

ГЛАВА 1. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПАТОЛОГИЯ РАКА ЛЕГКИХ

Е.А. Коган

CHAPTER 1. MOLECULAR PATHOPHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF LUNG CANCER

Evgenia A. Kogan

Рак легкого (РЛ), или бронхогенная карцинома, — самая частая злокачественная опухоль легкого, на долю которой приходится 90–95% новообразований данного органа. В легком могут развиваться и другие опухоли, 5% которых составляют карциномы и 2–5% опухоли — мезенхимального происхождения [1–10].

В индустриально развитых странах РЛ считается «убийцей номер один» по двум причинам. Во-первых, это самая распространенная злокачественная опухоль, на долю которой приходится ~ 30% смертей от всех видов злокачественных новообразований среди мужского населения. Во-вторых, РЛ относится к наиболее фатальным злокачественным опухолям человека, так как в подавляющем большинстве (75% случаев) диагностируется на поздних стадиях, когда хирургическое лечение уже не проводится [4, 5]. Однако даже после полномасштабной комплексной современной терапии показатели выживаемости пациентов с диагнозом бронхогенной карциномы чрезвычайно низкие. Единственная возможность контролировать опухолевый рост связана с раскрытием его патогенеза, молекулярные механизмы которого успешно изучаются [4, 10, 11].

В данной главе обобщены современные данные по биологии РЛ, раскрываются молекулярно-генетические механизмы злокачественной трансформации стволовых клеток, приводящие к возникновению раковых стволовых клеток (РСК) и росту карцином легких, которые обладают определенными профилями и сигнатурой, характеризуются автономным и безудержным ростом, нарушением дифференцировки клеток, патологией апоптоза, способностью инфильтрировать прилежащие нормальные ткани, инициировать неоангиогенез и прорасти в сосуды, уклоняться от иммунологического надзора и метастазировать. Следует отметить, что в легочной ткани имеются несколько зон, где располагаются тканевые стволовые клетки, называемых нишами стволовых клеток. Эти зоны способны давать начало разнообразным типам карцином, обладающими молекулярными особенностями, знание которых необходимо в назначении таргетной терапии рака. Понимание перечисленных свойств РСК требует анализа таких вопросов, как:

- этиопатогенетические факторы РЛ и их молекулярные мишени;
- патологическая анатомия рака и предрака легкого;
- клеточная биология РЛ и роль РСК;
- молекулярные механизмы канцерогенеза РЛ (геномика, протеомика и эпигенетика);
- молекулярный профиль и сигнатура карцином легкого и методы таргетной терапии; значение знаний по биологии РЛ в диагностике и таргетной терапии;
- механизмы инвазии и метастазирования, роль эпителиально-мезенхимальной трансформации в этих процессах;
- механизмы антибластомной резистентности РЛ и роль *Toll*-подобных рецепторов (*Toll-like receptors* – TLRs);
- основы таргетной терапии мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого (МЛР и НМЛР).

Этиопатогенетические факторы рака легкого и молекулярные механизмы канцерогенеза

Развитие РЛ в 98% случаев связано с воздействием экзогенных канцерогенных агентов (курение, профессиональные вредности, радиация) и только в единичных случаях — с генетическими факторами. Основными факторами риска считаются табакокурение и неблагоприятное воздействие окружающей среды, прежде всего профессиональных вредностей. При этом безусловное значение имеют возраст пациентов и место их жительства. Вероятность развития РЛ возрастает в 30 раз у мужчин и в 90 раз — у женщин в возрасте 35–75 лет [3, 4, 8, 12]. В данной главе не рассматриваются детально этиологические факторы РЛ, поскольку они обсуждаются в других главах этого раздела. Здесь же следует остановиться на молекулярных механизмах канцерогенеза.

Поскольку в > 90% случаев РЛ является результатом воздействия канцерогенных агентов, приводящих к накоплению мутаций и эпигенетических перестроек, то прежде всего заслуживают внимания молекулярные механизмы химического канцерогенеза. ДНК является основной мишенью химических канцерогенов, но при этом не существует единствен-

ного уникального вида повреждения, развивающегося во время начальной стадии – инициации. Все прямые канцерогенные вещества и канцерогенные метаболиты содержат высокореактивные электрофильные группы, формирующие химические аддукты с ДНК, белками и РНК. Хотя любой ген может стать объектом для химических канцерогенных веществ, обычно мутации развиваются в онкогенах и генах-супрессорах опухолей, таких как *RAS* и *TP53*, представляющих важнейшие мишени химических канцерогенов.

Табакотурение – важнейший фактор риска РЛ, что было доказано международными эпидемиологическими исследованиями, проводимыми в 1950-х и 1960-х гг. в США и Великобритании. Установлено, что в 2000 г. 85% случаев РЛ у мужчин и 47% у женщин были связаны с фактором курения [3, 4, 8, 13, 14].

Риск развития РЛ среди курящих мужчин возрастает в 8–15 раз, а среди женщин – в 3–10 раз, по сравнению с некурящими. Угроза возникновения РЛ зависит от дозы, длительности, раннего возраста начала курения, качества табака и фильтра. При отсутствии фильтров на сигаретах риск РЛ возрастает в 20–30 раз. Различают активное курение и пассивное, которые в равной мере представляют опасность для человека. Пассивное курение характерно для некурящих людей, которые находятся в окружении курящих.

Неблагоприятные факторы окружающей среды, приводящие к развитию рака, также довольно давно изучены. К неблагоприятным факторам, с которыми человек может сталкиваться в условиях производственной деятельности, относятся асбест, кристаллы кремния, радон, смеси полициклических ароматических углеводородов и тяжелых металлов [15, 16] (табл. 1).

Таблица 1. Профессиональные канцерогенные агенты, накапливающиеся в легких, и условия их экспозиции (по Nicholson A.G. et al., 2022 [8], Коган Е.А., 2015 [17], Osanyingbemi-Obidi J. et al., 2011 [18])

Агенты, смеси, условия	Области применения / профессии
Асбест	Строительство, текстильная промышленность
Мышьяк и его соединения	Стекольное производство, обработка металла, работа с пестицидами
Бериллий и его соединения	Самолетостроение
Соединения хрома	Обработка металла, часовая промышленность
Диоксин	Химическая промышленность
Никель	Металлургия
Двуокись кремния	Пескоструйные и строительные работы, шахты
Продукты горения жиров	Поварское дело (женщины)

Радиация. Отмечается повышение заболеваемости органов дыхания в регионах с усиленным радиационным фоном. Первое описание профессионального РЛ у шахтеров урановых рудников описано еще в прошлом веке и связано с радиоактивным газом родон.

В последние годы при обследовании большого числа лиц, было отмечено значительное увеличение заболеваемости и смертности от РЛ среди населения, контактировавшего с радиацией на полигонах в области г. Семипалатинска (РФ) и Маршалловых островов, а также во время аварии 1986 г. на Чернобыльской атомной электростанции (СССР), и среди пострадавших от последствий атомной бомбардировки Хиросимы и Нагасаки (Япония) [4, 5].

Попавшие в легкие радиоактивные частицы практически не выводятся из организма естественным путем, а оседают на внутренних поверхностях легочной ткани. В зависимости от размеров, вдыхаемые ядерные частицы могут поступать, а затем оседать и задерживаться в различных участках дыхательной системы [13, 19]. Осаждение частиц зависит от их диаметра. Так, в носовой полости задерживаются частицы диаметром > 50 мкм, в трахее – 30–50 мкм, в бронхах – 10–30 мкм, в бронхиолах – 3–10 мкм, в альвеолах – 1–3 мкм, где они могут захватываться и накапливаться альвеолярными макрофагами. Частицы диаметром < 0,5 мкм в легких практически не задерживаются. Изотоп Cs-137 входит в состав частиц 5–25 мкм, Pu-239 – 12 мкм. Это свидетельствует о том, что данные частицы оседают в основном в мелких бронхах и бронхиолах.

Хроническое воспаление и склероз создают благоприятную почву для развития предрака и РЛ, что подтверждается данными о возникновении данного заболевания рака на фоне предсуществующего фиброза легких, например при идиопатическом легочном фиброзе (ИЛФ), частота которого достигает > 13% [12, 20–23], в посттуберкулезных рубцах, хронических туберкулезных кавернах, в очагах постинфарктного фиброза, вокруг инородных тел [12, 17, 23], а также при хронических обструктивных заболеваниях легких [4, 5, 8]. Патогенез РЛ на фоне хронического воспаления и склероза имеет некоторые особенности, обусловленные поддерживаемым высоким пролиферативным фоном, который способствует накоплению мутаций, ведущих к злокачественной трансформации клеток [12, 13, 21–25].

Патологическая анатомия рака и предрака легкого

Несмотря на достижения в изучении молекулярной биологии РЛ, ключевым в диагностике предрака и рака данной локализации остается морфологический метод, сочетающий в себе классическую макро- и микроскопическую патологическую анатомию, иммуногистохимию (ИГХ), электронную микроскопию, флуоресцентную гибридизацию *in situ* (*fluorescence in-situ hybridization* – FISH)

и хромогенную гибридизацию гена (*chromogenic in situ hybridization* – CISH), полимеразную цепную реакцию (ПЦР) *in situ*.

Рак легкого

Классификация РЛ учитывает локализацию опухоли, характер роста, макроскопический вид, стадию процесса, гистогенез, а также генетические и молекулярно-биологические особенности [5, 7–10, 12, 26]. В зависимости от локализации выделяют: 1) прикорневой (центральный) РЛ, исходящий из стволового, долевого и проксимальной части сегментарного бронха; 2) периферический, исходящий из бронхов меньшего калибра, бронхиол и, вероятно, альвеол; 3) смешанный (массивный). Патологическая анатомия прикорневого и периферического рака различна. Массивный рак фактически является поздней стадией развития центрального или периферического РЛ. По характеру роста определяют: 1) экзофитный (эндобронхиальный); 2) эндобронхиальный (экзобронхиальный и перибронхиальный) РЛ. На основании макроскопической формы РЛ подразделяется: 1) на бляшковидный; 2) полипозный; 3) эндобронхиальный диффузный; 4) узловатый; 5) разветвленный; 6) узловато-разветвленный; 7) полостной; 8) пневмониоподобный.

Прикорневой РЛ развивается в крупных бронхах. Предраковые процессы – плоскоклеточная метаплазия и дисплазия бронхиального эпителия возникают, как правило, на фоне хронического воспаления. Преобладающие макроскопические формы – полипозный, узловатый, разветвленный, узловато-разветвленный. Гистогенетически прикорневой рак связан со стволовой клеткой, из которой происходит бронхиальный эпителий: базальные, бокаловидные и реснитчатые клетки. Наиболее часто встречающиеся гистологические типы прикорневого рака – плоскоклеточный и мелкоклеточный. Нередко осложняется ретростенотическими абсцессами легких, ателектазами. Опухоль может прорасти в средостение, сердечную сорочку, пищевод, сосудистые стволы, что может стать причиной легочного кровотечения. Основные методы диагностики – бронхоскопия с биопсией, цитологическое исследование мокроты и радиологическое исследование.

Периферический РЛ во многих случаях развивается на фоне предшествующих хронического воспаления и склеротических изменений – очаговых или диффузных. Предраковые процессы – плоскоклеточная метаплазия, дисплазия эпителия мелких бронхов и бронхиол, аденоматоз с атипией клеток и атипическая гиперплазия эпителия в овальных и шелевидных структурах в рубце. Преобладающие макроскопические формы – узловатая, узловато-разветвленная, полостная и пневмониоподобная. Гистогенез периферического рака связан не только с базальными, бокаловидными и реснитчатыми клетками бронхов и бронхиол, но и с клетками Клара и альвеоцитами II типа. Это определяет существова-

ние большего разнообразия гистологических типов периферического РЛ по сравнению с центральным. Так, в периферических отделах легкого преобладают железистые карциномы со стелющимся характером роста, ранее называемые вариантами бронхоалоальвеолярной карциномы. Плоскоклеточный рак (ПЛР) и МРЛ выявляются значительно реже. Основными методами ранней диагностики периферического РЛ являются рентгенологический и трансторакальная чрескожная биопсия легкого. Осложнения опухоли связаны с прорастанием ее в плевральную полость и последующими развитием серозно-геморрагического или геморрагического плеврита, распространением на крупные бронхи, распадом и нагноением самой опухоли.

В соответствии с гистогенезом выделяют следующие гистологические типы РЛ: 1) плоскоклеточный; 2) мелкоклеточный; 3) аденокарциному; 4) крупноклеточный; 5) железисто-плоскоклеточный; 6) карциноидную опухоль; 7) рак бронхиальных желез [27].

Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) предложена **гистологическая классификация РЛ**, последняя версия которой опубликована в 2021 г. [8, 11, 28, 29]. Эта классификация базируется не только на гистологических, но и на ИГХ-критериях [8, 17, 29]. Каждый тип РЛ имеет свой код по системе «Международная классификация болезней – онкология» (МКБ-О; табл. 2). После уточнения некоторых гистологических типов опухолей в классификацию ВОЗ 2021 г. были внесены следующие наиболее важные изменения: введены новые клиничко-морфологические единицы, например SMARCA4-дефицитная недифференцированная опухоль и бронхиолярная аденома / реснитчатая мукоnodулярная папиллярная опухоль; заменены некоторые термины (лимфоэпителиомоподобная карцинома, ассоциированная с вирусом Эпштейна–Барр и не связанная с курением, переименована в лимфоэпителиальную карциному, кишечная аденокарцинома легкого – в аденокарциному легкого кишечного типа) [8]. Кроме того, изменен метод оценки немущинозных аденокарцином по ряду паттернов, а также приводится подробное описание преинвазивных поражений.

Сохраняются изменения в 8-й версии классификации TNM (*Tumor, Node, Metastasis* – опухоль, узел, метастазы) по сравнению с 7-м изданием классификации аденокарцином [8, 11, 28, 29], а также отдельно предложена классификация РЛ в материале биопсий малых размеров и цитологических препаратах. Особое значение придается молекулярным маркерам дифференцировки опухолей. Последнее крайне важно, поскольку связано с точностью диагностики варианта рака, для чего помимо гистологических особенностей требуется идентификация гистохимических онкомаркеров опухоли. В целом без ИГХ диагностическая ошибка может достигать 40% [30].

Таблица 2. Гистологическая классификация рака легкого Всемирной организации здравоохранения 2021 г.

Гистологический тип	Код по МКБ-0
Аденокарцинома	8140/3
Аденокарцинома с поверхностным ростом	8250/3d
Ацинарная аденокарцинома	8551/3d
Папиллярная аденокарцинома	8260/3
Микропапиллярная аденокарцинома	8265/3
Солидная аденокарцинома	8230/3
Инвазивная муцинозная аденокарцинома	8253/3d
Смешанная инвазивная муцинозная и немучинозная аденокарцинома	8254/3d
Коллоидная аденокарцинома	8480/3
Фетальная аденокарцинома	8333/3
Кишечного типа аденокарцинома	8144/3
Микроинвазивная аденокарцинома:	
• немучинозная;	8256/3d
• муцинозная	8257/3d
<i>Преинвазивные поражения</i>	
Атипичная аденоматозная гиперплазия	8250/0d
Аденокарцинома <i>in situ</i> :	
• немучинозная;	8250/2d
• муцинозная	8253/2d
Плоскоклеточный рак	8070/3
Ороговевающий плоскоклеточный рак	8071/3
Неороговевающий плоскоклеточный рак	8072/3
Базалоидный плоскоклеточный рак	8083/3
<i>Преинвазивные поражения</i>	
Плоскоклеточный рак <i>in situ</i>	8070/2
Нейроэндокринные карциномы	
Мелкоклеточный рак	8041/3
Комбинированный мелкоклеточный рак	8045/3
Крупноклеточная нейроэндокринная карцинома	8013/3
Крупноклеточная комбинированная нейроэндокринная карцинома	8013/3

Примечание: МКБ-0 – Международная классификация болезней – онкология.

Гистологический тип	Код по МКБ-0
Карциномы	
Типичный	8240/3
Атипичный	8249/3
<i>Преинвазивные поражения</i>	
Диффузная идиопатическая нейроэндокринная гиперплазия	8040/0d
Крупноклеточный рак	8012/3
Железисто-плоскоклеточный рак	8560/3
Саркоматозные карциномы	
Плеоморфная	8032/3
Веретенноклеточная	8022/3
Гигантоклеточная	8031/3
Карциносаркома	8980/3
Легочная бластома	8972/3
Другие неклассифицируемые карциномы	
Лимфоэпителиомоподобная 8082/3	8082/3
NUT-карцинома	8023/3d
Опухоли типа слюнных желез	
Мукоэпидермоидный рак	8430/3
Аденоидно-кистозный рак	8200/3
Эпителиально-миоэпителиальный рак	8562/3
Плеоморфная аденома	8940/0
Папилломы	
Плоскоклеточная папиллома:	8052/0
• экзофитная;	8052/0
• инвертированная	8053/0
Гландулярная папиллома	8260/0
Смешанная плоскоклеточно-гландулярная папиллома	8560/0
Аденомы	
Склерозирующаяся пневмоцитома	8832/0
Альвеолярная аденома	8251/0
Сосочковая аденома	8260/0
Муцинозная цистаденома	8470/0
Муцинозная glandулярная аденома	8480/0

В Международной классификации РЛ по системе TNM 8-го издания определены следующие стадии заболевания.

- ТХ – первичная опухоль не может быть оценена или доказана по наличию злокачественных клеток в мокроте или смывах с бронхов, но не визуализируется на снимках и бронхоскопии.
- Т0 – нет доказательств первичной опухоли.
- Тis – включает аденокарциному и ПРЛ.

- Т1 – опухоль ≤ 3 см, окруженная легким или висцеральной плеврой без инвазии проксимальнее долевого бронха (т. е. не в главный бронх).
 - Т1mi – минимально инвазивная карцинома (одиночная аденокарцинома ≤ 3 см с преимущественно стелющейся моделью роста; инвазия ≤ 5 мм в наибольшем измерении в любом фокусе; инвазивный компонент должен включать: любой другой паттерн, кроме стелющего-

- ся; десмопластическую реакцию стромы). Это не минимально инвазивная карцинома, если: видны некрозы в опухоли; обнаружена инвазия в лимфатические, кровеносные сосуды или плевру; опухоль распространяется через воздушные пространства; диагноз поставлен по биопсии; паттерн только стелющийся, инвазии нет (в последнем случае это Tis).
- T1a – опухоль ≤ 1 см (редкий поверхностный тип инвазивного распространения по бронху, ограниченный его стенкой, даже с распространением на главный бронх, считается T1a).
 - T1b – опухоль от 1 до 2 см.
 - T1c – опухоль от 2 до 3 см.
 - T2 – опухоль от 3 до 5 см или с любыми из следующих особенностей: вовлекает главный бронх независимо от расстояния до карины, но без вовлечения последней; поражает висцеральную плевру; связана с ателектазом или обструктивным процессом, распространяющимся на прикорневую область, либо вовлекающим часть легкого / целое легкое.
 - T2a – опухоль от 3 до 4 см.
 - T2b – опухоль от 4 до 5 см.
 - T3 – опухоль от 5 до 7 см, либо с прямой инвазией в париетальную плевру, диафрагмальный нерв грудной стенки (включая опухоли Панкоста – верхней борозды), париетальный перикард, либо имеющая отдельный узел / узлы в той же доле, что и первичная.
 - T4 – опухоль > 7 см или любого размера с поражением диафрагмы, средостения, сердца, крупных сосудов, трахеи, возвратного гортанного нерва, пищевода, тела позвонка, карины или имеющая отдельный ипсилатеральный узел / узлы опухоли в другой доле.
 - NX – региональные лимфатические узлы не могут быть оценены.
 - N0 – нет метастазов в регионарные лимфатические узлы.

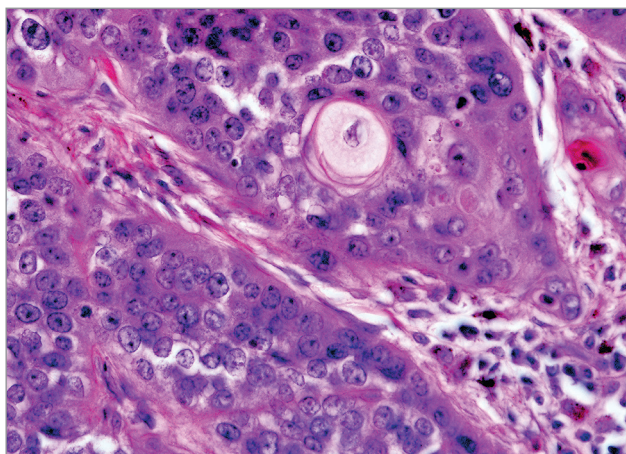


Рис. 1. Умеренно дифференцированный плоскоклеточный рак легкого с признаками внутриклеточного ороговения опухолевых клеток (стекловидная эозинофильная цитоплазма). Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

- N1 – метастаз в ипсилатеральный перибронхиальный и/или ипсилатеральный прикорневой лимфатический узел и внутрилегочные лимфатические узлы (в т. ч. путем прямой инвазии).
- N2 – метастазы в ипсилатеральных лимфоузлах средостения и/или в субкаринальных лимфоузлах.
- N3 – метастазы в контралатеральном средостении, контралатеральных корневых лимфатических узлах, ипсилатеральных или контралатеральных лестничных или надключичных лимфатических узлах.
- pN0 – для гистологического исследования корневых и медиастенальных лимфоузлов обычно присылается ≥ 6 локаций лимфатических узлов, 3 из них должны быть медиастинальными, включая субкаринальные лимфоузлы, и 3 – из локаций N1. Если все проверенные лимфатические узлы отрицательны, даже при несоблюдении обычного их количества определяется pN0.
- M0 – нет отдаленных метастазов.
- M1a – отдельный узел (узлы) опухоли в контралатеральной доле; опухоль с узлами в плевре или перикарде или со злокачественными клетками в плевральном или перикардиальном выпоте.
- M1b – одиночный внегрудной метастаз в одном органе.
- M1c – множественные внегрудные метастазы в одном или нескольких органах.

Более не используется pM0 и pMX.

Плоскоклеточный рак легкого (ПРЛ) развивается в крупных бронхах и склонен к местной инвазии. Метастазы появляются несколько позже, чем при других морфологических вариантах РЛ, в то же время ПРЛ обгоняет их по скорости роста первичной опухоли. При микроскопическом исследовании выделяют базалоидный ПРЛ и различные степени дифференцировки ПРЛ (рис. 1–4): от высокой, когда большинство опухолевых клеток продуцируют кератин, определяемый в виде интра- и экстрацеллюлярных

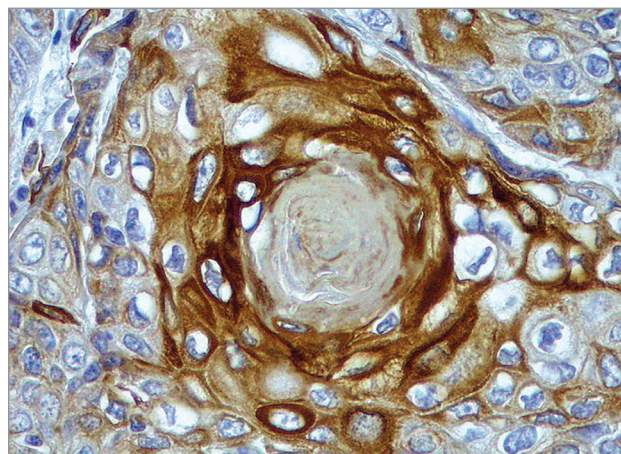


Рис. 2. Плоскоклеточный рак легкого; панцитокератины в высокодифференцированном плоскоклеточном раке легкого с формированием «раковой жемчужины». Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

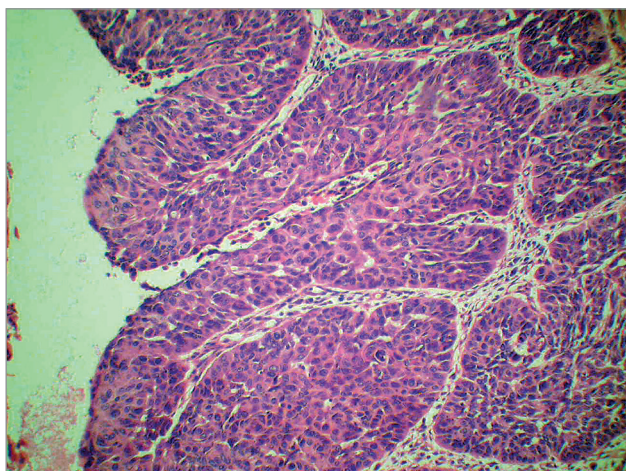


Рис. 3. Базалоидный плоскоклеточный рак в поверхностных слоях стенки бронха. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

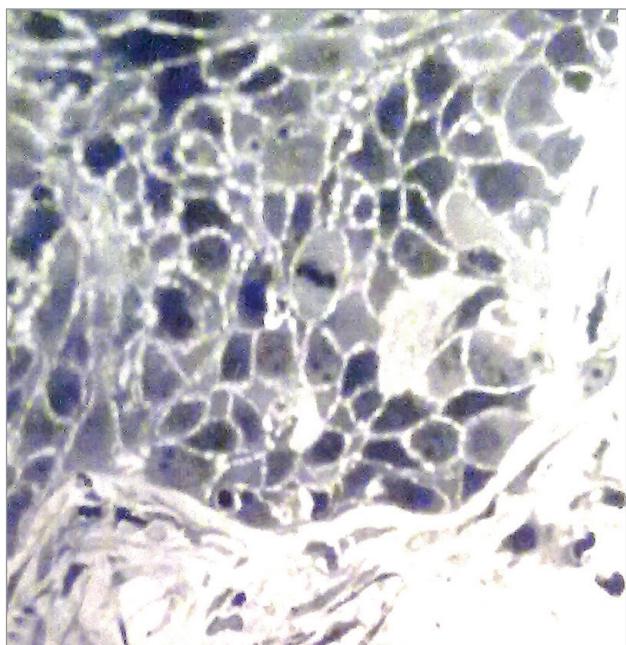


Рис. 4. Низкодифференцированный плоскоклеточный рак легкого; сохранение стратификации опухолевых клеток и межклеточных мостиков (десмосомальных контактов). Полутоновый срез. Окраска метиленовым синим, азуром, П-фуксином; $\times 1\ 000$

отложений («раковых жемчужин»), и связаны друг с другом межклеточными мостиками, до низкой, характеризующейся крупными анапластическими клетками без признаков кератинизации при световой микроскопии [31]. При ИГХ-исследовании маркерным признаком является обнаружение в опухолевых клетках р63. При электронной микроскопии выявляются кератиновые филаменты и десмосомальные контакты (рис. 5).

Аденокарцинома легкого отличается периферическим расположением и более мелкими размерами, по сравнению с прикорневыми опухолями. Умеренно и высокодифференцированная аденокарцинома состоит из клеток, организованных в железистые (ацинарные или сосочковые) структуры, а низкодифференцированная аденокарцинома — из пластов опу-

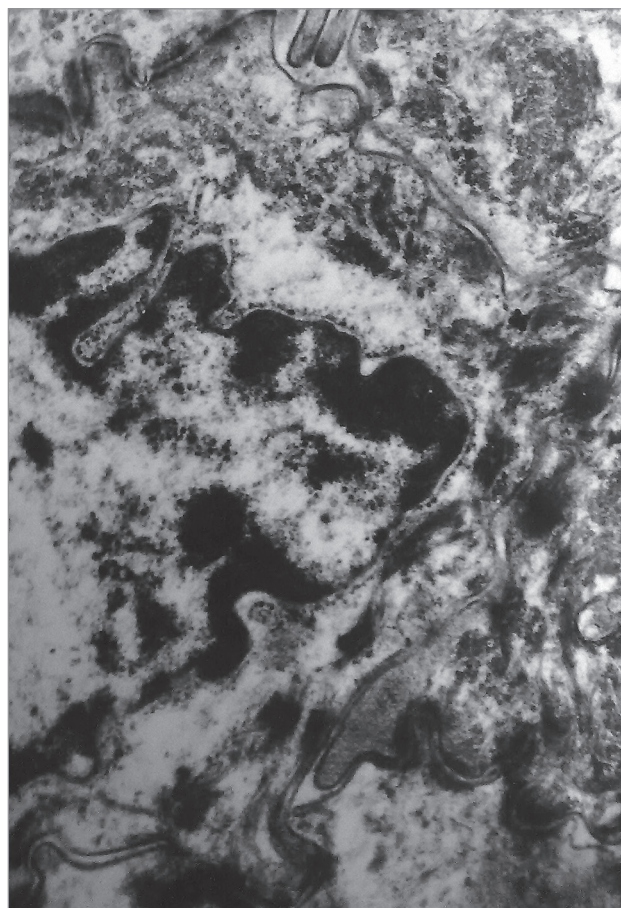


Рис. 5. Раковая клетка с десмосомальными контактами и пучками тонофиламентов. Электронограмма; $\times 21\ 000$

холевых клеток и единичных желез, продуцирующих слизь (рис. 6–8). В зависимости от гистоструктуры выделяют аденокарциному с поверхностным ростом, ацинарную, папиллярную, микропапиллярную, солидную аденокарциному, а также инвазивную муцинозную аденокарциному, смешанную инвазивную, коллоидную, фетальную, кишечную и микроинвазивную аденокарциному. При ИГХ маркерным признаком большинства вариантов опухоли является обнаружение в опухолевых клетках тиреоидного фактора транскрипции-1 (ТТФ-1; рис. 6Б).

Аденокарцинома со стелющимся ростом по поверхности (прежнее название — бронхиолоальвеолярный рак [32]) — это разновидность аденокарциномы легкого; она возникает в концевых бронхиолах и растет вдоль альвеолярных перегородок (рис. 6–12). Чаще возникает на периферии легкого и иногда представлена единственным опухолевым узлом, но чаще в виде множества мелких узелков распространяется по всему легкому, в связи с чем на вскрытии может быть принята за пневмонию. Опухолевые клетки высокие, цилиндрической или кубической формы, выстилают межальвеолярные перегородки и иногда в виде сосочков выпячиваются в просвет альвеол. Обычно опухоль высокодифференцированная и сохраняет изначальную структуру альвеол. При электронной микроскопии в цитоплазме опухолевых

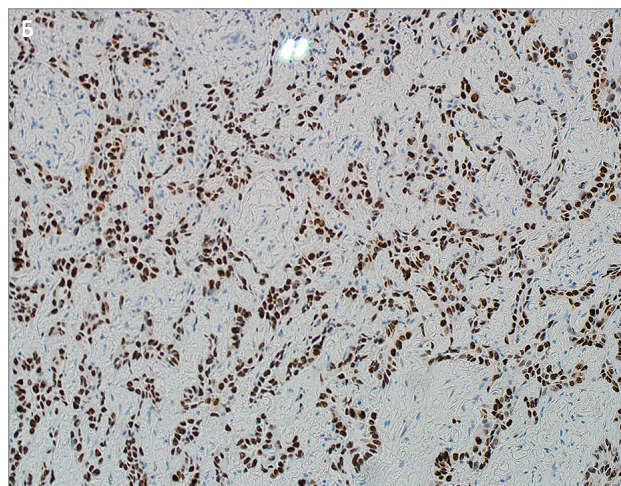
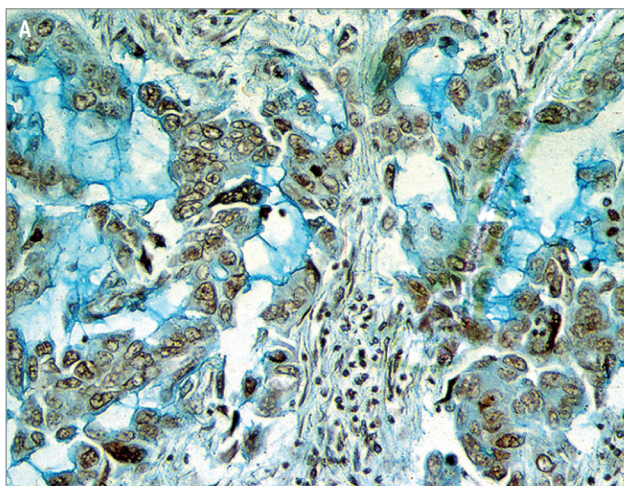


Рис. 6. Аденокарцинома легкого: А – умеренно дифференцированная аденокарцинома с солидно-криброзными и тубулярными структурами и продукцией слизи клетками опухоли; окраска по Крейбергу; $\times 400$; Б – TTF-1 в ядрах высокодифференцированной аденокарциномы со стелющимся характером роста; иммунопероксидазная реакция; $\times 200$

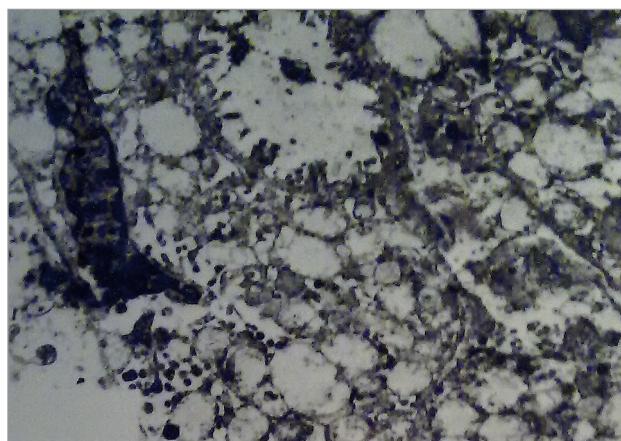
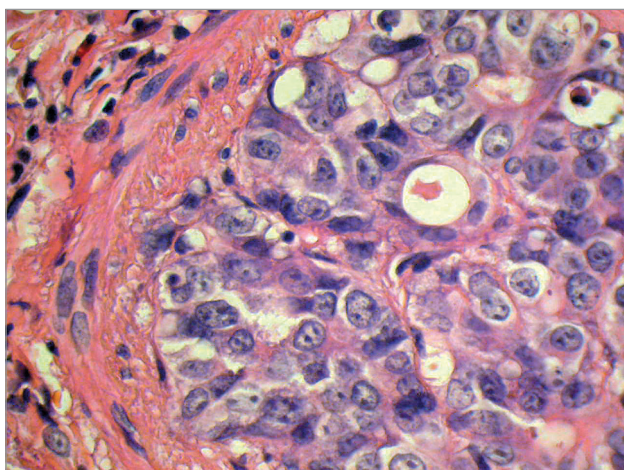


Рис. 7. Низкодифференцированная аденокарцинома с солидными структурами. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 600$

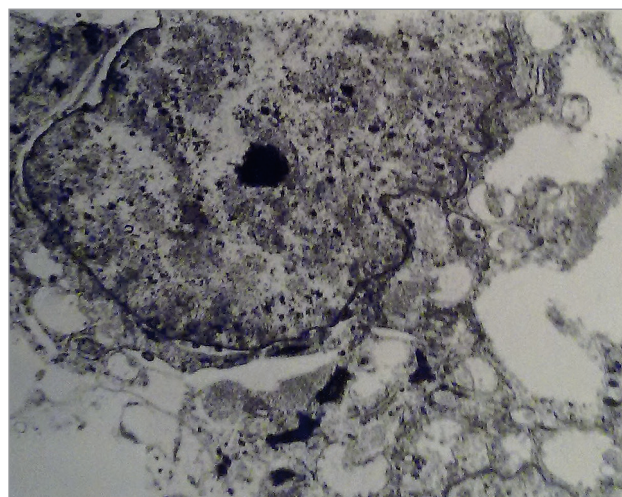


Рис. 8. Раковые клетки с секреторными гранулами в цитоплазме. Электронограмма; $\times 6\ 000$ и $\times 18\ 000$

клеток можно обнаружить признаки дифференцировки пневмоцитов II типа (мультиламеллярные тельца; рис. 13) и клеток Клара (тельца в виде «отпечатков пальцев»; рис. 14). Метастазы единичные и появляются поздно. Пятилетняя выживаемость составляет $\sim 25\%$.

В классификации ВОЗ (2021) включены следующие типы аденокарцином легкого: минимально инвазивная; инвазивная немучинозная; инвазивная муцинозная; коллоидная; фетальная; аденокарцинома кишечного типа. Кроме того, по степени гистологической дифференцировки (G) относят: к G1 – опухоли со стелющимся характером роста, к G2 – ацинарную и папиллярную аденокарциномы, к G3 – криброзную, солидную, микропапиллярную аденокарциномы и опухоли с комбинированным характером роста.

Мелкоклеточный рак легкого (МРЛ) чаще развивается в крупных бронхах (в литературе все типы РЛ зачастую делят на МРЛ и НМРЛ, куда включают все другие типы опухолей). Это самая агрессивная

из всех опухолей легкого: ранние множественные лимфогенные и гематогенные метастазы делают хирургическое лечение бесперспективным. Кроме того, МРЛ – самая частая гормонопродуцирующая опухоль [2, 8, 12, 10, 26]. Классический МРЛ (овсяноклеточный) гистологически характеризуется мел-



Рис. 9. Аденокарцинома со стелющимся характером роста (бронхиоло-альвеолярный рак), растущий вокруг субплеврального рубца (стрелки). Гистотопограмма; $\times 2,5$

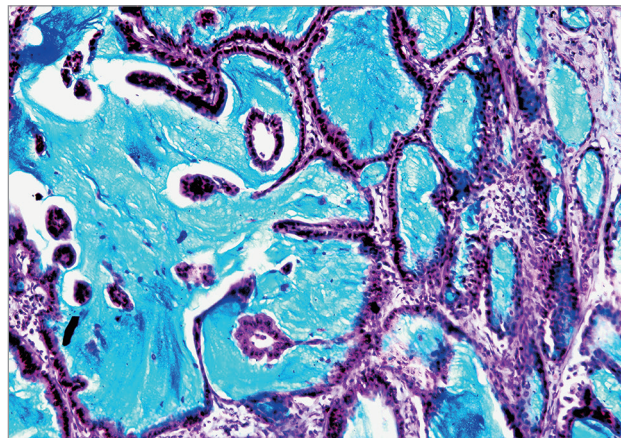


Рис. 10. Аденокарцинома со стелющимся характером роста (бронхиолоальвеолярный рак) с секрецией слизи опухолевыми клетками и формированием папиллярных структур. Окраска по Крейбергу; $\times 200$

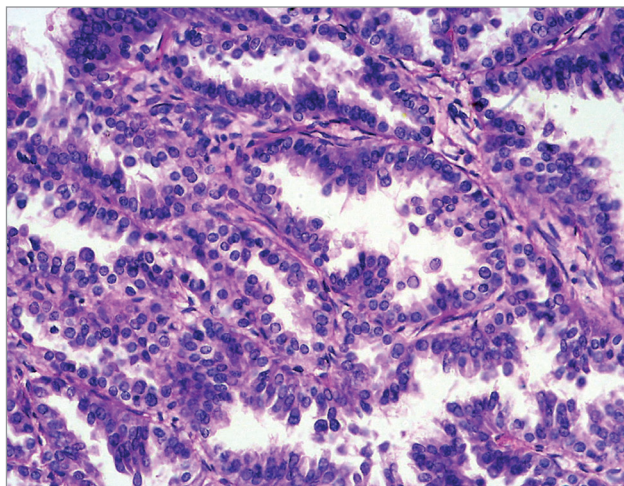


Рис. 11. Аденокарцинома со стелющимся характером роста (бронхиолоальвеолярный рак) из клеток Клара. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

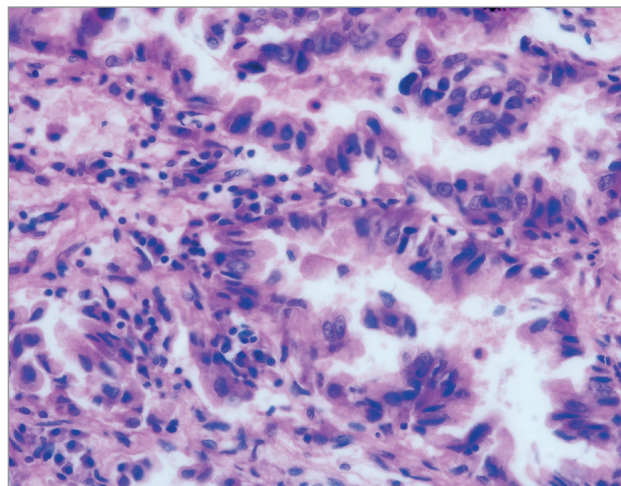


Рис. 12. Аденокарцинома со стелющимся характером роста (бронхиолоальвеолярный рак), смешанный вариант из клеток Клара и секретирующих слизь клеток. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

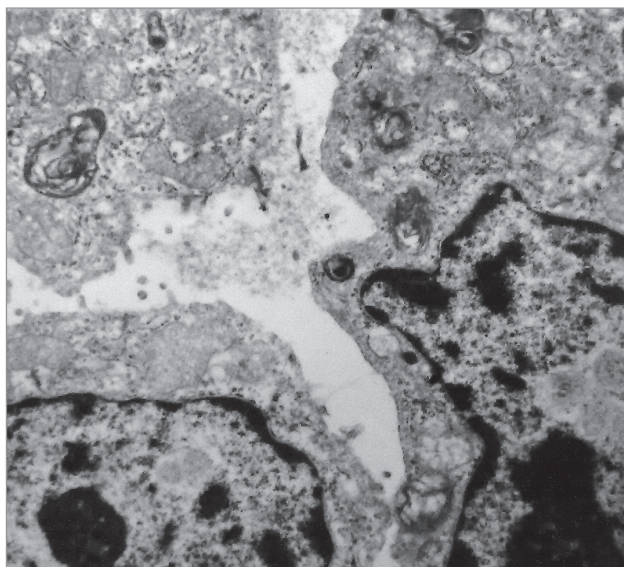


Рис. 13. Раковая клетка типа пневмоцита II порядка. Электронограмма; $\times 18\,000$

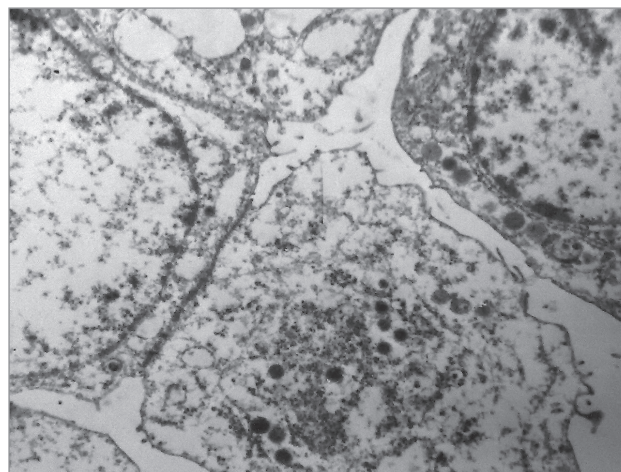


Рис. 14. Раковая клетка типа Клара. Электронограмма; $\times 6\,000$

кими округлыми или овальными клетками со скудной цитоплазмой; иногда они по форме напоминают лимфоциты, хотя крупнее их в ~ 2 раза. Клетки организуются в островки и не проявляют признаков ни кератинизации, ни железистой дифференцировки, содержат цитокератины и нейроэндокринные гранулы (рис. 15, 16).

При ИГХ маркерным признаком является обнаружение в опухолевых клетках синаптофизина, хромогранина А (СgА), CD56 (рис. 16). При электронной микроскопии в цитоплазме отдельных клеток видны нейросекреторные гранулы (мембранные пузырьки с плотным содержимым). В норме такие гранулы свойственны разбросанным по бронхиальному эпителию нейроэндокринным клеткам Кульчицкого (рис. 17).

Крупноклеточный рак легкого (КРЛ), по всей видимости, представляет собой недифференцированный ПРЛ или аденокарциному легкого, поэтому иногда его также называют анапластическим РЛ.

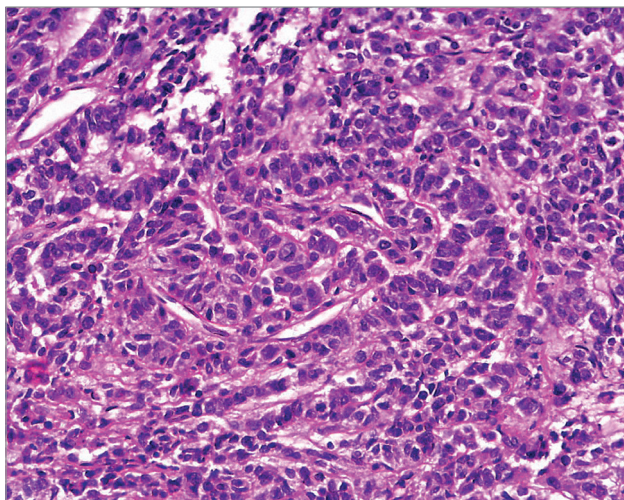


Рис. 15. Мелкоклеточный рак с очагом атипичного карциноида. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

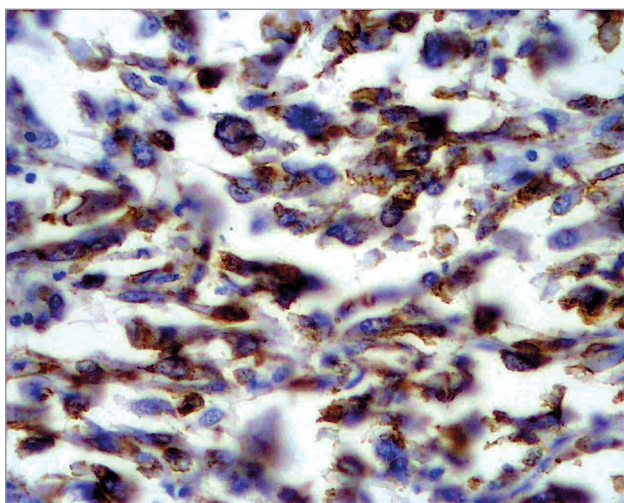


Рис. 16. Нейроэндокринные гранулы, содержащие хромогранин А в цитоплазме опухолевых клеток. Иммунопероксидазная реакция; $\times 200$

Выделяют еще и нейроэндокринный КРЛ как вариант немелкоклеточных нейроэндокринных опухолей легкого. Опухолевые клетки отличаются большими размерами, неправильной формой и светлыми ядрами. К разновидностям КРЛ относят гигантоклеточный, светлоклеточный и веретеновидноклеточный рак (рис. 18–20). Гигантоклеточный и веретеноклеточный варианты КРЛ в настоящее время вынесены в отдельный гистологический тип – плеоморфный РЛ.

Наихудший прогноз – у КРЛ и МРЛ. При световой микроскопии КРЛ содержит крупные раковые клетки, которые при гистохимическом и электронномикроскопическом исследованиях обнаруживают признаки плоского или железистого эпителия.

МРЛ – группа опухолей, которые на светооптическом уровне построены из мелких недифференцированных раковых клеток. Однако при гистохимическом и электронномикроскопическом исследованиях в этой группе обнаруживаются опухоли различной дифференцировки [2, 17, 33]: плоскоклеточной, железистой, нейроэндокринной (преобладает), а также неклассифицируемые опухоли.

Среди множества гистологических типов РЛ в настоящее время выделяют нейроэндокринные карциномы, представленные 3 типами опухолей: высокодифференцированной нейроэндокринной карциномой (синоним – типичный, доброкачественный карциноид), умеренно дифференцированной

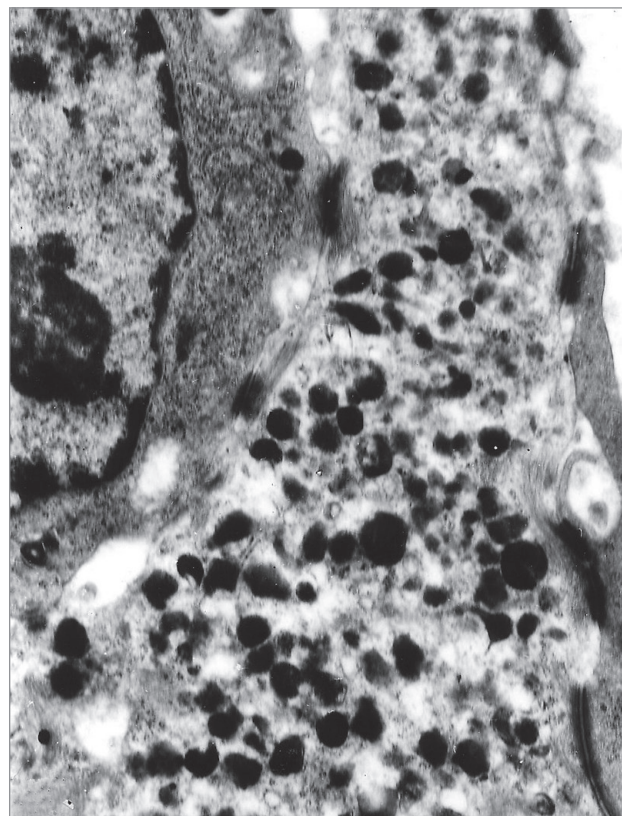


Рис. 17. Нейроэндокринные гранулы и десмосомы в раковой клетке. Электронограмма; $\times 18\,000$

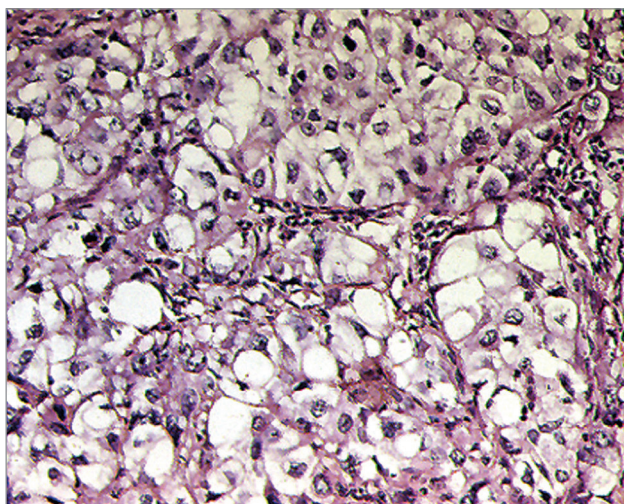


Рис. 18. Крупноклеточный светлоклеточный рак легкого. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

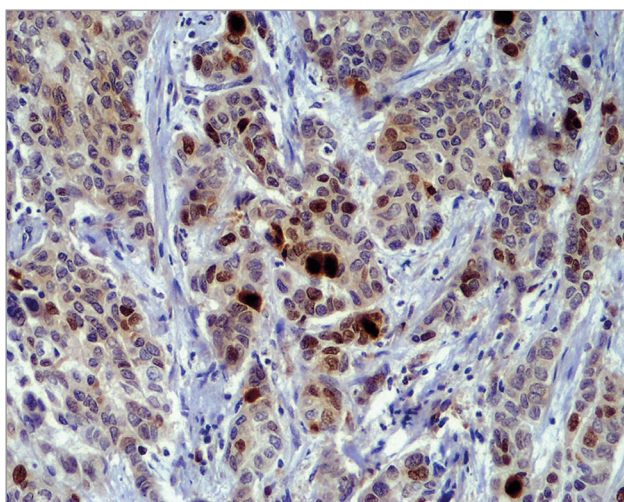


Рис. 19. Крупноклеточный рак легкого; высокий митотический индекс по Ki-67. Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

нейроэндокринной карциномой (синоним — атипичный, злокачественный карциноид), низкодифференцированной нейроэндокринной карциномой (МРЛ с нейроэндокринной дифференцировкой). При ИГХ маркерным признаком является обнаружение в опухолевых клетках CD56, синаптофизина и CgA (рис. 16).

Недифференцированная опухоль грудной клетки с дефицитом SMARCA4: *SMARCA4* — связанный с SWI/SNF, матрикс-ассоциированный, актин-зависимый регулятор хроматина, подсемейство A, член 4, или *BRG1*, кодирует белок, участвующий в ремоделировании хроматина, который важен для регулирования связывания факторов транскрипции с ДНК. Иммуногистохимически определяется потеря ядерной экспрессии *SMARCA4* и *SMARCA2*.

С целью точной морфологической верификации РЛ используют стандартную панель следующих ИГХ-маркеров:

- PanCK, p63 (или p40), индекс пролиферативной активности (Ki-67) — для ПРЛ;

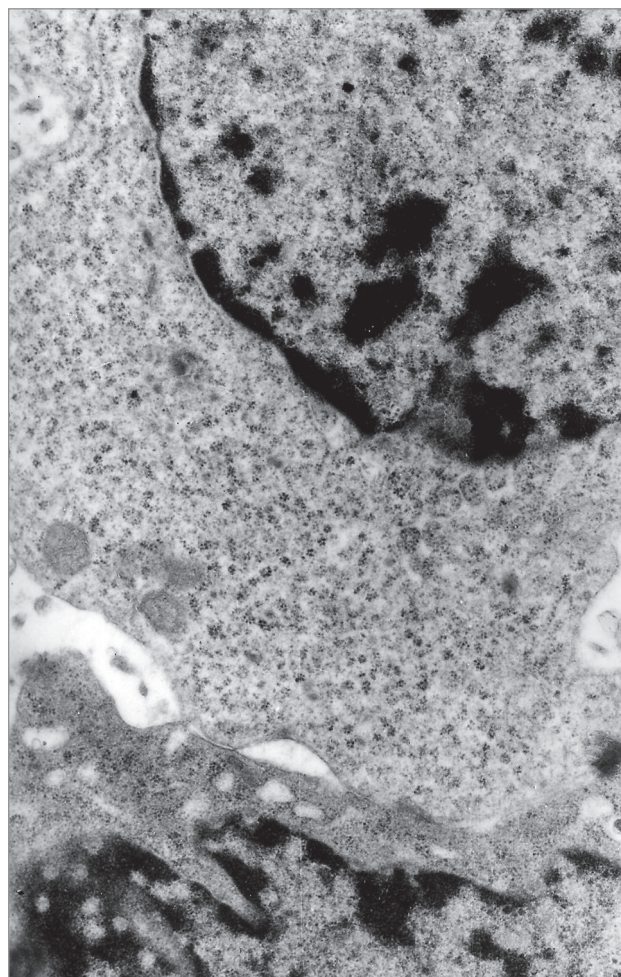


Рис. 20. Недифференцированная раковая клетка. Электронограмма; $\times 16\,000$

- CD56, синаптофизин, CgA, Ki-67 — для нейроэндокринных опухолей;
- TTF-1, Ki-67 — для аденокарцином;
- PD-1/PDL-1 — для определения апоптотического статуса опухоли, применяемого для иммунотерапии РЛ.

Метастазирование РЛ на начальных стадиях происходит преимущественно лимфогенным путем. Первые метастазы обнаруживаются в регионарных лимфатических узлах. На поздних стадиях лимфогенные метастазы распространяются в бифуркационные, паратрахеальные, медиастенальные и шейные лимфоузлы; может развиваться канцероматоз легких, плевры и брюшины; появляются гематогенные метастазы в печени, костях, надпочечниках, головном мозге.

РЛ нередко сопровождается **паранеопластическими синдромами**. Многие из них вызваны гормональной активностью опухоли. К типичным для РЛ паранеопластическим синдромам относятся:

- гипонатриемия (гиперсекреция антидиуретического гормона);
- синдром Кушинга (гиперсекреция адренокортикотропного гормона);
- гиперкальциемия (гиперпродукция паратгормона или паратгормон-подобных пептидов);

- гипокальциемия (гиперсекреция кальцитонина);
- гинекомастия (гиперсекреция гонадотропинов);
- карциноидный синдром (гиперсекреция серотонина);
- синдром Итона–Ламберта;
- тромбопатии (особенно часто при муцинозных аденокарциномах);
- периферическая нейропатия;
- кожные проявления, например черный акантоз (*acanthosis nigricans*);
- изменения картины крови, например лейкоэмидная реакция;
- гипертрофическая остеоартропатия (деформация пальцев по типу «барабанных палочек»).

Паранеопластические синдромы встречаются в 1–10% всех случаев РЛ. Адренкортикотропный и антидиуретический гормоны обычно вырабатываются клетками МРЛ, а гиперкальциемические факторы (паратгормон и паратгормон-подобные пептиды) – клетками ПРЛ. Карциноидный синдром иногда осложняет течение МРЛ, но гораздо более типичен для карциноида легкого.

Особенности гистологической верификации рака легкого в биоптатах малого размера и цитологическом материале

В классификации ВОЗ 2015 г. предложены дополнительные критерии для верификации РЛ в биоптатах малого размера и цитологическом материале с использованием ИГХ-маркеров [29] (табл. 3 и 4). Необходимость такой классификации связана с тем, что в $\frac{1}{3}$ случаев РЛ диагностируется на поздних стадиях, когда операционное лечение откладывается или вовсе не производится и морфологическая верификация возможна только на основании изучения биопсийного или цитологического материала. Малые биопсии и цитологический материал также используются при постановке диагноза РЛ и на ранних стадиях, а также он может подвергаться разнообразным молекулярным методам исследования [8–10, 28, 29, 34, 35]. При этом клиницисты должны учитывать, что судить о строении опухоли по биоптатам малых размеров и цитологическому материалу можно только в полученном материале. При этом РЛ отличается многообразием своего строения, а на поздних стадиях – также признаками множественных типов дифференцировки.

Таблица 3. Особенности гистологической верификации аденокарцином легкого в биоптатах малого размера (по Nicholson A.G. et al., 2015 [8], Uematsu K. et al., 2003 [29])

Новая терминология для малых биопсий / цитологии	Морфология / окраска	Классификация ВОЗ 2015 г. для малых биоптатов
Аденокарцинома (присутствуют гистологические маркеры железистой дифференцировки). Аденокарцинома в зависимости от преобладания структурного компонента (стелющаяся, ацинарная, папиллярная, солидная и микропапиллярная). Аденокарцинома стелющаяся (уточнять без других компонентов, невозможность исключения инвазии). Микроинвазивная аденокарцинома, аденокарцинома <i>in situ</i> или инвазивная стелющаяся аденокарцинома. Инвазивная муцинозная аденокарцинома (описываются структурные изменения, используется термин «муцинозная стелющаяся аденокарцинома» при наличии стелющегося роста). Аденокарцинома коллоидного типа. Коллоидная аденокарцинома. Аденокарцинома эмбрионального типа. Эмбриональная аденокарцинома. Аденокарцинома кишечного типа. Немелкоклеточная карцинома с признаками железистой дифференцировки	Гистологические признаки аденокарциномы. Морфологические признаки аденокарциномы обнаруживаются только при дополнительных методах (например, позитивная реакция TTF-1)	Аденокарцинома по преобладающему строению: стелющаяся, ацинарная, папиллярная, солидная и микропапиллярная. Микроинвазивная аденокарцинома, аденокарцинома <i>in situ</i> или инвазивная стелющаяся аденокарцинома. Инвазивная муцинозная аденокарцинома Коллоидная аденокарцинома. Эмбриональная аденокарцинома. Аденокарцинома кишечного типа. Аденокарцинома (часто солидного типа)
Плоскоклеточная карцинома. Немелкоклеточная карцинома, с признаками плоскоклеточной дифференцировки	Гистологические признаки плоскоклеточного рака. Морфологические признаки плоскоклеточной карциномы обнаруживаются только при дополнительных методах (например, позитивная реакция p40)	Плоскоклеточная карцинома. Плоскоклеточная карцинома (неороговяющая форма является частым компонентом опухоли)
Немелкоклеточная карцинома неясной природы	Нет гистологических и иммунофенотипических маркеров аденокарциномы, плоскоклеточной или нейроэндокринной карциномы	Крупноклеточная карцинома

Примечание: ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения.

Таблица 4. Особенности гистологической верификации мелкоклеточного, железисто-плоскоклеточного, крупноклеточного рака легкого в биоптатах малого размера (по Nicholson A.G. et al., 2015 [8], Uematsu K. et al., 2003 [29])

Мелкоклеточная карцинома	Мелкоклеточная карцинома
НМРЛ с нейроэндокринной дифференцировкой и наличием нейроэндокринных маркеров. При отсутствии нейроэндокринных маркеров высказывается подозрение о КРНЭД	КРНЭД
Морфология плоскоклеточной карциномы в сочетании с аденокарциномой: нет гистологических признаков плоскоклеточной карциномы или аденокарциномы, но имеются ИГХ-маркеры железистой и плоскоклеточной дифференцировки. Необходимо использование ИГХ-исследования для постановки диагноза	Железисто-плоскоклеточная карцинома при условии присутствия каждого из компонентов на $\geq 10\%$ территории опухоли. Аденокарцинома, плоскоклеточная, или железисто-плоскоклеточная, или крупноклеточная карцинома с неклассифицируемыми ИГХ-признаками
НМРЛ с веретеновидными клетками и/или гигантскими клетками карциномы (имеются указания на плоскоклеточную карциному или аденокарциному)	Плеоморфная, веретенклеточная и/или гигантоклеточная карцинома

Примечание: НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого; КРНЭД – крупноклеточный рак с нейроэндокринной дифференцировкой; ИГХ – иммуногистохимический.

Предопуховая дисплазия эпителия легких

Развитию РЛ могут предшествовать предопуховые патологические процессы, которые в литературе обозначаются различными терминами, такими как предопуховые диспластические процессы или дисплазии, предрак и неинвазивные патологические процессы [8–12, 28, 29]. В отличие от опухолевых процессов других локализаций термин «внутриэпителиальная неоплазия легких» пока не используется. Термин «предрак» предложен в 1896 г. *Dubreuil* для описания предраковых кератозов кожи. В Советском Союзе учение о предраке было разработано *Л.М. Шаббадом* и др. В Энциклопедическом словаре медицинских терминов (1983) дается следующее определение: «Предрак – общее название врожденных или приобретенных диспластических изменений, на основе которых возможно возникновение опухоли».

Диспластические процессы характеризуются развитием изменений как паренхиматозных, так и стромальных элементов. Гистогенетически дисплазия подразделяется на дисплазию покровного эпителия, дисплазию железистого и нейроэндокринного эпителия [36]. В отечественной литературе принята более детализированная классификация диспластических и неинвазивных процессов в легком [19, 37, 38].

Дисплазия покровного эпителия

Дисплазия покровного эпителия (плоскоклеточная дисплазия) развивается в бронхах различного калибра, бронхиолах и исключительно редко – в альвеолах. В бронхах и бронхиолах ей предшествуют разнообразные гиперпластические, метапластические изменения: бокаловидноклеточная трансформация, базальноклеточная гиперплазия без атипии клеток, плоскоклеточная метаплазия, а также атрофические изменения эпителия, впервые описанные *Г.И. Непомнящих* и *Л.М. Непомнящих* при т. н. синдроме регенераторно-пластической недостаточности [21].

Бокаловидноклеточная трансформация характеризуется преобладанием в эпителиальном пласте слизи-

стых клеток с низкой пролиферативной активностью. Можно предположить, что т.н. бокаловидноклеточная трансформация является результатом пролиферации слизистых клеток и, возможно, некоторой части базальных клеток с их последующей дифференцировкой в слизистые клетки. Следовательно, исходя из этих данных, описанный патологический процесс правильнее называть бокаловидноклеточной гиперплазией, а не бокаловидноклеточной трансформацией, которая цитогенетически связана прежде всего с продуцирующей слизь клеткой-предшественницей. При изучении экспрессии онкомаркеров в очагах бокаловидноклеточной гиперплазии отмечалось накопление небольшого количества преимущественно белкового продукта с-тус и трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) [37, 38].

Базальноклеточная гиперплазия проявляется в увеличении от 2 до 10 слоев базальных клеток, располагающихся под цилиндрическим эпителием. При выраженной пролиферации базальных клеток их верхние слои могут достигать просвета дыхательной трубки. Атипичная базальноклеточная гиперплазия отличается появлением признаков атипии клеток, при этом признаки ороговения отсутствуют (рис. 21). Ki-67 составляет 1,9%, а при появлении признаков атипии – 4,1%. Ki-67-положительные клетки локализуются преимущественно в базальной и парабазальной областях, а при выраженной пролиферации и атипии базальных клеток обнаруживаются во всех отделах эпителиального пласта. По данным многих авторов, базальные клетки являются одними из прогенеторных клеток трахеи и бронхов [39, 40]; следовательно, базальноклеточная гиперплазия и атипичная базальноклеточная гиперплазия цитогенетически связаны с нарушением пролиферации и дифференцировки базальных клеток. При этом атипичная базальноклеточная гиперплазия может расцениваться как вариант дисплазии бронхиального эпителия. При ИГХ-исследовании в участках БКГ бронхиального эпителия преимущественно

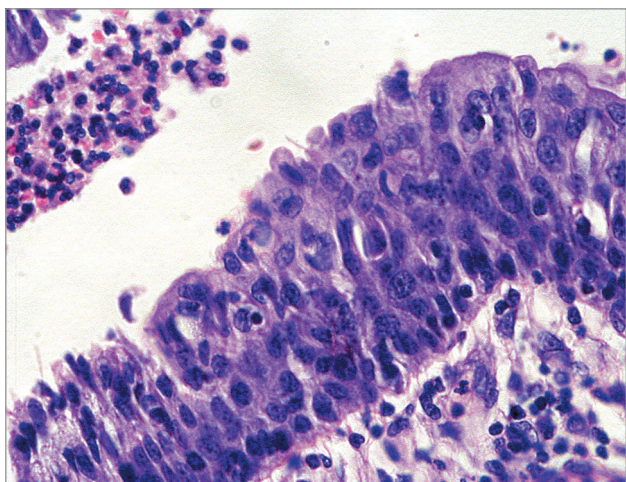


Рис. 21. Базальноклеточная гиперплазия бронхиального эпителия с атипией; гиперплазия, полиморфизм и укрупнение ядер базальных и парабазальных клеток в слизистой. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

аккумулируются ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA), Vcl-2 (B-cell lymphoma-2) и p53, экспрессия которых усиливается при появлении признаков клеточной атипии [37].

Плоскоклеточная метаплазия (рис. 22) представлена эпителиальным пластом, который состоит из базальных клеток, покрытых несколькими слоями полигональных клеток. Последние уплощаются по мере приближения к эпителиальной поверхности и ороговевают, в некоторых местах определяются межклеточные цитоплазматические мостики.

Плоскоклеточная интраэпителиальная неоплазия бронхиального эпителия отличается появлением признаков тканевой и клеточной атипии в метаплазированном многослойном плоском эпителии, в зависимости от выраженности которых выделяются дисплазия 3 степеней. Для интраэпителиальной неоплазии бронхиального эпителия I степени характерны: незначительно выраженный клеточный полиморфизм, преимущественно в базальных от-

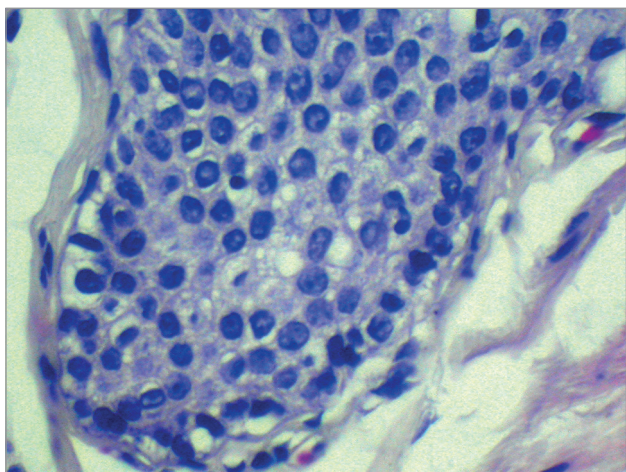


Рис. 22. Плоскоклеточная метаплазия бронхиального эпителия; выстилка бронхиолы представлена неороговевающим плоским эпителием. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

делах – нижней трети; созревание клеток в средних и поверхностных слоях, где обнаруживаются ороговевающие эпителиоциты; единичные митозы либо их отсутствие; слабая вариабельность ядерно-цитоплазматического соотношения; гранулированный хроматин ядер; отсутствие ядрышек. Для интраэпителиальной неоплазии бронхиального эпителия II степени характерны: клеточный полиморфизм, умеренно выраженный в $\frac{2}{3}$ эпителиального пласта, с сохранением созревания и ороговеания клеток в поверхностных слоях; единичные митозы в базальных и парабазальных слоях; умеренная вариабельность ядерно-цитоплазматического соотношения; гранулированный хроматин ядер; отсутствие ядрышек. При интраэпителиальной неоплазии бронхиального эпителия III степени (рис. 23–24) обнаруживается

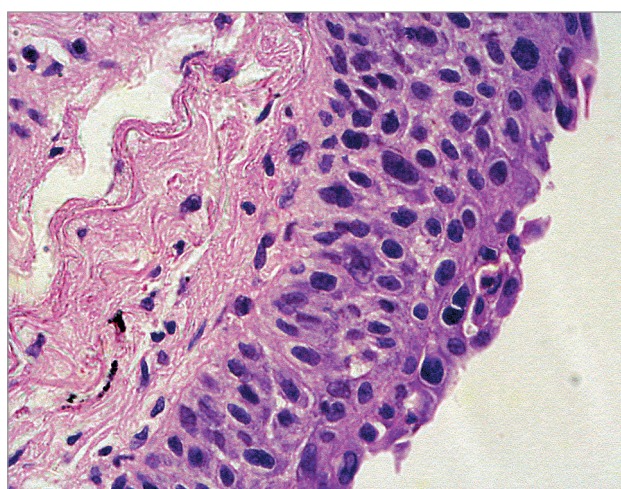


Рис. 23. Интраэпителиальная плоскоклеточная неоплазия бронхиального эпителия III степени. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$

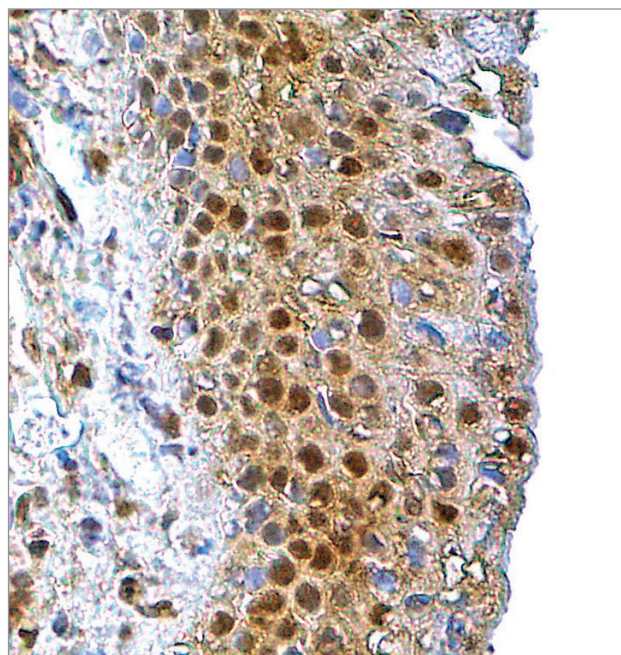


Рис. 24. Интраэпителиальная плоскоклеточная неоплазия бронхиального эпителия III степени; Ki-67 в ядрах эпителия всех слоев атипичного плоского эпителия. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

выраженный клеточный полиморфизм, распространяющийся вплоть до поверхностных слоев, однако в поверхностных слоях выявляются ороговевающие эпителиоциты, в нижних $\frac{2}{3}$ эпителиального пласта присутствуют митозы; также характерны увеличение и выраженная вариабельность ядерно-цитоплазматического соотношения, конденсированный хроматин ядер, часто с крупными ядрышками. В целом уровень экспрессии Ki-67 довольно низкий, < 5% [38]. При электронной микроскопии обнаруживаются атипичные клетки с десмосомальными межклеточными контактами, располагающиеся на базальной мембране (рис. 25).

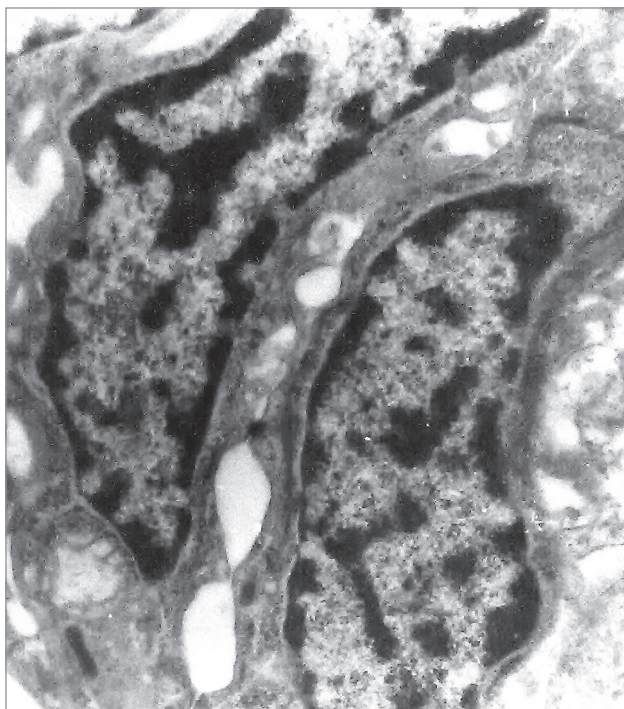


Рис. 25. Интраэпителиальная плоскоклеточная неоплазия бронхиального эпителия III степени; пласт клеток с десмосомальными контактами, пучками тонофиламентов, содержащих атипичные ядра. Электронограмма; $\times 10\ 000$

Карцинома на месте большинством авторов также рассматривается среди диспластических процессов бронхиального эпителия и бывает трудно отличимой от дисплазии III степени. Однако имеются некоторые особенности карциномы на месте, связанные с значительно выраженным клеточным и ядерным полиморфизмом, распространяющимися во всех слоях эпителия, отсутствием признаков созревания эпителиальных клеток (отсутствием в поверхностных слоях ороговевающих эпителиоцитов). Митозы обнаруживаются во всех слоях эпителиального пласта, ядерно-цитоплазматическое соотношение увеличено, его вариабельность выражена. Присутствует конденсированный хроматин ядер, которые содержат крупные ядрышки.

При **атрофии эпителия бронхов** уровень экспрессии Ki-67 и PCNA в очагах атрофии не ниже, чем при других процессах, и достигает в среднем 2,7 и 19,2% соот-

ветственно. Это позволяет предположить, что атрофия является активным процессом, который развивается при наличии не только пролиферации клеток, но и, вероятно, роста гибнущих путем апоптоза клеток, а также стареющих долгоживущих сенесцентных клеток. В последних апоптоз заблокирован, что приводит к накоплению в них мутаций с возможной злокачественной трансформацией. На такой механизм атрофических процессов также указано в публикациях [10, 19]. В участках атрофии бронхиального эпителия иммуногистохимически выявляются слабая экспрессия всех изученных онкогенов, гена-супрессора TP53 и высокая экспрессия с-тус и PCNA, отвечающего за процессы репарации ДНК [37].

Дисплазия железистого эпителия

Дисплазию железистого эпителия в литературе именуют атипичской аденоматозной гиперплазией. Помимо атипичской аденоматозной гиперплазии встречаются следующие гиперпластические и метапластические процессы: аденоматозная гиперплазия без атипии, аденоматозная гиперплазия с атипией на фоне фиброза и без нее (овальные и щелевидные структуры на фоне фиброза с признаками атипии и без них), а также атрофия железистого эпителия. Наиболее ярко дисрегенераторные процессы эпителия бронхиол представлены в «сотом легком». Источником описанных процессов, по данным публикаций, считаются секреторные клетки Клара, альвеолоциты II типа и нейроэндокринные клетки-предшественницы.

Аденоматозная гиперплазия характеризуется пролиферацией разнообразных клеток: цилиндрических (клеток Клара), кубических (пневмоцитов II типа), слизистых клеток, чаще в очагах пневмосклероза с формированием альвеолярных, тубулярных и сопочковых структур, иногда с явлениями плоскоклеточной метаплазии [17, 41]. Для атипичской аденоматозной гиперплазии характерны увеличение размера клеток и появление признаков клеточного и ядерного полиморфизма (рис. 26–33). Очаги аденоматозной гиперплазии, так же как и овальные структуры в «сотом легком», определяются накоплением продуктов экспрессии PCNA, с-тус, TGF- β , а также в небольших количествах – p-53. Очень часто на этих участках обнаруживаются хромогранин-положительные эпителиальные клетки. При появлении атипии клеток уровень экспрессии онкогенов и супрессора p-53 возрастал [17, 41].

Овальные структуры выявляются в «сотом легком» при фиброзирующем альвеолите, в фокусах пневмосклероза после туберкулеза, в очагах карнификации в исходе пневмонии и др. Описанные структуры представляют собой «замурованные» в рубце бронхиолы и альвеолы, высланные крупными, мономорфного вида, кубической формы клетками (в случаях пролиферации без атипии) либо клетками с признаками атипии, которые выражаются в полиморфизме размеров и формы клеток

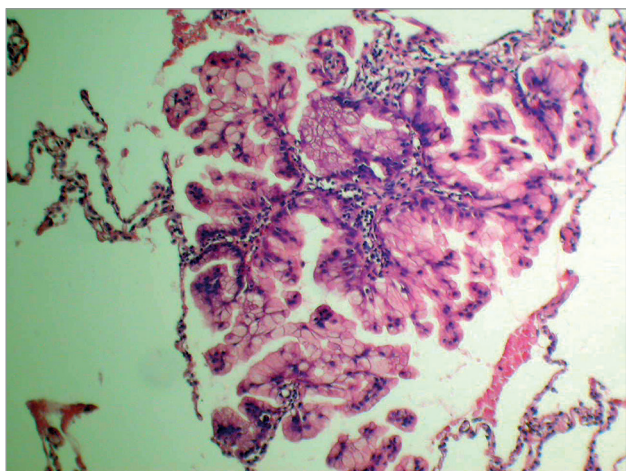


Рис. 26. Атипическая аденоматозная гиперплазия из продуцирующих слизь клеток. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 100$

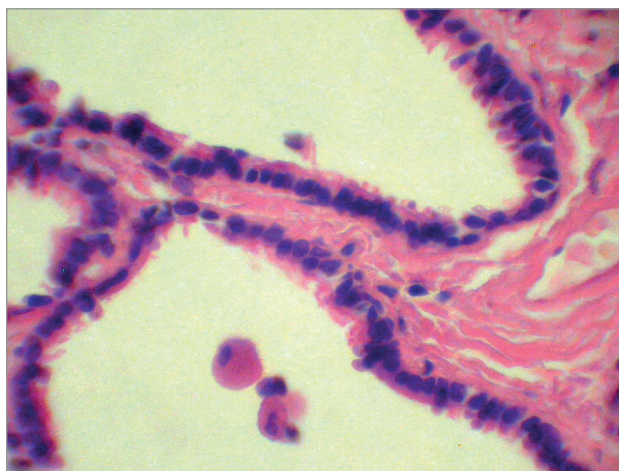


Рис. 27. Атипическая аденоматозная гиперплазия из клеток Клара. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

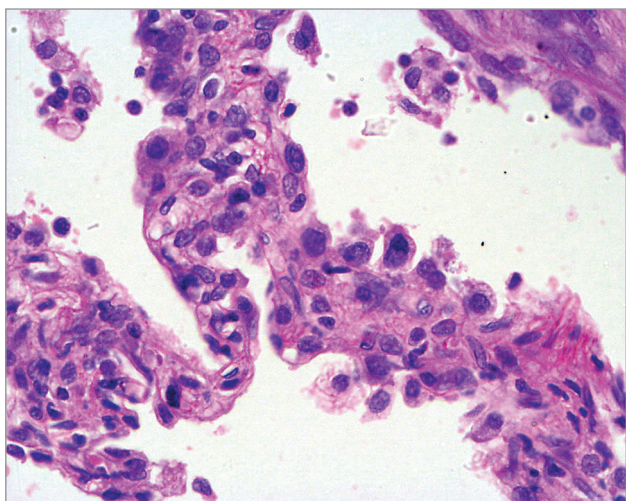


Рис. 28. Атипическая аденоматозная гиперплазия из пневмоцитов II типа. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 400$

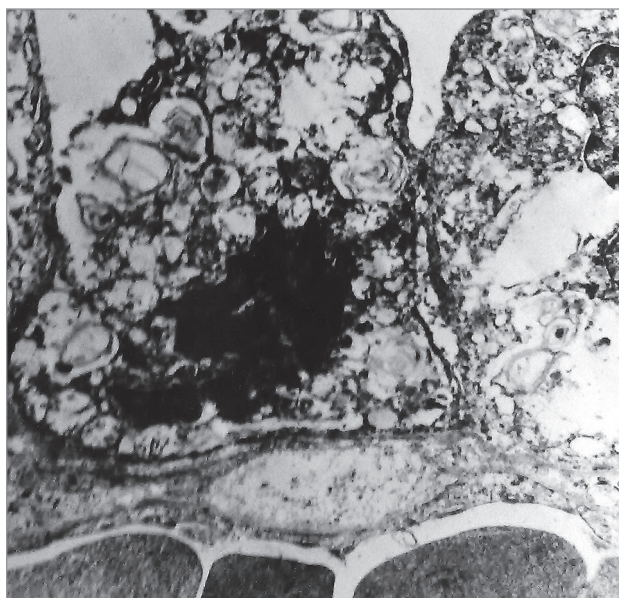


Рис. 29. Атипическая аденоматозная гиперплазия из пневмоцитов II типа. Электронограмма; $\times 5\ 000$

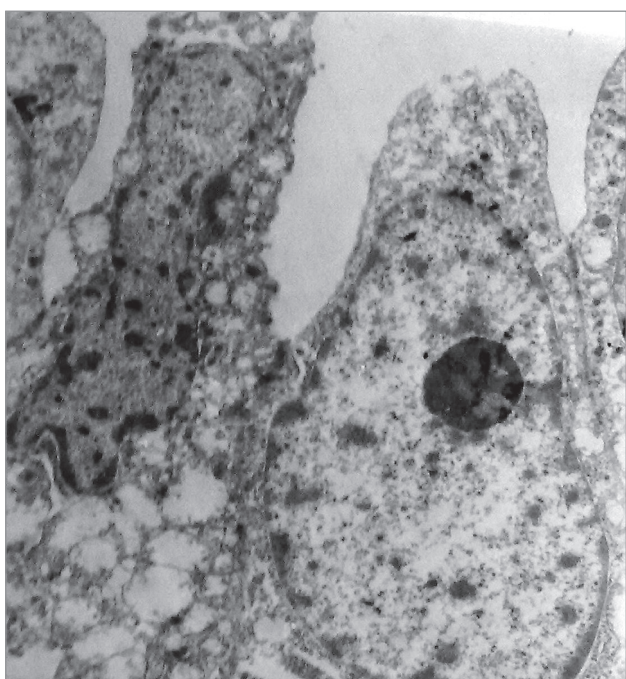


Рис. 30. Атипическая аденоматозная гиперплазия из клеток Клара. Электронограмма; $\times 5\ 000$

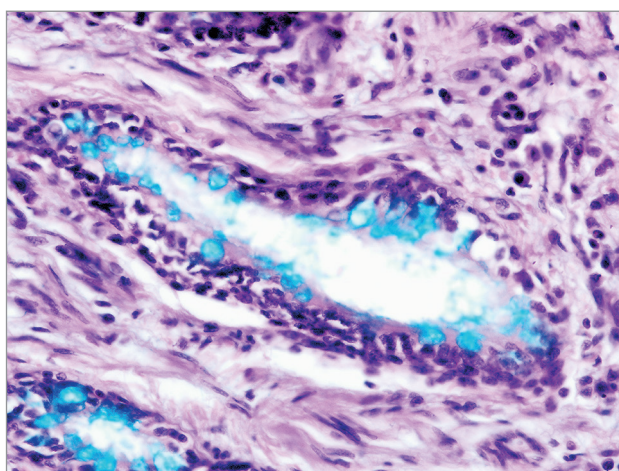


Рис. 31. Атипическая аденоматозная гиперплазия из клеток Клара в рубце. Окраска по Крейбергу; $\times 400$

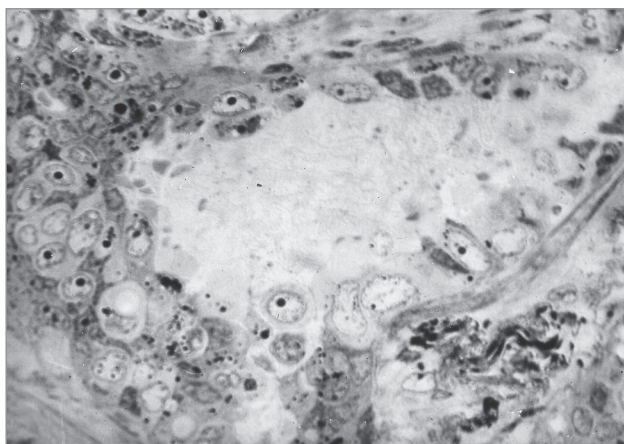


Рис. 32. Атипичная аденоматозная гиперплазия из пневмоцитов II типа в рубце. Полутонкий срез. Окраска метиленовым синим, азуром, П-фуксином; $\times 1\ 000$

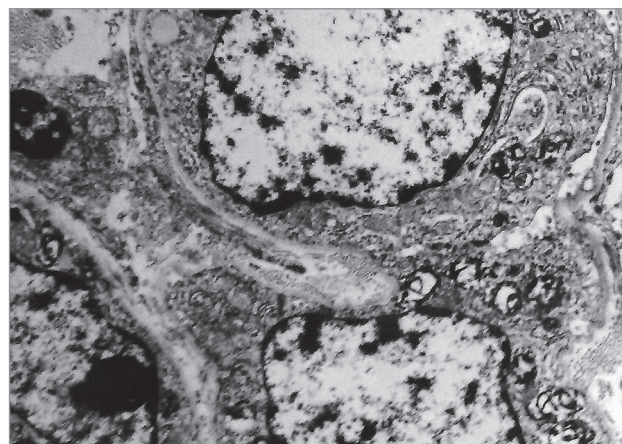


Рис. 33. Пневмоциты II типа с укрупненными ядрами в рубце. Электроннограмма; $\times 15\ 000$

и ядер, появлении сосочковых, слоистых структур с наслаиванием клеток (в случае пролиферации клеток с признаками атипии). При ИГХ-исследовании в очагах, содержащих овальные и щелевидные структуры, обнаруживаются митозы и продукция Ki-67 и PCNA, повышающаяся при нарастании признаков клеточной атипии [17, 41].

Также изучались овальные структуры с признаками атрофии клеток, когда клетки, выстилающие овальные и щелевидные полости, были уменьшены в размерах, уплощены и похожи на базальные. На таких участках отмечалось накопление продуктов экспрессии PCNA, Ki-67, c-мус, TGF- β и в небольших количествах — p53. Сравнивая цитогенетические варианты дисрегенераторных изменений легочного эпителия в бронхиолах и альвеолах, следует отметить наличие более широкого спектра таких изменений на периферии легкого, что говорит о большей пластичности и разнообразии прогенеторных клеток в этой области. Не исключено также, что эта пластичность связана с особым микроокружением периферических отделов легкого, особенно в условиях хронического воспаления, накопления эмбриональных типов коллагена.

В свете последних данных о возможности имплантации мезенхимальной костномозговой клетки-предшественницы и ее дифференцировки в клетки легочного эпителия именно на периферии легкого имеются наиболее благоприятные условия для ее выживания: обилие капиллярного кровотока и особенности экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ).

Дисплазия нейроэндокринного эпителия

Синдром диффузной идиопатической гиперплазии нейроэндокринных клеток, выделенный в 2004 г., вероятно, обусловлен генетической предрасположенностью в связи с аллельным дисбалансом в регионе 11q13. В классификации ВОЗ он представлен как предопухольный процесс, который может привести к развитию карциноидов и нейроэндокринных карцином легкого. Характеризуется

развитием различных вариантов гиперплазии легочного нейроэпителия в виде диффузной пролиферации в бронхах, в строме — с формированием т. н. нейроэндокринных телец, опухолек и карциноидов. Часто сочетается с легочным фиброзом, однако не выявлены другие патологические процессы, которые могли бы привести к вторичной гиперплазии нейроэндокринных клеток. На светооптическом уровне нейроэндокринную гиперплазию можно с трудом отличить от базальноклеточной гиперплазии и плоскоклеточной (рис. 34, 35). Характерным признаком является наличие в эпителиальном пласте клеток округлой и овальной формы со светлой цитоплазмой и крупными овальными ядрами, при этом в клетках иммуногистохимически выявляются маркеры нейроэндокринной дифференцировки: CgA, синаптофизин, нейронспецифическая енолаза (NSE) и др. Ki-67-положительные клетки располагаются в базальных и парабазальных зонах, т. е. цитогенетически, вероятнее всего, связаны с клетками Кульчицкого бронхиальной стенки [17].

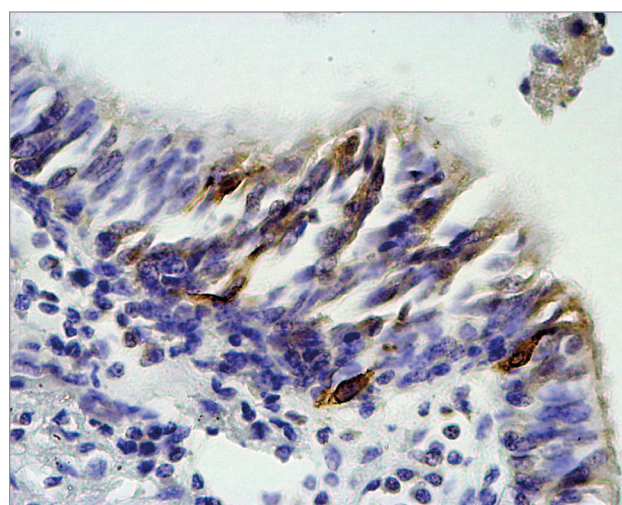


Рис. 34. Гиперплазия нейроэндокринных клеток; хромогранин А в нейроэндокринных клетках в пласте бронхиального эпителия. Иммунопероксидазная реакция; $\times 200$

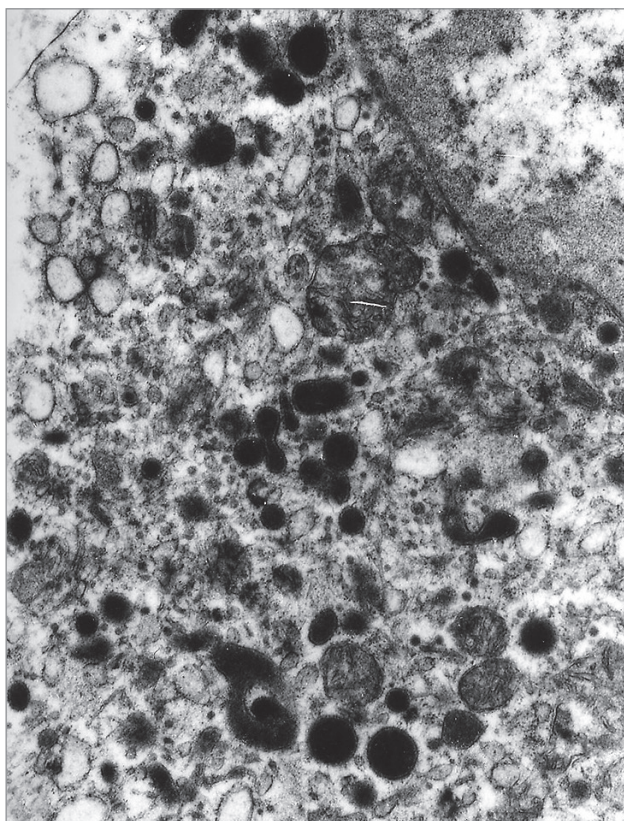


Рис. 35. Гиперплазия нейроэндокринных клеток; нейроэпителий с нейроэндокринными гранулами в цитоплазме. Электронограмма; $\times 10\ 000$

Молекулярная патология рака легких и роль раковых стволовых клеток

Предмет молекулярной патологии РЛ – совокупность морфологических и молекулярно-генетических особенностей данной опухоли. При этом наиболее важными аспектами проблемы являются определение биомолекулярных, гистогенетических маркеров рака и патология апоптоза при РЛ. Фундаментальными являются вопросы о факторах, влияющих на темпы роста неоплазм, а также о РСК, что определяет клинические проявления и ответ на терапию. Темпы роста опухолей определяются 3 факторами: 1) временем удвоения опухолевых клеток; 2) фракцией опухолевых клеток, составляющих репликативный пул; 3) скоростью выхода клеток из митотического цикла или их смерти. В легких тканевые стволовые клетки локализуются в зоне ниш на разных уровнях респираторного дерева и участвуют не только в регенерации ткани, но и в развитии ряда патологических состояний, проявляющихся фиброзированием, оссификацией и дисрегуляторными изменениями легочного эпителия [39, 42, 43], гиперпластическими изменениями.

Даже после полномасштабной неоадьювантной, таргетной и комплексной современной терапии показатели выживаемости пациентов с диагнозом бронхогенной карциномы остаются чрезвычайно низкими, что требует разработки новых подходов к терапии, наиболее перспективными из которых

являются методы, позволяющие уничтожать РСК и среду их обитания – ниши.

Раковые стволовые клетки

Тканевой гомеостаз в организме поддерживается с помощью иерархии стволовых клеток – резидентной популяции костномозговых и тканевых стволовых долгоживущих клеток, способных к самообновлению. Тканевые стволовые клетки малочисленны и располагаются в т. н. нишах, образованных клетками, которые их обслуживают и продуцируют паракринные факторы, поддерживающие жизнедеятельность стволовых клеток [10, 25, 45]. Стволовые клетки делятся асимметрично, в результате чего образуются 2 типа дочерних клеток: 1) с ограниченным пролиферативным потенциалом, вступающие в терминальную дифференцировку и погибающих; 2) сохраняющие способности стволовых клеток. Способность злокачественных опухолей расти, рецидивировать и метастазировать реализуется за счет содержания в них РСК [46, 47].

РСК впервые были найдены в опухолях гемопоэтической системы и впоследствии – в солидных опухолях, таких как рак молочной железы [48], поджелудочной железы [35], злокачественные опухоли головного мозга [49], рак толстой кишки [50]. Полагают, что РСК играют ключевую роль в канцерогенезе, включая развитие опухолей, прогрессирование и метастазирование [18, 51, 52]. В настоящее время показано, что раковые клетки в пределах одной опухоли образуют иерархию клеток, отличающихся своей степенью зрелости, способности к пролиферации и дифференцировкой. Родоначальницей такой иерархии является РСК; из нее развивается карцинома, поддерживающая раковый клон, от которой происходят дочерние раковые клетки [53]. Дочерние раковые клетки, в отличие от РСК, не являются родоначальницами ракового клона и не способны воспроизводить раковую опухоль ни в культуре клеток, ни при трансплантации их бестимусным мышам. Дочерние раковые клетки способны делиться, погибают при химио- и лучевой терапии, не обладают высокой резистентностью к апоптозу. РСК, обладающие резистентностью к химиопрепаратам и облучению [10], являются причиной лекарственной и лучевой устойчивости, индуцируют инвазивный рост, метастазирование и рецидивирование рака [12].

Поэтому важнейшими мишенями для создания новых методов лечения рака следует считать РСК и ниши их обитания. Устойчивость РСК к химио- и лучевой терапии связана со следующими факторами:

- высокой экспрессией белков семейства ABC (*ATP-binding cassette*), отвечающих за выведение из них различных химиотерапевтических препаратов;
- высоким содержанием фермента альдегиддегидрогеназы (ALDH-1), который отвечает за окисление токсичных для организма альдегидов

до карбоновых кислот [54] и за инактивацию многих химиотерапевтических препаратов;

- активной системой репарации ДНК;
- устойчивостью к апоптозу, так как в РСК программа апоптоза практически заглушена;
- использованием таких сигнальных молекулярных путей, как Wnt/ β -катенин, Hedgehog, Notch, JAK/STAT3 и Hippo.

Происхождение СПК может быть следующим: в результате злокачественной трансформации нормальных стволовых клеток, перепрограммирования опухолевых клеток в т. н. подобные РСК [55, 56], перепрограммирования нормальных клеток в нормальные стволовые клетки с последующей их злокачественной трансформацией. Таким образом, в стратегии лечения рака уничтожение РСК должно стоять во главе угла. По своей биологии РСК во многом схожи с нормальными стволовыми клетками и идентифицируются по поверхностным маркерам. РСК происходят или из нормальных тканевых стволовых клеток, или из более дифференцированных раковых клеток, которые в ходе процесса трансформации приобрели способность к самообновлению. Злокачественные опухоли могут содержать небольшое количество РСК, которые в основном подвергаются дифференцировке, формируя основную массу новообразования, в то время как другие могут быть построены в основном из РСК.

Методы верификации стволовости в раковых клетках включают несколько этапов:

- 1) выделение СПК из тканей или культур раковых клеток в клеточном сортере на основе экспрессии поверхностных маркеров – CD166 [57], EpCAM, CD90 и CD44 [58, 59] (в зависимости от происхождения рака маркеры могут меняться; например, при РЛ используют ALDH, CD133 [60], CD166 [57], EpCAM, CD90 и CD44);
- 2) индукцию дифференцировки СПК *in vitro* в адипоциты, хондроциты и остеобласты с использованием специфических дифференцировочных сред; идентификацию адипоцитов, хондроцитов и остеоцитов морфологическими методами;
- 3) колониообразование в культурах;
- 4) формирование сфероидов в культуре клеток; экспрессию транскрипционных факторов СПК методом ПЦР в реальном времени (Sox2, Klf4, c-myc, Nanog, Oct3/4, GAPDH);
- 5) оценку туморогенности *in vivo* путем введения СПК подкожно бестимусным мышам; выделение РНК с последующим синтезом, амплификацией и гибридизацией с ДНК.

СПК в РЛ были обнаружены > 30 лет тому назад, когда D.N. Carney *et al.* в 1982 г. обнаружили в ткани РЛ человека раковые клетки, способные образовывать колонии в мягком агаре и при трансплантации бестимусным мышам – воссоздавать аналогичные опухоли [61]. Это позволило авторам высказаться о наличии в опухоли клеток РЛ со свойствами стволовых клеток.

СПК РЛ экспрессируют следующие поверхностные маркеры: ALDH, CD133 [62], CD166 [57], EpCAM, CD90 и CD44 [15, 58]. Из перечисленных маркеров СПК наиболее изученными являются ALDH и CD133.

ALDH – ранний маркер стволовых клеток и СПК – переводит ретинол в ретиноловую кислоту и участвует в сигнальном пути Notch. ALDH-1 отвечает за пролиферацию, самообновление и туморогенность СПК, связан с плохим прогнозом НМРЛ [58].

CD133 как маркер РСК обнаружен в глиобластомах [63], при раке толстой кишки [64], поджелудочной железы [65]. Установлено, что в образцах НМРЛ и МРЛ опухолевые клетки CD133+ обладают туморогенностью и способны к самообновлению [60]. Однако также показано, что и CD133–опухолевые клетки РЛ могут обладать туморогенностью с образованием ксенографта при их пересадке мышам, а также способностью к самообновлению [66]. Кроме того, экспрессия опухолевыми клетками CD133, по данным некоторых авторов, не коррелирует с прогнозом [67–69]. Norashikin Zakaria *et al.* исследовали СПК в культурах НМРЛ A549 и H2170 и обнаружили 2 типа СПК: CD166+/CD44+ и CD166+/EpCAM+ [45] (табл. 5 и 6). Авторы обнаружили активацию и дисрегуляцию сигнальных путей. Во-первых, это ключевые пути, связанные с биологией самих РСК; во-вторых, сигнальный путь, определяющий нарушение образования ламинина и интегринов ЭЦМ, являющихся компонентами ниши стволовых клеток [69, 80–82]. В РСК РЛ были активированы сигнальные пути Wnt и Hedgehog, характерные для неопухолевых стволовых клеток и связанные с множественной лекарственной устойчивостью РЛ [61, 83].

Эмбриональные сигнальные пути в стволовых раковых клетках

Основой органогенеза являются эмбриональные сигнальные пути, к которым относятся: Hedgehog, Notch, Wnt, В *lymphoma MLV insertion region*. В СПК РЛ имеются нарушения этих путей [84]. Присутствуют агенты, способные блокировать эти пути, что уже включено в терапевтическую стратегию лечения рака (табл. 7).

Сигнальный путь Hedgehog участвует в регуляции пролиферации, миграции и дифференцировки прогениторных клеток [85] и не работает в большинстве нормальных тканей. Активирован в РЛ [86]. В МРЛ был впервые продемонстрирован в 2003 г. [87] и считается характерным для СПК с нейроэндокринной дифференцировкой. Блокирование сигнального пути Hedgehog лекарственными препаратами (*Veratrum alkaloid cyclopamine*, LDE-225) снимает туморогенность [87] МРЛ и предотвращает рецидивы [88].

Сигнальный путь Notch – консервативный, он определяет судьбу клетки и способность стволовых клеток к ассиметричному делению [89]. Участвует в эмбриогенезе легкого, образовании проксимальных и дистальных отделов легкого. На мышах

Таблица 5. Экспериментальное исследование стволовых раковых клеток при раке легкого (по O'Brien C.A. et al., 2007 [45], Al-Hajj M. et al., 2003 [70], Kogan E.A. et al., 2022 [71], Kogan E.A. et al., 2023 [72])

Исследование	Материал	Маркер	Результаты
Ho M.M. et al. [68]	Клеточные линии РЛ	SP (side population)	Высокая инвазивность, резистентность к химиотерапии, высокая туморогенность <i>in vivo</i>
Levina V. et al. [73]	Клеточные линии РЛ	SP	Увеличение количества клеток SP и CD133 после химиотерапии
Chen Y.C. et al. [63]	Клеточные линии РЛ, ткань РЛ	CD133	Клетки CD133+ способны к самообновлению и резистентны к химио- и лучевой терапии
Eramo A. et al. [74]	Ткань РЛ	CD133	Клетки CD133+ экспрессируют Oct-4, NANOG, EPCAM, NCAM, интегрин- $\alpha 6$ и CXCR4
Bertolini G. et al. [75]	Клеточные линии РЛ, ткань РЛ	CD133	Клетки CD133+ резистентны к цисплатину и имеют плохой прогноз
Jiang F. et al. [7]	Клеточные линии РЛ, ткань РЛ	ALDH	Клетки ALDH+ способны к дифференцировке и инвазии и коррелируют с плохим прогнозом. Обладают CD133+

Примечание: РЛ – рак легкого.

Таблица 6. Клиническое исследование стволовых раковых клеток при раке легкого (по O'Brien C.A. et al., 2007 [45], Al-Hajj M. et al., 2003 [70])

Исследование	Маркер	Метод	Стадия, гистотип	Число пациентов	Доля позитивных, %	Результаты
Jiang F. et al. [7]	ALDH	ИГХ	НМРЛ, I стадия	148	29	Плохой прогноз
Sullivan J.P. et al. [76]	ALDH 1A, CD133	ИГХ	НМРЛ, I стадия	200	–	Плохой прогноз
Woo T. et al. [77]	CD133	ИГХ	НМРЛ, I стадия	177	45	Плохой прогноз
Salnikov A.V. et al. [78]	CD133	ИГХ	НМРЛ, все стадии	88	63	Плохой прогноз; по CD133 нет различий
Li X. et al. [65]	ALDH-1A	ИГХ	НМРЛ, все стадии	179	45	ALDH-1A+ – плохой прогноз
Dimou A. et al. [79]	ALDH	ИФ	НМРЛ, все стадии	430	–	ALDH+ – благоприятный прогноз

Примечание: ИГХ – иммуногистохимический; ИФ – иммунофлуоресцентный; НМРЛ – немелкоклеточный рак легкого.

показано, что его блокирование усиливает нейро-эндокринную дифференцировку [90, 91], а также приводит к концентрации стволовых клеток в дистальных отделах легкого [92]. В культурах НМРЛ повышена активность сигнального пути Notch [18, 93]. Поддерживает проапоптотические сигналы и ингибирует антиапоптотические сигналы с помощью сурвинина [93, 94]. Активирован в ALDH+-клетках НМРЛ [76]. Таргетная терапия находится на стадии разработки. Блокирование пути путем ингибирования γ -секретазы приводит к остановке роста и активизации апоптоза клеток РЛ как *in vivo*, так и *in vitro* [94]. Особенно интересно, что дисрегуляция сигнального пути Notch обнаруживается при RAS-ассоциированном РЛ [87]. Блокада вызывает антиангиогенное действие и воздействует на иммунную резистентность [83, 88]. МРЛ не поддается лечению, вероятно, в связи с редкой экспрессией в его клетках Notch-рецепторов.

Сигнальный путь Wnt/ β -катенин участвует в туморогенезе РЛ [29]. Таргетная терапия с моноклональными антителами индуцирует апоптоз в клеточных линиях РЛ, продуцирующих белок Wnt-2 [86].

Концепция РСК имеет несколько важных приложений. Наиболее важно, что если они обеспечивают персистенцию опухоли, то именно эти клетки должны быть элиминированы при лечении онкологического больного. Получены данные, что РСК, так же как и нормальные стволовые клетки, обладают высокой внутренней резистентностью к стандартной терапии, поскольку отличаются низкой митотической активностью и содержат такие факторы, как фактор множественной лекарственной устойчивости-1 (MDR-1), препятствующие действию химиотерапевтических препаратов [40, 95].

Следовательно, ограниченный успех современных методов терапии можно связать с невозможностью уничтожить РСК, которые являются источником опухоли. Однако в настоящее время имеются подходы к потенциальному воздействию на РСК: предполагают возможность их созревания и дифференцировки в зрелые клетки, уничтожения собственно РСК или через блокирование их сигнальных путей. Первые попытки такого воздействия через ингибирование эмбриональных сигнальных путей при РЛ отражены в табл. 7.

Таблица 7. Маркеры эмбриональных стволовых клеток в таргетной терапии рака легкого (O'Brien C.A. et al., 2007 [45], Al-Hajj M. et al., 2003 [70])

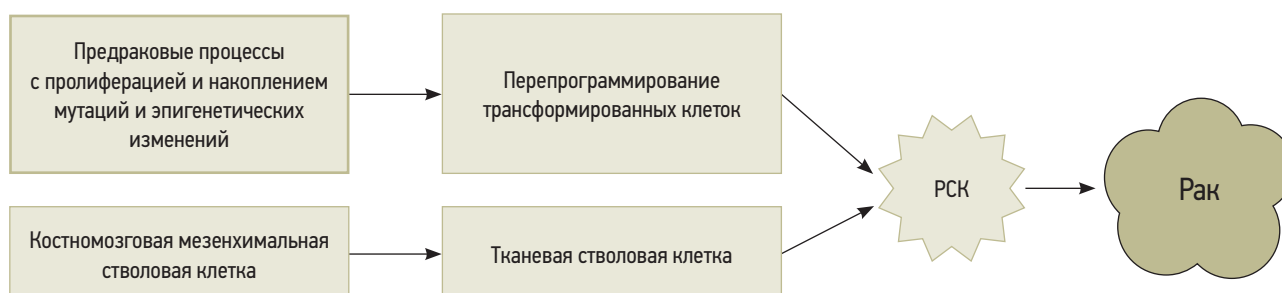
Путь	Агент	Объект исследования	Результаты	Стадия испытаний	Авторы
Hedgehog (SMO)	GDC-0449	Клеточная линия	Ингибирование	II фаза	Tian F. et al. [96]
Notch (γ -секретаза)	RO4929097	Рак легких поздней стадии	Безопасность	II фаза	Richter S. et al. [51] (ASCO abstract)
Hedgehog (SMO)	LDE225	Клеточная линия	Стабилизация болезни, ингибирование зависит от GLI-1	II фаза	Tawbi H.A. et al. [97] (ASCO abstract)
Notch	DAPTa	Клеточная линия	Редукция в ALDH+–карциномах	Доклиническая	Sullivan J.P. et al. [76]
Notch	MRK-003	Клеточная линия	Редукция опухоли, снижение пролиферации и усиление апоптоза	–	Konishi J. et al. [94]
Wnt-1	Моноклональные антитела и RNAi	Клеточная линия	Снижение пролиферации и усиление апоптоза	–	He B. et al. [98]

Концепция развития РЛ из РСК заключается в том, что первоначально предраковые изменения и РЛ возникают в области ниш тканевых стволовых клеток, где происходит воздействие канцерогенных агентов, с накоплением мутаций и последующей пролиферацией прогенеторных клеток, а также их злокачественной трансформацией и развитием рака. Не исключается и такая последовательность событий, когда трансформированные пролиферирующие клетки претерпевают перепрограммирование и из них образуется РСК (рис. 36).

Еще одной перспективной мишенью в лечении опухолей может стать ниша РСК, т. е. их среда обитания [10]. Для нормальных стволовых клеток она находится в норме в зонах перехода одного вида клеток в другой (в зонах трансформации). У РСК тоже имеется аналогичная ниша, которая их поддерживает, защищает, питает. На данный момент эта ниша изучена плохо. В нишу обязательно входят такие элементы, как сосуды капиллярного типа, фибробластические элементы и ЭЦМ. Если пластичность в опухолевых клетках столь же обширна, как и в некоторых здоровых тканях, то РСК всегда будут создаваться заново, пока опухолевая стволовая клетка ниша остается интактной. Методы лечения РЛ, направленные на уничтожение РСК и их ниш, находятся на стадии разработки и доклинических исследований [49, 72, 100, 101] и включают в т. ч. новые методы фотодинамической терапии (ФДТ) [102].

Е.А. Коган и др. впервые провели исследования возможности использования поликатионных производных синтетического бактериохлорина для фотодинамической терапии новообразований легких и их воздействия на РСК [71, 72]. Обнаружено, что эти соединения эффективно связываются с РСК (на примере карциномы легкого человека A549 и экспериментальной карциномы легкого Льюиса (LLC) у мышей, обладают высокой фототоксичностью и низкой цитотоксичностью. Показано, что эти инновационные фотосенсибилизаторы на основе производных синтетического бактериохлорина намного (более чем на порядок) эффективнее против РСК, по сравнению с наиболее эффективными известными фотосенсибилизаторами [53], а также обеспечивают прекращения кровотока опухоли без геморрагий и тромбозов, что открывает принципиально новые возможности не только в повышении результативности лечения, но и в снижении рецидивности и метастазирования после ФДТ.

В препаратах клеточной культуры A549 изучено содержание опухолевых клеток с признаками стволовости, которые выявлялись ИГХ-методом с использованием маркера стволовости ALDH-1. ALDH1-положительные клетки локализовались и клеточных пластах, и в «сфероидных» конгломератах раковых клеток. Доля раковых клеток с признаками стволовости в среднем составляла без фотодинамического воздействия ~ 25% от общего количества раковых

**Рис. 36.** Гипотеза участия раковой стволовой клетки в канцерогенезе рака легкого

клеток, а после фотодинамического воздействия с октакатионным и тетраакатионным производными доля выживших раковых клеток с признаками стволовых дозозависимо снижалась до 2–3% и 8–12% от количества сохранных раковых клеток.

Исследования *in vivo* проводились на модели LLC, внутримышечно инокулированной мышам. Облучение опухолевых узлов излучением созданного светодиодного источника с длиной волны 765 нм и плотностью световой дозы на опухоли 260 Дж/см² проводилось через 3 ч после введения фотосенсибилизаторов в дозах 8 мг/, т. е. в момент, когда содержание фотосенсибилизаторов в опухоли достигало максимума. Была показана высокая противоопухолевая эффективность: при использовании октакатионного фотосенсибилизатора торможение роста опухоли (ТРО) составляло 85%, увеличение продолжительности жизни (УПЖ) – 137%, выживаемость мышей в группе – 50%; при использовании тетраакатионного фотосенсибилизатора соответственно ТРО превышало 80%, значение УПЖ достигало 96%, выживаемости – 16%.

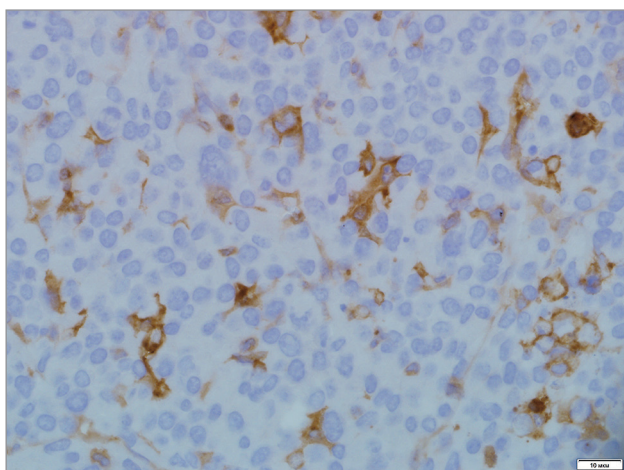


Рис. 37. ALDH-1 в цитоплазме раковых стволовых клеток в ткани мышечной карциномы Льюиса. Иммунопероксидазная реакция; $\times 600$

Иммуногистохимически с использованием маркеров стволовости ALDH, CD34, CD133 (рис. 37–39, табл. 8), показано, что опухоль LLC содержит РСК в количестве 20–30% раковых клеток (по разным

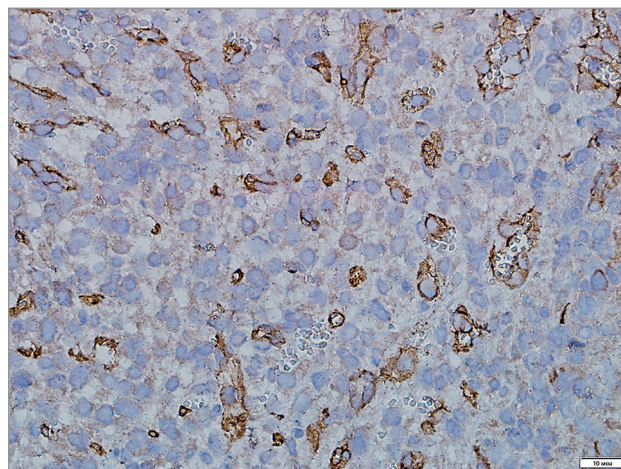


Рис. 38. CD34 в цитоплазме раковых стволовых клеток в ткани мышечной карциномы Льюиса. Иммунопероксидазная реакция; $\times 600$

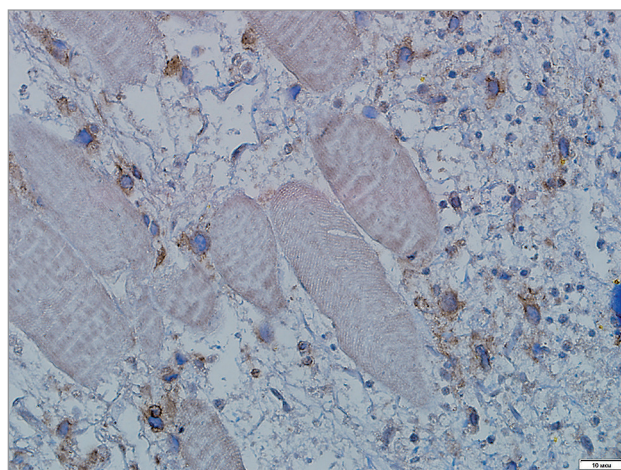


Рис. 39. CD133 в цитоплазме раковых стволовых клеток в ткани мышечной карциномы Льюиса. Иммунопероксидазная реакция; $\times 600$

Таблица 8. Доля клеток в состоянии апоптоза, пролиферации и раковых стволовых клеток в сохранный опухолевой ткани после фотодинамической терапии

Интервал, сутки	Группа	Cas3*, %	Ki-67**, %	ALDH***, %	CD34***, %	CD133***, %
3	Контроль	3,1 \pm 0,3	83,8 \pm 1,1	26,5 \pm 0,4	21,0 \pm 0,4	32,3 \pm 0,6
	BC8	26,0 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2	9,6 \pm 0,4	6,0 \pm 0,6	13,6 \pm 0,6
	BC4	16,4 \pm 0,5	6,8 \pm 2,1	2,4 \pm 0,8	19,2 \pm 0,6	22,0 \pm 0,4
7	Контроль	3,5 \pm 0,4	84,9 \pm 1,2	26,5 \pm 0,4	21,0 \pm 0,4	32,3 \pm 0,6
	BC8	43,5 \pm 1,7	0,7 \pm 0,2	4,8 \pm 0,4	5,9 \pm 0,5	10,0 \pm 0,4
	BC4	25,0 \pm 0,6	59,0 \pm 1,2	12,4 \pm 0,5	11,2 \pm 0,7	15,8 \pm 0,7
14	Контроль	4,8 \pm 0,9	84,9 \pm 1,2	26,5 \pm 0,4	21,0 \pm 0,4	32,3 \pm 0,6
	BC8	55,0 \pm 1,7	0	1,7 \pm 0,2	1,7 \pm 0,2	2,5 \pm 0,3
	BC4	40,5 \pm 0,6	48,0 \pm 1,1	8,2 \pm 0,4	6,0 \pm 0,4	12,0 \pm 0,4

Примечание: * – маркер клеток в состоянии апоптоза; ** – маркер пролиферации; *** – маркеры стволовости.

маркерам), причем относительное содержание раковых клеток с экспрессией перечисленных маркеров было одинаковым в самой опухоли и в зоне инвазии. После ФДТ с тетракаатионным и октакаатионным фотосенсибилизаторами доля выживших ALDH-положительных клеток от сохранных опухолевых клеток снизилась с 26,5% до 8,2 и 1,7% соответственно, доля выживших CD34-положительных клеток — с 21% до 6,0 и 1,7% соответственно, доля CD133-положительных клеток — с 32% до 12,0 и 2,5% соответственно. Таким образом, по отношению к исходному количеству раковых клеток LLC ФДТ с использованием тетракаатионного фотосенсибилизатора ингибирует количество РСК в > 20 раз, а с октакаатионным фотосенсибилизатором — на 2 порядка.

Кроме того, на модели LLC мышей в эксперименте *in vivo* установлено, что ФДТ с поликаатионными производными бактериохлорина одновременно приводит к гибели РСК и снижению неоангиогенеза в ткани карцином LLC. Вероятной причиной снижения неоангиогенеза в LLC в данной ситуации является гибель РСК как источника новообразования сосудов в раковой опухоли. Важными аспектами нарушения неоангиогенеза в опухоли при ФДТ с используемыми поликаатионными фотосенсибилизаторами является влияние этого процесса на ниши РСК за счет снижения в них кровотока (вплоть до их разрушения ниш), а также избирательность разрушения эндотелиоцитов сосудов раковой опухоли из-за их происхождения путем эпителиально-мезенхимальной трансформации из РСК при сохранности сосудов нормальных тканей.

Неоангиогенез в раковых опухолях происходит за счет РСК, которые способны трансформироваться в эндотелий посредством механизма эпителиально-мезенхимальной трансформации и образовывать сосуды [10, 12]. Установлено, что снижение ангиогенеза в ткани карцином LLC происходит вместе с гибелью РСК, так как исчезает источник новообразования сосудов в раковой опухоли. Важный аспект нарушения неоангиогенеза в опухоли при ФДТ с использованием окта- и тетракаатионных бактериохлоринов — влияние этого процесса на разрушение ниш РСК, основным компонентом которых, поддерживающей жизнеспособность РСК, являются неоваскуляризации. В эксперименте показана избирательная высокая чувствительность к ФДТ с ВС8 и ВС4 только эндотелия новообразованных сосудов опухоли LLC, в то время как эндотелий сосудов в сохранных тканях, прилежащих к карциноме, не разрушается. Этот факт также подтверждает происхождение сосудов раковой опухоли из РСК за счет их эпителиально-мезенхимальной трансформации [10, 12].

Молекулярные механизмы канцерогенеза рака легких: геномика, протеомика и эпигенетика

Молекулярные механизмы канцерогенеза РЛ связаны с перестройками генома, протеома, метаболома трансформированных клеток, а также с эпигенетиче-

скими нарушениями, которые являются предметом изучения в геномике, протеомике, метаболомике и эпигенетике.

Геномные перестройки

Молекулярные основы канцерогенеза базируются на открытии того факта, что развитие опухолей является результатом возникновения множественных мутаций в стволовых клетках, происходящих при повреждении молекул ДНК, которые, в свою очередь, могут быть следствием генетической нестабильности и хромосомных aberrаций, а также возникать вследствие эпигенетических изменений. В большинстве случаев РЛ такие мутации развиваются в тканевых стволовых клетках, однако при наследственных и семейных формах рака определенные мутации могут передаваться и через герминативные клетки. Это заключение подтверждается 4 группами фактов: 1) наличием корреляций определенных хромосомных мутаций с некоторыми типами опухолей; 2) развитием опухолевого фенотипа в клетках при трансфекции в них онкогенных вирусов; 3) обнаружением мутагенных свойств у большинства известных канцерогенных агентов; 4) эпигенетическими перестройками в опухолевых клетках. При существовании различных теорий этиологии опухолей примечателен тот факт, что разнообразные канцерогенные агенты, отличающиеся механизмами действия, приводят к одному и тому же результату — развитию опухоли (рис. 40).

При этом 4 класса генов являются важнейшими мишенями канцерогенных агентов:

- протоонкогены, регуляторы пролиферации и дифференцировки клеток;
- гены-супрессоры опухолей (антионкогены), ингибирующие пролиферацию клеток;
- гены, участвующие в гибели клеток путем апоптоза;
- гены, отвечающие за репарацию ДНК.

Клеточные онкогены

Доминирующие онкогены, нередко участвующие в РЛ, включают *c-MYC*, *KRAS*, *EGFR*, *c-MET* и *c-KIT*.

KRAS в настоящее время считается одним из ключевых таргетных генов при лечении НМРЛ. Его мутации наиболее часто встречаются при РЛ, особенно при аденокарциномах (30% случаев) [17, 103]. Выдвинута гипотеза о том, что мутации *KRAS* являются также маркерами атипичической железистой гиперплазии (варианта железистого предрака) и аденокарцином, что подтверждается при исследовании РЛ человека и в эксперименте на трансгенных мышах [17, 33].

Семейство *RAS* клеточных онкогенов нередко подвергается изменениям при опухолевом росте. Выявляются ИГХ-методами, чаще при предраковых аденоматозах (рис. 41) и аденокарциномах легкого [17]. Гены кодируют синтез белка p21, обладающего ГТФазной активностью, связывающегося с гуанинтрифосфатом (ГТФ) и тем самым воздействующего

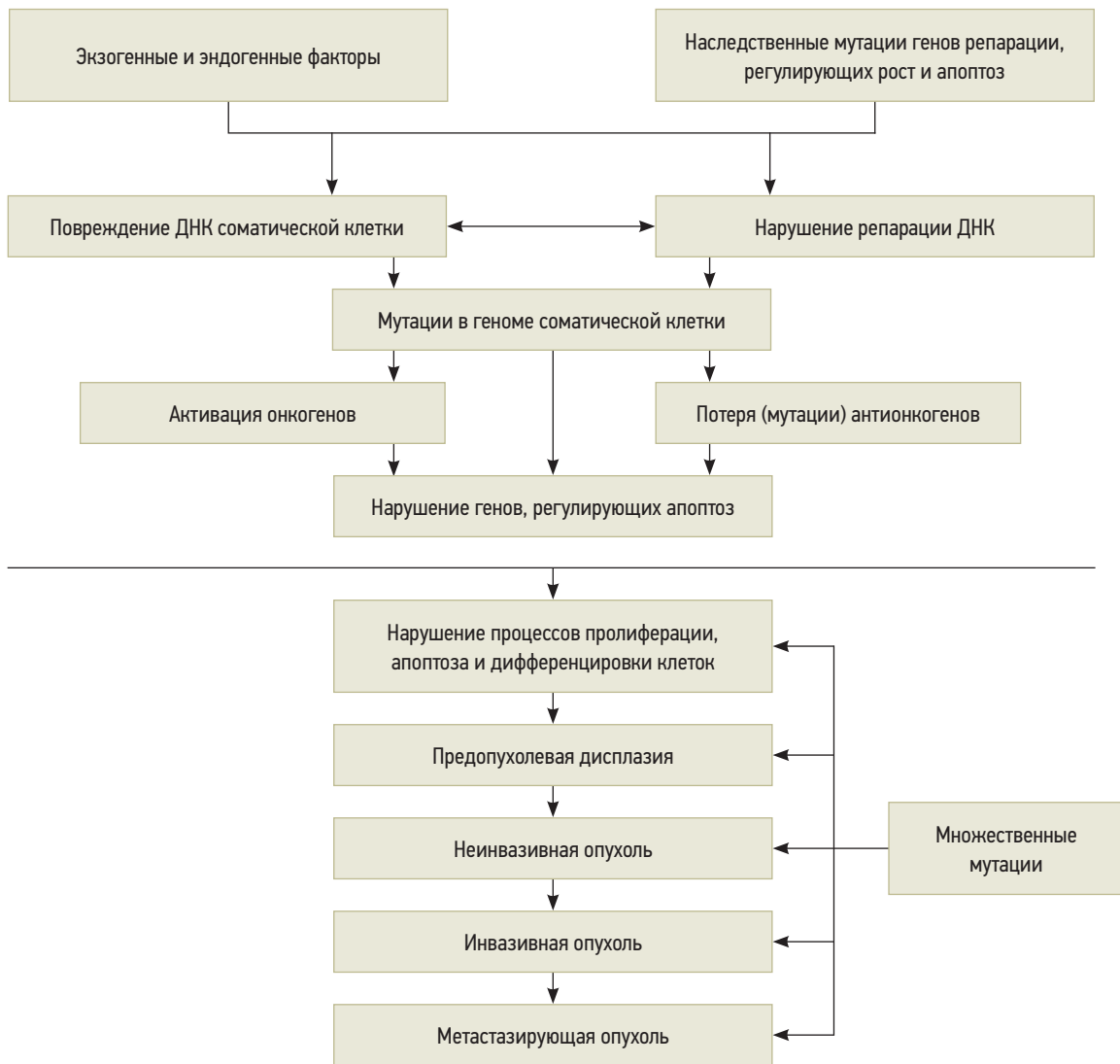


Рис. 40. Молекулярные основы канцерогенеза и морфогенез опухолевого роста

на передачу ростового сигнала в клетке. Описаны мутации, активирующие *RAS* и локализующиеся в кодонах 12, 13 и 61.

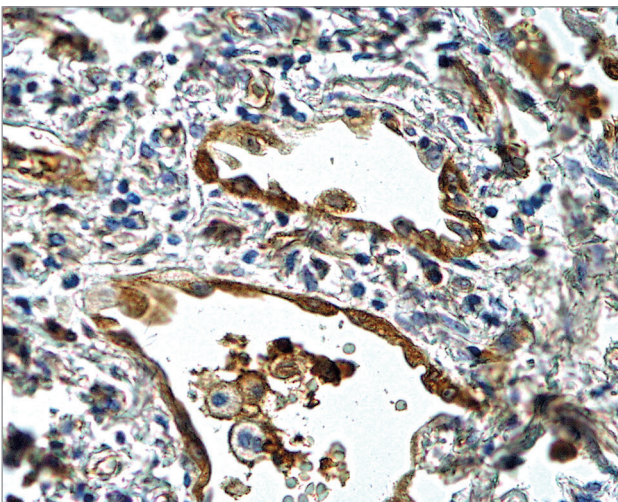


Рис. 41. Экспрессия *RAS* в клетках атипичной аденоматозной гиперплазии. Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

Наиболее часто при РЛ обнаруживаются мутации *KRAS*, присущие только НМРЛ, в отличие от МРЛ [48, 104, 105]. Мутации *KRAS* могут приводить к активации нескольких сигнальных путей. Онкопротеин Ras активирует сигнальный путь *RAF/MEK/ERK*, стимулирующий клеточный рост путем вхождения клеток в митотический цикл через фосфорилирование транскрипционных факторов (таких как *c-Fos*, *Elk-1* и тус), фосфорилирование рибосомной S-киназы (*RSK*) и митоген-активируемых протеинкиназ (*MAPK*), а также посредством сигнального пути *PI3K/АКТ* (*PI3K* – фосфоинозитид-3-киназа), контролирующего жизнеспособность, рост и метаболизм клетки [55, 106]. Мутантный *KRAS* может вызвать трансформацию клетки путем активации сигнальных путей *ERK/MAPK* и *PI3K/АКТ* [107]. Частота мутаций *KRAS* в аденокарциномах легкого составляет до 30%, а при ПРЛ – только 3%. В 2 крупных исследованиях 30% случаев аденокарцином имели мутации в кодоне 12 и только 3% – в других кодонах.

Показана связь мутаций *KRAS* с табакокурением [105]. Противоречивы данные о влиянии на выжи-

ваемость больных РЛ: ранее была показана взаимосвязь мутации в *KRAS*, не подтвержденная в более поздних работах [108, 109].

Мутации *KRAS* обнаружены при предраке легкого — атипичической гиперплазии альвеолярного эпителия — в 40% случаев в окружающей легочной ткани вокруг аденокарцином, в которых мутации соответственно были найдены в 39% полимеразноцепной аллель-специфической гибридизации. В этих же очагах описана экспрессия p53. Обнаружена корреляция повышенной экспрессии данного онкопротеина с железистой дифференцировкой РЛ. Высокая экспрессия белковых продуктов Ras также регистрировалась нами в очагах аденоматоза легкого и в овальных и щелевидных эпителиальных структурах в рубцах. Выдвигается гипотеза о том, что мутации *KRAS* являются маркерами атипичической железистой гиперплазии (варианта железистого предрака) и аденокарцином, что подтверждается при исследовании РЛ не только человека, но и в эксперименте на трансгенных мышах [17].

Поскольку *RAS* часто мутирует в раковых опухолях человека, то естественно, что было предпринято множество попыток создать анти-*RAS*-методы таргетной терапии. К сожалению, не была доказана эффективность ни одного из них при использовании в клинике [60, 80, 104].

Клеточные онкогены семейства *MYC* — *c-MYC*, *MYCL*, *MYCN* — являются немедленно реагирующими генами и кодируют клеточные регуляторные белки, индуцирующие пролиферацию и подавляющие дифференцировку. Установлено, что в отсутствие факторов роста повышение экспрессии *c-Myc* приводит не к делению клеток, а к апоптозу, который может ингибироваться Bcl-2. Амплификация *c-myc* обнаруживается в 10–25% случаев РЛ, в то время как *L-myc* и *N-myc* — только в нейроэндокринных опухолях легких (10–30%). Определение повышенной экспрессии онкопротеинов *myc* регистрируется значительно чаще по матричной РНК (мРНК). Определение же повышенной экспрессии при ИГХ-исследовании затруднено, поскольку период жизни белковых продуктов очень короток. Полупериод распада составляет 10 мин.

Экспрессия *L-myc* обнаруживалась только в группе нейроэндокринных опухолей легких, а экспрессия *c-myc* — в группах как МРЛ, так и НМРЛ. В группе МРЛ установлена достоверная корреляция экспрессии *L-myc* и *c-myc* с наличием метастазов и размерами опухоли [17, 33].

Семейство ***BCL2*** представлено генами *BCL2*, *BAX*, *BAK*, *BCLXL* и *BCLXS*, белковые продукты которых способны образовывать гомо- и гетеродимеры, оказывающие порой диаметрально противоположное действие на пролиферацию и апоптоз опухолевых клеток. Наиболее изученный белок Bcl-2 локализуется на внутренней мембране митохондрий, а также в ядре, стимулирует пролиферацию клеток и ингибирует апоптоз — вероятно, за счет антиоксидантной

активности. Напротив, белки, транскрипция и синтез которых регулируется p53, блокируют пролиферацию и стимулируют апоптоз опухолевых клеток. BclXL ингибирует апоптоз и стимулирует пролиферацию, а BclXS, напротив, индуцирует апоптоз. Таким образом, баланс между белковыми продуктами Bcl-2 — Bax, BclXL и BclXS определяет сдвиг равновесия в сторону пролиферации или апоптоза в опухоли [17, 33].

Особое внимание следует обратить на ядерную локализацию онкопротеина, так как, по данным публикаций, она может соответствовать его неактивной, фосфорилированной форме, неспособной блокировать апоптоз. Также обнаружена достоверная корреляция между экспрессией Bcl-2 и стадией опухоли. В то же время нами была получена положительная корреляция между экспрессией Bcl-2 и повышением показателей выживаемости больных МРЛ. Полученные противоречия, по всей видимости, не случайны и могут быть связаны с несколькими факторами. Во-первых, не исключено, что Bcl-2-положительные мелкоклеточные карциномы более чувствительны к проводимой химиотерапии. Во-вторых, выживаемость пациентов определяется множеством других показателей, например уровнем активности систем, обеспечивающих антибластомную резистентность, общую резистентность организма и др. В-третьих, известно, что дисбаланс Bcl-2 с другими членами семейства, прежде всего Bax, определяет прогноз при МРЛ.

При НМРЛ остаются сомнительными корреляции экспрессии Bcl-2 с выживаемостью больных, данные противоречивы. В целом можно сделать вывод, что ИГХ Bcl-2 и Bax имеет колоссальное значение в определении прогноза при РЛ.

Гены-супрессоры

Делеции или инактивация генов-супрессоров опухолей охватывают *P53*, *P16*, *RB1 (INK4A)*, а также множество локусов на хромосоме 3p. На этих участках локализуются другие многочисленные гены-супрессоры опухолей — кандидаты для участия в канцерогенезе, такие как *FHIT*, *RASSF1A* и другие, которые еще предстоит идентифицировать. Роль генов-супрессоров при развитии опухолей сводится к блокированию апоптоза и снятию их супрессивного влияния на клеточные онкогены, что в итоге заканчивается активацией пролиферации. Для реализации эффекта от повреждений генов-супрессоров изменения должны затрагивать оба аллеля гена, так как мутированный ген-супрессор всегда относится к сохранному как рецессивный к доминантному. Например, мутация или делеция одного из аллелей гена-супрессора должна сопровождаться потерей или изменениями в другом аллеле.

Гены-супрессоры при РЛ изучены относительно хорошо. Известны наиболее часто встречающиеся делеции хромосом, затрагивающие участки 3p21–24, 17p13, 13q14, 9p21–22 и 5q21. Делеция 3p21–24

чаще всего встречается при РЛ: 100% случаев МРЛ и 85% – НМРЛ. Однако в этой зоне не локализуется ни один ген-супрессор. Другие же сайты соответствуют известным генам-супрессорам. Например, p53 локализуется в 17p13, ген ретинобластомы – в 13q14, p16/INK4B(MTS1) и p15/INK4B(MTS2) – 9p21-22, *MCC* (мутированный ген в раке толстой кишки) и *APC* (ген аденоматозных полипов толстой кишки) – 5q21. Функции большинства из перечисленных генов хорошо известны и связаны с контролем фазы G1 митотического цикла и/или апоптоза. Их инактивация вызывает ускользание из остановки в фазе G1 и развития апоптоза. Потеря гетерозиготности была изучена в очагах метаплазии, дисплазии рака на месте. При плоскоклеточной метаплазии была выявлена потеря гетерозиготности в сайтах 17p13, 5q21 и 9p21 [154, 173]. При этом в разных очагах в пределах одного и того же легкого обнаруживались разные мутации. Выявление повреждения генома в области локализации генов-супрессоров на стадии предраковых изменений свидетельствует об участии этих генов на ранних стадиях опухолевого роста. В настоящее время описаны ряд новых генов-супрессоров, которые локалируются в 1-й и 16-й хромосомах и, по-видимому, имеют значение при развитии РЛ.

Ген TP53 и его белковый продукт p53 подвергаются наиболее частым изменениям при опухолевом росте [92, 97, 110, 111]. Выявляется иммуногистохимически по окраске ядер (рис. 42–44). Наиболее часто мутантный *TP53* обнаруживается при МРЛ и ПРЛ. В настоящее время известны > 8 изоформ *TP53*, обладающих, вероятно, различной функциональной активностью. В нетрансформированных клетках существует т. н. дикий тип *TP53*, который является транскрипционным фактором с множественными функциями, включающими регуляцию перехода клеток из фазы G1 в S, репарацию ДНК, апоптоз вслед за повреждением генов. В раковых клетках обнаруживается мутантный *TP53*, образующийся в основном за счет делеции одного из аллелей (17p13) в сочетании с точковой мутацией в другом аллеле. Мутированный *TP53* фактически действует как клеточный онкоген, стимулирует пролиферацию опухолевых клеток и вызывает образование антител, которые выявляются в крови больных. Последнее послужило основанием для разработки иммунодиагностики и иммунотерапии РЛ [97].

Мутация вызывает конформационные изменения в белке p53, и тот накапливается в ядрах клеток, что позволяет определять его ИГХ-методами. Напротив, считается, что «дикий» тип p53 обладает очень коротким полупериодом жизни (20 мин) и поэтому его невозможно определить иммуногистохимически. Накопление мутантного p53 обнаруживается в 70–100% случаев культуры клеток МРЛ, 50–70% – МРЛ операционного и секционного материала, 45–75% – НМРЛ. Аккумуляция p53 в ядрах клеток может достоверно свидетельствовать о появлении мутации в гене при условии, что имеется $\geq 20\%$ позитивных

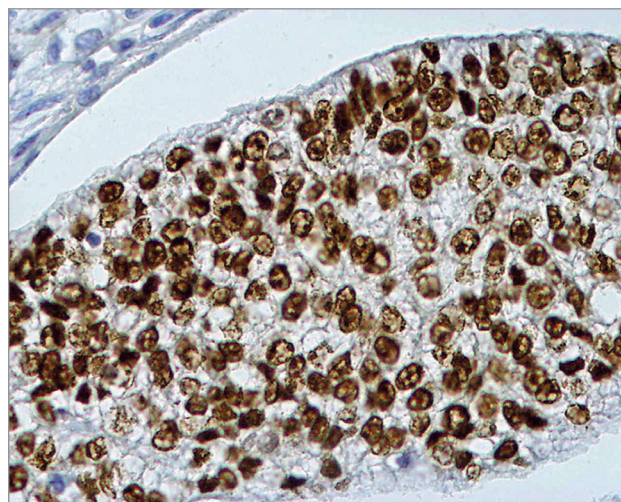


Рис. 42. Белковый продукт гена-супрессора рака p53 в ядрах клеток низкодифференцированного плоскоклеточного рака легкого. Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

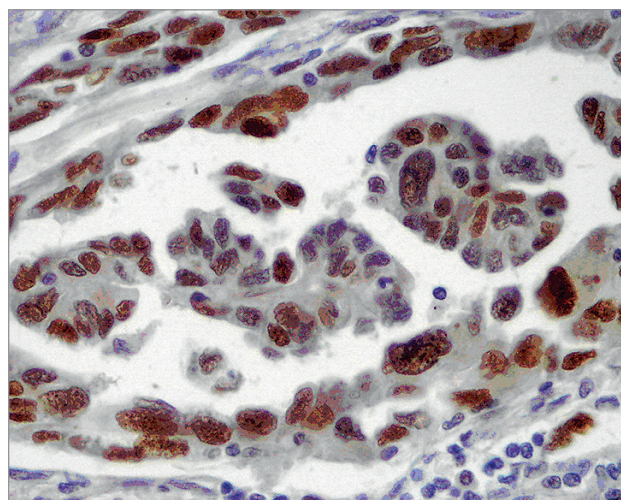


Рис. 43. Белковый продукт p53 в клетках умеренно дифференцированной аденокарциномы. Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

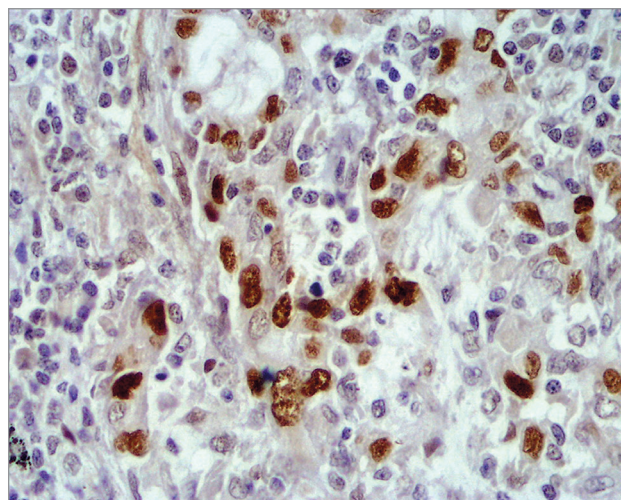


Рис. 44. Крупноклеточный рак легкого; высокая экспрессия белка-супрессора p53. Иммунопероксидазная реакция; $\times 400$

клеток, выявленных ≥ 2 методами. Негативные случаи касаются не только «дикого» типа p53, но и отсутствия синтеза какого-либо белка p53. Эти случаи могут иметь также неопределяемые и сплайсинговые мутации (~ 20% негативных по p53 случаев), которые невозможно выявить иммуногистохимически. В целом инактивация p53 при РЛ отмечается в ~ 70% случаев [17]. Противоречивы результаты исследований, посвященных корреляции между экспрессией p53 и выживаемостью. В целом, если такое действие и есть, то оно очень незначительно. Остается неизученной и связь p53 со злокачественной трансформацией. В то же время экспериментальные данные показывают, что при активации «дикого» типа p53 происходит замедление роста и развивается апоптоз, что может привести к реверсии злокачественного фенотипа.

Имеются доказательства в пользу того, что мутации *TP53* играют роль на ранних стадиях канцерогенеза легкого и могут, например, развиваться у курильщиков за счет полициклических углеводородов [112]. Мутантные формы *TP53* никогда не выявляются при резервной базальноклеточной гиперплазии или плоскоклеточной метаплазии без признаков дисплазии. При дисплазии мутации *TP53* выявляют в 12–53% случаев, а при раке на месте – в 60–90% случаев исследования ткани, окружающей РЛ [17]. В соответствии с результатами последних исследований, ожидаемая частота экспрессии p53 при дисплазии эпителия легкого составляет до 91%. Взаимосвязь накопления p53 при предраке с последующим развитием опухоли достоверна ($p = 0,0014$ и $p = 0,0003$). Обнаружение p53 в $> 20\%$ клеток в очагах дисплазии является маркером необратимых предраковых изменений. Однако следует помнить, что в ~ 50% случаев РЛ развивается без мутации *TP53*. Следовательно, это не обязательный феномен, характерный для РЛ, и отсутствие p53 не является благоприятным прогностическим фактором. Кроме того, ни накопление p53, ни его мутации не исчерпывают молекулярные механизмы, через которые этот белковый продукт может инактивироваться в опухолях. Было установлено, что белковый продукт p53 выявлен в ядрах раковых клеток в 47% наблюдений. При этом частота экспрессии p53 при МРЛ составила 67%, а при НМРЛ – 46%. Установлена достоверная корреляция между уровнем экспрессии p53 и стадией заболевания [92, 97, 110]. В последние годы показано, что нарушение функционирования p53 происходит при его взаимодействии с другими белками – регуляторами митотического цикла: p21, Mdm2, Bax.

Ген *RB* локализуется в сайте 13q14, который подвергается делеции в 80% случаев МРЛ (так же часто, как и при ретинобластоме) [17, 33]. Кодированный ядерный фосфопротеин массой 110 Кда и контролирует выход клетки из фазы G1. Гипофосфорилирование белка Rb приводит к блокаде клетки в G1 и апоптозу. Инактивация Rb в опухолях достигается потерей

одного из аллелей и мутацией второго аллеля гена. Экспрессия Rb отсутствует в 90% МРЛ и имеет плохое прогностическое значение. В НМРЛ экспрессия отсутствует в 30% случаев и не имеет прогностического значения.

Таким образом, инактивация генов-супрессоров *TP53* и *RB* имеет существенно большее значение для развития и прогрессии МРЛ, нежели НМРЛ, что подтверждает разные пути онкогенеза этих опухолей.

Факторы роста, рецепторы к факторам роста и связывающие протеины

Факторы роста играют важную роль в прогрессии РЛ, обеспечивая рост опухоли посредством аутокринной и паракринной стимуляции.

Мутации *EGFR* обнаруживаются в 10–40% случаев НМРЛ [33, 113] и наиболее часто выявляются в аденокарциномах у некурящих пациентов. Наиболее подробно описаны 2 члена семейства рецепторов эпидермального фактора роста (EGFR). Нормальная форма *EGFBB1*, гена EGFR, подвергается гиперэкспрессии в 80% случаев ПРЛ, при $> 50\%$ глиобластом и в 80–100% случаев опухолей головы и шеи [63, 114]. Вторым членом семейства – *EGFBB2* (называемый также *HER2/NEU*) – амплифицируется в 25% карцином молочной железы и аденокарциномах яичника, легкого, желудка и слюнных желез [115, 116]. На основании того, что в раковых клетках обнаруживается характерная гиперэкспрессия *EGFBB2*, разработан новый метод с применением антител к *EGFBB2*, успешно используемый в клинической практике и являющийся еще одним примером таргетной терапии опухолей [115, 116].

Чаще мутации обнаруживаются в виде делеции в экзоне 19 и точковой мутации в экзоне 21, что было установлено при введении ингибиторов гефитиниба и эрлотиниба [46, 117–119]. В настоящее время гефитиниб и эрлотиниб используются в таргетной терапии РЛ. Ответ на лечение отмечен у 70% пациентов с мутациями *EGFR*, что приводит к превышению медианы выживаемости > 20 мес. [113]. Показанием для назначения препаратов является наличие мутаций *EGFR*, так как у пациентов, не имеющих таковых, регистрируется устойчивость к гефитинибу и эрлотинибу. Однако у ряда больных РЛ с ответом на терапию в дальнейшем может наступить рецидив заболевания, что, вероятно, связано с развитием дополнительных мутаций в *EGFR* или с активацией других сигнальных путей.

Экспрессия EGFR обнаруживается при ПРЛ и реже при других гистологических типах опухоли [17]. Онкоген *HER2/NEU* является независимым фактором прогноза, и его экспрессия свидетельствует о высокой степени злокачественности НМРЛ.

Были получены интересные данные об экспрессии при РЛ инсулиноподобного фактора роста-2 (IGF-2) и связывающих его белков IGFBR 1–6-го типов [17, 20]. Исследование выполнено на операционном материале и в культурах РЛ с использованием

ИГХ-методов. IGF-2 выявлен в 45% наблюдений, несколько чаще — при ПРЛ. IGFBR обнаруживались в различных гистологических типах опухоли. IGFBR-2 и-5 — в значительно в большем проценте случаев ПРЛ. Установлены особенности локализации IGFBR-3 — не только в цитоплазме, но и в ядрах раковых клеток.

Тирозин- и треонинкиназы при раке легкого

Киназа анапластической лимфомы (ALK) является рецептором тирозинкиназы, принимающий участие в развитии целого ряда злокачественных опухолей, включая РЛ [52, 78, 105, 120, 121]. Транслокация *ALK* описана в анапластических крупноклеточных лимфомах, при дислокации С-терминального киназного домена *ALK*, располагающегося на хромосоме 2p23, на 5q35 в зону N-терминала нуклеофосмина. В результате образуются гибридные белки, выявляемые во многих опухолях, например в миофибробластической воспалительной опухоли и при НМРЛ [112, 122]. Гибридные белки *ALK* являются высокочувствительными к действию ингибиторов *ALK* [120]. Подавление активности гибридных белков *ALK* кризотинибом лежит в основе таргетной терапии соответствующих типов. Также полагают, что кризотиниб может быть активен и против гибридных белков [120].

Белок p16 — ингибитор циклин-зависимой киназы, обладающей опухолесупрессивной активностью и являющейся ключевой молекулой Rb-сигнального пути. Инактивация гена обнаруживается в > 40% случаев НМРЛ. При этом в 30–50% случаев НМРЛ инактивация p16 возникает в результате точечных мутаций, делеции или потери гетерозиготности 9p21, а также за счет гиперметилирования гена. Особого внимания заслуживает тот факт, что механизмы инактивации гена у курящих и некурящих пациентов различны. Было установлено, что при табакокурении основными механизмами являются точечные мутации и делеция гена, а у некурящих — процессы гиперметилирования [123, 124].

B-raf — серин-треониновая киназа, участвующая в работе сигнального пути RAS/RAF/MEK/ERK/MAPK, играет важную роль в передаче митогенетического сигнала с клеточной поверхности. Мутации гена *BRAF* были обнаружены в < 5% случаев карцином щитовидной железы, толстой кишки, легких и при меланоме [34]. В легких мутации *BRAF* выявляются преимущественно в аденокарциномах [33, 123, 124]. В настоящее время разрабатываются методы таргетной терапии таких B-raf-зависимых карцином [92, 124].

Ген PIK3CA кодирует каталитическую субъединицу PI3K класса 1 α — важнейший антиапоптозный компонент АКТ-сигнального пути. Мутации данного гена выявлены во многих карциномах. Наиболее часто они обнаруживаются при раке молочной железы, при РЛ — в 5% случаев. Мутации *PIK3CA* приводят к снижению апоптоза [17]. Показано, что исполь-

зование вновь созданных ингибиторов PI3K может быть эффективным в лечении опухолей с мутациями *PIK3CA* [123].

Обсуждается значение мутаций других киназ, например трансмембранного тирозинкиназного рецептора (RET) [123, 124].

Адгезивные молекулы и экстрацеллюлярный матрикс стромы

Адгезивные молекулы, интегриновые рецепторы и ЭЦМ стромы РЛ оказывают модулирующее действие на опухолевые клетки и обеспечивают рост, инвазию и метастазирование опухоли [12, 124]. Для 1-й фазы инвазии опухоли характерно ослабление контактов между клетками, о чем свидетельствуют уменьшение количества межклеточных контактов, снижение концентрации некоторых адгезивных молекул из семейства CD44 и т. д. и, наоборот, усиление экспрессии других, обеспечивающих мобильность опухолевых клеток и их контакт с ЭЦМ. На клеточной поверхности снижается концентрация ионов кальция, что приводит к повышению отрицательного заряда опухолевых клеток. Усиливается экспрессия интегриновых рецепторов, обеспечивающих прикрепление клетки к компонентам ЭЦМ — ламинину, фибронектину, коллагенам. Во 2-й фазе опухолевая клетка секретирует протеолитические ферменты и их активаторы, которые обеспечивают деградацию ЭЦМ, тем самым освобождая ей путь для инвазии. В то же время продукты деградации фибронектина и ламинина являются хемоаттрактантами для опухолевых клеток, которые мигрируют в зону деградации в ходе 3-й фазы инвазии, а затем процесс повторяется снова.

В 98 случаях РЛ изучена экспрессия вариантов 5, 6 и 7 CD44. Исследование проведено на операционном материале с использованием ИГХ-определения продуктов в парафиновых срезах. Установлена специфическая экспрессия варианта 6 CD44 при ПРЛ, преимущественно в высокодифференцированных формах и у больных без лимфогенных метастазов. Можно предположить, что различные варианты CD44 и их комбинации могут модулировать поведение опухолевых клеток при РЛ. Вероятно, вариант 6 CD44 обеспечивает активные контакты между опухолевыми клетками и может служить маркером высокодифференцированного ПРЛ. В то же время другой вариант CD44, экспрессируемый также на поверхности подвижных клеток воспалительного инфильтрата и выявленный нами с помощью антител ко всем типам CD44, обеспечивает инвазивные свойства опухолевых клеток.

Эпигенетические изменения

Эпигенетические изменения относятся к обратимым наследственным изменениям в экспрессии генов, происходящие без мутации последних, и включают посттрансляционную модификацию под влиянием гистонов и метилирования ДНК,

влияющих на экспрессию генов. В нормальных клетках большая часть генома не экспрессируется. Часть генома становится «молчащей» вследствие метилирования ДНК и модификации гистонами, что приводит к конденсации ДНК и формированию гетерохроматина. С другой стороны, раковые клетки отличаются глобальным гипометилированием ДНК и селективным гиперметилированием промоторов определенных генов [9, 10, 125]. В последние годы установлено, что гены-супрессоры иногда остаются «молчащими» вследствие гиперметилирования их промоторов, а не мутаций.

Обратный феномен, при котором деметилирование генов приводит к биаллельной экспрессии (потеря импринтинга), может иметь место и в опухолевых клетках [126].

Особый интерес представляет разработка агентов, потенциально способных вызвать терапевтическое деметилирование генов-супрессоров. Данные последних исследований продемонстрировали, что гипометилирование генома вызывает хромосомную нестабильность и приводит к развитию опухолей в гораздо в большем количестве, чем можно было бы ожидать. Неадекватная репрессия или активация таких генов могут придать раковой клетке свойства, подобные качествам стволовой клетки, и недифференцированный фенотип.

На современном этапе признается существование гистонового кода, модификации которого происходят при ацетилировании и метилировании концевых участков молекулы, что приводит к активации или репрессии транскрипции. Молекулы микроРНК функционируют как отрицательные регуляторы генов. Они ингибируют экспрессию генов на посттрансляционном этапе, подавляя транскрипцию или в некоторых случаях разрушая мРНК. Учитывая, что микроРНК управляют ростом, дифференцировкой и выживанием клетки, неудивительно, что накапливаются факты об их участии в канцерогенезе [127]. МикроРНК — некодирующие 1-цепочечные РНК, длиной в среднем 22 нуклеотида, встроенные в РНК-индуцированный сайленсинг-комплекс. МикроРНК являются специфичными для определенных последовательностей мРНК и через РНК-индуцированный сайленсинг-комплекс вызывают посттрансляционный сайленсинг генов.

Показано, что в раковых клетках изменяется экспрессия микроРНК, а кроме того, во многих злокачественных опухолях выявляются амплификация и делеции локусов этих молекул. МикроРНК может участвовать в опухолевой трансформации путем увеличения экспрессии онкогенов или супрессии генов-супрессоров рака. Если микроРНК блокирует трансляцию онкогена, сокращение количества или снижение функции этих микроРНК приведет к перепроизводству соответствующего онкопротеина. Следовательно, микроРНК действуют как супрессор опухоли. Наоборот, если цель микроРНК — ген-супрессор рака, то сверхактивность этих молекул

может снизить содержание белка гена-супрессора опухоли. В таком контексте микроРНК работает как онкоген. Описаны микроРНК при разных опухолях человека, часть из которых имеют значение при РЛ, таких как связанные с мутациями *RAS*, *MYC* и *BCL2* [125].

Метаболические нарушения: эффект Варбурга

Эффект Варбурга — переход опухолевой клетки на анаэробный гликолиз — должен быть переосмыслен по-новому в свете вовлеченных молекулярных и генетических перестроек в раковых клетках, имеющих важнейшее значение при РЛ, таких как связанные с рецепторами тирозинкиназ, мутациями *c-MYC*, *RAS*, *TP53*, *PTEN*. Делящаяся клетка удваивает не только ДНК (опухолевую или нормальную), но и другие компоненты, включая мембраны, протеины и органеллы. Эта задача требует повышенного количества питательных веществ, особенно глюкозы (которая используется для биосинтеза этих компонентов), аминокислот (обеспечивающих строительный материал для синтеза белков), а также усиленного синтеза строительных блоков. Цикл окисления глюкозы до пируватата может быть шунтирован на анаболические пути, такие как синтез липидов и нуклеотидов; в дополнение опухолевые клетки могут шунтировать глютамин в гликолиз и в анаболические реакции [10, 110, 128].

Измененный метаболизм опухолевой клетки расширяет ее возможности в синтезе строительных блоков, обеспечивающих их деление и рост опухоли. Несомненно, что нарушение работы сигнальных путей, сопряженных с канцерогенезом, стимулирует захват глюкозы и других питательных веществ, повышение активности гликолиза, по сравнению с окислительным фосфорилированием, и анаболических реакций в опухолевой клетке. В норме факторы роста стимулируют захват глюкозы и аминокислот через сигнальный путь *R13K/AKT/mTOR*, начинающийся от тирозинкиназного рецептора и других рецепторов факторов роста; в опухолевых клетках эти сигналы автономны. Следовательно, мутации в онкогенах и генах-супрессорах вызывают не только активацию сигнальных путей, стимулирующих выживаемость и пролиферацию, но и гликолиз и анаболизм с биосинтезом постоянных компонентов опухолевой клетки [79, 129].

Патология апоптоза при раке легкого

До сих пор в специальной литературе описаны 2 разновидности патологии апоптоза: 1) чрезмерный по сравнению с пролиферацией апоптоз и приводящий к чрезмерной клеточной гибели (например, при фульминантных формах гепатитов В и С) или к атрофии; 2) недостаточный по отношению к уровню пролиферативных процессов апоптоз, наблюдаемый при гиперпластических процессах и опухолевом росте [10]. Существуют еще 2 варианта патологии апоптоза при РЛ: ускользание раковых клеток от апоптоза

и незавершенность апоптоза в связи с отсутствием фагоцитоза апоптозных телец.

Апоптоз при РЛ изучается с помощью тестов, регистрирующих собственно процесс гибели клеток, а также определяющих экспрессию и аккумуляцию веществ, участвующих в апоптозе и регулирующих его, и при электронной микроскопии [13, 19, 30, 130] (рис. 45, 46).

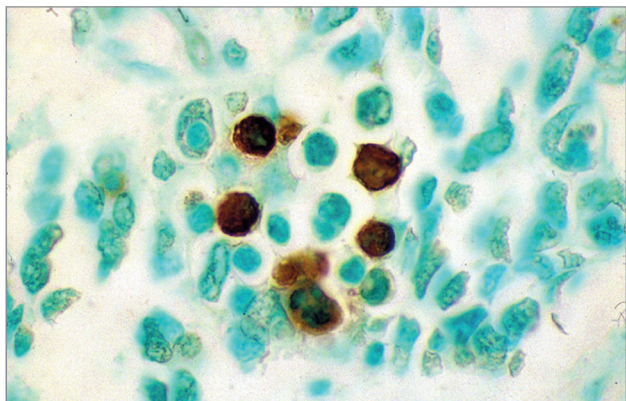


Рис. 45. Апоптоз клеток мелкоклеточного рака легкого. TUNEL-тест; $\times 1\ 000$

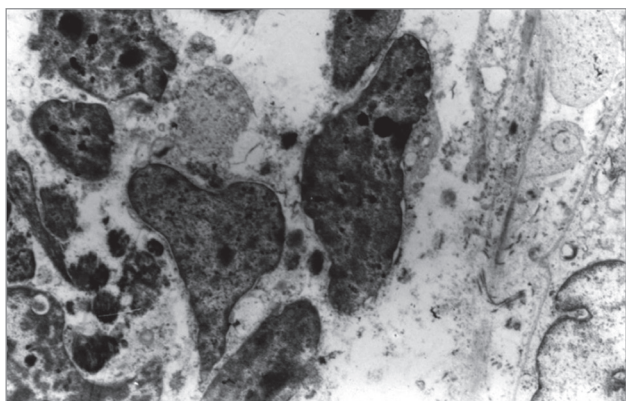


Рис. 46. Апоптоз клеток мелкоклеточного рака легкого. Электроннограмм; $\times 16\ 000$

Данные о влиянии пролиферации и апоптоза на прогрессию РЛ скудны и противоречивы. Среди многочисленных генетических перестроек, с которыми связывается как онкогенез, так и апоптоз при РЛ, следует особо отметить активацию доминантных протоонкогенов семейств *c-MYC* и *BCL*, а также инактивацию парных аллелей рецессивных генов-супрессоров опухолевого роста (*RB*, *TP53*, *TP21* и некоторых других, располагающихся на хромосомах 9p и 3p). Особый интерес среди доминантных протоонкогенов представляют члены семейства *BCL* — *BCL-2*, *BAX*, *BAK*, — при различных взаимодействиях которых клетка может вступать как в пролиферацию, так и в апоптоз. Ген *TP53*, являясь основным регулятором апоптоза, контролирует баланс *BCL2/BAK*, *BCL2/BAX*, от которых зависит дальнейшая судьба клетки. Однако при наличии мутаций гена *TP53*, которые обнаружены в 90% случаев МРЛ, имеется

нарушение баланса *BAX/BCL2*, *BAK/BCL2*, что приводит к неконтролируемой пролиферации [13, 19]. Последние литературные данные за 1998–2000 гг. описывают так же наличие мутаций *BAK*.

Обнаружена специфическая локализация апоптозных телец: по границам опухоли с прилегающей тканью, в зонах опухоли вокруг фокусов некроза и вокруг стенок опухолевых сосудов с отсутствием фагоцитоза апоптозных телец. Такой незавершенный характер апоптоза, без последующего фагоцитоза апоптозных телец, можно считать проявлением его патологии при опухолевом росте. *J.F.R. Kerr* и ряд других авторов, изучавших апоптоз при различных патологических процессах, показали, что, как правило, он завершается немедленным фагоцитозом апоптозных телец, чем, возможно, и объясняется отсутствие воспалительной реакции вокруг последних. Те же авторы полагают, что в ряде случаев апоптозные тельца могут подвергаться вторичному аутолизу за счет собственных лизосомальных ферментов с образованием постапоптозного детрита, не отличимого от некротического. В связи с этим примечательно, что вокруг фокусов детрита в МРЛ часто обнаруживались апоптозные тельца, а воспалительная реакция отсутствовала. Это дает возможность предположить, что фокусы детрита, обнаруженные в МРЛ, являются результатом не только некроза, но и аутолиза апоптозных телец в силу незавершенных процессов апоптоза.

В свою очередь, незавершенный апоптоз с последующим аутолизом апоптозных телец, приводящим к выходу клеточных онкогенов, факторов роста, цитокинов, может являться мощным источником митогенетических факторов, стимулирующих пролиферацию сохранных живых опухолевых клеток. Таким образом, можно предположить, что незавершенный апоптоз при РЛ с последующим аутолизом апоптозных телец способен в еще большей степени стимулировать рост опухоли [13, 19, 30, 130].

Молекулярные профили и сигнатура, основы таргетной терапии

Молекулярные профили и сигнатуры РЛ получены благодаря успешному развитию методов молекулярной биологии и информатики. Они могут быть представлены как геномным, так и протеомным и метиломным профилями РЛ. На основании молекулярных особенностей рака создаются новые методы таргетной терапии, направленные на то, чтобы блокировать функционирование этих молекул.

На данный момент наибольшего развития достиг метод геномного анализа. До недавнего времени проводились исследования экспрессии лишь отдельных генов. Ситуация коренным образом изменилась с внедрением методов, позволяющих одновременно изучать экспрессию всех генов, составляющих генома. В настоящее время для таких масштабных исследований чаще всего используются ДНК-микрочипы. Таким образом определяют профиль экспрессии

множества опухолей одной группы с различными исходами, например рецидивирующим и нерезицидивирующим. Можно надеяться, что дальнейшая работа в области профилирования экспрессии генов позволит стратифицировать пациентов, в зависимости от риска и ответа на лечение, с большей точностью точнее, чем гистологическое исследование и определение стадии опухоли. Развитие платформ ДНК-микрочипов и новых технологий, таких как высокопроизводительное секвенирование, делают возможным создание классификации всех генетических изменений в раковых клетках. На основании

различий в экспрессии генов опухолей, имеющих единообразный фенотип, опухоли можно разделить на подгруппы на основе выживаемости пациентов. Новые перспективы в использовании молекулярных технологий для глобального анализа рака открываются благодаря протеомике — изучению белкового профиля тканей, крови и других жидкостей тела.

При МРЛ и НМРЛ изменения генов могут быть как стереотипными, так и характерными только для данного типа рака. Так, на основе ПЦР в режиме реального времени были установлены молекулярные профили РЛ, МРЛ и НМРЛ [10, 16] (табл. 9 и 10).

Таблица 9. Гены молекулярного профиля рака легкого (по Taniwakii M. et al., 2006 [16])

	Код в базе данных <i>GenBank</i>	Условное обозначение	Название
1	AB007952	<i>FBX028</i>	F-box protein 28
2	NM_005141	<i>FGB</i>	Fibrinogen β chain
3	AA830326	EST	
4	AA677491	<i>STX8</i>	Syntaxin 8
5	AK091100	<i>LOC284591</i>	Hypothetical protein LOC284591
6	AA464854	<i>FAT3</i>	FAT tumor suppressor homolog 3 (<i>Drosophila</i>)
7	BC029858	<i>B7</i>	B7 gene
8	CA306079	<i>PLEKHJ1</i>	Pleckstrin homology domain containing, family J member 1
9	AA634326	<i>TCF20</i>	Transcription factor 20 (AR1)
10	AK025742	<i>UCP2</i>	Uncoupling protein 2 (mitochondrial, proton carrier)
11	AK075509	<i>NRM</i>	Nurim (nuclear envelope membrane protein)
12	NM_001336	<i>CTSZ</i>	Cathepsin Z
13	BC039999	<i>C9orf76</i>	Chromosome 9 open reading frame 76
14	AF502289	<i>TRIP10</i>	Thyroid hormone receptor interactor 10
15	BC041070	<i>KRTHA4</i>	Keratin, hair, acidic, 4
16	NM_001007094	<i>ZNF37A</i>	Zinc finger protein 37a (KOX 21)
17	AA868706	<i>KCTD15</i>	Potassium channel tetramerisation domain containing 15
18	CV424097	<i>LMO4</i>	LIM domain only 4
19	AF214736	<i>EHD3</i>	EH-domain containing 3
20	AA757392	EST	
21	D87463	<i>PHYHIP</i>	Phytanoyl-CoA hydroxylase interacting protein
22	BM916826	<i>PHF20</i>	PHD finger protein 20
23	H12117	<i>MOBK12B</i>	MOB1, Mps One Binder kinase activator-like 2B (yeast)
24	R32836	EST	
25	AA563634	<i>MGC29671</i>	Hypothetical protein MGC29671
26	NM_203371	<i>LOC387758</i>	Similar to RIKEN cDNA 1110018M03
27	NM_002184	<i>IL6ST</i>	Interleukin 6 signal transducer (gp130, oncostatin M receptor)
28	AK097664	<i>LOC90557</i>	Hypothetical protein BC016861
29	AA813719	<i>DKFZp5471048</i>	Chromosome 1 open reading frame 173
30	NM_182798	<i>FLJ39155</i>	Hypothetical protein FLJ39155
31	AK057053	<i>METR1</i>	Meteorin, glial cell differentiation regulator
32	H11638	<i>CHN2</i>	Chimerin (chimaerin) 2
33	N93264	<i>C9orf115</i>	Chromosome 9 open reading frame 115

Таблица 9. Окончание

34	BC036890	<i>TFCP2L4</i>	Grainyhead-like 3 (<i>Drosophila</i>)
35	BX109199	<i>EST</i>	
36	AL834247	<i>MYPN</i>	Myopalladin
37	NM_000692	<i>ALDH1B1</i>	Aldehyde dehydrogenase 1 family, member B1
38	R49124	<i>SLC2A9</i>	Solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 9
39	AA828735	<i>NMNAT2</i>	Nicotinamide nucleotide adenylyltransferase 2
40	CR749297	<i>SKIP</i>	SPHK1 (sphingosine kinase type 1) interacting protein
41	AF097431	<i>LEPRE1</i>	Leucine proline-enriched proteoglycan (leprecan) 1
42	BG209407	<i>EST</i>	Transcribed locus
43	AI347994	<i>TAF4B</i>	TAF4b RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor, 105 kDa
44	BU628989	<i>EST</i>	
45	AA429665	<i>EST</i>	
46	BX648249	<i>STN2</i>	Stonin 2
47	N93656	<i>RAMP2</i>	Receptor (calcitonin) activity modifying protein 2
48	NM_014409	<i>TAF5L</i>	TAF5-like RNA polymerase II, p300/CBP-associated factor (PCAF)-associated factor, 65 kDa
49	W52081	<i>LOC114926</i>	Hypothetical protein BC013035
50	AF450487	<i>KIF21A</i>	Kinesin family member 21A
51	BM472056	<i>H2AFZ</i>	H2A histone family, member Z
52	CR606023	<i>ATIC</i>	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase
53	H05226	<i>EST</i>	
54	AB014578	<i>DNAJC13</i>	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 13
55	AI288717	<i>RFX2</i>	Regulatory factor X, 2 (influences HLA class II expression)
56	BC053521	<i>SPTAN1</i>	Spectrin, α , non-erythrocytic 1 (α -fodrin)
57	U89942	<i>LOXL2</i>	Lysyl oxidase-like 2
58	BC035561	<i>FLJ23825</i>	Hypothetical protein FLJ23825
59	BC093053	<i>SGNE1</i>	Secretory granule, neuroendocrine protein 1 (7B2 protein)
60	NM_032236	<i>USP48</i>	Ubiquitin specific protease 48
61	AK023995	<i>FLJ12442</i>	Hypothetical protein FLJ12442
62	NM_018326	<i>GIMAP4</i>	GTPase, IMAP family member 4
63	NM_018243	<i>SEPT11</i>	Septin 11
64	AA195424	<i>C2orf22</i>	PQ loop repeat containing 3
65	Y12735	<i>DYRK3</i>	Dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 3
66	NM_182964	<i>NAV2</i>	Neuron navigator 2
67	NM_001695	<i>ATP6V1C1</i>	ATPase, H ⁺ transporting, lysosomal 42 kDa, V1 subunit C, isoform 1
68	U36501	<i>SP100</i>	Nuclear antigen Sp100

Примечание: *GenBank* – открытая база данных, поддерживаемая Национальным центром биотехнологической информации США (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

Выявлена часть генов с известными функциями, участвующих в клеточной адгезии, функционировании сигнальных путей и построении цитоскелета, регулирующих пролиферацию клеток и обладающих ферментативной активностью (табл. 11).

Молекулярный профиль немелкоклеточного рака легких

Изменения в генах *EGFR* (25%), *KRAS* (10–15%), *TP53* (50%), *INK4a* (белок p16; 70%) являются наиболее значимыми в развитии НМРЛ. Кроме того, не-

Таблица 10. Гены молекулярного профиля мелкоклеточного рака легкого (по Taniwakii M. et al., 2006 [16])

	Код в базе данных <i>GenBank</i>	Условное обозначение	Название
1	AB209404	<i>GLIS3</i>	GLIS family zinc finger 3
2	AB011124	<i>ProSAPiP1</i>	ProSAPiP1 protein
3	BC042688	<i>RASD1</i>	RAS, dexamethasone-induced 1
4	AK022881	<i>KIAA1272</i>	Chromosome 20 open reading frame 74
5	NM_133265	<i>AMOT</i>	Angiomotin
6	CA503163	<i>ADNP</i>	Activity-dependent neuroprotector
7	AA058578	<i>FLJ34585</i>	CDNA FLJ34585 fis, clone KIDNE2008758
8	BX647115	<i>DPYSL2</i>	Dihydropyrimidinase-like 2
9	AK054999	<i>FLJ30437</i>	CDNA FLJ30437 fis, clone BRACE2009045
10	BQ016211	<i>FLJ10154</i>	Hypothetical protein FLJ10154
11	AA418594	<i>THRAP2</i>	Thyroid hormone receptor associated protein 2
12	NM_015458	<i>MTMR9</i>	Myotubularin related protein 9
13	NM_001609	<i>ACADSB</i>	Acyl-Coenzyme A dehydrogenase, short/branched chain
14	U33749	<i>TITF1</i>	Thyroid transcription factor 1
15	AL365454	<i>INSR</i>	Insulin receptor
16	AI928242	<i>TFCP2L1</i>	Transcription factor CP2-like 1
17	AF059611	<i>ENC1</i>	Ectodermal-neural cortex (with BTB-like domain)
18	AA921341	<i>LPGAT1</i>	Lysophosphatidylglycerol acyltransferase 1
19	AA602499	<i>GLCC1</i>	Glucocorticoid induced transcript 1
20	AK124953	<i>FLJ36144</i>	Similar to hypothetical protein FLJ36144
21	R42757	<i>IGSF4</i>	Immunoglobulin superfamily, member 4
22	CR596214	<i>HNRPA0</i>	Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A0
23	AK096960	<i>RAD1</i>	RAD1 homolog (<i>S. pombe</i>)
24	AI341170	<i>Cep70</i>	P10-binding protein
25	AK096344	<i>FLJ35220</i>	Hypothetical protein FLJ35220
26	AL832815	<i>TMEM30A</i>	Transmembrane protein 30A
27	AL110212	<i>H2AFV</i>	H2A histone family, member V
28	NM_172164	<i>NASP</i>	Nuclear autoantigenic sperm protein (histone-binding)
29	N29574	<i>RRAGD</i>	Ras-related GTP binding D
30	AL137572	<i>C1orf24</i>	Chromosome 1 open reading frame 24
31	NM_033632	<i>FBXW7</i>	F-box and WD-40 domain protein 7 (archipelago homolog, <i>Drosophila</i>)
32	AA788924	<i>C5</i>	Complement component 5
33	AF326917	<i>AUTS2</i>	Autism susceptibility candidate 2
34	BQ002875	<i>PARP8</i>	Poly(ADP-ribose) polymerase family, member 8

Примечание: *GenBank* – открытая база данных, поддерживаемая Национальным центром биотехнологической информации США (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

давние исследования показывают, что *LKB1*, *PTEN*, *TSC* и все гены, относящиеся к сигнальному пути mTOR, также мутируют в 30% случаев рака легких (в основном НМРЛ) [77]. Необходимо отметить, что для *C-KIT* характерно повышение экспрессии, мутации развиваются редко. Следовательно, препараты, которые воздействуют на его тирозинкиназный домен (например, иматиниб), неэффективны. При этом в случае опухолей с мутацией данного киназно-

го домена (например, опухолей стромы желудочно-кишечного тракта) иматиниб позволяет добиться успехов. Активность теломеразы в ткани опухоли увеличивается в > 80% карцином легких.

Исследования последних лет позволили установить некоторые особенности молекулярно-генетических механизмов канцерогенеза НМРЛ и МРЛ. При развитии аденокарциномы от стадии предрака до инвазивной и метастазирующей аденокарцино-

Таблица 11. Гены молекулярного профиля мелкоклеточного рака легких с известной функцией (по Taniwakii M. et al., 2006 [16])

Код в базе данных <i>GenBank</i>	Условное обозначение	Название
Клеточная адгезия и цитоскелет		
AY714129	<i>CELSR3</i>	Cadherin, EGF LAG seven-pass G-type receptor 3 (flamingo homolog, <i>Drosophila</i>)
BX537667	<i>FARP1</i>	FERM, RhoGEF (ARHGEF) and pleckstrin domain protein 1 (chondrocyte-derived)
S78296	<i>INA</i>	Internexin neuronal intermediate filament protein, α
Передача сигналов		
BI496673	<i>BAI3</i>	Brain-specific angiogenesis inhibitor 3
BC034227	<i>D4S234E</i>	DNA segment on chromosome 4 (unique) 234 expressed sequence
NM_000555	<i>DCX</i>	Doublecortin; lissencephaly, X-linked (doublecortin)
R20639	<i>DPYSL5</i>	Dihydropyrimidinase-like 5
BC014476	<i>GKAP1</i>	G kinase anchoring protein 1
Клеточная пролиферация		
BC010044	<i>CDC20</i>	CDC20 cell division cycle 20 homolog (<i>S. cerevisiae</i>)
NM_001790	<i>CDC25C</i>	Cell division cycle 25C
NM_031966	<i>CCNB1</i>	Cyclin B1
AF053306	<i>BUB1B</i>	BUB1 budding uninhibited by benzimidazoles 1 homolog β (yeast)
AF260237	<i>HES6</i>	Hairy and enhancer of split 6 (<i>Drosophila</i>)
BC000356	<i>MAD2L1</i>	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1 (yeast)
Ферменты		
M76180	<i>DDC</i>	Dopa decarboxylase (aromatic L-amino acid decarboxylase)
NM_020546	<i>ADCY2</i>	Adenylate cyclase 2 (brain)
X60673	<i>AK3</i>	adenylate kinase 3-like 1
AF055015	<i>EYA2</i> Eyes absent homolog 2 (<i>Drosophila</i>)	

Примечание: *GenBank* – открытая база данных, поддерживаемая Национальным центром биотехнологической информации США (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

мы и бронхиолоальвеолярного рака происходят последовательно: потеря гетерозиготности в локусах генов-супрессоров 3p, мутация *KRAS*, мутация *TP53*, потеря гетерозиготности в локусах хромосом 2q, 9q, 18q, 22q. При возникновении ПРЛ порядок несколько иной: процесс начинается с мутации *TP53* и *TP63* в сочетании с потерей гетерозиготности в локусах генов-супрессоров 3p и последующей активацией *CCDN1*.

В настоящее время молекулярный профиль аденокарциномы, ориентированный на таргетную терапию, включает мутации *EGFR*, *KRAS*, *ROS1*, *RET*, *BRAF*, *PIK3CA* и образование гибридного гена *ALK*. Исследованы 147 случаев НМРЛ с известным исходом заболевания. В соответствии с математическими расчетами прогностические сигнатуры включали 6 генов: *syntaxin 1A (STX1A)*, *hypoxia inducible factor 1A (HIF1A)*, *chaperonin containing TCP1 subunit 3 (CCT3)*, *MHC Class II DP β 1 (HLA-DPB1)*, *v-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog K (MAFK)* и *ring finger protein 5 (RNF5)*.

Основы таргетной терапии мелкоклеточного и немелкоклеточного рака легкого

Таргетной терапией рака принято называть вид терапии, направленный на определенные молекулы, участвующие в опухолевом росте. В таргетной терапии РЛ имеется 2 крупных направления. Первое – традиционное, направленное на инактивацию онкопротеинов, факторов роста, их рецепторов, тирозинкиназ и новых гибридных белков, которые участвуют в росте опухоли. Кроме того, с появлением концепции РСК начата разработка методов воздействия и уничтожения РСК (2-е направление).

Поскольку *RAS* часто мутирует в раковых опухолях человека, то естественно, что было предпринято множество попыток создать анти-*RAS*-методы таргетной терапии. К сожалению, не была доказана эффективность при использовании в клинике ни одного из этих методов.

Нормальная форма *EGFBB1*, гена *EGFR*, подвергается гиперэкспрессии в 80% случаев ПРЛ, в > 50% глиобластом и в 80–100% случаев опухолей головы

и шеи. Второй член семейства рецепторов эпидермального фактора роста *EGFBB2* (называемый также *HER2/NEU*) амплифицируется в 25% карцином молочной железы и аденокарциномах яичника, легкого, желудка и слюнных желез [63, 114]. На основании того, что в раковых клетках обнаруживается характерная гиперэкспрессия *EGFBB2*, разработан новый метод таргетной терапии с помощью антител к *EGFBB2*, успешно применяемый в клинике и являющийся еще одним примером таргетной терапии опухолей [63, 114]. Мутации чаще обнаруживаются как делеция в экзоне 19 и точковая мутация в экзоне 21, что было установлено при введении ингибиторов гефитиниба и эрлотиниба [62]. В настоящее время гефитиниб и эрлотиниб используются в таргетной терапии РЛ. Ответ на терапию отмечен у 70% пациентов с мутациями *EGFR*, что привело к превышению медианы выживаемости > 20 мес. [16, 67, 118, 131, 132]. Показанием для назначения препаратов является наличие мутаций *EGFR*, так как пациенты, не имеющие таковых, демонстрируют устойчивость к гефитинибу и эрлотинибу. Однако у ряда ответивших больных РЛ в дальнейшем может наступить рецидив заболевания, что, вероятно, связано с развитием дополнительных мутаций в *EGFR* или активацией других сигнальных путей [10, 12, 128]. Последовательность генетического анализа для аденокарциномы представлена в исследовании *L. Horn* и *W. Pao* [63].

Гибридные белки ALK являются высокочувствительными к действию ингибиторов ALK [133]. По-

давление активности гибридных ALK-белков препаратом кризотинибом лежит в основе таргетной терапии соответствующих типов [134].

BRAF-мутации выявляются в основном при аденокарциномах легких [73]. В настоящее время разрабатываются методы таргетной терапии последних [135]. Мутации данного гена выявляются при многих карциномах, наиболее часто – при раке молочной железы, при РЛ – в 5% случаев [65].

Мутации гена *PIK3CA* приводят к снижению апоптоза [81]. Показано, что использование вновь созданных ингибиторов PI3K-киназы может быть успешным при лечении опухолей с мутациями *PIK3CA* гена [35].

Иммунотерапия анти-PD-1/PDL-1 при немелкоклеточном раке легкого

На НМРЛ приходится 80–85% всех случаев РЛ [10, 71]. Иммунная система способна специфически распознавать экспрессию опухолеспецифических антигенов и уничтожать опухолевые клетки [12, 44]. Терапия анти-PD-1/PDL-1 основана на блокаде белка программируемой клеточной гибели-1 (PD-1) или ее лиганда (PDL-1) у пациентов с НМРЛ. PD-1 представляет собой рецептор, часто находящийся на поверхности иммунных клеток [136]. PDL-1 представлен шире, в т. ч. на опухолевых клетках. Терапия анти-PD-1/PDL-1 блокирует взаимодействие PD-1 и его лигандов, препятствует ингибирующей передаче сигнала, восстанавливает жизнеспособность Т-клеток и тем самым перезапускает

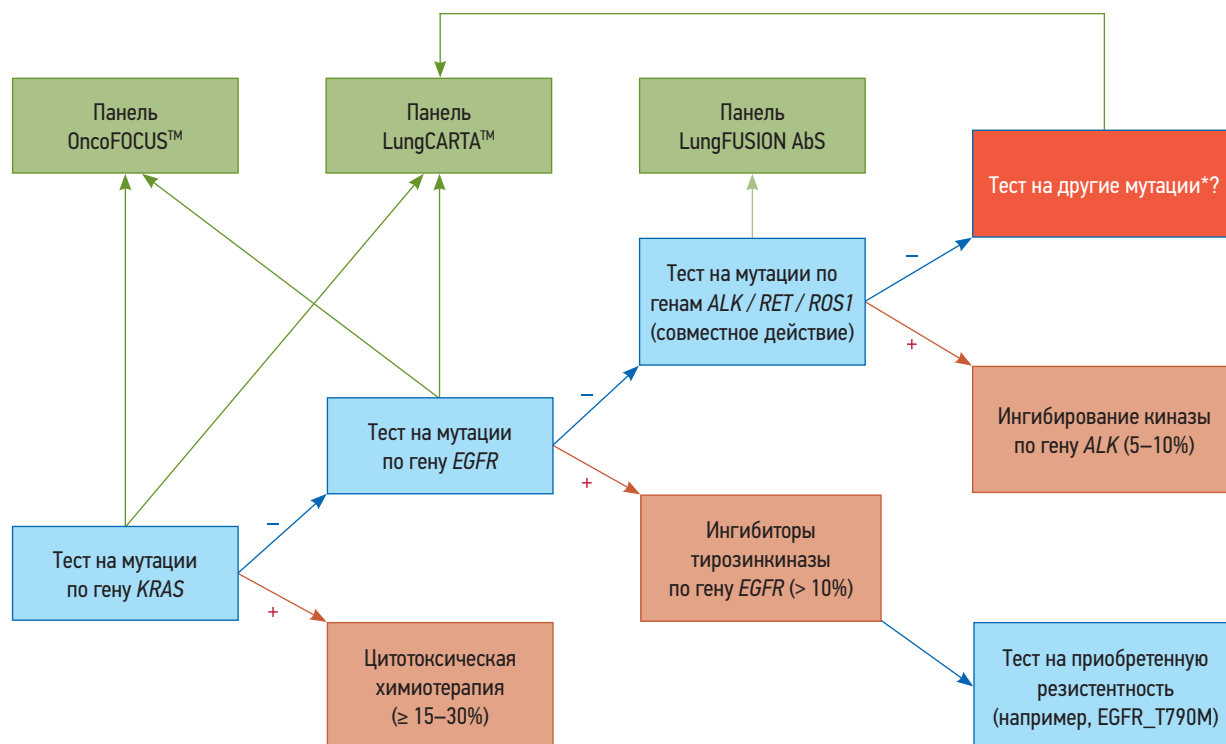


Рис. 47. Платформа для подбора таргетной терапии немелкоклеточного рака легкого (по Horn L. и Pao W., 2009 [160])

Примечание: * – другие мутации включают *BRAF*, *MEK1*, *AKT1*, *PIK3CA*, *DDR2* с возможностью включения вновь открытых.

противоопухолевый иммунный эффект [137] программируемой гибели клеток. Лечение анти-PD-1/PD-L1 с химиотерапией на основе платины или без нее стало стратегией 1-й линии при НМРЛ без мутаций драйверного гена [138].

Во время постановки диагноза все новые пациенты с РЛ должны пройти иммуногистохимическое тестирование на экспрессию PD-L1 раковыми клетками. Тест показывает, какой процент клеток в опухоли экспрессирует PD-L1. Опухоли, экспрессирующие большое количество PD-L1 ($\geq 50\%$), могут показывать особенно хороший ответ на ингибиторы контрольных точек (тип иммунотерапевтического препарата) [27]. Высокий уровень экспрессии PD-L1 свидетельствует о потенциальной пользе лечения анти-PD-1/PD-L1 [5]. В исследовании 1-й фазы KEYNOTE-001 среди пациентов, ранее получавших анти-PD-1 терапию, у больных с долей опухоли PD-L1 (TPS) $\geq 50\%$ медиана общей выживаемости составила 15,4 мес. (95%-ный ДИ – 10,6–18,8 мес.) (табл. 1), а 5-летняя общая выживаемость – 25,0%. В группе PD-L1 TPS 1–49% и группе PD-L1 TPS $\leq 1\%$ медиана общей выживаемости составила 8,5 мес. (95%-ный доверительный интервал (ДИ) – 6,0–12,6) и 8,6 мес. (95%-ный ДИ – 5,5–10,6), а 5-летняя выживаемость – 12,6 и 3,5% соответственно [27].

Данные систематического обзора свидетельствуют, что среди пациентов с НМРЛ иммунотерапия позволила повысить общую выживаемость и снизить дискомфорт, связанный с лечением, по сравнению с химиотерапией. Польза для выживаемости без прогрессирования и качества жизни была менее последовательной [139].

Однако общий уровень ответов остается неудовлетворительным. На исход лечения анти-PD-1/PD-L1 влияют многие факторы, такие как уровень экспрессии PD-L1, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TIL), нагрузка опухолевых мутаций (ТМВ), неоантигены и мутации управляющего гена. Дальнейшее изучение биомаркеров будет способствовать более точному отбору пациентов и прогнозированию эффективности лечения анти-PD-1/PD-L1. При иммунотерапии учитывается также количество мутаций в опухоли. Чтобы иммунотерапия была эффективной, иммунная система должна распознать один из этих аномальных белков. Считается, что наличие большего количества мутаций может улучшить шансы на положительный ответ на иммунотерапию.

Предыдущие отчеты показали, что экспрессия PD-L1 была в значительной степени связана с инфильтрацией внутриопухолевых Т-клеток при НМРЛ [Rod]. На основании статуса PD-L1/TIL иммунное микроокружение опухоли НМРЛ было разделено на I тип (PD-L1+, TIL+), II тип (PD-L1-, TIL-), III тип (PD-L1+, TIL-) и IV тип (PD-L1-, TIL+) [44]. Различие клинических факторов, связанных с разными типами иммунного микроокружения опухоли, определяет выбор пациентов для комбинированной

иммунотерапии. Больные с опухолями I типа значительно выигрывают от анти-PD-1/PD-L1 терапии. Тем не менее опухоли III типа устойчивы к монотерапии анти-PD-1/PD-L1, что может быть устранено путем комбинированной адьювантной терапии для рекрутирования Т-клеток в ложе опухоли [140].

Роль микровезикул в прогрессии рака легкого

Новейшие исследования в биологии РЛ посвящены микровезикулам. Микровезикулы представляют собой набор мембраносвязанных структур, несущих липиды, белки и нуклеиновые кислоты [10]. Происходит почкование внутрь через эндосомальные пути с образованием экзосом и прорастание из плазматической мембраны с образованием микровезикул. Внеклеточные везикулы связываются с клетками-мишенями и иницируют передачу сигнала посредством взаимодействия «рецептор–лиганд» или интернализируются посредством эндоцитоза [141]. Микровезикулы опосредуют чувствительность раковых клеток к химио- и лучевой терапии, их выявление при жидкостной биопсии представляет собой многообещающую стратегию в диагностике рака и прогностических маркеров [142]. Обмен микровезикулами между иммунными клетками влияет на врожденный и адаптивный иммунитет [33]. Локальные дендритные клетки, секретирующие внеклеточные везикулы, могут индуцировать активацию Т-клеток [141]. Микровезикулы являются ключевыми компонентами микроокружения и обеспечивают связь между опухолевыми и стромальными клетками. У пациентов с распространенным НМРЛ, получающих терапию анти-PD-1/PD-L1, была выделена микроРНК для анализа последовательности и выявлена заметная разница в концентрации специфических микроРНК между респондерами и нереспондерами [27]. Как метод неинвазивной жидкостной биопсии, раннее обнаружение микровезикул, происходящих из опухоли, может помочь в прогнозировании эффективности анти-PD-1/PD-L1-терапии [143].

Противоопухолевый иммунитет и Toll-подобные рецепторы

Факт развития рака у иммуносупрессивных больных позволяет предположить, что формирование опухоли происходит при недостаточности иммунологического надзора за счет дефектов адаптивного и врожденного иммунитета. Не исключены и другие механизмы, позволяющие ускользать некоторым опухолям от уничтожения иммунной системой [89]. В последнее время концепция противоопухолевого иммунного надзора была расширена и не только включает в себя протективную роль иммунной системы при опухолевом росте, но и предполагает ее участие в селекции вариантов опухолевых клеток [10, 12, 89, 94, 144]. У отобранных путем селекции клеток иммуногенность снижена, им легче избежать иммунного распознавания и отторжения.

Термин «иммунное редактирование» в настоящее время используется для описания роли иммунной системы при опухолевом росте, которая включает предотвращение формирования опухоли, а также «извятие» иммунологических свойств опухоли на основе селекции опухолевых клеток, способных избегать иммунной элиминации [12, 94]. Антигены, вызывающие иммунный ответ, выявлены во многих экспериментально индуцированных опухолях и в некоторых злокачественных образованиях человека [10, 145].

Опухолевая трансформация клеток, как было показано выше, возникает вследствие накопления генетических повреждений в протоонкогенах и генах-супрессорах; мутированные протеины одновременно являются антигенами, чужеродными для иммунной системы хозяина, которые она может распознать [12, 147, 134]. У некоторых онкобольных имеются циркулирующие CD8+ и CD4+ Т-клетки, распознающие продукты мутированных онкогенов и генов-супрессоров белков RAS, p53, Vcr-Abl. В экспериментах на животных, иммунизированных мутантными белками RAS и p53, были получены цитотоксические Т-клетки и ответ отторжения опухолей, экспрессирующих мутантные протеины. Однако у большинства больных эти продукты мутантных генов не являются основной мишенью опухолеспецифических цитотоксических Т-клеток.

Клеточный иммунитет – доминирующий механизм противоопухолевой защиты в естественных условиях. Хотя антитела против опухолей и образуются, тем не менее нет никаких доказательств их защитной роли в физиологических условиях. В большинстве случаев раковые новообразования возникают у людей, не страдающих иммунодефицитом. Становится очевидным, что опухолевые клетки развивают **механизмы ускользания от иммунной системы**, которых может быть несколько [10].

1. **Селекция антиген-негативных опухолевых клеток.** В ходе опухолевой прогрессии может происходить элиминация иммуногенных субклонов.
2. **Потеря или снижение экспрессии молекул гистосовместимости.** Если опухолевые клетки не в состоянии экспрессировать молекулы главного комплекса гистосовместимости человека I класса (МНС-I), то тем самым они избегают атаки цитотоксических Т-лимфоцитов. Однако естественные киллеры клетки могут атаковать раковые клетки.
3. **Дефицит костимуляторов.** Следует напомнить, что для сенсibilизации Т-клеток необходимы 2 сигнала: 1) от чужеродного белка, презентуемого молекулами МНС; 2) от костимуляторов. Хотя опухолевые клетки могут синтезировать молекулы МНС-I, зачастую они не продуцируют молекулы костимуляторов. Это чревато не только отсутствием сенсibilизации, но и анергией Т-клеток и, что еще хуже, развитием в них апоптоза. Чтобы решить эту проблему, предпринимаются попытки

иммунизации пациентов аутологичными раковыми клетками, в которые проведена трансфекция гена, кодирующего костимуляторную молекулу B7-1 (CD20). При другом решении этой проблемы пациенту вводят аутологичные дендритные клетки, которые предварительно выращиваются *in vitro*, им вводится опухолевый антиген (например, MAGE1). Полагают, что поскольку дендритные клетки продуцируют значительно количество костимуляторных молекул, то иммунизация ими будет стимулировать и противоопухолевые Т-клетки.

4. **Иммунодепрессия.** Многие канцерогенные агенты (например, химикаты и радиация) способны подавлять иммунный ответ хозяина. Сами опухоли или их метаболиты также могут вызывать иммунодепрессию. Например, TGF- β , секретруемый в больших количествах многими опухолями, представляет собой мощный иммунодепрессант. В некоторых случаях иммунный ответ, вызванный опухолью, может ингибировать противоопухолевый иммунитет. Описано несколько механизмов такого ингибирования. Например, распознавание клеток опухоли может привести к экспрессии Т-клеточного ингибирующего рецептора (CTLA-4) или к активации регуляторных Т-лимфоцитов, подавляющих иммунный ответ.
5. **Антигенная маскировка.** Поверхностные антигены опухолевых клеток могут быть спрятаны, замаскированы от иммунной системы молекулами гликокаликса, такими как мукополисахариды, содержащие сиаловую кислоту. Это может быть следствием того, что опухолевые клетки экспрессируют больше молекул гликокаликса, чем нормальные клетки.
6. **Апоптоз цитотоксических Т-клеток.** Клетки некоторых меланом и гепатокарцином экспрессируют FasL. Полагают, что такие опухолевые клетки убивают Fas+ Т-лимфоциты, вступающие с ними в контакт, и таким образом элиминируют опухолеспецифические Т-клетки [12, 111].

Toll-подобные рецепторы (TLR) являются важнейшими молекулами реакций врожденного иммунитета и влияют на становление адаптивного иммунитета. Как установлено в последние годы, TLR также участвуют в опухолевом росте и могут быть мишенью для таргетной терапии рака [10, 12, 134, 146].

Активация TLR приводит к усилению пролиферации, резистентности к апоптозу, а также инвазии и метастазированию через активацию матриксных металлопротеаз и интегринов. Активация TLR в раковых клетках вызывает синтез ими провоспалительных факторов и иммуносупрессивных молекул. Все перечисленное стимулирует прогрессию рака. Накапливается все больше данных об участии TLR в опухолевом росте. Установлена экспрессия TLR на самых разнообразных опухолевых клетках, что способствует росту опухоли и феномену иммунного уклонения [103, 110]. TLR4 и TLR9 обнаружены

в ткани РЛ [147], TLR9 – в фибробластических клетках при ИЛФ [132]. При исследовании жидкости бронхоальвеолярного лаважа получены несколько иные результаты [109].

При ИЛФ усиливается экспрессия мРНК TLR2, TLR7 и TLR9. При РЛ повышается содержание мРНК TLR3, TLR9 и TLR7. При этом имелись и отличия: мРНК TLR2 при ИЛФ превышали таковые при РЛ, а мРНК TLR3 при РЛ были достоверно выше таковых при ИЛФ [109].

При РЛ подтверждается сверхэкспрессирование 3 эндосомных TLR. Это может означать, что эндосомные пути активации TLR могут играть ключевую роль в развитии РЛ. При этом могут активироваться NF-κB, протеинкиназы [10, 70, 148], играющие важную роль в хронизации воспаления и опухолевом росте. Путь TLR-TRAF6-NF-κB способствует росту опухоли в животных моделях [91].

Апоптоз – процесс необходимый для ремоделирования ткани и удаления поврежденных клеток, – регулируется многими сигнальными путями, участвующими в воспалении. В опухолевой ткани апоптоз может связан с выходом РНК- и ДНК-комплексов, которые могут представлять собой лиганды для TLR, что приводит к их активации. Хроматиновые и ДНК-содержащие иммунные комплексы были предложены в качестве эндогенных лигандов для TLR9, а мРНК может быть эндогенным лигандом для TLR3 [149]. ДНК-РНК-белковые комплексы, высвобождающиеся из погибших клеток способны спровоцировать паракринную активации эндосомных TLRs и тем самым содействовать росту опухоли и ее ускользанию от иммунного надзора [12, 132, 147]. Эта гипотеза подтверждается результатами исследования, которое показало сверхэкспрессию всех 3 эндосомных TLRs у пациентов с НМРЛ.

Несмотря на то, что сигнализация TLR, видимо, участвует в росте опухоли и ее уклонении от иммунной системы, вероятно разработка методов иммунотерапии рака с использованием TLR. Так, например, различные микробные продукты применялись в качестве адьювантов для повышения противоопухолевого иммунного ответа. При этом они действуют через стимуляцию TLR и активацию как врожденного, так и адаптивного иммунного ответа, что и способствует повышению противоопухолевой иммунной реакции [63]. Избыточная экспрессия эндосомных TLR в раковых клетках легких воздействует на клеточные механизмы, такие как апоптоз и ангиогенез [56]. В другом исследовании TLR изучались при проточной цитометрии клеток бронхоальвеолярного лаважа при ИЛФ и НМРЛ; установлена повышенная экспрессия эндосомных TLR при НМРЛ, по сравнению с ИЛФ [12, 26, 150].

В рандомизированном клиническом исследовании получены доказательства, что синтетический активированный TLR9-лиганд может повышать эффективность химиотерапии при лечении НМРЛ за счет синергетической противоопухолевой активности [151,

152]. Однако *J. Cherfils-Vicini et al.*, изучая экспериментальную модель, пришли к выводу, что стимуляция TLR приводит к усилению роста опухоли [114]. Так, стимуляция TLR7 или TLR8 в культуре клеток РЛ привела к активации NF-κB и усилению экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2, что вызвало рост выживаемости опухолевых клеток и снижение чувствительности к химиотерапии [100, 114].

Резюмируя данные об использовании воздействия на TLR для создания новых методов иммунотерапии, следует отметить, что пока это направление находится на раннем этапе формирования и требует дополнительных исследований. Противоречивость информации, представленной в различных публикациях, может быть обусловлена многофункциональностью рецепторов, которая, вероятно, определяется как особенностями самой опухоли, так и применяемым химиотерапевтическим воздействием, а также индивидуальной системой противоопухолевой резистентности пациента.

Заключение

РЛ – одна из самых частых раковых опухолей с неблагоприятным прогнозом. На развитие заболевания влияют множество этиологических факторов, прежде всего курение, а также генетическая предрасположенность. Хронические воспалительные заболевания легких создают благоприятный фон для возникновения предраковых процессов. Несомненные доказательства в возникновении и прогрессировании РЛ имеет роль РСК. Молекулярный профиль и иммунные маркеры этого заболевания являются базой для создания новых методов таргетной терапии.

Литература

1. Атлас онкологических операций / под ред. В.И. Чиссова, А.Х. Трахтенберга, А.И. Пагеса. М.: Гэотар-Медиа, 2008.
2. Бычков М.Б. Мелкоклеточный рак легкого. М.: Фармарус Принт Медиа, 2013.
3. Нидюлин В.А., Эрдниева Б.В. Об эпидемиологии рака легких. Мед. вестник Башкортостана. 2009; 4(1): 66–71.
4. Пульмонология: национальное руководство / под ред. А.Г. Чучалина. М.: Гэотар-Медиа, 2009.
5. Трахтенберг А.Х. Рак легкого. Руководство-атлас. М.: Гэотар-Медиа, 2014.
6. Jemal A., Siegel R., Ward E. et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer. J. Clin.* 2009; 59(4): 225–249.
7. Jiang F., Qiu Q., Khanna A. et al. Aldehyde dehydrogenase 1 is a tumor stem cell-associated marker in lung cancer. *Mol. Cancer Res.* 2009; 7: 330–338.
8. Nicholson A.G., Tsao M.S., Beasley M.B. et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015. *Review J. Thorac. Oncol.* 2022; 17(3): 362–387. doi: 10.1016/j.jtho.2021.11.003.
9. Rosai and Ackerman's surgical pathology. 2 Volume Set, 11th edition / J.R. Goldblum, L.W. Lamp, J. McKenney, J.L. Myers. Elsevier, 2018.

10. Robbins & Cotran pathologic basis of disease (Robbins' Pathology). 10th edition / V. Kumar, A.K. Abbas. 2019.
11. Travis W.D., Brambilla E., Noguchi M. et al. The new IASLC/ATS/ERS international multidisciplinary lung adenocarcinoma classification. *J. Thoracic. Oncol.* 2011; 6: 244–285.
12. Аверьянов А.В., Лесняк В.Н., Коган Е.А. Редкие заболевания легких: диагностика и лечение / под ред. А.В. Аверьянова. М.: Медицинское информационное агентство, 2022.
13. Коган Е.А. Молекулярно-генетические основы канцерогенеза. *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2002; 12(3): 32–36.
14. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1148.
15. Howard B.M., Boockvar J.A. Stem cell marker CD133 expression predicts outcome in glioma patients. *Neurosurgery* 2008; 62(6): N8.
16. Taniwakii M., Daigo Y., Ishikawai N. et al. Gene expression profiles of small-cell lung cancers: molecular signatures of lung cancer. *Int. J. Oncol.* 2006; 29: 567–575.
17. Коган Е.А. Главы 5, 7, 11. Патология / под ред. М.А. Пальцева и др. М.: Гэотар-Медиа, 2015.
18. Osanyingbemi-Obidi J., Dobromilskaya I., Illei P.V. et al. Notch signaling contributes to lung cancer clonogenic capacity in vitro but may be circumvented in tumorigenesis in vivo. *Mol. Cancer Res.* 2011; 9: 1746–1754.
19. Коган Е.А. Патоморфология предрака. *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2002; 12(5): 54–58.
20. Коган Е.А., Шехтер А.Б. Соединительная ткань легких при пневмосклерозе. В кн.: Клеточная биология легких в норме и при патологии / под ред. В.В. Ерохина, Л.К. Романовой. М.: Медицина, 2000. 410–422.
21. Коган Е.А., Тьонг Ф.В., Демура С.А. Механизм ремоделирования легочной ткани при прогрессировании идиопатического легочного фиброза. *Арх. пат.* 2010; 72(4): 30–36.
22. Шехтер А.Б., Коган Е.А. Соединительная ткань легких. В кн.: Клеточная биология легких в норме и при патологии / под ред. В.В. Ерохина, Л.К. Романовой. М.: Медицина, 2000. 209–220.
23. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018; 68: 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
24. Коган Е.А. Автономный рост и прогрессия опухолей. *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.* 2002; 12(4): 45–49.
25. Коган Е.А., Намиот В.А., Демура Т.А. и др. Репаративные и опухолевые сфероидные клеточные структуры и их математическая модель. *Биофизика.* 2014; 59(3): 533–540.
26. Pikin O., Kogan E., Lesnyak V., Averyanov A. Tumors that mimic diffuse parenchymal lung diseases. Primary malignant lung tumors. In: Difficult to diagnose rare diffuse lung disease / ed. by A. Averyanov. Elsevier, 2020. 361–393.
27. Niu M., Yi M., Li N. et al. Predictive biomarkers of anti-PD-1/PD-L1 therapy in NSCLC. *Exp Hematol Oncol* 2021; 10(18). <https://doi.org/10.1186/s40164-021-00211-8>.
28. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M et al. Diagnosis of lung cancer in small biopsies and cytology: implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer / American Thoracic Society / European Respiratory Society classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2013; 137: 668–684.
29. Uematsu K, He B, You L et al. Activation of the Wnt pathway in non small cell lung cancer: evidence of dishevelled overexpression. *Oncogene* 2003; 22: 7218–7221.
30. Коган Е.А. Молекулярно-генетические и иммуногистохимические особенности рака легкого. В кн.: Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / под ред. С.В. Петрова, Н.Т. Райхлина. 2-е изд. Казань, 2000. 238–250.
31. Швец С.И., Коган Е.А., Коваленко В.Л., Соболева Ю.В. Оценка степени злокачественности плоскоклеточного рака легкого на основе клинико-морфологического, иммуногистохимического и прогностического исследования онкомаркеров. *Вопросы онкологии.* 2009; 55(6): 746–750.
32. Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumor. *Nature Rev Cancer.* 2008; 8: 705.
33. Norashikin Z., Narazah M.Y., Zubaidah Z. et al. Human non-small cell lung cancer expresses putative cancer stem cell markers and exhibits the transcriptomic profile of multipotent cells. *BMC Cancer* 2015; 15: 84. doi:10.1186/s12885-015-1086-3.
34. Leung EL, Fiscus RR, Tung JW et al. Non-small cell lung cancer cells expressing CD44 are enriched for stem cell-like properties. *PLoS One* 2010; 5(11): e14062.
35. Malanchi I. Tumour cells coerce host tissue to cancer spread. *BoneKey Reports* 2. 2013; 371.
36. Ward R., Dirks P. Cancer stem cells: at the headwaters of tumor development. *Annu Rev Pathol* 2007; 2: 175.
37. Коган Е.А., Парамонова Н.Б., Демура С.А., Попова Е.Н. Цитогенетические варианты дисрегуляторных и предраковых изменений эпителия при хронических воспалительных заболеваниях легких. *Арх. пат.* 2003; 65(4): 12–17.
38. Коган Е.А. Молекулярная патология рака и предрака легкого. *Вестник Российского ОНЦ им. Н.Н. Блохина.* 2003; 1: 13–22.
39. Демура С.А., Коган Е.А., Пауков В.С. Морфология и молекулярные основы повреждения ниши стволовых клеток респираторного ацинуса при идиопатических интерстициальных пневмониях. *Арх. пат.* 2014; 6: 28–36.
40. Коган Е.А., Жак Г. Молекулярная патология рака легкого и система инсулиноподобных факторов роста. *Арх. пат.* 1999; 61(5): 55–60.

41. Коган Е.А., Т.Ю. Мануйлова, Краева В.В., Попова Е.Н. Канцерогенез и склероз в сотовом легком в исходе идиопатического фиброзирующего альвеолита. *Арх. пат.* 2003; 65(5): 35–40.
42. Демура С.А., Коган Е.А., Пауков В.С. и др. Диффузная паренхиматозная остеодистрофия легких – идиопатическая интерстициальная болезнь легких (ИБЛ) с поражением бронхиоло-альвеолярной переходной зоны (БАПЗ). *Молекулярная медицина.* 2013; 5: 16–19.
43. Демура С.А., Флигиль Д.М., Соколова И.А., Коган Е.А. Патогенез кальцинозов и оссификаций легких. Туберкулез и социально-значимые заболевания. 2015; 5: 64–70.
44. Cui S., Dong L., Qian J. et al. Classifying non-small cell lung cancer by status of programmed cell death ligand 1 and tumor-infiltrating lymphocytes on tumor cells. *J. Cancer.* 2018; 9(1):129–134. doi: 10.7150/jca.21842.
45. O'Brien C.A., Pollett A., Gallinger S., Dick J.E. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature.* 2007; 445(7123): 106–110.
46. Ricci-Vitiani L., Lombardi D.G., Pilozzi E. et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature.* 2007; 445(7123): 111–115.
47. Zhang Y.B., He F.L., Fang M. et al. Increased expression of Toll-like receptors 4 and 9 in human lung cancer. *Mol. Biol. Rep.* 2009; 36: 1475–1481.
48. Riely G.J., Kris M.G., Rosenbaum D. et al. Frequency and distinctive spectrum of KRAS mutations in never smokers with lung adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 5731–5734.
49. Кумар В. Патологическая анатомия по Роббинсу: учебник / главн. ред. изд. на рус. яз. Е. А. Коган; пер. с англ. Е.А. Коган, А.Д. Сапаргалиевой. М.: Гэотар-Медиа, 2022.
50. Aptsiauri N. et al. MHC class I antigens and immune surveillance in transformed cells. *Int. Rev. Cytol.* 2007; 256: 139.
51. Richter S., McWhirter E., Chen E.X. et al. A phase I study of R04929097, an oral gamma secretase inhibitor, in combination with gemcitabine, in patients with advanced solid tumors (PHL-078/CTEP 8575). *J. Clin. Oncol.* 2012; 30 (Suppl.); Abstr 3082.
52. Smyth M.J., Dunn G.P., Schreiber R.D. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv. Immunol.* 2006; 90: 1–50.
53. Islam F., Gopalan V., Smith R.A., Lam A.K. Translational potential of cancer stem cells: a review of the detection of cancer stem cells and their roles in cancer recurrence and cancer treatment. *Exp. Cell Res.* 2015; 335:135–47. doi: 10.1016/j.yexcr.2015.04.018.
54. Tian S., Liu D.H., Wang D. et al. Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) promotes the toxicity of TRAIL in non-small cell lung cancer cells via post-transcriptional regulation of MEK-1 expression. *Cell Physiol. Biochem.* 2018; 51(1): 217–227. doi: 10.1159/000495202.
55. Rekhtman N., Paik P.K., Arcila M.E. et al. Clarifying the spectrum of driver oncogene mutations in biomarker-verified squamous carcinoma of lung: lack of EGFR/KRAS and presence of PIK3CA/AKT1 mutations. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18: 1167–1176.
56. Steels E., Paesmans M., Berghmans T. et al. Role of p53 as a prognostic factor for survival in lung cancer: a systematic review of the literature with a meta-analysis. *Eur. Respir. J.* 2001; 18: 705–719.
57. Boon T., Van den Eynde B. Tumour immunology. *Curr. Opin. Immunol.* 2003; 15: 129.
58. Esteller M. Epigenetics in cancer. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 1148.
59. Hammond E.C. et al. Asbestos exposure, cigarette smoking and death rates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1979; 330: 473.
60. Mao C., Qiu L.X., Liao R.Y. et al. KRAS mutations and resistance to EGFR-TKIs treatment in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis of 22 studies. *Lung cancer* 2010; 69: 272–278.
61. Chaffer C.L., Brueckmann I., Scheel C. et al. Normal and neoplastic nonstem cells can spontaneously convert to a stem-like state. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011; 108(19): 7950–7955.
62. Marchetti A., Ardizzone A., Papotti M. et al. Recommendations for the analysis of ALK gene rearrangements in non-small-cell lung cancer: a consensus of the Italian Association of Medical Oncology and the Italian Society of Pathology and Cytopathology. *J. Thorac. Oncol.* 2013; 8: 352–358.
63. Chen Y.C., Hsu H.S., Chen Y.W. et al. Oct-4 expression maintained cancer stem-like properties in lung cancer-derived CD133-positive cells. *PLoS ONE* 2008; 3: e2637.
64. Manegold C., Gravenor D., Woytowicz D. et al. Randomized phase II trial of a toll-like receptor 9 agonist oligodeoxynucleotide, PF-3512676, in combination with first-line taxane plus platinum chemotherapy for advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008; 26: 3979–3986.
65. Li X, Wan L, Geng J et al. Aldehyde dehydrogenase 1A1 possesses stem-like properties and predicts lung cancer patient outcome. *J. Thorac. Oncol.* 2012; 7: 1235–1245.
66. Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG et al. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature.* 2003; 422: 313–317.
67. Morrison SJ, Spradling C. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell.* 2008; 132: 598.
68. Ho MM, Ng AV, Lam S et al. Side population in human lung cancer cell lines and tumors is enriched with stem-like cancer cells. *Cancer Res.* 2007; 67: 4827–4833.
69. Samara Katerina D., Antoniou K; .A., Karagianins K. et al. Expression profiles of Toll-like receptors in non-small cell lung cancer and idiopathic pulmonary fibrosis. *International J. Oncol.* 201240: 1397–1404.

70. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003, 100(7): 3983–3988.
71. Kogan E.A., Meerovich G.A., Karshieva S.Sh. et al. Photodynamic action of photosensitizers based on polycationic derivatives of synthetic bacteriochlorin against human lung cancer cells A549. *Laser Phys. Lett.* 2022; 19: 035601 (5pp). <https://doi.org/10.1088/1612-202X/ac4e96>.
72. Kogan E.A., Meerovich G. A., Karshieva S.Sh. et al. On the mechanisms of photodynamic action of photosensitizers based on polycationic derivatives of synthetic bacteriochlorin against human lung cancer cells A549 (in vitro study). *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2022, 102955. doi: 10.1016/j.pdpdt.2022.102955.
73. Levina V, Marrangoni AM, DeMarco R et al. Drug-selected human lung cancer stem cells: cytokine network, tumorigenic and metastatic properties. *PLoS ONE* 2008; 3: e3077.
74. Eramo A, Lotti F, Sette G et al. Identification and expansion of the tumorigenic lung cancer stem cell population. *Cell Death Differ* 2008, 15(3): 504–514.
75. Bertolini G, Roz L, Perego P et al. Highly tumorigenic lung cancer CD133+ cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2009; 106: 16281–16286.
76. Sullivan JP, Spinola M, Dodge M et al. Aldehyde dehydrogenase activity selects for lung adenocarcinoma stem cells dependent on notch signaling. *Cancer Res*. 2010; 70: 9937–9948.
77. Woo T, Okudela K, Mitsui H et al. Prognostic value of CD133 expression in stage I lung adenocarcinomas. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2010; 4: 32–42.
78. Salnikov AV, Gladkich J, Moldenhauer G et al. CD133 is indicative for a resistance phenotype but does not represent a prognostic marker for survival of non-small cell lung cancer patients. *Int J Cancer J*. 2010, 126(4): 950–958.
79. Dimou A, Neumeister V, Agarwal S et al. Measurement of aldehyde dehydrogenase 1 expression defines a group with better prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Am. J. Pathol.* 2012; 181: 1436–1442.
80. Downward J. Targeting RAS signalling pathways in cancer therapy. *Nat Rev Cancer*. 2003; 3: 11–22.
81. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB et al. Molecular testing guideline for selection of lung cancer patients for EGFR and ALK tyrosine kinase inhibitors: guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol*. 2013; 8: 823–859.
82. Yuan Z, Goetz JA, Singh S et al. Frequent requirement of hedgehog signaling in non-small cell lung carcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 1046–1055.
83. Radtke F, Fasnacht N, Macdonald HR. Notch signaling in the immune system. *Immunity* 2010; 32: 14–27.
84. Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y et al. KIF5B-ALK, a novel fusion oncokinasе identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3143–3149.
85. Schmid K, Oehl N, Wrba F et al. EGFR/KRAS/BRAF mutations in primary lung ADC and corresponding locoregional lymph node metastases. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4554–4560.
86. You L, He B, Xu Z et al. Inhibition of Wnt-2-mediated signaling induces programmed cell death in non-small-cell lung cancer cells. *Oncogene* 2004; 23: 6170–6174.
87. Weijzen S, Rizzo P, Braid M et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells. *Nat. Med.* 2002; 8: 979–986.
88. Phng LK, Gerhardt H. Angiogenesis: a team effort coordinated by notch. *Dev. Cell* 2009; 16: 196–208.
89. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*. 1999; 284: 770–776.
90. Collins BJ, Kleeberger W, Ball DW. Notch in lung development and lung cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2004; 14: 357–364.
91. Ito T, Udaka N, Yazawa T et al. Basic helix-loop-helix transcription factors regulate the neuroendocrine differentiation of fetal mouse pulmonary epithelium. *Development* 2000; 127: 3913–3921.
92. Dang TP, Eichenberger S, Gonzalez A et al. Constitutive activation of Notch3 inhibits terminal epithelial differentiation in lungs of transgenic mice. *Oncogene* 2003; 22: 1988–1997.
93. Chen K, Huang J, Gong W, Iribarren P, Dunlop NM and Wang JM: Toll-like receptors in inflammation, infection and cancer. *Int Immunopharmacol* 2007; 7: 1271–1285.
94. Konishi J, Kawaguchi KS, Vo H et al. Gamma-secretase inhibitor prevents Notch3 activation and reduces proliferation in human lung cancers. *Cancer Res*. 2007; 67: 8051–8057.
95. Kim R et al. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 2007; 121: 1.
96. Tian F, Mysliwicz J, Ellwart J et al. Effects of the Hedgehog pathway inhibitor GDC-0449 on lung cancer cell lines are mediated by side populations. *Clin. Exp. Med.* 2012; 12: 25–30.
97. Tawbi HA, Ahnert R, Thomas AL, Shou GY et al. Phase I study of LDE225 in advanced solid tumors: updated analysis of safety, preliminary efficacy, and pharmacokinetic-pharmacodynamic correlation. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29(Suppl.); Abstr 3062.
98. He B, You L, Uematsu K et al. A monoclonal antibody against Wnt-1 induces apoptosis in human cancer cells. *Neoplasia* 2004; 6: 7–14.
99. Kim J.K., Byun M. R., Maeng C.H. Selective targeting of cancer stem cells (CSCs) based on photodynamic therapy (PDT) penetration depth inhibits colon polyp formation in mice cancers. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(1): 203. doi: 10.3390/cancers12010203.
100. Lemjabbar-Alaoui H., Hassan O., Yang Yi-W., Buchanan P. Lung cancer: biology and treatment op-

- tions. *Biochim Biophys Acta*. 2015; 1856(2): 189–210. doi: 10.1016/j.bbcan.2015.08.002.
101. Mingxin Liu, Hong Wu, Chuan Xu. Targeting cancer stem cell pathways for lung cancer therapy *Curr Opin Oncol*. 2023; 35(1): 78–85. doi: 10.1097/CCO.0000000000000912.
 102. Zhang ZJ, Wang KP, Mo JG, Xiong L, Wen Y. Photodynamic therapy regulates fate of cancer stem cells through reactive oxygen species. *World J Stem Cells* 2020; 12(7): 562–584. doi: 10.4252/wjsc.v12.i7.562.
 103. Ihle NT, Byers LA, Kim ES et al. Effect of KRAS oncogene substitutions on protein behavior: implications for signaling and clinical outcome. *J Natl Cancer Inst*. 2012; 104: 228–239.
 104. Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res*. 1992; 52: 2665s–9s.
 105. Tam IY, Chung LP, Suen WS, et al. Distinct epidermal growth factor receptor and KRAS mutation patterns in non-small cell lung cancer patients with different tobacco exposure and clinicopathologic features. *Clin Cancer Res*. 2006; 12: 1647–1653.
 106. Shaw AT, Yeap BY, Mino-Kenudson M, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer who harbor EML4-ALK. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 4247–4253.
 107. Karamboulas C, Ailles L. Developmental signaling pathways in cancer stem cells of solid tumors. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1830: 2481–2495.
 108. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001; 414(6859): 105–111.
 109. Sasaki H, Nishizaki Y, Hui C et al. Regulation of GLI2 and GLI3 activities by an amino-terminal repression domain: implication of GLI2 and GLI3 as primary mediators of Shh signaling. *Development*. 1999; 126: 3915–3924.
 110. Strand S, Galle PR. Immune evasion by tumours: involvement of the CD95 (APO-1/Fas) system and its clinical implications. *Mol Med Today* 1998; 4: 63.
 111. Takebe N, Ivy SP. Controversies in cancer stem cells: targeting embryonic signaling pathways. *Clin. Cancer Res*. 2010; 16: 3106–3112.
 112. Inamura K, Takeuchi K, Togashi Y, et al. EML4-ALK lung cancers are characterized by rare other mutations, a TTF-1 cell lineage, an acinar histology, and young onset. *Mod Pathol* 2009; 22: 508–515.
 113. Yamamoto H, Toyooka S, Mitsudomi T. Impact of EGFR mutation analysis in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2009; 63: 315–321.
 114. Cherfils-Vicini J, Platonova S, Gillard M et al. Triggering of TLR7 and TLR8 expressed by human lung cancer cells induces cell survival and chemoresistance. *J Clin Invest* 2010; 120: 1285–1297.
 115. Huang B, Zhao J, Unkeless JC, Feng ZH, Xiong H. TLR signaling by tumor and immune cells: a double-edged sword. *Oncogene* 2008; 27: 218–224.
 116. Russell PA, Barnett SA, Walkiewicz M et al. Correlation of mutation status and survival with predominant histologic subtype according to the new IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma classification in stage III (N2) patients. *J Thorac Oncol* 2013; 8: 461–468.
 117. D'Amico D, Carbone D, Mitsudomi T et al. High frequency of somatically acquired p53 mutations in small-cell lung cancer cell lines and tumors. *Oncogene* 1992; 7: 339–346.
 118. Marchevsky A. *Surgical pathology of lung neoplasms*. New York: Marcel Dekker, 1990.
 119. Sakairi Y, Nakajima T, Yasufuku K et al. EML4-ALK fusion gene assessment using metastatic lymph node samples obtained by endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 4938–4945.
 120. Choi YL, Soda M, Yamashita Y, et al. EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors. *N Engl J Med*. 2010; 363: 1734–1739.
 121. Sorrentino R, Morello S, Grazia Giordano M, Arra C, Maiolino P, Adcock IM and Pinto A: CpG-ODN increases the release of VEGF in a mouse model of lung carcinoma. *Int J Cancer*. 2011; 128: 2815–2822.
 122. Wong DW, Leung EL, So KK et al. The EML4-ALK fusion gene is involved in various histologic types of lung cancers from nonsmokers with wild-type EGFR and KRAS. *Cancer*. 2009; 115: 1723–1733.
 123. Cooper WA, Lam DCL, O'Toole SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer. *J Thorac Dis*. 2013; 5(S5): S479–S490. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.03.
 124. Coulie PG, Hanagiri T, Takenoyama M: From tumor antigens to immuno-therapy. *Int J Clin Oncol* 2001; 6: 163.
 125. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG et al. WHO Panel. The 2015 World Health Organization Classification of lung tumors: impact of genetic, clinical and radiologic advances since the 2004 Classification.
 126. Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G et al. Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells. *Cell*. 2011, 146(4): 633–644.
 127. Dutta A, Lee YS. MicroRNA in cancer. *Ann Rev Path Mech Dis* 2009; 4: 175.
 128. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: warburg and beyond. *Cell*. 2008; 134(5): 703–707. doi: 10.1016/j.cell.2008.08.021.
 129. Daniels M., Conron M., William R.A. Does lung adenocarcinoma subtype predict patient survival? *J Thorac Oncol*. 2011; 6: 1496–1504.
 130. Коган Е.А., Демурa С.А., Пальцев М.А. Патология митоза и апоптоза при опухолевом росте. *Врач*. 2001; 9: 35–40.
 131. Meneghin A, Choi ES, Evanoff HL et al. TLR9 is expressed in idiopathic interstitial pneumonia and its activation promotes in vitro myofibroblast differentiation. *Histochem Cell Biol*. 2008; 130: 979–992.
 132. Meng X, Li M, Wang X, Wang Y, Ma D. Both CD133+ and CD133- subpopulations of A549 and H446 cells contain cancer-initiating cells. *Cancer Sci* 2009; 100(6): 1040–1046.

133. Pardoll D. Does the immune system see tumors as foreign or self? *Annu Rev Immunol* 2003; 21: 807.
134. Park KS, Martelotto LG, Peifer M et al. A crucial requirement for Hedgehog signaling in small cell lung cancer. *Nat. Med.* 2011; 17: 1504–1508.
135. Li C, Heidt DG, Dalerba P et al. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67(3):1030–1037.
136. Yi M, Li A, Zhou L, Chu Q, Luo S, Wu K. Immune signature-based risk stratification and prediction of immune checkpoint inhibitor's efficacy for lung adenocarcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2021. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02817-z>.
137. Seliger B. Basis of PD1/PD-L1 therapies. *J Clin Med.* 2019; 8: 2168.
138. Hanna NH, Schneider BJ, Temin S et al. Therapy for stage IV non-small-cell lung cancer without driver alterations: ASCO and OH (CCO) joint guideline update. *J Clin Oncol.* 2020; 38: 1608–1632.
139. Kanabar S.S., Tiwari A., Soran V. et al. Impact of PD1 and PDL1 immunotherapy on non-small cell lung cancer outcomes: a systematic review. *Thorax.* 2022; 77(12): 1163–1174. doi: 10.1136/thoraxjnl-2020-215614.
140. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015; 75: 2139–2145.
141. Tkach M., Théry C. Communication by extracellular vesicles: where we are and where we need to go. *Cell.* 2016; 164: 1226–1232.
142. Li S, Yi M, Dong B, Tan X, Luo S, Wu K. The role of exosomes in liquid biopsy for cancer diagnosis and prognosis prediction. *Int J Cancer.* 2020. doi.: 10.1002/ijc.33386.
143. Xie F, Xu M, Lu J, Mao L, Wang S. The role of exosomal PD-L1 in tumor progression and immunotherapy. *Mol Cancer.* 2019; 18: 146.
144. Zhou BBS, Zhang HY, Damelin M et al. Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* 2009; 8(10): 806–823.
145. Dahabreh IJ, Linardou H, Siannis F. et al. Somatic EGFR mutation and gene copy gain as predictive biomarkers for response to tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 291–303.
146. Carney DN, Gazdar AF, Bunn PA Jr et al. Demonstration of the stem cell nature of clonogenic tumor cells from lung cancer patients. *Stem Cells.* 1982; 1: 149–164.
147. Алкон Н.С., Иванова А.Е., Фролова Е.И., Чумаков С.П. Раковые стволовые клетки как терапевтические мишени. *Гены & клетки.* 2018; 12(2): 25–34. doi: 10.23868/201808016.
148. Alamegeer M., Peacock C.D., Matsui W. et al. Cancer stem cells in lung cancer: evidence and controversies. *Respirology.* 2013; 18(5): 757–764. doi: 10.1111/resp.12094.
149. Husgafvel-Pursiainen K, Boffetta P, Kannio A et al. p53 mutations and exposure to environmental tobacco smoke in a multicenter study on lung cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 2906–2911.
150. Krieg AM. Development of TLR9 agonist for cancer therapy. *J Clin Invest.* 2007; 117: 1184–1194.
151. Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA et al. Molecular testing for selection of patients with lung cancer for epidermal growth factor receptor and anaplastic lymphoma kinase tyrosine kinase inhibitors: American Society of Clinical Oncology endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/association for molecular pathology guideline. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3673–3679.
152. Mani SA, Guo W, Liao MJ et al. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell* 2008; 133(4): 704–715.
153. Choi YL, Takeuchi K, Soda M et al. Identification of novel isoform of the EML4-ALK transforming gene in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4971–4976.
154. Коган Е.А., Намиот В.А., Демура Т.А. и др. Репаративные и опухолевые сфероидные клеточные структуры и их математическая модель. *Биофизика.* 2014; 59(3): 533–540.
155. Шестакова Л.А., Коган Е.А., Котловский Ю.В. Рак и предрак легких в кистозных аденоматоидных мальформациях. потеря гетерозиготности гена p53 и характер экспрессии белкового продукта. *Забайкальский медицинский вестник.* 2011; 1: 122–128.
156. Boiko AD, Razorenova OV, van de Rijn M et al. Human melanoma-initiating cells express neural crest nerve growth factor receptor CD271. *Nature.* 2010; 466(7302): 133–137.
157. Chen H, Thiagalingam A, Chopra H et al. Conservation of the Drosophila lateral inhibition pathway in human lung cancer: a hairy-related protein (HES-1) directly represses achaete-scute homolog-1 expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997; 94: 5355–5360.
158. Dang CV et al. The interplay between MYC and HIF in cancer. *Nature Rev Cancer* 2008; 8: 51.
159. Eberhard DA, Giaccone G, Johnson BE. Biomarkers of response to epidermal growth factor receptor inhibitors in non-small-cell lung cancer working group: standardization for use in the clinical trial setting. *J Clin Oncol* 2008; 26: 983–994.
160. Horn L., Pao W. EML4-ALK: Honing in on a new target in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 4232–4235.
161. Hudis C: Trastuzumab – mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med.* 2007; 357: 39.
162. Inoue J, Gohda J, Akiyama T and Semba K. NF-kappa B activation in development and progression of cancer. *Cancer Sci.* 2007; 98: 268–274.
163. Jemal A et al. Cancer statistics 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008; 58: 71.
164. Jordan C, Guzman M, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med.* 2006; 355: 1253.
165. Murray & Nadel's textbook of respiratory medicine. 6th edition. Elsevier, 2010. Vol. 1.

166. Pece S, Tosoni D, Confalonieri S et al. Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content. *Cell*. 2010; 140(1): 62–73.
167. Qiu X, Wang Z, Li Y et al. Characterization of sphere-forming cells with stem-like properties from the small cell lung cancer cell line H446. *Cancer Lett*. 2012; 323: 161–170.
168. Rowinsky EK. The erbB family: targets for therapeutic development against cancer and therapeutic strategies using monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Annu Rev Med*. 2004; 55: 433.
169. Shaw AT, Solomon B. Targeting anaplastic lymphoma kinase in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2011; 17: 2081–2086.
170. Singh S, Hawkins C, Clarke I et al.: Identification of human brain tumor initiating cells. *Nature*. 2004; 19: 396–401.
171. Takagi Y, Osada H, Kuroishi T et al. p53 mutations in non-small-cell lung cancers occurring in individuals without a past history of active smoking. *Br J Cancer*. 1998; 77: 1568–1572.
172. Tammemagi MC, McLaughlin JR, Bull SB. Meta-analyses of p53 tumor suppressor gene alterations and clinicopathological features in resected lung cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1999; 8: 625–634.
173. Ting A et al. The cancer epigenome – components and functional correlates. *Genes Dev*. 2006; 20: 3215.
174. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8(10): 755–768.
175. Wang R, Chadalavada K, Wilshire J et al. Glioblastoma stem-like cells give rise to tumour endothelium. *Nature*. 2010; 468(7325): 829–833.
176. Wang P, Gao Q, Suo Z et al. Identification and characterization of cells with cancer stem cell properties in human primary lung cancer cell lines. *PLoS One*. 2013; 8(3): e57020.
177. Wu JY, Wu SG, Yang CH et al. Lung cancer with epidermal growth factor receptor exon 20 mutations is associated with poor gefitinib treatment response. *Clin Cancer Res*. 2008; 14: 4877–4882.
178. Zitvogel L et al. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosubversion. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6: 715.
179. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res*. 2015; 75: 2139–2145.

Информация об авторе

Коган Евгения Алтаровна – д. м. н., профессор, действительный член РАЕН, профессор Института кинической морфологии и цифровой патологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ; тел.: (499) 248-51-43; e-mail: koganevg@gmail.com (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1107-3753>)