл между клет-

ками может происходить через формирование так называемых «туннельных нанотрубочек» (рисунок, *ж*). Это тонкие образования 20–500 нм в диаметре, содержащие F-актин и микротрубочки, и формируемые клетками в стрессовых условиях – нехватка питательных веществ, вирусная инвазия, окислительный стресс и др. Формирование данных структур и подключение к окружающим клеткам способ-

ствует их выживанию в неблагоприятных условиях. Возможно, таким образом, раковые клетки подключаются к оказавшимся рядом макрофагам, что может окончиться необратимым слиянием двух клеток. Наконец, Notch-сигналинг и щелевые соединения также могут быть вовлечены в процесс клеточного слияния [21].

После слияния клетки претерпевают процесс пост-гибридизационной селекции (Post-Hybrid Selection Process, PHSP), включающий в себя спонтанные переходы из гетеро- в синкарион (Hetero- to Synkariion Transition, HST) – переход от многоядерности к клетке с единым ядром; хромосомные перестройки и нарушения митоза. PHSP – весьма неустойчивый процесс и чувствителен к сигналам извне. Неудавшееся слияние ядра или геномная перестройка приводит к прекращению процесса и терминции клетки путём апоптоза или некроза. По этой причине жизнеспособные гибриды образуются редко, но в случае успешного завершения селекции они получают способность к неконтролируемому росту, вкупе с механизмами ускользания от клеточного иммунитета и повышенной устойчивости к противоопухолевым препаратам. Такие клетки способны стремительно размножаться и быстро образовывать метастазы [23].

ХАРАКТЕРИСТИКА ГИБРИДНЫХ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

За всё время исследования гибридных клеток был выделен ряд гибридов, отличающихся друг от друга клетками, с которыми они вступили в слияние. В таблице систематизированы данные о различных популяциях гибридных клеток.

Гибриды «Опухолевая клетка + здоровая клетка». Данная группа отличается наибольшим разнообразием среди всех гибридных клеток [30–34, 43–45]. Описана возможность слияния опухолевой клетки с эпителиальной клеткой [30–33, 45], фибробластами [34, 43] и остеокластами [44]. Объединяют их лишь повышенная резистентность к противоопухолевым препаратам и темпы деления по сравнению со своими раковыми клетками-предшественниками. Все остальные свойства, такие как поверхностные маркёры и характерные генетические мутации каждого гибрида, зависят от родительских клеток. Часто описывается наследование от родительских опухолевых клеток свойств стволовых клеток, таких как появление транскрипционных факторов, характерных для стволовых клеток – Oct4, Sox2, Nanog, Klf4, Bmi1 и CD133, и повышение метастатического потенциала с

образованием маммосфер при раке молочной железы (PMЖ). В большинстве случаев клетки сохраняют морфологию родительской раковой клетки. В нескольких работах по скрещиванию клеток эпителия молочной железы с разными клеточными линиями PMЖ [31, 32] каждый гибрид показывал отличные друг от друга способности к росту и размножению. Следовательно, вполне возможно, что гибридные клетки вносят значительный вклад в опухолевую гетерогенность.

Клиническая важность выявления гибридных клеток обусловлена отличиями в биохимических процессах и действии сигнальных путей от обычных раковых клеток. Например, клетки, полученные в результате слияния клеток, принадлежащих к двум разным линиям PMЖ, обладали изменённой активностью пути RAF-АКТ. Это привело к парадоксальной реакции гибридов на ингибитор PI3K – добавление препарата вело к значительному повышению подвижности злокачественных клеток, когда простые клеточные линии опухолевых клеток PMЖ реагировали блокировкой миграции. По этой причине имеет смысл проводить поиск таких гибридов у пациентов для проведения эффективной терапии [45].

Гибриды «Опухолевая клетка + стволовая клетка». Группа гибридов стволовых клеток с раковыми клетками также весьма разнообразна [11, 41, 42, 46–49], аналогично предыдущей группе. Существует мнение, что именно процесс слияния опухолевых клеток с MSC и макрофагами лежит в основе метастазирования клеток, поскольку опухолевые клетки приобретают их свойства, способны отрываться и циркулировать в крови. Так, в исследованиях Li et al. [46] было показано, что при слиянии опухолевых клеток со стромальными клетками сальника, по своим характеристикам схожими с MSC, гибридные формы увеличивали свою подвижность по сравнению с родительскими клетками. Авторы предполагают, что это связано с подавлением экспрессии E-кадгерина и стимуляцией – виментина. Это также подтверждается в ряде исследований [41, 42], где после слияния раковой клетки и MSC гибриды претерпевают эпителиально-мезенхимальный переход (Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT) с повышением их миграционных и пролиферативных способностей. При этом новообразованный гибрид способен как сохранить морфологию раковой эпителиальной клетки [42, 50], так и перейти к более мезенхимальному виду, близкому к фибробластному [51], однако во всех случаях гибриды имеют мезенхимальный генный и молекулярный профили. Учитывая стремление гибридов к

Характеристика типов гибридных клеток

Тип гибридной клетки	Основные характеристики	Роль в опухолевой прогрессии («+» – усиливают; «-» – ингибируют; «?» – неизвестно)	Источник
Остеокласты	крупные многоядерные клетки неправильной формы, обеспечивающие ремоделинг кости; располагаются преимущественно в зонах лизиса/синтеза костей; остеокласты становятся таковыми путём слияния с малыми одноядерными пре-остеокластами – последовательно по одной клетке за раз, тем самым клетки увеличивают остеолитическую активность; (аналогичный эффект возможен при слиянии с клетками миеломы)	«+»	[24–26]
Синцитиотрофобласт	клетки цитотрофобласта сливаются в структуры с множеством удлинённых ядер, хорошо развитым эндоцитозным аппаратом и множеством микроворсин на свободной поверхности; многоядерные синцитиальные структуры обеспечивают обменную функцию плаценты и продукцию плацентарных гормонов; поддержание многоядерного синцитиотрофобласта происходит за счёт постоянного поступления одноядерных цитотрофобластов	«?»	[27, 28]
Мышечные волокна скелетной мускулатуры	многоядерная структура цилиндрической формы, в среднем достигающая в длину 10 см, образуется в результате слияния множества миобластов; основная действующая единица скелетной мышцы	«?»	[29]
Гибрид «Опухолевая клетка + эпителиоцит»	морфология в большинстве случаев заимствуется у раковой клетки-предшественницы; поверхностные маркёры зависят от родительских клеток; гибриды демонстрируют повышенную колониеобразующую способность и устойчивость к терапии (по сравнению с родительскими клетками); зачастую приобретает свойства стволовых клеток	«+»	[30–33]
Гибрид «Опухолевая клетка + фибробласт»	клетки имеют различную морфологию, многоядерны, но имеют сниженную выживаемость и пролиферативную активность: в 97% случаев клетки останавливают деление и погибают из-за "митотической катастрофы"; однако единичные выжившие клетки приобретают одинаковое строение, похожее на родительские раковые клетки, начинают быстрее расти, не поддаются классическому лечению	«+»/«-»	[8, 34]
Гибрид «Опухолевая клетка + макрофаг»	к данной группе принадлежат атипичные гибридные опухолевые клетки, похожие на макрофаги (Cancer-Associated Macrophage-Like Cells, CAML) и циркулирующие гибридные клетки (Circulating Hybrid Cells, CHC); средние размеры 43,5 мкм, имеют овальную, аморфную или головастикоподобную форму; обнаруживаются в большинстве биологических жидкостей пациентов по маркёрам CD45 и ЕrCAM; большая часть гибридов приобретает повышенный метастатический потенциал и куда более подвижны под действием хемоаттрактантов, чем родительские клетки	«+»	[35–37]
Гибрид «Опухолевая клетка + лимфоцит»	представлены гибридами - искусственно получаемыми гибридами между раковой и плазматической клеткой, способной быстро синтезировать моноклональные антитела; присутствие подобных гибридов у онкологических больных не было подтверждено	«?»	[38]

Окончание таблицы

Тип гибридной клетки	Основные характеристики	Роль в опухолевой прогрессии («+» – усиливают; «-» – ингибируют; «?» – неизвестно)	Источник
Гибрид «Опухолевая клетка + дендритная клетка»	искусственно выведенные многоядерные клетки неправильной формы с короткими отростками; гибриды способны представлять опухолевые антигены Т-клеткам; гибриды лучше стимулируют активность цитотоксических лимфоцитов в сравнении с опухолевыми или дендритными клетками; рассматриваются в качестве «вакцин от рака»	«-»	[39, 40]
Гибрид «Опухолевая клетка + стволовая клетка»	могут как сохранить морфологию раковой клетки, так и принять фибробластоподобный вид; сохраняют мезенхимальный генный и молекулярный профили; поверхностные маркеры различны и зависят от клеток-предшественниц; гибридные формы увеличивают свою подвижность, пролиферативную активность и резистентность к терапии; предполагается генез CSC в ходе данного слияния	«+»	[5, 41, 42]

анеу- и полиплоидии, а также обнаружение этого феномена в метастатических клетках, при том что появление тетраплоидов не характерно в ходе прогрессии негибридных раковых клеток, далее поддерживает вышеописанную теорию [42].

Не исключена возможность генеза раковых стволовых клеток (Cancer Stem Cells, CSC) в результате слияния раковой и нормальной стволовой клетки. CSC – субпопуляция опухолевых клеток, обладающих низким пролиферативным потенциалом, но исключительно высокой жизнеспособностью. Этому содействуют нечувствительность к апоптотическим сигналам и устойчивость к противоопухолевым препаратам. Им отводится роль «спящих клеток», способных приступить к делению даже после полного уничтожения первичной опухоли, приводящих к рецидивам рака. В многочисленных опытах по скрещиванию MSC и раковых клеток были получены гибриды, обладающие свойствами CSC. Гибридная теория вполне может решить проблему образования данной малоизвестной субпопуляции, но она требует дальнейших исследований и подтверждений [5].

Гибриды «Опухолевая клетка + макрофаг». Несмотря на повышенный метастатический потенциал вышеперечисленных гибридов, не существует данных, подтверждающих их циркуляцию в крови и других биологических жидкостях. Это делает их труднодоступными для получения, тем самым серьезно снижая их диагностическую ценность. Вместо них обнаруживается другой, более однородный тип гибридных клеток – гибриды опухолевых клеток с макрофага-

ми. На данный момент можно сказать, что это наиболее активно исследуемый тип гибридных клеток. Уже описано несколько подтипов таких гибридов, однако стоит отметить их сходство между собой. Не исключено, что исследователи дали несколько названий одному и тому же типу клеток. Так, Adams et al. [52] в 2014 г. описали CAML в крови пациентов с раком молочной и поджелудочной железы. Ряд других исследователей [10] дали подобным клеткам название «Macrophage-Tumor cell Fusion cells» (MTF). Морфологически это высокодифференцированные клетки миелоидного ряда, способные к фагоцитозу, с большим атипичным ядром или множеством более мелких ядер [52]. Размеры CAML варьируют от 21 до 300 мкм (со средним значением 43,5 мкм), в то время как циркулирующие раковые клетки и лейкоциты имеют размер 18,8 и 12,4 мкм соответственно [35]. CAML способны принимать овальную, аморфную или головастикоподобную форму [36]. Данные клетки присутствуют у широкого спектра онкобольных в крови (8,2 клеток/7,5 мл) и в разы больше – в асцитической жидкости (~600 000 клеток/мл – при раке яичников), но не обнаруживаются у здоровых людей [53]. CAML исходят из ткани первичной опухоли (до 13% от всех клеток) [54]. Такие клетки экспрессируют CD45, характерный для всех видов лейкоцитов человека [55]; ЕpCAM – молекулы клеточной адгезии эпителия, обнаруживающиеся у большинства раковых эпителиальных клеток [56], и цитокератины (СК) [57]. Кайгородова с соавт. [58] в исследовании асцитической

жидкости больных раком яичников выделили 12 популяций EpCAM-положительных клеток. Было установлено, что самой многочисленной группой являлись атипичные клетки гибридного фенотипа с признаками стволовости и EMT (EpCAM⁺, CD45⁺, CD44⁺, CD24^{+/-}, CD133^{+/-}, N-кадгерин^{+/-}), причём эти данные неоднократно подтверждались. Кроме этого, в наших исследованиях было показано, что количество атипичных/гибридных форм опухолевых клеток EpCAM⁺CD45⁺ в асцитической жидкости больных раком яичников имеет прямую корреляционную связь со степенью канцероматоза [59]. Sukhbaatar et al. [60] в ходе поиска мутаций TP53 в клетках рака яичников также обнаружили клетки EpCAM⁺CD45⁺, но не обнаружил в них каких-либо мутаций этого гена. Авторами показано, что в SAML по сравнению с нормальными макрофагами в 10–170 раз повышена экспрессия таких генов, как ZEB1, SNAIL, TWIST, INMB1, THNSB и COL11, что приводит к увеличению количества N-кадгерина и виментина.

Помимо SAML, выделяют также небольшие (5–20 мкм) клетки округлой формы с 1–2 круглыми ядрами, имеющие маркёры, аналогичные SAML. Этим клеткам было дано название «циркулирующие гибридные клетки» (СНС). Они также наблюдаются в крови большинства онкологических больных в количествах куда больших, чем имеющие только маркёры раковых клеток циркулирующие опухолевые клетки (Circulating Tumor Cells, CTC) – в среднем примерно 5–70 клеток на 500 000 живых клеток в зависимости от онкологического заболевания, вплоть до тысяч – при увеальной меланоме [61]. Предполагается, что именно СНС являются продуктом клеточного слияния, когда SAML образуются в результате поглощения содержимого раковых клеток [57]. Ряд работ подтверждает метастатический потенциал СНС – в исследованиях Gast et al. [12] скрещивание макрофагов с клетками аденокарциномы и меланомы привело к образованию гибридных форм с увеличенным пролиферативным потенциалом и усиленной способностью давать метастазы. Интересно, что в условиях *in vitro* клетки со временем прекращают деление. *In vivo* же наблюдается повышенный пролиферативный потенциал гибридов, что говорит о том, что на гибриды «опухолевая клетка + макрофаг» положительно влияют сигналы от микроокружения. Ещё более интересным является тот факт, что СНС встречаются даже в образцах крови здоровых пациентов, что принципиально отличает данные клетки от SAML [7]. Неоднократно подчеркивалась гетерогенность СНС в экспрессии генов белков, отвечающих за мезенхимальные

(виментин, N-кадгерин), стволовые (CD44, CD133, ALDH1) свойства, а также некоторых рецепторов (рецепторы андрогенов). При этом только СНС с выраженными свойствами стволовых и мезенхимальных клеток участвуют в метастатическом процессе, а повышенное количество андрогеновых рецепторов при РМЖ говорит о повышенной резистентности к терапии [62–64].

Неоднократно среди гибридов «опухолевая клетка + макрофаг» обнаруживались клетки с такими маркёрами, как CD163 [65–67], CD204 и CD206 [68]. Они характерны для M2-макрофагов. В отличие от провоспалительных M1, M2 угнетают воспаление и стимулируют процессы опухолевого роста и прогрессии. Установлено, что именно при слиянии раковой клетки с M2-макрофагом получаемый гибрид приобретает черты макрофага и стволовой клетки, получая повышенную способность к метастазированию [69]. Более того, наблюдается избирательное слияние M2-макрофагов с раковыми клетками [70]. Скорее всего, все гибриды «опухолевая клетка + макрофаг» образованы при участии опухоль-ассоциированных макрофагов (tumor-associated macrophages, TAM) – клеток, находящихся в составе солидной опухоли и поддерживающих её жизнеспособность. Они имеют M2-характерный фенотип, и считается, что TAM и M2-макрофаги являются одними и теми же клетками, хотя последние исследования говорят о некорректности данной теории [71].

Именно гибриды «опухолевая клетка + макрофаг» вызывают крайне высокий интерес среди научного сообщества вследствие своего значительного присутствия в крови даже на самых ранних этапах прогрессирования заболевания [10] и лёгкости получения, что потенциально делает их эффективным и надёжным биомаркёром солидных опухолей. Огромный размер SAML серьёзно упрощает задачу выделения клеток из крови, позволяя применять такие технически простые методы, как микрофилтрация [35].

В исследованиях последних лет предполагается, что клетки CD45⁺EpCAM⁺ обладают устойчивостью к химиотерапии повышенной злокачественностью. В частности, считается, что клетки CD45⁺EpCAM⁺ чрезмерно экспрессируют на своей поверхности HLA I и HLA II, что также позволяет им уходить от цитотоксического воздействия NK-клеток. Касательно химиорезистентности, SAML демонстрируют увеличенную устойчивость, например, к цисплатину и паклитакселу (более 27 мкг/мл, по сравнению с 8–12 и 7–10 мкг/мл соответственно для клеток CD45⁺EpCAM⁺) [52, 72, 73], и к радиотера-

пии, показывая возросшую способность к репарации ДНК [66, 74].

Сам факт злокачественности опухоли также может быть подтверждён с помощью обнаружения САМЛ. В исследовании Adams et al. [75] гибриды обнаруживались у 88% пациентов с инвазивной карциномой молочной железы и только у 26% — с доброкачественными новообразованиями. Многими авторами ставится прямая зависимость между концентрацией гибридных клеток и неблагоприятностью прогноза для пациента. Однако, несмотря на значительное повышение количества клеток CD45⁺ErCAM⁺ на поздних стадиях заболевания, их присутствие отмечается и на более ранних этапах прогрессирования рака [57]. Описано обнаружение данных клеток задолго до появления метастазов, что потенциально делает их предвестником скорого распространения опухоли [10]. Так, в проведённом нами исследовании было показано, что в крови больных раком эндометрия T1-стадии наблюдаются атипичные/гибридные формы клеток CD45⁺ErCAM⁺, концентрация которых коррелировала с риском возникновения рецидивов после лечения [76]. На основе исследований пациентов с раком пищевода [35], лёгких [77], поджелудочной железы [78] и рядом других онкологий [53] показано, что размер САМЛ ≥ 50 мкм и их количество в крови $\geq 5-6$ клеток/7,5 мл говорит о низкой выживаемости и о высоком риске рецидива после проведённой терапии. При проведении совместного исследования количества САМЛ с СТС пациенты с повышенными концентрациями циркулирующих опухолевых клеток (≥ 5 клеток/7,5 мл) и гибридов в крови имели сниженные показатели выживаемости по сравнению с больными с высокими значениями СТС, но без САМЛ [79].

СНС также показывают себя как хороший биомаркёр для диагностики и мониторинга раковых заболеваний, не в последнюю очередь вследствие большой концентрации в крови онкобольных [80–82]. В ряде работ [80, 82] наблюдали снижение концентрации гибридов в крови больных различными онкологическими заболеваниями органов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) после проведённой терапии. А повышение количества СНС в крови больных карциномами полости рта позволило Henn et al. [81] предсказывать появление скрытых метастазов в лимфатических узлах, что даёт возможность избежать высокоинвазивной операции лимфодиссекции шеи, приводящей к осложнениям в 25% случаев.

Важной проблемой, мешающей становлению СНС в качестве клинических биомаркёров,

является их сходство с нормальными лейкоцитами пациента. По этой причине быстрое, простое и эффективное выделение и их последующий анализ затруднителен. Одним из разрабатываемых методов для решения данной проблемы является использование диэлектрофоретического метода в специально разработанном микрофлюидном чипе. Разделение клеток происходит за счёт различий в поляризации каждой клетки и тока жидкости. В эксперименте на образцах крови пациента с аденокарциномой поджелудочной железы удалось добиться исключения 96,5% лейкоцитов, увеличив концентрацию СНС в образце в 18,6 раз [83].

ГИБРИДНЫЕ КЛЕТКИ И ТЕРАПИЯ РАКА

Доказательство роли гибридов в процессах метастазирования и резистентности рака показывает возможность разработки эффективных методов терапии раковых заболеваний посредством воздействия на гибридные клетки. Самым очевидным подходом здесь выглядит препятствование процессу клеточного слияния. Известно, что гипоксия и TNF α стимулируют процессы объединения клеток [84]. Они также вовлечены в старт процесса апоптоза. Исследователи подтвердили и роль данного процесса программируемой клеточной гибели в формировании гибридов. Поэтому угнетать гибридацию клеток можно и через ингибирование тех или иных элементов сигнальных путей, запускающих апоптоз. Разработок в этой сфере достаточно много. Например, возможно нарушить работу рецептора TNF α с помощью малых интерферирующих РНК [85] или антибиотика миноциклина [86]. Достаточно известным и активно разрабатываемым подходом прекращения созревания TNF α из про-TNF α является подавление фермента ADAM17 [87]. Весьма популярна разработка моноклональных антител как к самому TNF α , так и к элементам сигнальных путей, активируемым этим фактором [88]. Другими целями для подавления апоптоза выступают фосфатидилсерин [89], матриксная металлопротеиназа 9 [90], каспазы [91], и др. Некоторые из представленных методик противотNF α -терапии уже давно известны мировой медицине, но исследование роли этого фактора в клеточном слиянии может увеличить их популярность среди онкологов.

Роль стимулирующих факторов также подтверждается тем, что они характерны для воспалительной реакции, всегда возникающей как при процессе регенерации ткани, так и при опухолевом росте. В обоих случаях наблюдается

клеточное слияние [92]. Поэтому, противовоспалительная терапия также может быть использована для предотвращения слияния раковых клеток как это сделали, например, Li et al. [93], успешно заблокировав рецепторы интерлейкина-4 клеток рабдомиосаркомы, тем самым предотвратив опухолевый рост и прогрессию *in vivo*.

Ещё одним подходом к предотвращению клеточного слияния является нарушение работы синцитинов. Существуют работы по применению антисенс-олигонуклеотидов и коротких последовательностей РНК, образующих шпильки (shRNA), снижающих экспрессию генов, отвечающих за синтез синцитинов-1 и -2 соответственно. В то же время экспрессия синцитинов связана с положительным прогнозом у пациентов с РМЖ, поэтому целесообразность данной терапии требует подробных исследований [94].

Разумеется, если существуют вещества, способствующие слиянию клеток, то должны быть и физиологические ингибиторы клеточной гибридизации. Установлено, что TGF β в больших концентрациях ингибирует процессы клеточного слияния, хотя рассматривать его в качестве противоопухолевого препарата не стоит из-за стимуляции пролиферации клеток, включая злокачественные [95].

Отдельно стоит выделить гибриды между дендритными и раковыми клетками [40, 96, 97]. Это искусственно выведенные клетки, имеющие антигены как раковой, так и антигенпредставляющей клетки, что позволяет им эффективно стимулировать собственный противоопухолевый иммунитет пациента. Уже достаточно давно было выдвинуто предположение о возможности применения гибридов раковой клетки с дендритной в качестве противоопухолевых вакцин [40]. Множество методик применения таких гибридов сейчас находятся в разработке. Например, плазматические мембраны гибридных клеток были использованы для покрытия наночастиц, образованных циркониевыми металл-органическими каркасными структурами, обычно применяемыми для фотодинамической терапии. При введении в организм онкобольного такие наночастицы накапливаются в опухо-

ли, согласно эффекту повышенной проницаемости и удерживания (EPR), а также за счёт наличия у частиц поверхностных белков, характерных для опухолевых клеток. При облучении наночастиц лазером происходит быстрое образование активных форм кислорода, а антигены раковых и дендритных клеток в оболочке частиц стимулируют мощный иммунный ответ со стороны Т-киллеров. Эксперименты *in vivo* на мышах с привитыми опухолями показали значительное замедление роста опухолевой массы на 28-й день после начала терапии по сравнению с другими наночастицами для фотодинамической терапии, а на 62-й день – 40%-ную выживаемость среди животных, когда во всех остальных группах все мыши погибли [97].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на то что явление клеточного слияния было открыто уже более 100 лет назад, всё это время оно оставалось вне поля зрения учёных – все внимание мировой науки уделялось теории раковых стволовых клеток. Именно по этой причине многие аспекты исследования гибридных клеток сейчас всё ещё находятся на зачаточной стадии. Однако при уже накопленном уровне знаний такие циркулирующие гибриды, как САМЛ и СНС, показывают себя как многообещающий биомаркер опухолевых заболеваний, и даже больше – как новый подход к лечению рака. Развитие таких методик применения гибридных раковых клеток говорит об огромном, ещё нераскрытом потенциале гибридов, требующем подробных исследований.

Финансирование. Поисково-аналитическая работа проведена при поддержке Российского научного фонда (грант № 19-75-30016).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sung, H. (2021) Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries, *CA Cancer J. Clinic.*, **71**, 209-249, doi: 10.3322/caac.21660.
2. Russian Federation. Cancer Country Profile 2020, URL: https://www.who.int/cancer/country-profiles/RUS_2020.pdf.
3. Chaffer, C. L., and Weinberg, R. A. (2011) A perspective on cancer cell metastasis, *Science*, **331**, 1559-1564, doi: 10.1126/science.1203543.
4. Kachalaki, S., Ebrahimi, M., Mohamed Khosroshahi, L., Mohammadinejad, S., and Baradaran, B. (2016) Cancer chemoresistance; biochemical and molecular aspects: a brief overview, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **89**, 20-30, doi: 10.1016/j.ejps.2016.03.025.
5. Shabo, I., Svanvik, J., Lindström, A., Lechertier, T., Trabulo, S., et al. (2020) Roles of cell fusion, hybridization and polyploid cell formation in cancer metastasis, *J. Clin. Oncol.*, **11**, 121-135, doi: 10.5306/wjco.v11.i3.121.

6. Goldenberg, D. M., Pavia, R. A., and Tsao, M. C. (1974) *In vivo* hybridisation of human tumour and normal hamster cells, *Nature*, **250**, 649-651, doi: 10.1038/250649a0.
7. Reduzzi, C., Vismara, M., Gerratana, L., Silvestri, M., De Braud, F., et al. (2020) The curious phenomenon of dual-positive circulating cells: Longtime overlooked tumor cells, *Semin. Cancer Biol.*, **60**, 344-350, doi: 10.1016/j.semcancer.2019.10.008.
8. Harris, H. (1989) The biology of tumour suppression, *CIBA Found. Symp.*, **142**, 199-208.
9. Harris, H., Miller, O. J., Klein, G., Worst, P., and Tachibana, T. (1969) Suppression of malignancy by cell fusion, *Nature*, **223**, 363-368.
10. Manjunath, Y., Porciani, D., Mitchem, J. B., Suvilesh, K. N., Avella, D. M., et al. (2020) Tumor-cell-macrophage fusion cells as liquid biomarkers and tumor enhancers in cancer, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 1872, doi: 10.3390/ijms21051872.
11. Pawelek, J. M., and Chakraborty, A. K. (2008) Fusion of tumour cells with bone marrow-derived cells: a unifying explanation for metastasis, *Nat. Rev. Cancer*, **8**, 377-386, doi: 10.1038/nrc2371.
12. Gast, C. E., Silk, A. D., Zarour, L., Riegler, L., Burkhardt, J. G., et al. (2018) Cell fusion potentiates tumor heterogeneity and reveals circulating hybrid cells that correlate with stage and survival, *Sci. Adv.*, **4**, eaat7828, doi: 10.1126/sciadv.aat7828.
13. Bastida-Ruiz, D., Van Hoesen, K., and Cohen, M. (2016) The dark side of cell fusion, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 638, doi: 10.3390/ijms17050638.
14. Melzer, C., von der Ohe, J., and Hass, R. (2018) MSC stimulate ovarian tumor growth during intercellular communication but reduce tumorigenicity after fusion with ovarian cancer cells, *Cell Commun. Signal.*, **16**, 67, doi: 10.1186/s12964-018-0279-1.
15. Podbilewicz, B. (2014) Virus and cell fusion mechanisms, *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.*, **30**, 111-139, doi: 10.1146/annurev-cellbio-101512-122422.
16. Wang, X., Chen, C. H., Badeti, S., Cho, J. H., Naghizadeh, A., et al. (2021) Deletion of ER-retention motif on SARS-CoV-2 spike protein reduces cell hybrid during cell-cell fusion, *Cell Biosci.*, **11**, 114, doi: 10.1186/s13578-021-00626-0.
17. Ku, J. W. K., Chen, Y., Lim, B. J. W., Gasser, S., Crasta, K. C., and Gan, Y.-H. (2020) Bacterial-induced cell fusion is a danger signal triggering cGAS-STING pathway via micronuclei formation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **117**, 15923-15934, doi: 10.1073/pnas.2006908117.
18. Broncy, L., and Paterlini-Bréchet, P. (2018) Cancer-associated circulating atypical cells with both epithelial and macrophage-specific markers, *J. Lab. Prec. Med.*, **3**, 91, doi: 10.21037/jlpm.2018.10.05.
19. Sottile, F., Aulicino, F., Theka, I., and Cosma, M. P. (2016) Mesenchymal stem cells generate distinct functional hybrids *in vitro* via cell fusion or entosis, *Sci. Rep.*, **6**, 36863, doi: 10.1038/srep36863.
20. Miyake, K., and Karasuyama, H. (2021) The role of trogocytosis in the modulation of immune cell functions, *Cells*, **10**, 1255, doi: 10.3390/cells10051255.
21. Melzer, C., Yang, Y., and Hass, R. (2016) Interaction of MSC with tumor cells, *Cell Commun. Signal.*, **14**, 20, doi: 10.1186/s12964-016-0143-0.
22. Dragotakes, Q., Fu, M. S., and Casadevall, A. (2019) Dragocytosis: elucidation of the mechanism for cryptococcus neoformans macrophage-to-macrophage transfer, *J. Immunol.*, **202**, 2661-2670, doi: 10.4049/jimmunol.1801118.
23. Melzer, C., Ohe, J. V., and Hass, R. (2020) Altered tumor plasticity after different cancer cell fusions with MSC, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 8347, doi: 10.3390/ijms21218347.
24. Soe, K. (2020) Osteoclast fusion: physiological regulation of multinucleation through heterogeneity-potential implications for drug sensitivity, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 7717, doi: 10.3390/ijms21207717.
25. Jacome-Galarza, C. E., Percin, G. I., Muller, J. T., Mass, E., Lazarov, T., et al. (2019) Developmental origin, functional maintenance and genetic rescue of osteoclasts, *Nature*, **568**, 541-545, doi: 10.1038/s41586-019-1105-7.
26. Andersen, T. L., Boissy, P., Sondergaard, T. E., Kupisiewicz, K., Plesner, T., et al. (2007) Osteoclast nuclei of myeloma patients show chromosome translocations specific for the myeloma cell clone: a new type of cancer-host partnership? *J. Pathol.*, **211**, 10-17, doi: 10.1002/path.2078.
27. Смирнова Т. Л. (2009) Плацента. Этапы развития, *Вестник Чувашского университета*, **2**, 73-79.
28. Huppertz, B., and Gauster, M. (2011) Trophoblast fusion, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **713**, 81-95, doi: 10.1007/978-94-007-0763-4_6.
29. Cretoiu, D., Pavelescu, L., Duica, F., Radu, M., Suciuc, N., et al. (2018) Myofibers, *Muscle Atrophy*, **1088**, 23-46, doi: 10.1007/978-981-13-1435-3_2.
30. Dittmar, T., Schwitalla, S., Seidel, J., Haverkamp, S., Reith, G., et al. (2010) Characterization of hybrid cells derived from spontaneous fusion events between breast epithelial cells exhibiting stem-like characteristics and breast cancer cells, *Clin. Exp. Metastasis*, **28**, 75-90, doi: 10.1007/s10585-010-9359-3.
31. Fahlbusch, S. S., Keil, S., Epplen, J. T., Zänker, K. S., and Dittmar, T. (2020) Comparison of hybrid clones derived from human breast epithelial cells and three different cancer cell lines regarding *in vitro* cancer stem/initiating cell properties, *BMC Cancer*, **20**, 446, doi: 10.1186/s12885-020-06952-9.
32. Gauck, D., Keil, S., Niggemann, B., Zänker, K. S., and Dittmar, T. (2017) Hybrid clone cells derived from human breast epithelial cells and human breast cancer cells exhibit properties of cancer stem/initiating cells, *BMC Cancer*, **17**, 515, doi: 10.1186/s12885-017-3509-9.
33. Berndt, B., Haverkamp, S., Reith, G., Keil, S., Niggemann, B., et al. (2013) Fusion of CCL21 non-migratory active breast epithelial and breast cancer cells give rise to CCL21 migratory active tumor hybrid cell lines, *PLoS One*, **8**, e63711, doi: 10.1371/journal.pone.0063711.
34. Wang, R., Sun, X., Wang, C. Y., Hu, P., Chu, C.-Y., Liu, S., et al. (2012) Spontaneous cancer-stromal cell fusion as a mechanism of prostate cancer androgen-independent progression, *PLoS One*, **7**, e42653, doi: 10.1371/journal.pone.0042653.
35. Gironde, D. J., Adams, D. L., He, J., Xu, T., Gao, H., et al. (2020) Cancer associated macrophage-like cells and prognosis of esophageal cancer after chemoradiation therapy, *J. Transl. Med.*, **18**, 413, doi: 10.1186/s12967-020-02563-x.
36. Mu, Z., Wang, C., Ye, Z., Rossi, G., Sun, C., et al. (2017) Prognostic values of cancer associated macrophage-like cells (CAML) enumeration in metastatic breast cancer, *Breast Cancer Res. Treat.*, **165**, 733-741, doi: 10.1007/s10549-017-4372-8.
37. Rachkovsky, M., Sodi, S., Chakraborty, A., Avissar, Y., Bolognia, J., et al. (1998) Melanoma x macrophage hybrids with enhanced metastatic potential, *Clin. Exp. Metastasis*, **16**, 299-312, doi: 10.1023/a:1006557228604.
38. Kohler, G., and Milstein, C. (1975) Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, *Nature*, **256**, 495-497.
39. Koido, S., Ohana, M., Liu, C., Nikrui, N., Durfee, J., et al. (2004) Dendritic cells fused with human cancer cells:

- Morphology, antigen expression, and T cell stimulation, *Clin. Immunol.*, **113**, 261-269, doi: 10.1016/j.clim.2004.08.004.
40. Serhal, K., Baillou, C., Ghinea, N., Fontanges, P., Dupuy, F. P., et al. (2007) Characteristics of hybrid cells obtained by dendritic cell/tumour cell fusion in a T-47D breast cancer cell line model indicate their potential as anti-tumour vaccines, *Int. J. Oncol.*, **31**, 1357-1365, doi: 10.3892/ijo.31.6.1357.
 41. Xue, J., Zhu, Y., Sun, Z., Ji, R., Zhang, X., et al. (2015) Tumorigenic hybrids between mesenchymal stem cells and gastric cancer cells enhanced cancer proliferation, migration and stemness, *BMC Cancer*, **15**, 793, doi: 10.1186/s12885-015-1780-1.
 42. Rappa, G., Mercapide, J., and Lorico, A. (2012) Spontaneous formation of tumorigenic hybrids between breast cancer and multipotent stromal cells is a source of tumor heterogeneity, *Am. J. Pathol.*, **180**, 2504-2515, doi: 10.1016/j.ajpath.2012.02.020.
 43. Kemény, L., Kurgyis, Z., Buknicz, T., Groma, G., Jakab, A., et al. (2016) Melanoma cells can adopt the phenotype of stromal fibroblasts and macrophages by spontaneous cell fusion *in vitro*, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 826, doi: 10.3390/ijms17060826.
 44. Hass, R., von der Ohe, J., and Dittmar, T. (2021) Hybrid formation and fusion of cancer cells *in vitro* and *in vivo*, *Cancers*, **13**, 4496, doi: 10.3390/cancers13174496.
 45. Özel, C., Seidel, J., Meyer-Staeckling, S., Brandt, B. H., Niggemann, B., et al. (2012) Hybrid cells derived from breast epithelial cell/breast cancer cell fusion events show a differential RAF-AKT crosstalk, *Cell Commun. Signal.*, **10**, 10, doi: 10.1186/1478-811X-10-10.
 46. Li, M., Li, X., Zhao, L., Zhou, J., Cheng, Y., et al. (2019) Spontaneous formation of tumorigenic hybrids between human omental adipose-derived stromal cells and endometrial cancer cells increased motility and heterogeneity of cancer cells, *Cell Cycle*, **18**, 320-332, doi: 10.1080/15384101.2019.1568743.
 47. Xu, M. H., Gao, X., Luo, D., Zhou, X. D., Xiong, W., et al. (2014) EMT and acquisition of stem cell-like properties are involved in spontaneous formation of tumorigenic hybrids between lung cancer and bone marrow-derived mesenchymal stem cells, *PLoS One*, **9**, e87893, doi: 10.1371/journal.pone.0087893.
 48. Dörnen, J., Myklebost, O., and Dittmar, T. (2020) Cell fusion of mesenchymal stem/stromal cells and breast cancer cells leads to the formation of hybrid cells exhibiting diverse and individual (stem cell) characteristics, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 9636, doi: 10.3390/ijms21249636.
 49. Li, H., Feng, Z., Tsang, T. C., Tang, T., Jia, X., et al. (2014) Fusion of HepG2 cells with mesenchymal stem cells increases cancer-associated and malignant properties: an *in vivo* metastasis model, *Oncol. Rep.*, **32**, 539-547, doi: 10.3892/or.2014.3264.
 50. He, X., Li, B., Shao, Y., Zhao, Na, Hsu, Y., et al. (2015) Cell fusion between gastric epithelial cells and mesenchymal stem cells results in epithelial-to-mesenchymal transition and malignant transformation, *BMC Cancer*, **15**, 24, doi: 10.1186/s12885-015-1027-1.
 51. Zhang, L. N., Kong, C. F., Zhao, D., Cong, X. L., Wang, S. S., et al. (2019) Fusion with mesenchymal stem cells differentially affects tumorigenic and metastatic abilities of lung cancer cells, *J. Cell Physiol.*, **234**, 3570-3582, doi: 10.1002/jcp.27011.
 52. Adams, D. L., Martin, S. S., Alpaugh, R. K., Charpentier, M., Tsai, S., et al. (2014) Circulating giant macrophages as a potential biomarker of solid tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 3514-3519, doi: 10.1073/pnas.1320198111.
 53. Adams, D., Adams, D. K., Lin, S. H., Cristofanilli, M., Bergan, R. C., et al. (2017) Cancer-associated macrophage-like cells as prognostic indicators of overall survival in a variety of solid malignancies, *J. Clin. Oncol.*, **35**, 11503-11503.
 54. Akhter, M. Z., Sharawat, S. K., Kumar, V., Kochat, V., Equbal, V., et al. (2018) Aggressive serous epithelial ovarian cancer is potentially propagated by EpCAM⁺CD45⁺ phenotype, *Oncogene*, **37**, 2089-2103, doi: 10.1038/s41388-017-0106-y.
 55. Rheinländer, A., Schraven, B., and Bommhardt, U. (2018) CD45 in human physiology and clinical medicine, *Immunol. Lett.*, **196**, 22-32, doi: 10.1016/j.imlet.2018.01.009.
 56. Huang, L., Yang, Y., Yang, F., Liu, S., Zhu, Z., et al. (2018) Functions of EpCAM in physiological processes and diseases (review), *Int. J. Mol. Med.*, **42**, 1771-1785, doi: 10.3892/ijmm.2018.3764.
 57. Sutton, T. L., Walker, B. S., and Wong, M. H. (2019) Circulating hybrid cells join the fray of circulating cellular biomarkers, *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.*, **8**, 595-607, doi: 10.1016/j.jcmgh.2019.07.002.
 58. Кайгородова Е. В., Федулова Н. В., Очиров М. О., Дьяков Д. А., Молчанов С. В., Часовских Н. Ю. (2020) Различные популяции опухолевых клеток в асцитической жидкости больных раком яичников, *Бюлл. Сиб. Мед.*, **19**, 50-58, doi: 10.20538/1682-0363-2020-1-50-58.
 59. Кайгородова Е. В., Очиров М. О., Молчанов С. В., Рогачев Р. Р., Дьяков Д. Д., и др. (2021) Различные популяции EpCam-положительных клеток в асцитической жидкости у больных раком яичников: связь со степенью канцероматоза, *Бюлл. Сиб. Мед.*, **20**, 44-53, doi: 10.20538/1682-0363-2021-2-44-53.
 60. Sukhbaatar, N., Bachmayr-Heyda, A., Auer, K., Aust, S., Heyumar, S., et al. (2017) Two different, mutually exclusively distributed, TP53 mutations in ovarian and peritoneal tumor tissues of a serous ovarian cancer patient: Indicative for tumor origin? *Cold Spring Harb. Mol. Case Studies*, **3**, a001461, doi: 10.1101/mcs.a001461.
 61. Dietz, M. S., Sutton, T. L., Walker, B. S., Gast, C. E., Zarour, L., et al. (2021) Relevance of circulating hybrid cells as a non-invasive biomarker for myriad solid tumors, *Sci. Rep.*, **11**, 13630, doi: 10.1038/s41598-021-93053-7.
 62. Walker, B. S., Sengupta, S., Parappilly, M., Ors, A., Fischer, J., et al. (2020) Harnessing the heterogeneity of circulating hybrid cells in pancreatic adenocarcinoma, *Cancer Res.*, **80** (Suppl 21), PO-014, doi: 10.1158/1538-7445.TUMHET2020-PO-014.
 63. Dietz, M. S., Sutton, T., Walker, B., Chang, Y. H., Chin, K., et al. (2020) A novel disseminated tumor cell identified in myriad cancer harbors tumor initiating properties, *Cancer Res.*, **80** (Suppl. 21), PO-102, doi: 10.1158/1538-7445.TUMHET2020-PO-102.
 64. Denisov, E. V., Menyailo, M. E., Zolotareva, S. Y., Gerashchenko, T. S., Alifanov, V. V., et al. (2021) 23P Transcriptional profiling of circulating tumor and hybrid cells in breast cancer patients, *Ann. Oncol.*, **32** (Suppl. 5), S367-S368, doi: 10.1016/j.annonc.2021.08.301.
 65. Aljabery, F., Olsson, H., Gimm, O., Jahnson, S., and Shabo, I. (2018) M2-macrophage infiltration and macrophage traits of tumor cells in urinary bladder cancer, *Urol. Oncol. Semin. Origin. Invest.*, **36**, 159.e19-159.e26, doi: 10.1016/j.urolonc.2017.11.020.
 66. Garvin, S., Oda, H., Arnesson, L. G., Lindström, A., and Shabo, I. (2018) Tumor cell expression of CD163 is associated to postoperative radiotherapy and poor prognosis in patients with breast cancer treated with breast-conserving surgery, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **144**, 1253-1263, doi: 10.1007/s00432-018-2646-0.

67. Garvin, S., Vikhe Patil, E., Arnesson, L. G., Oda, H., Hedayati, E., et al. (2019) Differences in intra-tumoral macrophage infiltration and radiotherapy response among intrinsic subtypes in pT1-T2 breast cancers treated with breast-conserving surgery, *Virch. Arch. Int. J. Pathol.*, **475**, 151-162, doi: 10.1007/s00428-019-02563-3.
68. Clawson, G. A., Matters, G. L., Xin, P., McGovern, C., Wafula, E., et al. (2017) "Stealth dissemination" of macrophage-tumor cell fusions cultured from blood of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma, *PLoS One*, **12**, e0184451, doi: 10.1371/journal.pone.0184451.
69. Tretyakova, M. S., Subbalakshmi, A. R., Menyailo, M. E., Jolly, M. K., and Denisov, E. (2021) Tumor hybrid cells: Nature and biological significance, *Preprints*, **2021**, 2021110250, doi: 10.20944/preprints202111.0250.v1.
70. Aguirre, L. A., Montalbán-Hernández, K., Avendaño-Ortiz, J., Marín, E., Lozano, R., Toledano, V., et al. (2020) Tumor stem cells fuse with monocytes to form highly invasive tumor-hybrid cells, *Oncimmunology*, **9**, 1773204, doi: 10.1080/2162402X.2020.1773204.
71. Zhou, J., Tang, Z., Gao, S., Li, C., Feng, Y., and Zhou, X. (2020) Tumor-associated macrophages: Recent insights and therapies, *Front. Oncol.*, **10**, 188, doi: 10.3389/fonc.2020.00188.
72. Gubbels, J. A., Felder, M., Horibata, S., Belisle, J. A., Kapur, A., et al. (2010) MUC16 provides immune protection by inhibiting synapse formation between NK and ovarian tumor cells, *Mol. Cancer*, **9**, 11, doi: 10.1186/1476-4598-9-11.
73. Baligar, P., Mukherjee, S., Kochat, V., Rastogi, A., and Mukhopadhyay, A. (2016) Molecular and cellular functions distinguish superior therapeutic efficiency of bone marrow CD45 cells over mesenchymal stem cells in liver cirrhosis, *Stem Cells*, **34**, 135-147, doi: 10.1002/stem.2210.
74. Lindström, A., Midtbö, K., Arnesson, L. G., Garvin, S., and Shabo, I. (2017) Fusion between M2-macrophages and cancer cells results in a subpopulation of radioresistant cells with enhanced DNA-repair capacity, *Radiotarget*, **8**, 51370-51386, doi: 10.18632/oncotarget.17986.
75. Adams, D. L., Adams, D. K., Alpaugh, R. K., Cristofanilli, M., Martin, S. S., et al. (2016) Circulating cancer-associated macrophage-like cells differentiate malignant breast cancer and benign breast conditions, *Cancer Epidemiol. Biomark. Prevent.*, **25**, 1037-1042, doi: 10.1158/1055-9965.epi-15-1221.
76. Кайгородова Е. В., Заваруев И. С., Грищенко М. Ю., Чернышова А. Л. (2021) Особенности встречаемости атипичных/гибридных форм EpCam⁺CD45⁺ клеток у больных раком эндометрия, *Усп. Мол. Онкол.*, **8**, 50, doi: 10.17650/2313-805X-2021-8-4-5-163.
77. Augustyn, A., Adams, D. L., He, J., Qiao, Y., Verma, V., et al. (2020) Giant circulating cancer-associated macrophage-like cells are associated with disease recurrence and survival in non-small cell lung cancer treated with chemoradiation and atezolizumab, *Clin. Lung Cancer*, **22**, e451-e465, doi: 10.1016/j.clc.2020.06.016.
78. Gardner, K. P., Aldakkak, M., Tang, C. M., Tsai, S., and Adams, D. L. (2021) Circulating stromal cells in resectable pancreatic cancer correlates to pathological stage and predicts for poor clinical outcomes, *NPJ Precis. Oncol.*, **5**, 25, doi: 10.1038/s41698-021-00161-8.
79. Ding, J., Jin, W., Chen, C., Shao, Z., and Wu, J. (2012) Tumor associated macrophage × cancer cell hybrids may acquire cancer stem cell properties in breast cancer, *PLoS One*, **7**, e41942, doi: 10.1371/journal.pone.0041942.
80. Walker, B. S., Sutton, T. L., Zarour, L., Hunter, J. G., Wood, S. G., et al. (2021) Circulating hybrid cells: A novel liquid biomarker of treatment response in gastrointestinal cancers, *Ann. Surg. Oncol.*, **28**, 8567-8578, doi: 10.1245/s10434-021-10379-2.
81. Henn, T. E., Anderson, A. N., Hollett, Y. R., Sutton, T. L., Walker, B. S., et al. (2021) Circulating hybrid cells predict presence of occult nodal metastases in oral cavity carcinoma, *Head Neck*, **43**, 2193-2201, doi: 10.1002/hed.26692.
82. Zarour, L., Swain, J., Billingsley, K., Lopez, C., Vaccaro, G., et al. (2018) Use of circulating cancer cell hybrids to monitor treatment response to hepatic arterial infusion in patients with colorectal cancer metastatic to the liver, *HPB*, **20**, S352, doi: 10.1016/j.hpb.2018.06.2584.
83. Montoya Mira, J., Sapre, A. A., Walker, B. S., Alvarez, J. B., Gustafson, K. T., et al. (2021) Label-free enrichment of rare unconventional circulating neoplastic cells using a microfluidic dielectrophoretic sorting device, *Commun. Biol.*, **4**, 1130, doi: 10.1038/s42003-021-02651-8.
84. Cavazzoni, E., Bugiantella, W., Graziosi, L., Franceschini, M. S., and Donini, A. (2013) Malignant ascites: pathophysiology and treatment, *Int. J. Clin. Oncol.*, **18**, 1-9, doi: 10.1007/s10147-012-0396-6.
85. Melzer, C., von der Ohe, J., and Hass, R. (2018) *In vitro* fusion of normal and neoplastic breast epithelial cells with human mesenchymal stroma/stem cells partially involves tumor necrosis factor receptor signaling, *Stem Cells*, **36**, 977-989, doi: 10.1002/stem.2819.
86. Weiler, J., and Dittmar, T. (2019) Minocycline impairs TNF- α -induced cell fusion of M13SV1-Cre cells with MDA-MB-435-pFDR1 cells by suppressing NF- κ B transcriptional activity and its induction of target-gene expression of fusion-relevant factors, *Cell Commun. Signal.*, **17**, 71, doi: 10.1186/s12964-019-0384-9.
87. Mulooley, M., McGowan, P. M., Crown, J., and Duffy, M. J. (2016) The ADAMs family of proteases as targets for the treatment of cancer, *Cancer Biol. Ther.*, **17**, 870-880, doi: 10.1080/15384047.2016.1177684.
88. Sedger, L. M., and McDermott, M. F. (2014) TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future, *Cytokine Growth Factor Rev.*, **25**, 453-472, doi: 10.1016/j.cytogfr.2014.07.016.
89. Chang, W., Fa, H., Xiao, D., and Wang, J. (2020) Targeting phosphatidylserine for cancer therapy: Prospects and challenges, *Theranostics*, **10**, 9214-9229, doi: 10.7150/thno.45125.
90. Weiler, J., Mohr, M., Zänker, K. S., and Dittmar, T. (2018) Matrix metalloproteinase-9 (MMP9) is involved in the TNF- α -induced fusion of human M13SV1-Cre breast epithelial cells and human MDA-MB-435-pFDR1 cancer cells, *Cell Commun. Signal.*, **16**, 14, doi: 10.1186/s12964-018-0226-1.
91. Noubissi, F. K., Harkness, T., Alexander, C. M., and Ogle, B. M. (2015) Apoptosis-induced cancer cell fusion: a mechanism of breast cancer metastasis, *FASEB J.*, **29**, 4036-4045, doi: 10.1096/fj.15-271098.
92. Dittmar, T., and Zänker, K. S. (2015) Tissue regeneration in the chronically inflamed tumor environment: Implications for cell fusion driven tumor progression and therapy resistant tumor hybrid cells, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 30362-30381, doi: 10.3390/ijms161226240.
93. Li, G., Kikuchi, K., Radka, M., Abraham, J., Rubin, B. P., and Keller, C. (2013) IL-4 receptor blockade abrogates satellite cell: Rhabdomyosarcoma fusion and prevents tumor establishment, *Stem Cells*, **31**, 2304-2312, doi: 10.1002/stem.1491.
94. Fernandes, C., Prabhu, P., Juvale, K., Soares, D., and Yc, M. (2019) Cancer cell fusion: a potential target to tackle drug-resistant and metastatic cancer cells, *Drug Discov. Today*, **24**, 1836-1844, doi: 10.1016/j.drudis.2019.05.024.

95. Sieler, M., Weiler, J., and Dittmar, T. (2021) Cell–cell fusion and the roads to novel properties of tumor hybrid cells, *Cells*, **10**, 1465, doi: 10.3390/cells10061465.
96. Greene, J. M., Schneble, E. J., Jackson, D. O., Hale, D. F., Vreeland, T. J., et al. (2016) A phase I/IIa clinical trial in stage IV melanoma of an autologous tumor–dendritic cell fusion (dendritoma) vaccine with low dose interleukin-2, *Cancer Immunol. Immunother.*, **65**, 383–392, doi: 10.1007/s00262-016-1809-6.
97. Liu, W., Zou, M., Liu, T., Zeng, J., Li, X., et al. (2019) Expandable immunotherapeutic nanoplatfoms engineered from cytomembranes of hybrid cells derived from cancer and dendritic cells, *Adv. Mater.*, **31**, 1900499, doi: 10.1002/adma.201900499.

HYBRID/ATYPICAL FORMS OF CIRCULATING TUMOR CELLS: CURRENT STATE OF THE PROBLEM

Review

E. V. Kaigorodova^{1,2*}, A. V. Kozik², I. S. Zavaruev², and M. Yu. Grishchenko³

¹ *Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 634050 Tomsk, Russia; E-mail: zlobinae@mail.ru*

² *Siberian State Medical University, 634050 Tomsk, Russia*

³ *Tomsk Regional Oncological Dispensary, 634050 Tomsk, Russia*

Cancer is one of the most common diseases worldwide, and treatment bears many challenges such as drug and radioresistance and formation of metastases. These difficulties are due to tumor heterogeneity, which has many origins. One may be cell fusion, a process that is relevant in both physiological (e.g., wound healing) and pathophysiological (cancer and viral infection) processes. This literature review aimed to generalize the existing data about hybrid/atypical forms of circulating cancer cells and their role in tumor progression. For that, the bioinformatical search in universal databases, such as PubMed, NCBI and Google Scholar was conducted by using the keywords “hybrid cancer cells”, “cancer cell fusion”, etc. In this review the latest information related to hybrid tumor cells, their genesis theories, characteristics of different variants with data from our own researches were presented. Many aspects of hybrid cell research are still in their infancy. However, with the level of knowledge already accumulated, circulating hybrids such as CAML and CHC show themselves as a promising biomarker for tumor diseases, and even more as a new approach to cancer treatment.

Keywords: hybrid cells, cell fusion, cancer, circulating tumor cells