

РОЛЬ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В ФОРМИРОВАНИИ ТКАНЕВОГО МИКРООКРУЖЕНИЯ И ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЁГКОГО

Е.Е.Румянцев

CANCER-ASSOCIATED FIBROBLASTS FORMING TISSUE MICROENVIRONMENT AND DRUG RESISTANCE OF NON-SMALL CELL LUNG CANCER

Ye.Ye.Rumyantsev

Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого, egor.rumyantsev@novsu.ru

Статья посвящена роли опухоль-ассоциированных фибробластов в развитии немелкоклеточного рака лёгкого. Под воздействием раковых клеток фибробласты тканевого микроокружения опухоли приобретают способность не только поддерживать и стимулировать раковые клетки, но и осуществлять иммуносупрессию. Рассмотрены их основные свойства в сравнении с нормальными фибробластами. Приведены характерные маркеры, по которым можно судить о принадлежности опухоль-ассоциированных фибробластов к разным источникам происхождения (резидентные и рекрутируемые). Описаны закономерности трансформации и активации, про- и анти-опухолевое взаимодействие в тканевом микроокружении опухоли. Раскрыты основные известные механизмы влияния опухоль-ассоциированных фибробластов на формирование лекарственной резистентности немелкоклеточного рака лёгкого: стимуляция эпителиально-мезенхимальной трансформации, уплотнение белков внеклеточного матрикса, гипоксическая сигнализация, стимуляция перехода раковых клеток к низкодифференцированному, «стволовому» фенотипу.

Ключевые слова: опухоль-ассоциированное микроокружение, опухоль-ассоциированные фибробласты, немелкоклеточный рак лёгкого, НМРЛ, противоопухолевая терапия

Для цитирования: Румянцев Е.Е. Роль опухоль-ассоциированных фибробластов в формировании тканевого микроокружения и лекарственной резистентности немелкоклеточного рака лёгкого // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №2(127). С.47-50. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2\(127\).47-50](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2(127).47-50)

The article is devoted to the role of tumor-associated fibroblasts in the development of non-small cell lung cancer. Their main properties are considered in comparison with normal fibroblasts. Characteristic markers are given, which can be used to judge whether tumor-associated fibroblasts belong to different sources of origin (resident and recruited). The patterns of transformation and activation, pro- and anti-tumor interactions in the tissue microenvironment of the tumor are discussed. The main known mechanisms of the influence of tumor-associated fibroblasts on the formation of drug resistance in non-small cell lung cancer are described: stimulation of epithelial-mesenchymal transformation, compaction of extracellular matrix proteins, hypoxic signaling, maintaining stemness of cancer cells.

Keywords: tumor microenvironment, tumor-associated fibroblasts, non-small cell lung cancer, NSCLC, antitumor treatment

For citation: Rumyantsev Ye.Ye. Cancer-associated fibroblasts forming tissue microenvironment and drug resistance of non-small cell lung cancer // Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. №2(127). P.47-50. DOI: [https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2\(127\).47-50](https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.2(127).47-50)

Введение

Немелкоклеточный рак лёгкого (НМРЛ) — злокачественная опухоль с высокими показателями заболеваемости и смертности, представляющая серьёзную опасность для здоровья человека. Опухоль при НМРЛ состоит не только из раковых клеток, но и из стромы, включающей различные типы клеток с внеклеточным матриксом (ВКМ). Тканевое микроокружение опухоли (ТМО) стимулирует рост и защищает опухолевые клетки от воздействия иммунной системы и химиотерапевтических препаратов, что может привести к значительной лекарственной устойчивости.

В тканевом микроокружении опухолей могут присутствовать стромальные клетки различных типов и происхождения. Фибробласты являются одними из основных стромальных клеток ТМО немелкоклеточного рака лёгких [1]. Сигналы опухолевых клеток приво-

дят к активации фибробластов и формированию фенотипа, который принято называть опухоль-ассоциированными фибробластами (ОАФ). Процесс активации и образующиеся клетки схожи с миофибробластами в неопухолевом патологическом фиброзе [2]. Морфологически ОАФ представляют собой веретенообразные клетки различного размера и со способностью к пролиферации с сохранением текущего фенотипа. Более того, ОАФ весьма гетерогенны по происхождению экспрессируемым белкам и резидентным органам, что влияет на их роль в опухолевой прогрессии [1,3]. Фибробласты в любой ткани поддерживают паренхиматозные клетки, поэтому на ранних этапах развития опухоли могут содействовать восстановлению нормальной ткани и работе противоопухолевых иммунных клеток. Однако по мере прогрессирования опухоли ОАФ активно способствуют росту, метастазированию и формированию лекарственной устойчивости [1].

Особенности ОАФ в сравнении с нормальными фибробластами

Фибробласты в нормальных, неповреждённых и нерастущих тканях не проявляют значительной транскрипционной, метаболической и пролиферативной активности, занимаясь преимущественно «фоновым» поддержанием баланса ВКМ, в частности продуцируя коллаген, матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы металлопротеиназ [4]. Активируются нормальные фибробласты в случае необходимости: во время заживления ран, воспаления и стимуляции фиброза. Соответствующие процессы возникают и при развитии опухолей (концепция «опухоль — рана, которая никогда не заживает»): опухоль-стимулирующее воспаление и опухолевый фиброз [5,6]. По сравнению с покоящимися фибробластами ОАФ обычно крупнее, с неровными краями ядер и большим количеством отростков цитоплазмы при световой микроскопии. В отличие от своих нормальных аналогов активированные ОАФ обладают усиленными пролиферативными и миграционными свойствами [6,7]. Кроме того, ОАФ более метаболически активны, в большом количестве продуцируют компоненты ВКМ (синтетический фенотип) [5]. Вместе с тем, ОАФ также могут выделять многие факторы роста и провоспалительные цитокины, в частности трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), интерлейкин-6 (IL-6) и лиганд СХС-хемокинов (CXCL12), способствуя таким образом ангиогенезу и рекрутированию иммуносупрессивных клеток в ТМО, что помогает опухоли ускользать от нормального иммунного ответа [3].

Происхождение ОАФ

ОАФ представляют собой гетерогенную по происхождению популяцию клеток [5]. ОАФ могут как активироваться из нормальных резидентных фибробластов ткани, так и рекрутироваться из других источников. Подобно фибробластам, связанным с заживлением ран [5,6], эта активация в значительной степени зависит от стимулов ТМО, таких как локальная гипоксия, окислительный стресс и факторы роста, высвобождаемые из соседних опухолевых клеток и инфильтрирующих опухоль иммунных клеток. Ключевыми регуляторами рекрутирования и активации фибробластов являются TGF- β , эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста тромбоцитов (PDGF) и фактор роста фибробластов 2 (FGF2). Кроме того, интерлейкин-1 β (IL-1 β) иммунных клеток запускает активацию ядерного фактора- κ B (NF- κ B) в фибробластах, участвующего в их образовании и провоспалительной активации [3].

В дополнение к резидентным фибробластам часть ОАФ может трансдифференцироваться из других источников: эпителиальные клетки, эндотелиоциты, адипоциты, перициты и гладкомышечные клетки. Как правило, эпителиальные и эндотелиальные клетки подвергаются эпителиально-мезенхимальной (ЭМТ) и эндотелиально-мезенхимальной трансформации (ЭндоМТ) соответственно, с экспрессией специфического для фибробластов белка-1 (FSP-1) и принимают фиб-

робластический фенотип. Кроме того, фиброциты, циркулирующая популяция мезенхимальных клеток, происходящая из предшественников моноцитов, могут вносить вклад в пул ОАФ. Наконец, клетки с фенотипом ОАФ могут возникать из типичных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга [3,7].

Активация и трансформация клеток в фенотип ОАФ

При росте опухоли иммунные клетки рекрутируются в место повреждения и посредством высвобождения специфических медиаторов активируют резидентные фибробласты в ОАФ. Затем сами ОАФ начинают выделять ауто- и паракринные сигналы, в частности TGF- β и стромальный фактор роста-1 (SDF-1). TGF- β 1 является основным фактором, стимулирующим превращение резидентных фибробластов в ОАФ. Более того, гипоксия также способствует этому процессу за счет накопления активных форм кислорода (АФК) и активации сигнального пути, опосредованного фактором, индуцируемым гипоксией (HIF)-1 α . Кроме того, в ОАФ способны дифференцироваться гладкомышечные клетки сосудов и перициты. Эндотелиально-мезенхимальная трансформация также способствует образованию ОАФ. Более того, SDF-1+ фибробласты могут возникать из местных эпителиальных клеток в результате ЭМТ [1].

Различные фенотипы ОАФ и их специфические маркеры

Различные источники активированных фибробластов приводят к фенотипической гетерогенности ОАФ, что может проявляться многообразными биологическими маркерами у разных пациентов или даже в пределах конкретной опухоли. Несколько маркеров, слабо либо вовсе не экспрессируемые нормальными аналогами, могут быть использованы для обнаружения ОАФ: α -SMA, S100A4, FAP, PDGFR α/β , тенасцин-С, нейроглиальный антиген (NG2), десмин, CD90/THY1 и подопланин (PDPN) [6]. Однако ни один из этих маркеров не экспрессируется исключительно ОАФ, что подчеркивает их гетерогенность. Более того, α -SMA характерен не только для не ОАФ и миофибробластов, но также используется в качестве общего маркера для гладкомышечных клеток сосудистой стенки и перицитов. S100A4, другой хорошо известный маркер, относительно специфично обнаруживается на фибробластах, но может присутствовать на лимфоцитах, моноцитах и адипоцитах. FAP к тому же обнаружен в субпопуляции CD45+ иммунных клеток. PDPN также идентифицирует лимфатические и эндотелиальные клетки. Недавнее исследование выявило новую подгруппу ОАФ (CD10+GRP77+), присутствие которых связано с «стволовостью» раковых клеток и химиорезистентностью [3].

Ни один маркер не специфичен исключительно для ОАФ, и не все ОАФ экспрессируют все потенциальные маркерные белки. Таким образом, все еще существует потребность в выявлении специфичных для ОАФ маркеров. В настоящее время наиболее надежным методом идентификации ОАФ является комбинация маркеров, а также клеточный фенотип [1].

Функциональные взаимодействия ОАФ с ТМО опухоли

Пул ОАФ состоит из разнообразных функционально гетерогенных субпопуляций, которые способны оказывать как про-опухолевое, так и анти-опухолевое воздействие [5-7]. ОАФ во многом направляют иммуносупрессивное микроокружение опухоли, участвуют в онкогенезе, ангиогенезе, метастазировании, иммуносупрессии, лекарственной устойчивости, поддержании «стволовости» рака, ремоделировании внеклеточного матрикса и метаболическом перепрограммировании [5]. Различные подтипы ОАФ секретируют многочисленные хемокины и цитокины, такие как трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), интерлейкин-6 (IL-6), интерлейкин-8 (IL-8), интерлейкин-13 (IL-13), CX-хемокиновый лиганд 12 (CXCL12), CX-хемокиновый лиганд 14 (CXCL14) и фактор роста эндотелия сосудов А (VEGF), тем самым ингибируя как неспецифический, так и специфический противоопухолевый иммунный ответ. Следует отметить, что некоторые субпопуляции экспрессируют лиганд 1/2 запрограммированной гибели клеток 1 (PD-L1/2). Эти специфические сигналы, а также метаболиты и метаболические ферменты, такие как индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), аргиназа (Arg), аденозин и триоптаза, продуцируемые некоторыми подтипами ОАФ, способствуют активации и дифференцировке подавляющих противоопухолевый иммунитет регуляторных Т-клеток (Treg), тучных клеток и опухоль-ассоциированных макрофагов (ОАМ) [3].

Другой про-опухолевый механизм, в котором участвуют ОАФ, включает метаболическое перепрограммирование. Известно, что из-за митохондриальных дефектов метаболизм раковых клеток изменяется, способность аэробно окислять глюкозу до CO₂ подавляется, а склонность к анаэробному превращению глюкозы в молочную кислоту увеличивается. Эти явления описывают как часть «эффекта Варбурга», опосредованную пируваткиназой М2 (PKM2). В микроокружении опухоли экзосомы, секретируемые раковыми клетками, доставляют PKM2 к ОАФ, и метаболически перепрограммированные ОАФ начинают активно выделять пируват и лактат. Кроме того, аутофагия ОАФ также насыщает ТМО лактатом, кетоновыми телами и глутамином, создавая богатую питательными веществами среду, которая поддерживает рост опухоли [8].

Подобно нормальным фибробластам, ОАФ синтезируют компоненты внеклеточного матрикса (ВКМ), такие как коллаген, фибронектин, а также матриксные металлопротеиназы и их тканевые ингибиторы. Таким образом, ОАФ могут также косвенно затруднять иммунный ответ, увеличивая плотность ВКМ. Плотная белковая сеть ВКМ служит физическим барьером, блокирующим доступ иммунных эффекторных клеток к раковым клеткам [9,10]. Отмечено, например, что увеличенное содержание фибронектина и коллагена, присутствие α -SMA+ ОАФ связаны с замедленной инфильтрацией опухоли цитотоксическими Т-клетками. Более того, накопление гиалуроновой кислоты и коллагена I типа, (активно продуцируемых α -SMA+ ОАФ) связано с увеличением содержания в опухоли ОАМ [10].

Отмечены и антиопухолевые эффекты ОАФ. К примеру, выключение α -SMA+ миофибробластов в опухоли приводит к подавлению иммунного ответа за счет увеличения числа CD4+Foxp3+ регуляторных Т-клеток [3]. CD200+ ОАФ повышают чувствительность рака легких к гефитинибу. Кроме того, экспрессия недавно открытого маркера ОАФ CD99 может быть связана с замедленным прогрессированием опухоли [1].

Роль ОАФ в формировании резистентности НМРЛ к противоопухолевому лечению

Некоторые изученные механизмы участия ОАФ в терапевтической резистентности НМРЛ включают участие ОАФ в стимуляции ЭМТ [11], поддержании «стволовости» раковых клеток [12], ремоделировании ВКМ [13] и гипоксической сигнализации [14].

При ЭМТ происходит кардинальное изменение фенотипа, экспрессия маркеров эпителиальных клеток, таких как N- и E-кадгерин, подавляется, в то время как маркеры мезенхимальных клеток, такие как виментин и фибронектин, появляются в заметном количестве. Показано, что при непрямом совместном культивировании опухолевых клеток с ОАФ, по сравнению с контрольной группой, экспрессия E-кадгерина была снижена, экспрессия виментина повышена, а способность к миграции и инвазии раковых клеток соответственно увеличена. Следовательно, ОАФ являются одним из факторов, опосредующих ЭМТ. Исследования показали, что ОАФ регулируют ЭМТ и способствуют лекарственной устойчивости НМРЛ к паклитакселу и цисплатину, также секретируя IL-6 и фактор роста гепатоцитов (HGF) [1].

«Стволовость» раковых клеток также может стимулироваться ОАФ, приводя к усилению лекарственной резистентности НМРЛ. При совместном культивировании с ОАФ, выделяющими инсулиноподобный фактор роста-II (IGF-II) отмечено увеличение числа низкодифференцированных раковых клеток (высокорезистентных к противоопухолевому лечению) как *in vivo*, так и *in vitro*. В свою очередь, «стволовые» раковые клетки сами стимулируют секрецию IGF-II опухоль-ассоциированными фибробластами посредством FGF2. Кроме того, CD10+/GPR77+ ОАФ могут поддерживать «стволовость» раковых клеток путем секреции IL-6 и IL-8 [1,12].

Ремоделирование ВКМ также вносит свой вклад в лекарственную резистентность НМРЛ. В физиологических условиях внеклеточный матрикс поддерживает жизнедеятельность, пролиферацию и миграцию клеток ткани. Ткань опухоли обычно более механически жесткая, чем нормальная. Жесткость ВКМ в первую очередь связана с накоплением гиалуроновой кислоты (ГК) в его сердцевине, которая может противостоять сжимающему стрессу опухоли, в то время как накопление коллагена и фибронектина на периферии способствует устойчивости к растяжению. Жесткость внеклеточного матрикса действует как барьер, препятствующий проникновению в опухоль не только эффекторных иммунных клеток, но и лекарственных средств [1]. ОАФ, усиленно производя

щие компоненты ВКМ, таким образом способствуют «изоляции» опухоли. Интегрин $\alpha 11\beta 1$ представляет собой специфический рецептор коллагена, обеспечивающий повышенную жесткость структур ВКМ. Показано, что ОАФ, экспрессируя высокие уровни интегрин $\alpha 11$, способствуют уплотнению ВКМ опухоли и ускоренному прогрессированию НМРЛ [13].

Будучи в числе определяющих черт ТМО, гипоксия считается одним из ключевых факторов лекарственной устойчивости опухолей. В быстрорастущих опухолях увеличивается расстояние между клетками и кровеносными сосудами, что, в свою очередь, препятствует доставке действующего вещества в опухоль, особенно в условиях гипоксии. Кроме того, повышение экспрессии инсулиноподобного фактора роста (IGF1) за счёт эффектов фактора, индуцируемого гипоксией (HIF1), в свою очередь активирует IGF1R на раковых клетках, что приводит к формированию большого количества низкодифференцированных («стволовых») клеток НМРЛ, устойчивых к гефитинибу [1]. Уровень экспрессии HIF-1 α значительно увеличен в ОАФ [14], что указывает на их активное участие в гипоксическом микроокружении опухоли и влиянии на лекарственную устойчивость НМРЛ.

Заключение

Опухоль-ассоциированные фибробласты в тканевом микроокружении немелкоклеточного рака легкого вносят значительный вклад в прогрессирование опухоли, взаимодействуя с раковыми клетками посредством прямого контакта, выделения цитокинов и формирования внеклеточного матрикса. ОАФ также взаимодействуют с различными другими компонентами стромы, формируя про-опухолевое, иммуносупрессивное микроокружение, за счёт которого опухоль продолжает развиваться и ускользает от иммунного ответа организма. Кроме того, ОАФ тесно связаны с лекарственной устойчивостью. Дальнейшее изучение стромального микроокружения, включая ОАФ, может оказаться решающим в разработке эффективного персонализированного прогнозирования и лечения НМРЛ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской

ской Федерации по программе создания и развития центра мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» в рамках проекта № 075-15-2020-917.

1. Chen C., et al. Role of cancer-associated fibroblasts in the resistance to antitumor therapy, and their potential therapeutic mechanisms in non-small cell lung cancer. *Oncology Letters*, 2021, vol. 21, no. 5, pp. 1–12.
2. Ballester B., Milara J., Cortijo J. Idiopathic pulmonary fibrosis and lung cancer: mechanisms and molecular targets. *International journal of molecular sciences*, 2019, vol. 20, no. 3, p. 593.
3. Liu T., et al. Cancer-associated fibroblasts: an emerging target of anti-cancer immunotherapy. *Journal of Hematology & Oncology*, 2019, vol. 12, no. 1, pp. 1–15.
4. Cabral-Pacheco G. A., et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, vol. 21, no. 24, p. 9739.
5. Kalluri R. The biology and function of fibroblasts in cancer. *Nature Reviews Cancer*, 2016, vol. 16, no. 9, pp. 582–598.
6. Chen X., Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts. *Nature reviews. Drug discovery*, 2019, vol. 18, no. 2, pp. 99–115.
7. Kobayashi H. et al. Cancer-associated fibroblasts in gastrointestinal cancer. *Nature reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2019, vol. 16, no. 5, pp. 282–295.
8. Mitchell M. I., Engelbrecht A. M. Metabolic hijacking: A survival strategy cancer cells exploit? *Critical reviews in Oncology/Hematology*, 2017, vol. 109, pp. 1–8.
9. Joyce J. A., Fearon D. T. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science*, 2015, vol. 348, no. 6230, pp. 74–80.
10. Acerbi I. et al. Human breast cancer invasion and aggression correlates with ECM stiffening and immune cell infiltration. *Integrative Biology*, 2015, vol. 7, no. 10, pp. 1120–1134.
11. Ying L., et al. Cancer associated fibroblast-derived hepatocyte growth factor inhibits the paclitaxel-induced apoptosis of lung cancer A549 cells by up-regulating the PI3K/Akt and GRP78 signaling on a microfluidic platform. *PLoS one*, 2015, vol. 10, no. 6, p. e0129593.
12. Su S., et al. CD10+ GPR77+ cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness. *Cell*, 2018, vol. 172, no. 4, pp. 841–856. e16.
13. Navab R., et al. Integrin $\alpha 11\beta 1$ regulates cancer stromal stiffness and promotes tumorigenicity and metastasis in non-small cell lung cancer. *Oncogene*, 2016, vol. 35, no. 15, pp. 1899–1908.
14. Petrova V., et al. The hypoxic tumour microenvironment. *Oncogenesis*, 2018, vol. 7, no. 1, pp. 1–13.